



İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ VETİRİNER FAKÜLTESİ

2. ULUSAL VETERİNER GIDA HİJYENİ KONGRESİ

(ULUSLARARASI KATILIMLI)

BİLDİRİ KİTABI

18-20 EYLÜL 2006, İSTANBUL

**2. ULUSAL
VETERİNER GIDA HİJYENİ KONGRESİ**

ANA SPONSOR
SAĞLIKLI TAVUK BİLGİ PLATFORMU

BASIM YAYIM SPONSORU
TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU
(TÜBİTAK)

KATKI SAĞLAYAN KURULUŞLAR
EMİN GRUP - EMİN CATERİNG
SOFRA YEMEK ÜRETİM ve HİZMET A.Ş.
CAN MEDİKAL
SARTORIUS
MEGA SU



**2.ULUSAL
VETERİNER GIDA HİJYENİ KONGRESİ**

(Uluslararası Katılımlı)

BİLDİRİ KİTABI

18-20 EYLÜL 2006 , İSTANBUL



YATIRIMCI GÖRÜMLERİ KONGRESİ

(Ekim 2000)

1. KİTAP

1. KİTAP

Baskı ve Cilt:
Acar Basım San.Tic.A.Ş.
Tel: 0212 422 18 34
Fax: 0212 422 18 04

Doç.Dr. Özlem KAPLÖLÜ

KONGRE DÜZENLEME KURULU

Onursal Başkanlar	Prof.Dr. Mesut PARLAK, Rektör Prof.Dr. Muammer UĞUR, Dekan
Başkan	Prof.Dr. Özer ERGÜN
Genel Sekreter	Prof.Dr. Harun AKSU
Üyeler	Doç.Dr. Gürhan ÇİFTÇİOĞLU Yrd.Doç.Dr. Ömer ÇETİN Yrd.Doç.Dr. Hilal ÇOLAK Araş.Gör.Dr. Ali AYDIN Öğr.Gör.Dr. Sema SANDIKÇI ALTUNATMAZ
Bilimsel Danışma Kurulu	Prof.Dr.Kamil BOSTAN Prof.Dr.Yusuf DOĞRUER Prof.Dr.Özer ERGÜN Prof.Dr.İrfan EROL Prof.Dr.Abamüslüm GÜVEN Prof.Dr.Bülent NAZLI Prof.Dr.Bahri PATİR Prof.Dr.Yakup Can SANCAK Prof.Dr.Mustafa TAYAR

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

Kongre Düzenleme Kurulu

2. ULUSAL VETERİNER GIDA HİJYENİ KONGRESİ

ANA SPONSORLAR

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU
(TÜBİTAK)

SAĞLIKLI TAVUK BİLGİ PLATFORMU

KATKI SAĞLAYAN KURULUŞLAR

EMİN GRUP-EMİN CATERİNG

SOFRA YEMEK ÜRETİM ve HİZMET A.Ş.

CAN MEDİKAL

SARTORIUS

MEGA SU

ÖNSÖZ

Değerli Meslektaşlarımız,

Gıda hijyeni gıda maddelerinin insan sağlığına zararsız ve güvenilir olması için üretim, işleme, muhafaza ve dağıtım aşamalarında gerekli hazırlıkların yapılması ve önlemlerin alınması olarak ifade edilmektedir. Üretim öncesinden tüketime kadar olan tüm aşamalar son yıllarda Avrupa Birliği'ne uyum çalışmalarının da etkisiyle hızlı bir değişim sürecine girmiştir. Bu değişim sürecinin mesleğimizi de önemli ölçüde etkilemesi kaçınılmazdır. Nitekim Avrupa Birliği ile devam eden müzakerelerde tarım ve hayvancılık sektörlerinin, dolayısıyla gıda sektörünün en çetin tartışmalara konu olacağı beklenmektedir.

Gerek mesleğimizi ve gıda sahasını ilgilendiren konularda bilgi alışverişini sağlamak, gerek gıda hijyeni ve teknolojisi alanında çalışan akademisyenlere veteriner hekimlerin ve sektör mensuplarının tanışıp kaynaşmasına aracı olmak amacıyla Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresinin ikincisinde sizleri İstanbul'da aramızda görmekten mutluluk duymaktayız.

Kongremiz kapsamı içerisinde gıda güvenilirliği, gıda hijyeni ve teknolojisini konu alan 30'u sözlü, 67'si poster sunum şeklinde toplam 97 bildiri yer almıştır. Ayrıca yeni Avrupa Birliği mevzuatı ve veteriner hekimlerin rolü konusunu işlemek üzere yabancı bir meslektaşımızda açılış programında davetli konuşmacı olarak yer alacaktır. Kendisi Avusturya Viyana Veteriner Hekimliği Üniversitesi Gıda ve Halk Sağlığı bölümündeki akademisyenliğinin yanı sıra Veteriner Fakültelerinin akreditasyon heyetleri içerisinde yer alarak ülkemize daha önce de ziyaretlerde bulunduğu için Veteriner Hekimlik eğitimi üzerine de önemli birikime sahip uzman bir meslektaşımızdır.

Kongremizin son günü sosyal programa ayrılmıştır. Katılacak meslektaşlarımızın İstanbul'un tarihi ve doğal güzelliklerini görmesi, yaşaması, İstanbul'a uzun süredir gelmeyenlerin değişimi görebilmesi fırsatı da olacaktır.

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesinin ardından düzenlediğimiz bu ikinci kongrede kongrenin gelenekselleşmesine katkı sağlayacaklarına inanarak ulaşabildiğimiz kesimlerin katkısını sağlamaya çalıştık. Bundan sonraki kongrenin bir başka üniversitede gerçekleşmesi, bayrağı farklı farklı şehirlerin üstlenmesi ve uluslararası katılımın ileride daha da artırılarak uluslararası düzeyde bir organizasyon gerçekleştirilmesi hedeflenmektedir.

Kongremizin gerçekleştirilmesinde her türlü değteği sağlayan başta Rektörümüz sayın Prof. Dr. Mesut PARLAK ve Dekanımız sayın Prof. Dr. Muammer UğUR ile İşletme Fakültesi dekanı sayın Prof. Dr. Mehmet şükrü TEKBAş olmak üzere tüm niversitelerimizdeki Veteriner Fakültelerinin Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dallarından, gıda konusuyla ilişkili alışan Eczacılık, Ziraat, Mühendislik Fakültelerinden, Gıda Mühendisliği bölümlerinden, Gıda ile ilgili Meslek Yüksek Okullarından, Yüksek Teknoloji Enstitülerinden, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nın çeşitli birimlerinden ve Türk Silahlı Kuvvetlerinin Veteriner Gıda Kontrol Mfrezeleriyle diğer ilgili birimlerinden katılan değerli ğretim yesi, araştırmacı ve katılımcılara bilimsel çalışma ve katkıları dolayısıyla, ayrıca TÜBİTAK ile diğer katkı sağlayan özel sektör kuruluşlarına desteklerinden dolayı teşekkür eder, saygılar sunarız.

İstanbul, Eylül 2006

Kongre Düzenleme Kurulu Başkanı
Prof. Dr. Özer ERęN

Kongre Genel Sekreteri
Prof. Dr. Harun AKSU

BAŞLIK**SAYFA**

ÖNSÖZ

vi

SÖZLÜ SUNUMLAR

THE NEW EU LEGISLATION ON FOOD CONTROL AND HOW
VETERINARIANS FIT INFrans J.M. SMULDERS, Reinhard KAINZ, Martijn J.B.M. WEJTENS 1TÜRKİYE İLE AVRUPA BİRLİĞİ ET VE SÜT ENDÜSTRİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI VE DEĞERLENDİRİLMESİHilal Duygu ÇALIM, Yakup Erdal ERTÜRK 29

GIDA GÜVENLİĞİ

Ümit GÜRBÜZ, Mukadderat GÖKMEN, Emrah TORLAK 58KIRMIZI ET VE ÜRÜNLERİNDE GIDA GÜVENİRLİĞİ AÇISINDAN
TÜKETİCİLERİN TUTUM VE DAVRANIŞLARISeval MUTLU, Oğuz YURDAKUL 68

MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERDE ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ

Emrah TORLAK, Mustafa NİZAMLIOĞLU, Ümit GÜRBÜZ 80GIDA KAYNAKLI STAFİLOKOKLARIN BİYOFİLM YAPMA VE VİRULANS
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASIMert SUDAĞIDAN, Burcu OKUKLU, Ali AYDIN 87

GIDALARDAKİ Enterococcus faecium'un ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Zerrin ERGİNKAYA, Naci Erhan YURDAKUL 94HİNDİ KIYMALARINDAN LISTERIA MONOCYTOGENES'İN İMMUNO MANYETİK
SEPARASYON İLE SAPTANMASI VE İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK
DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİNaim Deniz AYAZ, İrfan EROL 108HİNDİ ETLERİNDEN İZOLE EDİLEN SALMONELLA SPP., LISTERIA
MONOCYTOGENES VE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS İZOLATLARININ
ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ BELİRLENMESİİrfan EROL, F. Seda BİLİR ORMANCI, N. Deniz AYAZ, Özlem İŞERİ, Devrim SARIGÜZEL 116MUTFAK PERSONELİNDEN İZOLE EDİLEN KOAGULAZ POZİTİF
STAFİLOKOKLARIN TOKSİN OLUŞTURMA YETENEĞİ İLE BAZI
ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASILevla VATANSEVER, Haluk ÇEPOĞLU, Nebahat ORAL 124

KIYMALI PİDE ÜRETİM KOŞULLARININ SALMONELLA, LISTERIA MONOCYTOGENES, VE E. COLI O157:H7 PATOJENLERİNİN İNAKTİVASYONU ÜZERİNE ETKİSİ	
Mehmet ÇALICIOĞLU, Abdullah DİKİCİ, Gülsüm ATEŞ, O. İrfan İLHAK, Pelin BOZKURT, Pınar ŞEKER	126
VAN'DA TÜKETİME SUNULAN ET VE ET ÜRÜNLERİNDE LISTERIA MONOCYTOGENES VARLIĞI	
Yakup Can SANCAK, Özgür İŞLEYİCİ, Emrullah SAĞUN	138
ANKARA'DA MARKETLERDE SATILAN PİLİÇ PARÇA ETLERİNDE TERMOFİLİK CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN VARLIĞI	
Mustafa SAVAŞCI, Haydar ÖZDEMİR	149
HİNDİ ETİ VE ÜRÜNLERİNDE TERMOFİLİK CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI	
Gürkan UÇAR, Abdullah KELEŞ, Ahmet GÜNER, Yusuf DOĞRUER, Mustafa ARDIÇ	155
DEĞİŞİK YÖNTEMLERLE MARİNE EDİLMİŞ KANATLI ETLERİNİN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ	
Haluk ERGEZER, Ramazan GÖKÇE	165
SALMONELLA İLE KONTAMİNE EDİLMİŞ TAVUK KARKASLARINDA LAKTİK ASİT, CETYLPYRIDINIUM KLORİD, TRISODYUM FOSFAT' IN VE TWEEN 20 İLE KOMBİNASYONLARININ ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN İNCELENMESİ	
Ali ARSLAN, Halil YALÇIN, Abdullah DİKİCİ, Pınar ÖZDEMİR, Işıl AYDIN, Mehmet ÇALICIOĞLU	176
İSTANBUL'DA SATIŞA SUNULAN ET VE ET ÜRÜNLERİNDE BSE YÖNÜNDEN RISK MATERYALLERİNİN VARLIĞI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR	
Bülent NAZLI, Hilal ÇOLAK, Hamparsun HAMPIKYAN, Enver Barış BİNGÖL	185
SUCUKLARIN KİMYASAL KALİTESİ	
Belgin SIRIKEN, Çiğdem YENİSEY, Mukadder SERTER, Mehmet ÖZDEMİR, Özgür ÇADIRCI	193
PASTIRMA ÜRETİMİNDE KRİTİK KONTROL NOKTALARININ BELİRLENMESİ VE İYİLEŞTİRME KOŞULLARININ ARAŞTIRILMASI	
Gökhan İNAT, Belgin SARİMEHMETOĞLU	202
VAN'DA TÜKETİME SUNULAN BALIKLARDA HAREKETLİ AEROMONAS TÜRLERİNİN VARLIĞI VE YAYGINLIĞI	
Özgür İŞLEYİCİ, Yakup Can SANCAK, Bülent HALLAÇ	212
EUGENOL' UN 4 °C' DE MUHAFAZA EDİLEN SOSLU ÇİĞ BALIK FILETOLARININ RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ	
Ö.Pelin BOZKURT, Ali ARSLAN, Pınar ÖZDEMİR, Işıl AYDIN	222

ERZURUM BÖLGESİNDE TÜKETİME SUNULAN SÜT VE ÜRÜNLERİNİN
AFLATOKSİN M₁ YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Mustafa ATASEVER, Mustafa NİZAMLIOĞLU, Korhan ÖZTURAN,
Yakup KARAKAYA, Cemal ÜNSAL 231

AFYON İLİNDE TÜKETİME SUNULAN KAYMAKLARIN MİKROBİYOLOJİK VE
KİMYASAL KALİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Belgin SIRIKEN, Özgür ÇADIRCI 241

KONYA PİYASASINDA TÜKETİME SUNULAN BEYAZ SALAMURA,
KAŞAR VE TULUM PEYNİRLERİNDE LISTERIA MONOCYTOGENES
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Abdullah KELEŞ, Ahmet GÜNER, Gürkan UÇAR 252

TULUM PEYNİRLERİNDE L.MONOCYTOGENES VE SALMONELLA SPP. VARLIĞI
ÜZERİNE BİR ÇALIŞMA

Hilal ÇOLAK, Hamparsun HAMPIKYAN, Enver Barış BİNGÖL, Beyza ULUSOY 260

GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN BEYAZ PEYNİRLERDEN
LACTOCOCCUS' LARIN İZOLASYONU, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
İDANTİFİKASYONU VE SUŞLAR ARASI BİYOEÇEŞİTLİLİĞİN PCR-RAPD
TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Recep ÇİBIK, Figen ÇETİNKAYA 269

GELENEKSEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN OLAN SÜRKTE TYROPHAGUS
PUTRESCENTIAE (ACARI: ACARIDAE)'NİN VARLIĞI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Osman AYGÜN, Mehmet YAMAN, Hisamettin DURMAZ 279

VAKUMLANMIŞ BEYAZ PEYNİRLERE DEĞİŞİK ISI İŞLEMLERİ UYGULAYARAK
RAF ÖMÜRLERİNİN UZATILMASI

Muammer GÖNCÜOĞLU 286

POTASYUM SORBATIN ÇÖKELEĞİN RAF ÖMRÜNE ETKİSİ

Gülsüm ÖKSÜZTEPE, Bahri PATIR, Abdullah DİKİCİ, Pınar ŞEKER, Mehmet ÇALICIOĞLU 294

FARKLI SICAKLIKLARDA DEPOLAMANIN KOYUN YOĞURTLARINDA
STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN (SEA 10652 FDA 196E) GELİŞİMİ ve
ENTEROTOKSİN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

L. AKKAYA, M. ALIŞARLI, B. KENAR, H. H. KARA 310

YOĞURT ÜRETİMİNDE TRANSGLUTAMİNAZ KULLANIMININ KALİTEYE ETKİSİ

Alper Kürşat DEMİRKAYA, Ziya Gökalep CEYLAN 323

POSTER SUNUMLARI

GIDA SEKTÖRÜNDE ÇALIŞAN İŞÇİLERİNİN GAITALARINDA CRYPTOSPORIDIUM SPP. OOKİSTLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hanifi KÖRKOCA, Yaşar GÖZ, Mustafa BERKTAŞ, M. Güzel KURTOĞLU, Kamil EKİCİ 339

ERİK EKSTRAKTI, NAR EKŞİSİ VE LİMON SUYUNUN ÇİĞ KÖFTENİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

İşıl VAR, Bülent KABAK 341

GIDA GÜVENLİĞİ İZLEME YÖNTEMLERİ

Zerrin ERGİNKAYA, Naci Erhan YURDAKUL 343

GIDALARDA AKRİLAMİD

Kamil EKİCİ, Emrullah SAĞUN 355

GIDA İŞLETMELERİNDE ORTAM HAVASININ MİKROBİYOLOJİK YÜKÜ ve GIDA HİJYENİ ÜZERİNE ETKİSİ

B.Gökçe ÇOL, Harun AKSU, Candan VARLIK 360

AFYONKARAHİSAR'DA TÜKETİME SUNULAN UHT SÜTLER İLE ÇİĞ SÜTLERDEKİ AFM₁ MİKTARININ BELİRLENMESİ

Yavuz Osman BİRDANE, Levent AKKAYA, Ruhtan BAŞKAYA,
Mustafa CEMEK, Sait BULUT 373

AFYONKARAHİSAR'DA TÜKETİME SUNULAN ET ÜRÜNLERİNDE HİSTAMİN, NİTRAT VE NİTRİT İÇERİKLERİ

Mustafa CEMEK, Levent AKKAYA, Sait BULUT, Muhsin KONUK, Yavuz Osman BİRDANE 375

BİTLİS İLİ VE ÇEVRESİNDE TÜKETİME SUNULAN HAYVANSAL KAYNAKLI GIDALARDA ESCHERİCHİA COLI O157:H7 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Murat DÜLGAR, Mustafa ALIŞARLI 377

MUHAFAZA ŞARTLARININ YUMURTANIN FİZİKSEL KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Tahir AVAN, Mustafa ALIŞARLI 392

ANKARA'DA TÜKETİME SUNULAN SÜZME BALLARIN KİMYASAL KALİTELERİ

Cenk ÜNAL, Özlem KÜPLÜLÜ 406

ERZURUM'DA TÜKETİME SUNULAN BUĞDAY UNLARINDA TESPİT EDİLEN TOPLAM AFLATOKSİN, AFLATOKSİN B₁ VE OKRATOKSİN A DEĞERLERİ

Korhan ÖZTURAN, Cemal ÜNSAL, Yakup KARAKAYA, Ziya Gökalep CEYLAN,
Mustafa ATASEVER, Meryem ATASEVER, Kürşat DEMİRKAYA 414

ERZURUM'DA TÜKETİME SUNULAN CAĞ KEBAPLARINDA BAZI
PATOJENLERİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Cemal ÜNSAL, Mustafa ATASEVER, Korhan ÖZTURAN,
Yakup KARAKAYA, Gülşah ADIGÜZEL 424

ANKARA BÖLGESİNDEN SAĞLANAN İÇME SULARINDA E.COLI VE KOLIFORM
BAKTERİLERİN ARAŞTIRILMASI

Serkan ŞEKER, Buket ER, Gülderen YENTÜR, Güven URAZ, Ebru YILMAZ 436

HELLİM PEYNİRİ ÜRETİMİNDE GLUKANO DELTA LAKTON KULLANIMI

Gülşah ADIGUZEL, Mustafa ATASEVER 444

TAVŞAN ETLERİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Ö. KURŞUN, F. TAŞCI, A. S. AKCAN KALE, R. BAŞKAYA, F. PEHLİVANOĞLU 450

TÜRKİYE'NİN ORTA KARADENİZ KIYILARINDAKİ BAZI BALIK TÜRLERİNDE
AĞIR METAL DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

NİSBET, C., TERZİ, G., SARAÇ, N., ŞAHİN, İ.B., CEYHAN, H 456

ÇİĞ KOFTELERDE L. MONOCYTOGENES'İN YAŞAMSAL ETKİNLİĞİNİN
BELİRLENMESİ

U.TANSEL ŞİRELİ, MUAMMER GÖNCÜOĞLU, SEVDA PEHLİVANLAR 467

AFYONKARAHİSAR İLİNDE SIĞIR KARKASLARINDA ESCHERICHIA COLI
O157/O157:H7, LISTERIA MONOCYTOGENES ve SALMONELLA SPP.'NİN VARLIĞI

L. AKKAYA, Z. CETINKAYA, M. ALIŞARLI, R. TELLİ, V. GOK 473

AFYONKARAHİSAR İLİNDEKİ SIĞIR MEZBAHALARININ ÇEVRESİNDE,
EKİPMANLARDA ve İŞÇİLERDE ESCHERICHIA COLI O157:H7/O157, LISTERIA
MONOCYTOGENES VE SALMONELLA SPP.'NİN VARLIĞI

L. AKKAYA, Z. CETINKAYA, M. ALIŞARLI, R. KARA, R. TELLİ 475

AFYONKARAHİSAR'DA TÜKETİME SUNULAN ÇİĞ SÜT ve PEYNİRLERDE
E. COLI O157:H7 VARLIĞININ BELİRLENMESİ

L. AKKAYA, M. ALIŞARLI, R. KARA 477

AFYONKARAHİSAR'DA TÜKETİME SUNULAN YOĞURTLARDA AFLATOKSİN M₁
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

L. AKKAYA, Y.O. BİRDANE, H. OĞUZ, M. CEMEK 487

ANTAKYA'DA TÜKETİLEN SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE LISTERIA'LARIN
BULUNUŞU

Osman AYGÜN, Sevda PEHLİVANLAR 489

BAĞIRSAK SPIROKETOZİSİ VE GIDA HİJYENİ AÇISINDAN ÖNEMİ

Sine ÖZMEN TOĞAY 495

İNÇİ KEFALİNDE (Chalcalburnus tarichi, Pallas 1811) LISTERIA TÜRLERİNİN
VARLIĞI VE YAYGINLIĞI

Hakan SANCAK, Emrullah SAĞUN 503

HAYVANSAL PROTEİN TÜKETİMİNE BAĞLI ALLERJİLER

Yeliz YILDIRIM 517

PROBİYOTİKLERİN İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMİ

Yeliz YILDIRIM, Nurhan ERTAŞ, Ahmet H. DİNÇOĞLU 528

STARTER KÜLTÜR KULLANIMININ MANDA PASTIRMASININ BAZI KALİTE
NİTELİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Zafer GÖNÜLALAN, Yeliz YILDIRIM, Nurhan ERTAŞ 538

TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN ET VE ET ÜRÜNLERİNDE BSE RİSK MATERYALİ OLAN
MERKEZİ SINIR SİSTEMİ DOKULARININ KONTROLÜ

Mehmet KALE, Özen KURŞUN 549

KÖFTE (PIŞMEMİŞ), YAŞ PASTA VE LOKUMUN MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERİ

Belgin SIRIKEN, Özgür ÇADIRCI, Gökhan İNAT 559

MIDYE DOLMALARDA LISTERIA MONOCYTOGENES TANISI İÇİN
POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU VE KONVENSYONEL METOTLARININ
KARŞILAŞTIRILMASI

Ergün Ö. GÖKSOY, Şükrü KIRKAN, Osman KAYA, Serten TEKBIYIK 569

ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ TÜRK SUCUĞU: ÜRETİM AŞAMALARININ MİKROBİYAL
KONTAMİNASYON YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

Seran TEMELLİ, Şahsene ANAR, Cem ŞEN, Devrim BEYAZ 571

HİNDİ ETLERİNDEN HAREKETLİ AEROMONAS TÜRLERİNİN İZOLASYON ve
İDENTİFİKASYONU

Çetin KOCA, Belgin SARİMEHMETOĞLU 586

ESANSİYEL YAĞLARIN ÇİĞ KÖFTEDE LISTERIA MONOCYTOGENES VE
ESCHERICHIA COLI O157:H7' NİN İNAKTİVASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet ÇALICIOĞLU, O. İrfan İLHAK, Abdullah DİKİCİ 594

LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS İLE PROBİYOTİK BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİ

Aylin KASIMOĞLU, Muammer GÖNCÜOĞLU, Sadi AKGÜN 604

AFYON'DA PAKETLENMEDEN SATILAN PİLİÇ KARKASLARINDA TERMOFİLİK
CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN SAPTANMASI VE CAMPYLOBACTER JEJUNI
İZOLATLARININ PCR İLE DOĞRULANMASI

Şebnem PAMUK 620

MARİNE HAMSI ÜRETİMİNDE KRİTİK KONTROL NOKTALARININ İZLENMESİ	
<u>Canan DOKUZLU</u> , Uğur GÜNŞEN, Dilşad ÖZÖĞRETMEN	629
GIDALARDA BULUNAN DİOKSİNLERİN PÖTANSİYEL SAĞLIK RİSKLERİ	
<u>Özen KURŞUN</u> , Firdevs MOR	641
TÜRKİYE'NİN GÜNEYİNDE TÜKETİLEN BAZI SEBZELERDE NİTRAT VE NİTRİT DÜZEYLERİ	
<u>Firdevs MOR</u> , Fatma ŞAHİNDOKUYUCU	643
GIDA KAYNAKLI VİRAL HASTALIKLAR VE GIDA GÜVENİLİRLİĞİ	
<u>Süleyman ALEMDAR</u> , Sema AĞAOĞLU	649
Salmonella Enteritidis ÜZERİNE MİKRODALGA ETKİSİNİN YUMURTA ÖRNEKLERİNDE ARAŞTIRILMASI	
<u>İşıl VAR</u> , Bülent KABAK	664
İHRACATA YÖNELİK OLARAK AVLANAN BEYAZ KUM MİDYELERİNDE (Venüs gallina, Venüs verrucosa, Cardium edule) BİYOTOKSİN VARLIĞININ İNCELENMESİ	
<u>Uğur GÜNŞEN</u> , Ayşegül ERYİĞİT, Murat METLİ, Yasemin COŞKUN	672
INVESTIGATION of the PRESENCE OF FOREIGN PROTEIN IN RAW AND HEAT-TREATED MEAT PRODUCTS USING THE ELISA	
Omer ÇETİN, Serkan K. BÜYÜKÜNAL, Bayram ÇETİN , M V Z. AŞKIN	683
TAVUKLARDA LISTERIA TÜRLERİNİN ARAŞTIRILMASI	
<u>Figen ÇETİNKAYA</u> , Recep ÇİBIK, G.Ece SOYUTEMİZ, Cüneyt ÖZAKIN	690
URFA PEYNİRİNDE ENTEROBACTERİACEAE'ların İDENTİFİKASYONU	
<u>Mustafa ARDIÇ</u> , Kürşat KAV, Ahmet GÜNER, Yusuf DOĞRUER	697
YOĞURT ÜRETİMİNDE STABİLİZATÖR MADDELERİN KULLANILMASI VE BU MADDELERİN YOĞURDUN ORGANOLEPTİK VE BAZI FİZİKSEL, MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ	
<u>Sema SANDIKÇI ALTUNATMAZ</u> , Özer ERGÜN	699
İŞLETMELERDE PEST PROBLEMİ ve GIDA HİJYENİ AÇISINDAN ÖNEMİ	
<u>Filiz AKSU</u> , Sema SANDIKÇI ALTUNATMAZ, Gürhan ÇİFTÇİOĞLU	712
ELAZIĞ BÖLGESİ' nde TÜKETİME SUNULAN AÇIK AYRANLAR ile ORJİNAL AMBALAJLI AYRANLARIN MİKROBİYOLOJİK ve KİMYASAL KALİTESİ	
Bahri PATİR, <u>Gülşüm ÖKSÜZTEPE</u> , Pınar ŞEKER, Abdullah DİKİCİ	723

DONDURULARAK MUHAFAZA EDİLEN VAN GÖLÜ İNCİ KEFALİ'NDA
(CHALCABURNUS TARICHI, PALLAS 1811) VİTAMİN E DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ

Emrullah SAĞUN, İbrahim YÖRÜK, Kamil EKİCİ, Hakan SANCAK 725

LACTOBACİLLUS PENTOSUS'UN OTOLİTİK AKTİVİTESİNİN VE
PEPTİDOGLİKAN HİDROLAZ ENZİMLERİNİN KARAKTERİZE EDİLMESİ

Recep CİBİK 734

CİVİL PEYNİRİNİN MİKROBİYOLOJİK NİTELİKLERİ

Ruhtan BAŞKAYA, Mustafa ATASEVER, Ahmet YILDIZ, Ömer ÇAKMAK 739

İSTANBUL'DA TÜKETİME SUNULAN PİRİNÇ NUMUNELERİNDE OKRATOKSİN-A
DÜZEYLERİNİN ELİSA METODU İLE BELİRLENMESİ

Ahmet YILDIZ, Ruhtan BAŞKAYA, Ömer ÇAKMAK, Ayşegül M. AKKAYA 741

BURSA'DA TÜKETİME SUNULAN SUCUK, SOSİS VE SALAMLARIN BAZI
KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Nur YÜKSEK, Süreyya SALTAN EVRENSEL, Nalan ÇIRAK 743

ZEYTİNLE İLGİLİ ALANLARDAN İZOLE EDİLEN *Bacillus thuringiensis* SUŞLARININ
FENOTİPİK VE GENOTİPİK KARAKTERİZASYONU

Çelenk ÇINAR, Şebnem HARSA, Ali Fazıl YENİDÜNYA 745

ET ÜRÜNLERİNDE BAZI ANABOLİZAN MADDE KALINTI VARLIĞININ ELİZA
TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Uğur GÜNŞEN, Banu Bilge OVALI, Yasemin COŞKUN 747

EUGENOLÜN ÇİĞ BALIK FİLETOLARININ MUHAFAZA SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Ö Pelin BOZKURT, Ali ARSLAN, Işıl AYDIN, Pınar ÖZDEMİR 760

BAZI KURUYEMİŞ ÇEŞİTLERİNDE STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE KOAGULAZ
NEGATİF STAFİLOKOKLARIN İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİK
DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Aydın VURAL, Mehmet Emin ERKAN, Tuncer ÖZEKİNCİ 765

BAZI YEŞİL YAPRAKLI SEBZELERDE STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE
KOAGULAZ NEGATİF STAFİLOKOK VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Mehmet Emin ERKAN, Aydın VURAL, Tuncer ÖZEKİNCİ 767

TÜRKİYE'DEKİ BUĞDAY ÇEŞİTLERİNİN MİKROBİYOLOJİK VE
FİZİKO-KİMYASAL KALİTE ÖZELLİKLERİ

Aydın ALP, Aydın VURAL, Mehmet Emin ERKAN, Simten YEŞİLMEN ALP 769

BAZI KURUYEMİŞ ÇEŞİTLERİNDE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİN İNCELENMESİ

Aydın VURAL, Mehmet Emin ERKAN 771

BAZI YEŞİL YAPRAKLI SEBZELERİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİNİN
ARAŞTIRILMASI

Mehmet Emin ERKAN, Aydın VURAL 773

AMASYA İLİNDE SATIŞA SUNULAN BEYAZ PEYNİRLERDE AFLATOKSİN M₁,
RUTUBET VE ASİDİTE DEĞERLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Yaşar ALKAN, Zafer GÖNÜLALAN, Fulya ÜSTÜN 775

SIĞIR KARKASLARINDAN SALMONELLA SPP. VARLIĞI'NIN KÜLTÜREL,
IMMUNOMANYETİK SEPARASYON VE ENZYME LINKED FLUORESCENT
ASSAY TEKNİKLERİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Ali AYDIN, Hamparsun HAMPIKYAN, Tolga KAHRAMAN, Karlo MURATOĞLU 787

BAL ÖRNEKLERİNİN FİZİKOKİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ

Özlem ERDOĞRUL, Özer ERGÜN 789

SIR BARAJINDAKİ BAZI BALIKLARDA CİVA DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Özlem ERDOĞRUL 791

KİTOSAN VE GIDA SANAYİNDE KULLANIM ALANLARI

Kamil BOSTAN, Tuğba ALDEMİR 793

AYDIN BÖLGESİNDE ÜRETİLEN ÇİNE KÖFTELERİNİN MİKROBİYOJİK
KALİTELERİNİN İNCELENMESİ

Filiz KÖK, Dilek KESKİN, Sadık BÜYÜKYÖRÜK 807

GIDA PERSONELİ HİJYEN DENETİMLERİNDEN İZOLE EDİLEN
STAFİLOKOKLARDA EKSTRASELLÜLER ENZİM ÜRETİMİNİN ARAŞTIRILMASI

Sıla APPAK, Mert SUDAĞIDAN, Ali AYDIN, Hatice GÜNEŞ 813

YAZAR İNDEKSİ 815

The new EU legislation on food control and how veterinarians fit in

Frans J.M. Smulders¹, Reinhard Kainz^{1,2} and Martijn J.B.M. Weijtens³

¹ Department of Veterinary Public Health and Food Science, University of Veterinary Medicine, Veterinärplatz 1, Vienna, Austria

² Department of Craft Associations of Food Business in the Austrian Chamber of Commerce, Coordination Bureau for the Meat Industry, Wiedner Hauptstraße 63, 1040 Vienna, Austria

³ Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality, P.O. Box 20401, 2500 EK The Hague, The Netherlands

E-mail: frans.smulders@vu-wien.ac.at.

Summary

Following the outlines formulated in its 'Whitepaper on Food Safety' (European Commission, 2000; further commented by Daelman, 2002) the European Commission has issued various pieces of legislation in the past few years, that represent fundamental changes in Community food law. These changes are characterized by buzz words such as: 'changing responsibilities', 'longitudinal approach (farm-to-table)', 'improved traceability', 'risk analysis based', 'other legitimate factors'/precautionary principle', and 'transparency'. EU-uniform general principles stipulated in the general food law and the associated laws referred to as the 'hygiene package' and to be applied in food control, imply that both food industry and the competent authority are challenged with new and wide-ranging tasks. In addition, this contribution deals specifically with the consequences of the new EU food legislation for both official veterinarians and veterinary practitioners. For the successful implementation of these laws, the cooperation of these professional branches with food producers will be of great importance.

Keywords: EU food legislation, official veterinarian, food inspection, veterinary competence, veterinary education.

1. Introduction

The Whitepaper on Food Safety (EC, 2000) lists a large number of factors relevant to the safety of all foods (be it those of animal or non-animal origin) and addresses such issues as genetically modified organisms (GMO's), the application of food colourants and other additives, food labelling, specific problems related to BSE, etc.. Before we discuss the legislation related to food safety it is important that the readership realises our contribution necessarily deals only with those fragments of the Whitepaper and the subsequently issued legislation based on this position paper, that are particularly relevant for the veterinary profession.

Over the past decades the reasons why EU legislation related to the production, processing and distribution of foods of animal origin needed to be changed have been clearly recognized.

Major incentives for restructuring food legislation included both 'external' factors such as major food scares [e.g. the BSE crisis (1996-present), the dioxin crisis (1999-2000), and the Foot-and-Mouth Disease crisis (2001)], that lead to a significant loss of consumer confidence in foods of animal origin (and which had vast political repercussions), and factors inherent to changes in agricultural infrastructure and the associated health status of production animals in Europe. The latter have had major implications for the efficacy of ante- and post mortem inspection. Illustrative for this are, for instance, the lack of information on the history and treatment of slaughter animals, the fact that the majority of the industrially produced meat animals originate from essentially uniform and generally healthy herds, that - even when their meat might pose a potential threat to public health (e.g. in the case of carriage of *Salmonella* or campylobacteriosis) - show no, or unclear clinical symptoms that are overlooked easily during ante-mortem inspection. Also, one has come to realize that neither many of the pathological-anatomical abnormalities detected, nor many of the bacteria isolated at post-mortem inspection pose a threat to public health (Berends et al., 1993, Hathaway and MacKenzie, 1991, Smulders and Paulsen, 1997). Consequently, the sensitivity of traditional meat inspection approaches is low (Harbers, 1991; Harbers et al., 1992). Even worse, the routine incisions prescribed in traditional meat inspection have been shown to constitute a significant source of cross contamination with pathogens such as *Salmonella* and *Campylobacter* spp. Therefore, from a veterinary point-of-view, there were ample reasons to reevaluate legislation.

But also with regard to the structure of legislation on the food ultimately produced in animal production, many inconsistencies have been observed. In the history of Community legislation the construction of a harmonized set of food laws proved to be complicated and the various laws were issued rather fragmentarily. Neither a product-specific approach to harmonization (so-called 'vertical' EC legislation) nor the creation of uniform regulations for distinct thematic areas relating to all foods, or at least to various food groups (i.e. themes such as food additives, food labelling or laws on general hygiene), resulted in a common basic concept. Consequently, the EC laws differed significantly both in concept and in their general principles. Such contrasts represented potential impediments to free trade in foods within the Community and

occasionally lead to competitive industrial warfare and an impairment of the European internal market.

Hence, in recent years major changes in the European food legislation were adopted. In the framework of this contribution the following need to be mentioned:

- Regulation (EC) No. 178/2002 (the so-called "**General Food Law**"),
- Regulation (EC) No. 882/2004 on the **control of all feeds/foods**

and the so-called 'hygiene package' consisting of the following:

- Regulation (EC) No. 853/2004 on the **hygiene of foodstuffs (all foods)**, colloquially referred to as '**H1**'.
- Regulation EC 853/2004 on the **hygiene rules of foods of animal origin**, referred to as '**H2**'.
- Regulation (EC) No. 854/2004 on **official controls of products of animal origin**, referred to as '**H3**'.
- Council Directive 2002/99/EC on **animal health rules**, referred to as '**H4**'.

A final Regulation of the hygiene package ('H5'), repelling 17 previous EU Directives that are now covered by the above, was also issued.

Similar legislation specific to feed hygiene has also been issued [e.g. EC No. 1831/2003 (EC 2003a)], but this will not be discussed in this contribution. Depending on the date on which the above regulations are to be implemented Europe-wide, some 'old' European and national legislation persist on an interim base. Specific areas - e.g. those on identification marking, genetically modified microorganisms, *Trichinella*, protective measures against transmissible spongiform encephalopathies (TSE's) which are not addressed in this contribution - are specified in additional law texts.

Not all the legislation listed will be extensively discussed here. Instead, we will primarily focus on those law texts that pertain to the obligations of the competent authorities and the official veterinarian and which bear great relevance to the veterinary profession. Though realising that both food and feed (control) are dealt with in current legislation, space limitations dictate that we concentrate on the food area and more specifically on those of animal origin. To this end law texts are presented in as much condensed form as possible or are cited *verbatim*, where deemed necessary.

Figure 1 is an attempt to provide a simple overview of the current food-related European laws, particularly those that relate to veterinary activities.

2. Regulation (EC) No 178/2002 on 'the General Food Law'

Regulation (EC) No 178/2002 (EC, 2002), adopted 28-1-2002, was conceived to represent the common framework on which national legislation in the various Member States must be based. It foresees different effective dates for the implementation of the separate articles, hereby allowing varying, partially multiannual, time frames for the formulation of national legislation. By the creation of an EU uniform basis for measures to be taken in the food- and feed sector, said Regulation should allow the adaptation of the various food law concepts, and general principles and procedures in the individual Member States.

The objectives of Regulation (EC) No 178/2002, viz. "... to provide the basis for the assurance of a high level of protection of human health and consumers' interest in relation to food ..." is to be transformed on all levels of production, processing and distribution of food and feed, as every link of this chain could influence the safety of a foodstuff.

The central conception of the law is that of the food. Foods are defined as : "... any substance or product, whether processed, partially processed or unprocessed, intended to be, or reasonably expected to be ingested by humans..." and include drinks, chewing gum, and any substance - including water - intentionally incorporated into the food during its manufacture, preparation or treatment.

For the implementation of the aforementioned objectives the Regulation foresees a general framework for measures to be taken:

2.1 General principles of the Food Law

The general principles of the Food Law include the objectives for pursuing a high level of consumer protection, the principle of risk analysis, the precautionary principle, and public consultation during preparation, evaluation and revision of food law. Member States are held to adapt existing legislation as soon as possible but not later than the 1st of January 2007. Until that moment existing national legislation is to be implemented taking the general principles formulated in the new law into account.

The first general objective is termed as "... pursuing one or more of the general objectives of a high level of protection of human life and health and the protection of consumers' interests, including fair practices in food trade ...".

Any legislation to be issued by a member state or the Community should be based on risk analysis, which includes risk assessment, risk management and risk communication. In the preamble to the Food Law it is recognised that scientific risk assessment alone cannot, in some cases, provide all information on which a risk management decision should be based and that other factors relevant to the matter under consideration (e.g. societal, economic, traditional, ethical and environmental as well as the feasibility of controls) should legitimately be taken into account.

In cases where a certain risk for harmful effects on health is identified, but scientific

uncertainty still persists, provisional risk management measures may be taken pending further scientific information. Such measures must be proportionate, no more restrictive of trade than is required for purposes of consumer health protection, and are to be reviewed within a reasonable period of time. This concept is known as the 'precautionary principle'.

Principles of transparency, i.e. the authorities' duty to assure an open and transparent public consultation, are laid down in Section 2 of the Regulation.

2.2 General obligations of the food trade

Importation of foods into the Community and the subsequent distribution and marketing should either comply with relevant Community legislation or with regulations considered equivalent, or, finally, be based on a specific agreement between the Community and the exporting country.

Food and feed exports are to comply with Community requirements or with those of the importing Member State. In other cases, exportation or re-exportation is subject to the importing country's express approval, which may follow only after the relevant Member State has been fully informed why and under which circumstances the food or feed was not allowed on the market.

Finally, under the heading of 'international standards' the objectives and principles of the Community's and Member States' contribution to the development of international standards and agreements (e.g. those addressed by Codex Alimentarius) are defined.

As of the 1st of January 2005, food and feed trade obligations have come into force.

2.3 General requirements of the Food Law

Central in the Food Law with respect to food safety are the following questions: i) "When can a food item be considered as safe?", ii) "Who should be held responsible that food safety is assured?" and, finally, iii) "Who is to take action in the case a food is considered unsafe?".

The general requirement that unsafe foods should not be put on the market is made concrete by indicating when foods are unsafe ("injurious to health", "unfit for human consumption"). As safe are considered those food items that comply with specific food safety provisions of the Community (obviously only with regard to the aspects dealt with in these provisions). Nevertheless, should there be motivated suspicion that a food is unsafe, the competent national authorities can draw up provisions to limit marketing of such foods or issue market recall provisions. Where no specific Community provisions exist, a food is deemed to be safe when it conforms to the specific national provisions of the Member State in whose territory the food is marketed.

For feeds the situation is analogous, i.e. feeds are considered to be unsafe when they have an adverse effect on human or animal health or would render the food derived from food-producing animals unsafe for human consumption.

The food or feed business operators at all stages of production, processing and distribution within the business under their control are responsible for ensuring that foods or feeds satisfy the requirements. The Member States are held to enforce food law and to monitor and verify that all relevant requirements are fulfilled. To the latter end they must maintain a system of official control, other activities of surveillance and monitoring, and they must implement effective, proportionate and dissuasive sanctions.

Regulation (EC) No. 178/2002 includes a section, in which the responsibilities of food and feed business operators are explained and which outlines their duties (to inform, to act, to cooperate, not to prevent) in case a food or feed does not fulfill the requirements. Several situations are distinguished.

Firstly, food business operators who have recognized (or have reason to believe) that a food is not in compliance with the food safety requirements, are held to immediately initiate procedures to withdraw the food from the market ('duty to act') and to inform the competent authorities ('duty to inform'). In cases where the food in question might have already reached the consumer, the operator has to effectively and accurately inform the consumer about the reason for withdrawal ('duty to inform') and, if necessary, to recall the product ('duty to act'). Recall is indicated where other measures cannot assure a high level of consumer protection.

A food business operator responsible for retail or distribution activities, which do not affect the packaging, safety, labelling or integrity of the food, must take non-compliant foods from the market ('duty to act'), provide information necessary to trace the food ('duty to inform' the authorities), and cooperate in the actions taken by producers, processors, manufacturers and competent authorities ('duty to cooperate'). Should an operator have brought a food injurious to the consumer on the market, he is held to immediately notify the authorities ('duty to inform') and not to prevent or discourage any person from cooperating - in accordance with national law and legal practice - with the competent authorities ('duty not to prevent'). In general, food business operators shall cooperate to support the authorities on actions taken to avoid or reduce risks ('duty to cooperate').

Feed operators have an analogous catalogue of duties.

Experience shows that the internal food or feed market does not function well, unless food or feed items can be traced back to their source of origin. Regulation (EC) 178/2002 therefore stipulates that the traceability of foods, feeds, food-producing animals or any substance intended or expected to be incorporated in a food or feed be established at all stages of production, processing or distribution. To achieve this, any food or feed business operator is obliged to identify his suppliers and customers and to have in place systems and procedures to ensure the latter.

Last but not least, the Regulation forbids misleading of the consumer by inappropriate labelling, advertising and presentation of foods and feeds.

As of the 1st of January 2005 the general requirements of food law have come into force.

2.4 The European Food Safety Authority

The European Food Safety Authority (EFSA) established under Regulation (EC) 178/2002 has been in function as of the 1st of January 2002. Its mission is providing "... 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 regulation contains detailed sections on the tasks of EFSA, its organisation, mode of operation, independence, transparency, confidentiality and communication, and its financial provisions.

Meanwhile the EFSA Headquarters have been established in Parma, Italy.

2.5 Rapid alert system, crisis management and emergencies

The previous rapid alert system - laid down in Council Directive on general product safety of 29-6-1992 and encompassing only foods and industry products - has in the form of Regulation (EC) 178/2002 been replaced by a new rapid alert system for food and feed. Member States, the Commission and EFSA participate in the latter system.

In case of emergencies (i.e. a food or feed constitutes a serious risk to human or animal health or to the environment and such risks cannot be contained satisfactorily by measures taken by the Member States concerned) the Commission, at its own initiative or at the request of the Member State, must immediately adopt measures. Where the Commission has not taken immediate action, Member States may adopt interim protective measures.

The Commission, in cooperation with EFSA and the Member States, is to draw up a general plan for crisis management in the field of food and feed safety. This general plan specifies the types of situation involving direct or indirect risks, the practical procedures to manage a crisis, the principles of transparency and a communication strategy. Should the Commission identify that the health risks are not satisfactorily reduced or eliminated by already existing provisions or by emergency measures, Member States and EFSA are to be informed and a crisis unit (in which EFSA participates) to be set up immediately. Said crisis unit is to collect and evaluate all relevant information, to identify all possible measures to deal with the crisis, and to keep the public informed of the risks involved and the measures taken.

The decisions establishing this concept of crisis management came into force as of 21-2-2002.

3. Regulation (EC) 852/2004 on the hygiene of foodstuffs (H1), and Regulation (EC) 853/2004 on specific hygiene rules for the hygiene of foods of animal origin (H2)

Two regulations on the hygiene of food, principally targeted at food business operators (only secondarily at the competent authority) have been issued. Major features of both can be summarized as follows.

Characteristic for 'H1', Regulation (EC) 852/2004 (EC, 2004 a), is that it relates to **all foods**, and it addresses all sectors from stable to table and all stages of production, processing, storage, distribution and export, and designates the food business operators as being primarily responsible for the hygiene of their establishments and the products there produced. Major requirements relate to: i) registration of all food businesses, ii) hygiene requirements (including those at farm level), iii) following a HACCP approach (excluding farm level), iv) adhering to guides of good practice, v) the fulfillment of microbiological criteria (laid down in a separate Decision; see below) , vi) temperature control, and vii) health marking.

Supplementing H1 is Regulation (EC) 853/2004 (EC, 2003; also referred to as H2), which specifically targets operators involved in the production, processing and distribution of **foods of animal origin**. The latter include milk and dairy products, red and white meat, farmed and hunted wild game, minced meat and meat preparations mechanically separated meat, meat products, live bivalve molluscs, fishery products, eggs (and products thereof), frogs' legs, snails, rendered animal fat and greaves, treated stomachs, bladders and intestines, and, finally, gelatin and collagen. Major requirements relate to: i) the conditional approval of establishments, ii) the identification mark by the operator, iii) health marking for red meat carcasses by the official veterinarian, iv) a HACCP based approach , v) (simplified) requirements for slaughterhouses and cutting plants, and, vi) emergency slaughter.

For purposes of adequate implementation of above laws, additional legislation has recently been issued, e.g. Commission Regulation (EC) No. 2074/2005 (EC 2005c) and Commission Regulation (EC) No. 2076/2005 (EC 2005e), that, incidentally, include adaptations of H1 and H2.

Where previously operators were bound to adhere to Commission Decision 2001/471/EC - listing the principles of HACCP, specifying how and where to sample for purposes of microbiological checks and laying down how to separate acceptable from unacceptable test results - these have now partly been included in H1 (HACCP principles) or in new specifications, e.g. Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 (EC 2005b).

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

In the Whitepaper on Food Safety the European Commission announced a Regulation that should represent a common framework for the control systems to be instituted by individual Member States. Major incentives for adapting and harmonizing the existing Community regulations on official control in the feed, food and veterinary sector included discrepancies between different Community laws, control loopholes in certain sectors of the feed and food sector, and efficiency deficits of the control services of the Commission itself.

According to the Whitepaper, the three core elements in the Community framework of legislation on the control of food are: i) uniform EU operational criteria for the national authorities, ii) common control guidelines, and, iii) a stronger administrative cooperation in the development and the operational execution of control systems.

With the adoption and publication of Regulation (EC) No 882/2004 on 29-4-2004 (EC, 2004 d), the European Commission has created the afore-mentioned common framework, taking into account the general objectives of the food law [health protection - here: avoiding risks for humans and animals - and consumer protection]. There are also links with elements of Regulation (EC) 178/2002 (see above), particularly with regard to the definitions, the stipulation that Member States have the basic competence for official food and feed control (see section 2.3 of this contribution) and the rapid alert system/emergency measures (see section 2.5 of this contribution).

The articles in Regulation No 882/2004 can be assigned to three categories: i) rules for official controls by the Member States, ii) rules for the official controls by the Community, and, iii) specifications for their execution.

4.1 Official controls by Member States

The primary competence for official controls lies with the Member States. Their competent authorities are obliged to fulfill a number of operational criteria, to ensure their impartiality and efficiency. For instance, they should have sufficient, suitably qualified and experienced staff and adequate laboratory facilities at their disposal. When a Member State confers the competence to carry out official controls on an authority or authorities other than a central competent authority (regional or local), efficient and effective coordination between all the competent authorities involved should be ensured. Under certain conditions competent authorities may delegate specific control tasks to non-governmental control units.

The Member States are obliged to conduct control activities during all phases of production, processing and distribution and marketing of feeds and foods. These include inspection of i) primary producers' installations, including their surroundings, premises, offices, equipment, installations and machinery, transport, and the feed and

food, ii) raw materials, ingredients, processing aids and other products used for the preparation and production of feed and food, iii) semi-finished products, iv) materials intended to come into contact with food, v) cleaning and maintenance products and processes, and pesticides, and, vi) labelling, presentation and advertising.

The frequency of official controls depends on various factors. Besides a basic routine control program, established risks, experiences and knowledge gained from previous inspections, the reliability of self-control measures of feed and food business operators as well as suspicion of violations or malafide practices need to be considered. Control methods and techniques include monitoring activities, verification, audits, inspection, sampling and analysis.

Control tasks are manifold. They involve particularly the verification of the efficiency of self-control activities of the feed and food business operator, their hygiene controls, the assessment of Good Manufacturing Practices (GMP), Good Hygiene Practices (GHP), good farming practices and HACCP, the examination of documentation and other records relevant for the assessment of compliance, the reading of values recorded by feed or food business measuring instruments, the controls with the competent authorities' own instruments to verify measurement taken by feed and food business operators, and interviews with feed and food business operators and their staff.

Control is to be conducted according to specified documented procedures. To support the staff performing controls, guidelines on the official control - e.g. with regard to the implementation of HACCP principles or Quality Control systems (EC, 2006 Website) - can be made available. The efficiency and efficacy of official controls are also to be tested through verification procedures run by the national competent authorities.

The new control concept assumes great competence and scientific expertise of the control bodies. They must show comprehensive knowledge of the various potential hazards, the market mechanisms and the concrete problems associated with particular processing procedures. The modern control procedures dictate that feed and food control staff are highly qualified, to assure that controls are effective, objective and proportionate. The corresponding necessary education necessitates a multidisciplinary approach. To this end the Regulation foresees the establishment of programmes for education on a national and Community level to ensure that official controls are executed with an EU wide uniform approach. The Regulation includes an extensive list of subjects to be taught in such courses.

Further rules are related to the criteria for sampling and analysis, as well as to Member States' obligation to establish and adapt operational contingency plans, as stipulated in the general plans for crisis management according to Regulation (EC) 178/2002 (see section 2.5 of this contribution).

The existing regulations for the control of goods imported from third countries are extended to include feed and foods of animal- and non-animal origin.

Also the costs of official controls are to be harmonized EU wide. Member States have to ensure that sufficient financial means are made available for the organisation of official controls. The Member States will charge feed and food business operators the costs for 'beyond routine' control activities in the form of control fees, the level of which is to be set according to common EU wide criteria. Similar control fees are to be fixed for feed, food and animal imports from third countries.

In accordance with the stipulations of Regulation (EC) No. 178/2002, Member States are to establish a multiannual control plan according to EU uniform guidelines (see section 7.1.2 of this contribution).

Finally, it is relevant for the veterinary profession to mention that separate legislation has been issued [Regulation (EC) No. 2075/2005 (EC 2005d)] in which the testing for *Trichinella* and the associated procedures have been specified.

4.2 Community controls

The Regulation represents the legal basis for Community experts, to be supported by the Member States, to regularly conduct audits on all feeds and food in the Member States with the main purpose to verify that the official controls by the Member States are in accordance with their national control plans and with Community law (see section 4.1). When necessary, these audits can be supplemented by specific audits and inspections addressing specific sectors or problems. The outcome of such audits and the associated recommendations are reported, whereupon Member States are obliged to take any measures necessary to remedy the situation.

Community control in third countries is based on the following concept. As it is obviously not economically feasible that individual third country enterprises are inspected by Community experts, control bodies in third countries are to guarantee that feed and food exported to the EU comply with Community legislation or with the export country's national legislation deemed equivalent to EU laws. In addition, third countries are held to establish control plans similar to those existing in EU Member States, and these constitute the basis for further audits and inspections by Community experts. Conversely, third countries are allowed to conduct control activities in EU Member States that export to these third countries. Community experts may support third country officials during these controls.

Further decisions relate to the conditions and procedures for the import of feeds and foods from third countries, the training of Member States' and third countries' control staff, and the coordination of Community control activities.

4.3 Enforcement measures

Primarily responsible for enforcing Community regulations are the Member States. For this purpose Regulation (EC) No. 178/2002 stipulates the Member States' obligation to enforce the Food Law and in case of violations to take measures and apply effective, proportionate and dissuasive sanctions (see section 2.3). Regulation (EC) 882/2004 expresses this obligation in factual terms. The Regulation subsequently lists the administrative enforcement measures in case of non-compliance, which range from limiting or prohibiting marketing- or the recall of goods through to suspension of operation, the closing of all or part of the business concerned, up to withdrawal of the operator's licence. In deciding on the sanction, previous violations against the food and feed law are also taken into consideration.

Member States are also to lay down rules on sanctions applicable to infringements of the feed and food law and to take measures to ensure that these are implemented (§ 55).

5. Regulation (EC) No. 854/2004 on official controls of foods of animal origin

In contrast with the previous legal situation, Regulation (EC) No. 854/2004 (EC, 2004 c; also referred to as H3) addresses in one legal act the requirements of official controls of foods of animal origin. For its jurisdiction the Regulation refers to Regulation No 853/2004 as regards the specific rules for the hygiene of products of animal origin (EC, 2004c).

The focus of official control in the context of this Regulation is, on the one hand, verifying the compliance with hygiene rules and, on the other, the product-specific requirements for the protection of human and animal health. The essential element to be audited is the compliance with Good Hygiene Practices and the HACCP systems applied by the food business operators. For businesses requiring approval in accordance with Community law, the Regulation includes the procedures for the granting, surveillance or withdrawal of the approval. In addition to other traceability requirements, the orderly use by these businesses of identification marks is to be controlled.

The nature and intensity of auditing tasks in respect of individual establishments depends on the assessed risk for human and animal health, animal welfare, the type of throughput and the processes carried out, and the food operator's past record as regards compliance with the Food Law.

Actions to be taken in case of non-compliance are specifically indicated, as are the procedures concerning import of foods of animal origin.

The decision who is most competent to conduct audits is principally left to the Member States. However, the competence to inspect slaughterhouses, game-handling

establishments, and cutting plants that distribute fresh meat, is expressly incumbent upon official veterinarians, who may in certain cases be supported by official auxiliaries or slaughterhouse personnel.

The specific control tasks for various products of animal origin are extensively listed in Annexes to the Regulation. In the following, this is illustrated using fresh meat (Annex I) and raw milk and dairy products (Annex IV) as major examples of tasks which the majority of official veterinarians are confronted with in their daily professional life.

5.1 Control tasks of the official veterinarian during fresh meat production

Three specific control tasks [i.e. auditing tasks (Section I, Chapter 1), inspection tasks (Section I, Chapter 2) and health marking (Section I, Chapter 3)] have been formulated for the official veterinarian. In Section II the actions following control are described.

Auditing tasks include the auditing of Good Hygiene Practices, as well as verifying continuous compliance with food business operators' own procedures concerning any collection, transport, storage, handling, processing and use or disposal of animal (by-) products (including specified risk material) for which the food business operator is responsible. In the auditing of the operators' own procedures it is the veterinarian's task to check that meat: i) does not contain patho-physiological abnormalities or changes, ii) does not bear faecal or other contamination, and iii) does not contain specified risk material, except as provided for under Community legislation and has been produced in accordance with Community legislation on TSE's.

Inspection tasks include the following categories: i) collecting and analysing food chain information, ii) ante-mortem inspection, iii) animal welfare, iv) post-mortem inspection, v) specified risk material and other animal by-products, and, finally, vi) laboratory testing.

The official veterinarian has to take into consideration any pertinent information on the food chain (e.g. from the records of the holding of provenance of animals intended for slaughter, official certificates accompanying the animals, declarations by veterinary practitioners and official- and approved veterinarians carrying out controls during primary production, as well as documentation from voluntary quality control systems of operators). Incidentally, Regulation (EC) No. 2076/2005 stipulates that the competent authorities may allow that food chain information is delivered to the abattoir concurrently with the animals to be slaughtered, as long as such procedures do not jeopardize the objectives of Regulation (EC) No. 853/2004.

Within 24 hours of arrival at the slaughterhouse and less than 24 hours before slaughter all animals are to be subjected to ante-mortem inspection by an official veterinarian. Exceptions include emergency slaughter outside the slaughterhouse, hunted wild game, and - in cases where Community legislation allows ante-mortem inspection - at the holding of provenance. The primary objective of ante-mortem inspection is to determine if animal welfare is compromised, or animal/zoonotic

diseases prevail [as listed by the Office International d'Épizooties (OIE)]. In addition to regular ante-mortem inspection, a clinical examination must be carried out in those cases where the operator or the official auxiliary has put aside slaughter animals. Finally, detailed specific rules are listed for the ante-mortem inspection of domestic swine, poultry, and farmed game.

The official veterinarian is to verify compliance with the relevant Community and national rules on animal welfare, e.g. at the time of slaughter and during transport.

Post-mortem inspection includes the viewing of all external surfaces - with minimal handling of the carcass and offal - paying particular attention to the detection of (OIE listed) zoonotic diseases, additional necessary inspection through palpation and/or excision of carcass parts, and mandatory lengthway carcass- and head splitting in certain animal species. Special additional rules are formulated for the post-mortem inspection of carcasses and by-products of cattle under/over 6 months of age, domestic swine over 4 months of age, sheep and goats, domestic solipeds, free-living game, hunted wild game, poultry and rabbits.

Other inspection activities relate to the removal and separation of specified risk material and other animal by-products and, where appropriate, the marking of such products.

Finally, the official veterinarian ensures that, where appropriate sampling for laboratory analysis takes place, samples are appropriately identified and handled, and are sent to the appropriate laboratory for further analysis.

Health marking and the correct application of the marks specified as suitable for the various species is to be inspected by the official veterinarian.

Actions following control include i) the recording and evaluation of inspection activities, ii) informing the operators (both primary producers and food business operators), veterinary practitioners and where necessary the competent authority, should inspection have revealed a disease or condition affecting public or animal health, or compromising animal welfare.

The Regulation formulates a wide range of decisions official veterinarians can take based on their findings. These range from the disposition of additional controls (e.g. in the case food chain documentations do not correspond with the true conditions or are deceptive), denying approval to slaughter animals, ordering additional sampling, separate killing (in case certain diseases are suspected), and declaring carcasses as unfit for human consumption (e.g. when the necessary food chain information is not provided within 24 hours after arrival at the slaughterhouse, or in animals which have been treated with forbidden substances). In addition, specific cases where meat should be declared unfit for human consumption are listed.

Finally, the frequency of official controls have been laid down (see section 7.1.3 of this contribution).

5.2 Control tasks of the official veterinarian during the production of raw milk and dairy products

Two major areas are distinguished: the control of milk production holdings and the control of raw milk upon collection.

In official controls attention is primarily focussed on the animals on the one hand (verifying that the health requirements for raw milk production and in particular the health status of the animals and the use of veterinary medicinal products, are being complied with), and on the other on the milk production holdings themselves (verifying that the hygiene requirements are being complied with, or inspections and/or monitoring of controls carried out by professional organizations). In case of suspicion that the requirements for animal health status are not fulfilled, veterinary checks by official or approved veterinarians are to be carried out (see also sections 7.1.2 and 7.1.3 of this contribution). If a food business operator collecting raw milk has not corrected any non-compliance with the criteria with regard to plate count and somatic count cell count, delivery of raw milk from the holding is suspended or - in accordance with a specific authorisation of (or general instructions from) the competent authority - subjected to requirements concerning its treatment and use necessary to protect public health.

5.3 Professional qualifications for the official veterinarian

Chapter IV of the Regulation stipulates that the competent authority may only appoint individuals as 'official veterinarian', provided they have successfully passed a test showing that they meet the requirements. The latter have been specifically listed, and include, *verbatim*, the following 22 elements:

1. National and Community legislation on veterinary public health, food safety, animal health, animal welfare and pharmaceutical substances.
2. Principles of the Common Agricultural Policy, market measures, export refunds and fraud detection (including the global context: WTO, SPS, Codex Alimentarius, OIE).
3. Essentials of food processing and food technology.
4. Principles, concepts and methods of Good Manufacturing Practice and Quality Management.
5. Pre-harvest quality management (Good Farming Practices).
6. Promotion and use of food hygiene, food related safety (Good Hygiene Practices).

7. Principles, concepts and methods of risk analysis.
8. Principles, concepts and methods of HACCP, use of HACCP throughout the food production food chain.
9. Prevention and control of foodborne hazards related to human health.
10. Population dynamics of infection and intoxication.
11. Diagnostic epidemiology.
12. Monitoring and surveillance systems.
13. Auditing and regulatory assessment of food safety management systems.
14. Principles and diagnostic applications of modern testing methods.
15. Information and communication technology as related to veterinary public health.
16. Data handling and applications of biostatistics.
17. Investigations of outbreaks of foodborne diseases in humans.
18. Relevant aspects concerning TSE's.
19. Animal welfare at the level of production, transport and slaughter.
20. Environmental issues related to food production (including waste management).
21. Precautionary principle and consumer concerns.
22. Principles of training personnel working in the production plants.

Although none of these responsibilities are unfamiliar to the veterinary profession, never before were official veterinarians held by law to be able to execute all of these functions and never before did EU legislation dictate the contents of continuing education for veterinarians in a control function in such detail. In Section 7 of this contribution we will therefore revisit this issue in greater detail.

6. Council Directive 2002/99/EC on animal health rules

In essence, this Directive [(EC 2004 d) considered part of the hygiene package, also referred to as H4] aims at assuring that only those products are brought on the market that originate from healthy animals. To this end, general animal health requirements (and derogations thereof) applicable to all stages of production, processing and distribution of products of animal origin within the Community have been laid down, which are underpinned by veterinary certification and official veterinary controls by EU Member States, and (in case of importation from third countries) by Community experts, which should document that animals and products thereof comply with Community rules.

7. Consequences of the new EU food legislation for the veterinary profession

7.1 Chances and challenges

7.1.1 With regard to the General Food Law

Responsibilities

The General Food Law (Article 17) stipulates the fundamental principle that the food business operators bear the primary responsibility for the safety of their products. This has a clear impact on the veterinary profession.

For the veterinary practitioner it implies that the food business operator (including the farmers) should call upon the veterinary practitioner to give advice on how to produce safe and wholesome foods. This obviously covers the prevention and treatment of diseases, the use of veterinary drugs and general hygiene considerations. Though not very different from the previous situation, the General Food Law explicitly lays down the rules for the various players for the first time in European history. The veterinary practitioners cannot take over the primary responsibility to produce safe from the farmer, their role is clearly that of an adviser.

Article 17 of the General Food Law states that "... the food and feed business operators at all stages of production, processing and distribution within the businesses under their control shall ensure that foods and feeds satisfy the requirements of food law which are relevant to their activities and shall verify that such requirements are met". The role of the competent authority and the official veterinarian is "... to enforce food law and to monitor and verify that the relevant requirements of food law are fulfilled by food and feed business operators at all stages of production". In principle, this impacts on the activities of the official veterinarian in situations where the latter was so far accustomed to act very much 'hands on', e.g. typically in a slaughterhouse setting, where veterinarians traditionally used to personally, or with the help of an auxiliary, carry out all kinds of inspection activities. One might argue that this is no longer in line with the requirement that the operator shall ensure the food safety

requirements of the food law [see the relevant sub-chapter of Regulation (EC) No. 854/2004]. However, ante- and post-mortem activities also play a role in the monitoring and control of contagious animal diseases, which represent a (shared) government responsibility.

Traceability

The requirements of the General Food Law regarding traceability are clearly stated in Article 18, which obliges operators to identify the source (person) of a food, feed, animal, or any substance intended or expected to be incorporated into a food or feed and to have systems and procedures in place to provide this information on demand. This has implications for the veterinary practitioner, who - e.g. when providing a farmer with veterinary drugs - will not only be required to document his own actions but, in general, may be asked by the farmer to assist in fulfilling the legal requirements as regards traceability of, e.g., feed and animals.

7.1.2 As regards Regulation (EC) No. 854/2004 (control of feed and all foods)

The adoption of this regulation introduces new rules for all veterinarians involved in official controls. These are of a general nature but may occasionally clearly affect their activities.

Chain approach

One of the elements of the Regulation is that official controls : ... " shall be carried out at any of the stages of production, processing and distribution of feed or food and of animals and animal products" (Article 3). As a consequence, official controls on live animals cannot be limited to the level of the slaughterhouse, but should, in one way or the other, also cover the farm level. This inherently influences the scope of activities of the veterinary authorities, especially in those Member States, where official veterinarians do not monitor the farm level. However, as further described below, there are possibilities to delegate such control tasks to private veterinarians.

Impartiality

"The competent authorities shall ensure that staff carrying out official controls are free from any conflict of interest" (Article 4.2). This is relevant for situations where official controls are carried out on a part-time basis by private practitioners. The competent authorities shall make sure that these veterinarians do not encounter conflicts of interest. This might require renewed arrangements between official authorities and private practitioners carrying out certain control tasks.

Laboratory capacity

"The competent authority shall also ensure that staff carrying out official controls have, or have access to, an adequate laboratory testing capacity for testing and a sufficient number of qualified staff so that official controls and control duties can be carried out efficiently and effectively" (Article 4.2). This is relevant in situations where official controls are carried out in remote areas, e.g. as is the case for *Trichinella* testing in some regions. However, the European Commission is studying possible solutions for these specific cases.

Co-ordination

Article 4.3 deals with the conferring of the competence to carry out controls to an authority other than a central competent authority, in which case particular care must be taken to coordinate the various control activities. This is clearly relevant for all those Member States (for instance Austria) where the veterinary authorities are regionalized in the framework of federal arrangements. In Article 4.6 it has been laid down that internal audits by the competent authorities, or external audits by a third party, are compulsory. This again requires appropriate coordination measures.

Delegation of controls

Article 5 contains rules for the delegation of control tasks from the competent authority to other control bodies. This could be of interest to the veterinary authorities. For example, it allows them to delegate certain inspection activities at the farm or slaughterhouse level to third, even private, parties. The final decision if this route should be followed lies with the Member States.

Training

Article 6 stipulates that the competent authority shall ensure that all of its staff performing official controls: i) "receive, for their area of competence, appropriate training enabling them to undertake their duties competently and to carry out official controls in a consistent manner", ii) "keep up-to-date in their area of competence and receive regular additional training as necessary", and, finally, iii) "have aptitude for multidisciplinary collaboration".

This is quite relevant for official veterinarians. It does not only confirm the consensus opinion that university training does not suffice for a lifetime career, but also that veterinarians have no legal basis to monopolize control tasks where other professions are also suitably qualified or indeed inherently involved in control.

Article 51 elaborates on transnational EU training activities, which may be organized by the Commission, and to which staff of the competent authorities will be invited. These will serve to develop a harmonized approach to official control in Member States. This is of clear interest to official veterinarians as it allows the exchange of

experience with colleagues from other Member States and promotes the development of common approaches and strategies.

Transparency

Article 7 states: "... The competent authority shall ensure that they carry out their activities with a high level of transparency. For that purpose, relevant information held by them shall be made available to the public as soon as possible". Notwithstanding the premise that a fair collaboration with industry is paramount, and without prejudice of other legal requirements applying in this regard, this does open the possibility of disseminating negative results should the cooperation of industry be insufficient. Informing the public would surely represent a powerful instrument for the official veterinarian to corroborate their actions and a strong incentive for food business operators to improve their performance.

Multiannual national control plans

Article 41 states that each member state shall prepare a single integrated multiannual national control plan. Article 43 further elaborates on this issue. The multiannual control plan shall take account of the guidelines to be drawn up by the Commission, aiming, among other things, at the following: i) promoting a consistent, comprehensive and integrated approach to official controls of feed and food, animal health and animal welfare legislation, and embracing all sectors and all stages of the feed and food chain, including import and introduction, ii) identifying risk-based priorities and criteria for the risk categorisation of the activities concerned and the most effective control procedures, iii) identifying the stages of production, processing and distribution of feed and food, including the use of feed, which will provide the most reliable and indicative information about compliance with feed and food law, and, finally, iv) encouraging the adoption of best practices at all levels of the control system. Multiannual control plans and the related guidelines shall, where appropriate, be adapted on the basis of the conclusions and recommendations contained in yearly Commission reports.

Such control plans obviously integrate the veterinary controls and, more interestingly, places these in the broader perspective of all official controls carried out in the Member States in the field of feed and food. This should allow for fine-tuning the veterinary controls in relation to all other controls and for operating in a more strategic way throughout the food chain, which should have a positive effect on food safety and consumer protection as a whole.

7.1.3 With regard to Regulation (EC) No. 854/2004 (controls of food of animal origin)

General

This Regulation more particularly lays down the specific rules for meat inspection. It therefore impacts in a very direct way on the official veterinarians involved in that type of activities. Although the new rules retain the central role of the official veterinarian, the activities to be carried out change considerably, as they become more risk-based, more chain-oriented, and have the character of gaining oversight rather than necessarily involving hands-on actions. Overall, the role of the official veterinarian becomes more challenging.

Control of the systems put in place by the operator

Under the new hygiene rules (contained in Regulations (EC) No. 852/2004 and 853/2004), food business operators such as slaughterhouse operators are held to put in place Good Hygiene Practices and procedures based on the principles of HACCP. This allows for taking their (primary) responsibility regarding the safety of the products. The official veterinarian will carry out audits and act on weaknesses in the systems.

This is a challenge for official veterinarians involved in meat inspection. To be able to carry out these kinds of audits, they need a clear understanding of how systems work. As, in Europe, the latter is not universally provided by undergraduate University training, additional education is crucial. Furthermore, this type of activity places official veterinarians in another role vis à vis the food business operator, demanding that they acquire better communication skills and adopt a special attitude in their role as auditor.

Food chain information

Animals may only be delivered for slaughter provided accompanied by relevant information from the farm. This must cover all aspects that may be relevant for the safety of the meat, and includes information on animal diseases, the use of veterinary drugs, production data, feed used etc. This so-called Food Chain Information is to be drawn up by the farmers themselves - although they may ask assistance by the private practitioner - and to be passed to the slaughterhouse operator, who subsequently decides whether or not to slaughter the animals. Ultimately, the official veterinarian receives and analyses the Food Chain Information and will put it to use for purposes of inspection.

Assuming this requirement is implemented in such a way that a credible system is created, this would offer official veterinarians much more insight into the slaughter-animals' background, allowing them to carry out inspection in a more risk-based fashion, and would make their tasks more interesting and challenging.

Ante-mortem inspection procedures

The new rules for ante-mortem inspection do not fundamentally change current practice. Ante-mortem inspection should be carried out at the slaughterhouse by official veterinarians themselves (possibly supported by official auxiliaries). However, in certain cases, for example for poultry and fattening pigs, inspection may be carried out at the farm. This may be done by a so-called 'approved veterinarian', i.e. a private practitioner designated by the competent authority. This is another aspect of the 'chain approach' that is being introduced in meat inspection.

The role of the official veterinarian as regards animal welfare is now clearly a part of the meat inspection system.

Post-mortem inspection procedures

The post-mortem inspection procedures for slaughter pigs has been revised on the basis of scientific advice. Fattening pigs may, under certain conditions, be inspected by visual inspection procedures only. However, the official veterinarian may decide that certain palpation or incision activities should be carried out on a routine basis. Furthermore, all (visually) abnormal carcasses should be inspected in more detail by conducting palpation and inspection. In practice, this means that the official veterinarian will have to make an evaluation based on a risk analysis, for each batch of slaughter pigs and to decide whether additional palpation or incision is necessary. This is a major change from the previous situation where all pigs were always inspected in the same way and implies that, in practice, less people will be involved in carrying out routine post-mortem inspection procedures. Ultimately, it might also stimulate farmers to improve husbandry practices.

The post-mortem inspection procedures for other categories of animals, such as sheep, goats and veal calves, are in the process of being revised. We assume that the procedures for these species will be changed as well.

In summary, post-mortem inspection is gradually evolving from a 'standard recipe' to a risk-based set of procedures, with equal or better guarantees for the consumer.

Laboratory procedures

Regarding laboratory activities, certain routine analyses that were previously compulsory may no longer be so in the future, as long as appropriate guarantees are provided for. Probably the best example is *Trichinella* testing. Fattening pigs that originate from certified *Trichinella*-free herds need no longer be investigated for *Trichinella* on a routine basis.

In general, laboratory tests that provide results at least equivalent to the tests described in the new legislation will be allowed for use. Furthermore, the use of alternative approaches that give a better result, e.g. serological testing in the case of Cysticercosis, are being stimulated.

Feedback of information to the farm

All relevant information resulting from inspection shall be fed back by the official veterinarian to the private practitioner and the farmer. This will allow the latter, supported by the private practitioner, to take appropriate measures to prevent reoccurrence of the problem.

This is obviously rather time-consuming and represents an additional burden for the official veterinarian. At the national level appropriate procedures, possibly based on electronic systems and databases, should be developed to make this process as efficient as possible and to guarantee consistency of information.

Presence of the official veterinarian

Without prejudice to various particular cases the rules can be summarized as follows: in slaughterhouses the presence of at least one official veterinarian is required during the entire period of ante- and post-mortem inspection, and in enterprises handling game during the entire period of post-mortem inspection. In cutting plants the official veterinarian or auxilliary has to be present as frequently as necessary to achieve the goals of the Regulation.

Company staff

As was the case previously, the new Regulation allows for the involvement of company staff on post-mortem inspection of poultry and lagomorphs. However, clear requirements are now laid down regarding the training of the relevant company staff.

Training

The new regulations contain specific requirements regarding training of official veterinarians. These are supposed to be well-trained in the elements indicated under Section 5.3 of this contribution.

For certain older veterinarians, or those official veterinarians working on a part-time basis, this extra training may be experienced as a burden. Yet, not only is the training vital to secure appropriate official control, but in general should help to guarantee professionalism of the job, which is similarly demanded of modern slaughterhouse staff. Unless the veterinarian accepts to be looked upon as a costly, inevitable burden to the operator, the veterinary profession is well-advised to shape up and as a result be considered as yielding professionals and worthy counterparts to the companies' own quality assurance staff.

National derogations

The new Regulation provides, under certain conditions, to derogate on a national basis to accomodate specific situations (e.g. remote areas, small plants, traditional

production methods). It also allows for the development of innovative approaches and the preparation of the legislation's revision.

7.2 Why the European veterinary profession needs to shape up

Veterinary public health control structures that have so far been in existence in European countries are diverse, and involve varying (some argue not necessarily proportionate) numbers of veterinarians. Whereas in some European countries only full- or parttime veterinarians are involved in controls tasks such as meat inspection, in others (e.g. in the Netherlands where routine meat inspection is conducted by lay meat inspectors, or in the United Kingdom where the bulk of the meat control activities is traditionally carried out by environmental health officers), a considerable number of non-veterinary auxiliaries already participate in food control (Buschulte and Reuter, 1996; Smulders, 1999). Consequently, the ramifications of the legislation reform for the labour market of veterinarians in a food or feed control function will be distinctly different across Europe.

In countries where their involvement has been limited, job opportunities for veterinarians may indeed be created (the major motivation obviously being that veterinarians - more than any other profession - should by the nature of their education be best qualified to observe the various control functions and to assist in the further development of reliable and adequate control methods). On the other hand, the new legislation implies that, within a very short time, the number of veterinarians (and/or auxiliaries) that up to now were involved in end-product control will decrease significantly. Fortunately, some control functions have shifted to other parts in the food chain and can still be observed by e.g. ('approved') private veterinarians as indicated in Section 7.1 of this contribution and by Lebrun (2004). The latter author sketches how this approach [underpinned by the establishment of a solid quality control system of the private veterinary profession along the lines described by De Bruin and De Ruijter (2004)] could lead to a *de facto* territorial network of competent, logistically independent professionals, acting as *ad hoc* public service agents.

8. Conclusions

8.1 What has been achieved

A coherent, well-structured, set of Community laws on food safety assurance has been issued, which forms the basis for the adaptation on Member State level of national legislation. Responsibilities are now explicitly laid with the producer, and tasks of competent authorities and official veterinarians have been largely restricted to controlling that the requirements stipulated in the law are complied with. This approach promises to offer better opportunities for safeguarding animal health and welfare and to ensure that foods of animal origin are safe and wholesome for the consumer. The changes in legislation have considerable consequences for the veterinary profession.

8.2 What has been neglected

The veterinary profession needs to confront the fact that the legal basis to claim many traditional control functions has been significantly reduced, and that the remaining control functions will only be assigned to veterinarians, provided they can demonstrate their increased competence. Although in most European countries the educational basis for their ability to carry out control functions is in place in the form of curricular core provisions of the various establishments for veterinary training, it must be conceded that the transition from simply providing 'starting competences' to a seamless system of more targeted under- and postgraduate education in veterinary public health has not yet taken place. Such requires the joint efforts of the entire profession, both academic teaching staff and the veterinary professionals working 'on the front'. There is work to be done.

8.3 What needs to be done

At the undergraduate University training level in the area of Veterinary Public Health the above dictates significant curriculum restructuring to assure that a more solid scientific basis for the subsequent postgraduate education of veterinarians in an (official) control function is provided (Smulders, 1999; Korkeala et al., 2003). The European Association of Establishments for Veterinary Education (EAEVE) seems well-advised to insist more explicitly that these curricular elements be firmly based on the requirements formulated in the current legislation on veterinary public health and food safety, as discussed here.

At the continuing education level it is vital that the national competent authorities carefully identify where their postgraduate courses should take over. Currently, working groups in the various European countries are elaborating national continuing education schemes. It would seem prudent for those having been made responsible, to keep in close contact with each other to allow a truly European uniform approach.

Acknowledgement

The Austrian Society of Veterinary Medicine, editor of the *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* (Veterinary Medicine Austria), is gratefully acknowledged for its kind permission to reproduce (translated) parts of publications by Kainz et al. (2004) and Weijtens et al. (2005).

References

- Berends, B.R., Snijders, J.M.A. and Van Logtestijn, J.G., 1993. Efficacy of current meat inspection procedures and some proposed revisions with respect to microbiological safety: a critical review. *Vet. Rec.*, 13, 411-415
- Buschulte, A. and Reuter, G., 1996. Ausbildung und Funktion des Tierarztes im öffentlichen Gesundheitswesen ('Veterinary Public Health') im Bereich der Lebensmittelüberwachung in einzelnen Ländern der EU. In: *Deutsche*

Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG), Proc.: Teil I (Vorträge), 37. Tagung des Arbeitsgebietes 'Lebensmittelhygiene', 30 September-2 Oktober, 1996, Garmisch-Partenkirchen, 344-353.

- Daelman, W., 2002. The EU Food Safety action plan. In: F.J.M. Smulders, J.D. Collins (Eds.) Food Safety Assurance and Veterinary Public Health, Vol 1. Food Safety Assurance in the Pre-Harvest Phase. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, p. 17-22.
- De Groot, S.J. and De Ruijter, T., 2004. Quality control of the veterinary profession in The Netherlands. *Rev. sci.techn. Off. int. Épiz.*, 23 (1), 175-185.
- EC, 2002. Regulation (EC) No. 178/2002 of the European Parliament and the Council of 28 January 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. *Official Journal of the European Union*, Brussels, O.J. L 31/1.
- EC, 2003. Council Directive 2002/99/EC of 16 December 2002 laying down the rules governing the production, processing, distribution and introduction of products of animal origin for human consumption, *Official Journal of the European Union*, Brussels, O.J. L18/11.
- EC, 2004a. Regulation (EC) No. 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004, on the hygiene of foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, Brussels, O.J. L138/1.
- EC, 2004b. Regulation (EC) No. 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004, containing specific rules for the hygiene of products of animal origin. *Official Journal of the European Union*, Brussels, O.J. L139/55.
- EC, 2004c. Regulation (EC) No. 854/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004, containing specific rules concerning official controls on products of animal origin. *Official Journal of the European Union*, Brussels, O.J. L155/206.
- EC, 2004d. Regulation (EC) No. 882/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004, on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and welfare rules. *Official Journal of the European Union*, Brussels O.J. L165.
- EC, 2005a. Regulation (EC) No. 183/2005 of the European Parliament and the Council of 12 January 2005, laying down requirements for feed hygiene. *Official Journal of the European Union*, Brussels, O.J. L35/1.
- EC, 2005b. Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, Brussels, O.J. L338/1.
- EC, 2005c. Commission Regulation (EC) No. 2074/2005 of 5 December 2005 laying down implementing measures for certain products under Regulation (EC) No. 853/2004 of the European Parliament and of the Council and for the organisation of official controls under Regulation (EC) No. 854/2004 of the European Parliament and of the Council and Regulation (EC) No. 882/2004 of the European Parliament and of the Council, derogating from Regulation (EC) No. 852/2004 of the European Parliament and of the Council and amending Regulations (EC) No. 853/2004 and (EC) No. 854/2004. *Official Journal of the European Union*, Brussels, O.J. L338/27.

- EC, 2005d Commission Regulation (EC) No. 2075/2005 of 5 December 2005 laying down specific rules on official controls for *Trichinella* in meat. Official Journal of the European Union, Brussels, O.J. L338/60.
- EC, 2005e. Commission Regulation (EC) No. 2076/2005 of 5 December 2005 laying down transitional arrangements for the implementation of Regulations (EC) No. 853/2004, (EC) No. 854/2004 and (EC) No. 882/2004 of the European Parliament and of the Council and amending Regulations (EC) No. 853/2004 and (EC) No. 854/2004. Official Journal of the European Union, Brussels, O.J. L338/83.
- EC, 2006, Website (HACCP guidelines) visited May 2006, pathway:
http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/hygienelegislation/guidance_doc_haccp_en.pdf
- European Commission, 2000. Whitepaper on Food Safety. COM (1999) 719 final.
- Harbers, A.H.M., 1991. Aspects of meat inspection in an integrated quality control system for slaughter pigs. PhD Thesis, Fac. Vet. Med., University of Utrecht, The Netherlands.
- Harbers, A.H.M., Smeets, J.F.M., Faber, J.A.J., Snijders, J.M.A. and Van Logtestijn, J.G., 1992. A comparative study into procedures for post mortem inspection of finishing pigs. J. Food Prot., 54, 471-475.
- Hathaway, S.C. and MacKenzie, A.I., 1991. Postmortem meat inspection programs; separating science and tradition. J. Food Prot., 54, 471-475.
- Kainz, R., Smulders, F., Luf, W. and Weijtens, M.J.B.M., 2004. Lebensmittelrecht und -kontrolle im Umbruch, Teil A. Rechtliche Grundlagen. Vet. Med. Austria/Wien. Tierärztl. Mschr., 91 (suppl. 1) 13-24.
- Korkeala, H., Lindström, M. and Fredriksson-Ahomaa, M., 2003. Food hygienic research and education in veterinary schools: the presence and the future. Archiv für Lebensmittelhygiene 54, 97-152.
- Le Brun, Y., 2004. Mechanisms for collaboration between public and private veterinarians: the animal health accreditation mandate, Rev. sci. techn. Off, int. Épiz., 23 (1), 69-77.
- Smulders, F.J.M., 1999. Veterinary public health and -food science in Europe; the current status on university education, continuing professional development and specialisation. In: F.J.M. Smulders (Ed.). Veterinary aspects of meat production, processing and inspection; an update of recent developments in Europe. Publ. ECCEAMST, Utrecht, The Netherlands, p. 387-403.
- Smulders, F.J.M. and Paulsen, P., 1999. Reform der Fleischuntersuchung und warum? oder: vorgefasste Meinungen, Wissenschaft und die Leistungsfähigkeit des gegenwertigen Fleischuntersuchungssystems gegenüber zukünftigen Systemen. Vet. Med. Austria/Wien. tierärztl. Mschr., 84, 280-287.
- Weijtens, M.J.B.M., Smulders, F.J.M., Stangl, P.-V., Sterneberg-van der Maaten, T., Kainz, R. and Luf, W. 2005. Fundamental changes in food legislation; Part B: The new EU food safety legislation - consequences for the veterinary profession. Vet. Med. Austria/Wien. Tierärztl. Mschr. 92, 191-195.

Figure 1. Graphic overview of the current (2006) Eu food/feed legislation;

left: primarily targeted at feed business operator,

middle: primarily targeted at food business operator,

right: primarily targeted at competent authority/official Veterinarian.

TÜRKİYE İLE AVRUPA BİRLİĞİ ET VE SÜT ENDÜSTRİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI VE DEĞERLENDİRİLMESİ

Hilal Duygu ÇALIM*

Yakup Erdal ERTÜRK*

**Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü*

ÖZET: AB giriş projesi; 1959 yılında Türkiye'nin üyelik başvurusu ile başlayan ve devam etmekte olan müzakere süreci ile önümüzdeki 10-15 yıl boyunca da ülkemizin gündemini meşgul edecek olan ve sonuçları itibarıyla da çok ciddi bir dönüşüm vaadinde bulunmasından dolayı yüksek beklentiler doğurmuş olan bir projedir. Bu yüksek beklentiler ülkemizde bütün sektörlerde olduğu gibi tarım sektöründe de bazı beklentilere sebep olmuştur. Bu beklentiler hiç şüphesiz AB ülkelerinde ortak tarım politikası ve ürün bazında kurulu olan ortak piyasa düzenlerinin yarattığı ortamın cazibesinden kaynaklanmaktadır. Ancak AB değişen ve gelişen şartlara göre politikalarını sürekli olarak değiştiren dinamik karakteristikte bir yapıdır. AB her genişleme sürecinde yeni üye ülkelere sağladığı imkanları daraltmış ve yeni üyelerin sisteme entegrasyon süreçlerini sancısız atlatabilecekleri politikalar uygulamıştır. Bu durum ülkemiz için de geçerli olacaktır. Bilinmesi gereken müzakere sürecinin sonuçlanacağı 10-15 yıl sonrasında karşılaşacağımız tablonun bugünden oldukça farklı olacağıdır. Bu çalışmada AB'de ve Türkiye'de hayvancılık alt sektörünün temel karakteristikleri ile uygulanan politikalar açısından mevcut durum ortaya konulmaya çalışılarak genel bir değerlendirmede bulunulması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Et, Süt, Avrupa Birliği, Mevzuat

COMPARATION AND EVALUATION OF MEAT AND MILK INDUSTRIES OF TURKEY AND EUROPEAN UNION

ABSTRACT: EU access project is a project that had been started with membership application of Turkey in 1959. This will distract our countries' agenda incoming 10-15 years with negotiation process going on. Due to this project had been made serious conversion promise, it caused high expectations of its results. These high expectations had been caused some expectations in agriculture sector like in all sectors in our country. These expectations also had been emanated from attraction of the condition that had been created by common agriculture policy and common market organization established with in product terms in EU countries. However, EU is a constitution with a dynamic characteristic that changes its policies persistently according to alternating and developing conditions. In every enlargement periods EU had been limited opportunities provided for new member countries and had been implemented policies to get off their integration process painless. This condition will be current for our country. The view that we will meet after 10-15 years from negotiation process will be different from today has to be constructive. In this study to make a general evaluation for current condition of basic characteristics of sub-sectors of livestock and implemented policies of Turkey and EU were aimed.

Key Words: Meat, Milk, Europe Union, Regulation.

1. GİRİŞ

2005 yılı sonunda AB ile başlayan müzakere süreci çerçevesinde, başlanan tarama sürecinde birçok sektör gibi tarım sektörü de Tarım ve Kırsal Kalkınma, Gıda Güvenliği, Hayvan ve Bitki Sağlığı Politikası ve Balıkçılık başlıkları altında taranmıştır. Bu sürecin sonunda AB ile yapılan görüşmelerde Türk tarafı Türk Mevzuatı ve işleyiş kuralları, AB Mevzuatını uygulama kapasitesi, mevzuatlardaki uyumsuzluğun giderilmesi, uyum, uygulama, kurumsal yapı ve istatistiki veriler hakkında bilgi vermiştir. AB tarafı da 1/98 sayılı Ortaklık Konseyi Kararı gereği; AB'den canlı hayvan ve et ithalatı sorununun çözülmesinin birinci derecede önemli olduğunu, Kırsal Kalkınma çalışmalarının geliştirilmesinin ve IPARD Ajansının kurulmasının öncelik arz ettiğini, istatistiki bilgilerin zayıf nokta olarak görüldüğünü, Türk tarım sektörünün yeniden yapılanmada yoğun bir çaba içerisinde olduğu ve bunun desteklendiğini, kurumsal uyumda bazı çalışmaların yapılması gerektiğini (IACS, FADN, Ödeme Ajansı vb.), Türk ve AB mevzuatları arasında bazı sektörlerde önemli ölçüde uyum olduğu (meyve ve sebze), bazılarında kısmi uyum olduğu (şeker) ve bazı sektörlerde de uyumun istenilen seviyede olmadığını (şarap), üretim ve tüketimle ilgili bilgiler ile çeşitli tarımsal kayıtların önemli olduğunu ifade etmiştir. Tarama sürecinin sonrasında AB Komisyonu tarafından taslak tarama raporunun hazırlanması, 25 ülkeden oluşan AB konseyine sunulması, raporun konsey tarafından değerlendirilmesi ve müzakerelerin kararlaştırılması gibi bir seri faaliyet süreci devam etmektedir. Türkiye de, AB mevzuatının etkisinin değerlendirme çalışmaları, mevzuatlar arasındaki farklılığın giderilmesi için eylem planının hazırlanması, danışma gruplarının oluşturularak sürece dahil edilmesi ve uyum sürecinde alınacak kurumsal, idari, teknik, hukuki ve mali tedbirlerin belirlenmesine yönelik çalışmalara başlanılmış ve süreç devam etmektedir (1).

2. Türkiye'nin Avrupa Birliği Üyelik Süreci

Türkiye, 31 Temmuz 1959'da o zaman ki adı Avrupa Ekonomik Topluluğu (AET) olan Avrupa Topluluklar Konseyi'ne ortak üye olmak için başvurmuştur. Türkiye'nin Avrupa Ekonomik Topluluğu'na üyelik için başvurusu 11 Eylül 1959'da kabul edilmiştir. Bu başvuruya bağlı olarak 12 Eylül 1963'de imzalanan ve 1 Aralık 1964

yürürlüğe giren Ankara antlaşması ile tam üyelik için 5 yıl geçiş dönemi, 12 yıl hazırlık dönemi ve son dönem olmak üzere 3 aşamalı bir süreç öngörülmüştür. Geçiş dönemi süresi ve bu dönemde tarım da dahil olmak üzere taraflar arasındaki ticarete geçerli olacak kurallar tespit edilirken, Ortaklık Anlaşması'nın asıl hedefi olan tam üyelik yönünde tamamlanması gerekli olan Gümrük Birliği'nin tesisine yönelik ticaret ve rekabet kuralları dikkate alınmıştır (1, 26).

Mart 1995 tarihli Ortaklık Konseyi Kararı ile 22 yıl süren geçiş dönemi tamamlanmış, Gümrük Birliği için gerekli şartların temin edildiğine karar verilmiş ve 1 Ocak 1996 tarihinde, AB ve Türkiye arasında Gümrük Birliği yürürlüğe girmiştir. Türkiye, Avrupa Birliği'ne üye olmadan gümrük birliğini kabul eden ilk ülke olmuştur. Türkiye-AB ilişkilerinin gelişiminde önemli bir aşamayı temsil eden Gümrük Birliği temelinde, taraflar arasında malların serbest dolaşımını ve üçüncü ülkelere karşı ortak gümrük tarifelerinin uygulanmasını öngören bir entegrasyondur.

10 Aralık 1999 tarihinde Helsinki Zirvesi ile Türkiye tam üyeliğe aday ülke olarak kabul edilmiş ve tam üyelik yolunda yeni bir sürecin içine girilmiştir. Adaylık statüsünün Helsinki Zirvesi'nde teyit edilmesinin ardından, Türkiye'ye sağlanan mali yardım miktarı da artırılmıştır.

Reform sürecinde kaydedilen somut ilerlemeyi takiben, AB Komisyonu, 6 Ekim 2004 tarihinde, Türkiye'nin Kopenhag kriterlerine uyum yönünde kaydettiği aşamaların ve mevcut eksikliklerin saptandığı **İlerleme Raporu**'nu açıklamıştır. Komisyon bu Rapor'da, önceden belirlenmiş düzenlemelerin yürürlüğe girmesi koşuluyla Türkiye'nin siyasi kriterleri yeterli düzeyde karşıladığını belirtmiş ve katılım müzakerelerinin açılması önerisinde bulunmuştur (25).

Bu öneri doğrultusunda, 16-17 Aralık 2004 tarihinde gerçekleştirilen Zirve'de, Türkiye-AB ilişkileri açısından son derece kritik bir noktaya ulaşılmıştır. AB liderleri, Türkiye'nin siyasi kriterleri yeterli ölçüde yerine getirdiğini belirterek müzakerelerin 3 Ekim 2005'te başlaması konusunda anlaşmaya varmışlardır. Avrupa Birliği Devlet ve Hükümet Başkanlarının 17 Aralık 2004 tarihli Brüksel Zirvesi'nde aldığı karar

doğrultusunda 3 Ekim 2005 tarihinde yapılan Katılım Konferansı ile Türkiye resmen AB'ye katılım müzakerelerine başlamıştır. 20 Ekim 2005'te başlayan tarama süreci devam etmekte ve Ekim 2006'da tamamlanması beklenmektedir. Bu aşamadan sonra fiili müzakerelere başlanabilecektir (1,26).

3. Avrupa Birliği'nde Et ve Süt Sektörü

AB (25)'te yaklaşık 306 milyar € olan toplam tarımsal üretim değerinin % 40,4'ünü oluşturan hayvansal üretim değerinin; % 13,7'si sütte, % 9,6'sı sığırdan, % 8,5'i domuzdan, % 2,3'ü koyun ve keçiden, % 2,2'si yumurtadan ve % 4,1'i de kanatlı etinden sağlanmaktadır. AB'de yer alan ülkelerin pek çoğunda tarımsal üretimlerine katkı sağlayan üretim alanları içinde süt ve domuz üretimi ilk sırayı almaktadır. Topluluk içinde yıllık hayvansal üretim değeri 10 milyar Euro'nun üzerinde olan beş ülkenin (sırasıyla Fransa, Almanya, İspanya, İtalya ve İngiltere) hayvansal üretimden sağladığı toplam değer, AB (15)'in üretim değerinin % 73'üne, AB (25)'in üretim değerinin de % 66'sına eşittir (3, 5).

3.1. Süt sektörü

Süt üretimi AB (25) ülkelerinde önemli bir tarımsal faaliyet koludur ve tarımsal üretim değerlerinin % 18,4'ünü oluşturur. Süt üretiminin ağırlıklı olarak Almanya, Fransa, İngiltere, Hollanda ve İtalya tarafından üretilmektedir. AB (25)'de 2005 yılında 136 milyon ton toplam süt üretilmiştir. Bu üretim miktarının 132,5 milyon tonu büyükbaş hayvanlardan elde edilirken, 4,7 milyon tonu küçükbaş hayvanlardan elde edilmiştir. Üretilen sütün 34 milyon tonu içme sütü olarak ve 102 milyon tonu da süt endüstrisi tarafından tüketilmiştir. Süt endüstrisi bu sütün 6,6 milyon tonunu peynire, 2,5 milyon tonunu tereyağına, 1,18 milyon tonunu konsantre süte, 1,17 milyon tonunu yağsız süt tozuna ve 842 bin tonunu süt tozuna işlemiştir. 2005 yılında AB ülkelerinde 23,5 milyon adet süt sığırı bulunmaktadır. Bir laktasyon döneminde sığır başına süt verimi 6 tondur. AB'de 2005 yılında kişi başına peynir tüketimi 17,8 kg, tereyağı tüketimi 4,19 kg ve içme sütü tüketimi ise 79 kg civarındadır. AB'deki en büyük 10 şirketin işledikleri süt miktarları Tablo 1'de gösterilmektedir (19).

Tablo 1. Avrupa Birliği'ndeki En Büyük Süt Ürünleri İmalatçısı 10 Firma

Şirketler	Tipi	Menşei	İşledikleri Süt Miktarı (Milyar Lt)
BESNIER	Özel Sektör	Fransa	6,5
FRIESLAND	Kooperatif	Hollanda	5,9
CAMPINA	Kooperatif	Hollanda	4,7
BONGRAIN	Özel Sektör	Fransa	3,7
MD FOODS	Kooperatif	Danimarka	3,3
AVONMORE WATERFORD	Kooperatif	İrlanda	3,3
NESTLE	Özel Sektör	Çok Uluslu	2,9
SODIAAL	Kooperatif	Fransa	2,7
DANONE	Özel Sektör	Fransa	2,2
ARLA	Kooperatif	İsveç	2,1

AB süt ve süt mamulleri endüstrisi, üretimde, işlemede ve ticarete köklü ve oturmuş bir yapıya sahiptir. Global oyuncu niteliğindeki en az 25 adet süt işleyen şirket, AB'de faaliyet göstermektedir. Bunların 14'ünün merkez ofisleri AB ülkelerinde yer almaktadır. Ayrıca 3.500 adet çeşitli büyüklükte süt işleyen firma, üretilen sütü satın almaktadır. Hollanda, Fransa, İngiltere, Danimarka, İsveç, Almanya, Yunanistan ve Baltık Cumhuriyetleri geleneksel ürünleriyle en önemli üretici ülkelerdir (11, 17, 19, 21,22).

3.2. Sığır ve dana eti sektörü

Avrupa Birliği'nde sığır ve dana eti alt sektörü toplam tarımsal üretimin % 10'una varan payı ile süt ve süt ürünlerinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Son yıllarda AB ülkelerinde sığır ve dana eti üretimi dönemsel dalgalanmalar göstermekle birlikte BSE krizi ile ilgili olarak alınan önlemler nedeniyle azalma göstermiştir. En önemli üretici ülkeler olan Fransa, Almanya, İtalya ve İngiltere toplam AB üretiminin üçte ikisini sağlamaktadırlar. AB ülkeleri 52,2 milyon ton olan dünya sığır ve dana eti üretiminin yaklaşık % 15'ini üretmektedirler. AB'nde 2005 yılında canlı sığır varlığı 85,8 milyon adettir ve 28,5 milyon baş sığır besiye alınmış ve kesilmiştir. AB ülkeleri 2005 yılında 7,86 milyon ton sığır eti üretmişlerdir. Avrupa Birliği sığır ve dana eti sektöründe üretilen toplam etin; % 37'si boğa eti, % 28'i inek eti, % 15'i düve eti, % 10'u öküz eti ve % 10'u dana etinden oluşmaktadır. AB'nde kişi başına sığır eti tüketimi 20 kg iken yeni katılan üyelere sonra bu rakam 17,7 kg'a düşmüştür (7, 11, 20, 23).

3.3. Koyun ve keçi eti

AB, Çin'den sonra dünyanın ikinci büyük koyun ve keçi eti üreticisidir. AB 2004 yılında 90 milyon baş koyun ve 12 milyon baş keçi varlığına sahiptir. AB'de yetiştirilen 90 milyona yakın koyunun önemli bir bölümü İngiltere, İspanya, Fransa, Yunanistan ve İtalya'da yetiştirilmektedir. Keçi varlığının hemen tamamı Akdeniz ülkelerinde (Yunanistan, İspanya, Fransa, İtalya ve Portekiz) yetiştirilmektedir. AB ülkelerinde 2004 yılında 1,06 milyon ton koyun ve keçi etinin % 29'u İngiltere, % 23'ü İspanya, %12'si Fransa ve % 12'si Yunanistan'da üretilmiştir. İthal edilen 277 bin ton etle birlikte toplam 1,29 milyon ton koyun ve keçi eti tüketilmiştir (3, 8, 11).

3.4. Kümes Hayvanları ve Yumurta

AB, 2005 yılında 7,6 milyon ton olan tavuk eti üretimiyle, 58,7 milyon ton olan dünya tavuk eti üretiminin % 12,9'unu gerçekleştirmiştir. AB, 2005 yılında 1,9 milyon ton hindi eti üretimiyle dünya hindi eti üretiminin % 39,8'ini üretmektedir. AB-25'te kişi başına kanatlı eti tüketimi 23,1 kg ve yumurta tüketimi 13,3 kg'dır (11).

3.5. Domuz

AB ülkelerinde 2005 yılında 21,1 milyon ton domuz eti üretilmiştir. Aynı yıl ithal edilen 1,9 milyon ton domuz eti ile birlikte toplam üretimin % 107,6 sını tüketmiştir. AB ülkelerinde kişi başına domuz eti tüketimi 42,9 kg'dır. AB ülkelerinde üretilen toplam etin yaklaşık % 45,8'i domuzdan elde edilmektedir (11).

4. Avrupa Birliğinde Hayvancılık, Et ve Süt Politikalarının Temel Dayanakları

4.1. Ortak Tarım Politikası

Avrupa Birliği'ne üye ülkelerde birliğin kuruluş felsefesine uygun olarak yürütülen tarım politikalarının ortak yönetilmesi esasına dayandırılarak geliştirilen ve AB'nin ilk ortak politika projesi niteliğini taşıyan ve Konsey tarafından Aralık 1960 tarihinde uygulanmasına karar verilen Ortak Tarım Politikası (OTP), Birlik bütçesinin yarısını kullanması bakımından en önemli politikalarından biridir.

AB, Ortak Tarım Politikası'nın karar alma sürecinde alınan kararlar üye ülkeler üzerinde bağlayıcı niteliktedir. OTP'nin fiyat ve pazar mekanizmaları Birlik tarafından belirlenir. Karar alma sürecinde Avrupa Birliği Komisyonu yasa taslaklarını hazırlanması, piyasaların denetlenmesi ve gerektiğinde değişiklik yapılmasından sorumludur. Konsey, AB Komisyonu'ndan gelen yasa tasarıları üzerine karar vermeden önce AB Parlamentosu'na danışmaktadır. OTP'ye ilişkin zorunlu harcamaların niteliklerinin miktar ve içerik yönünden belirlenmesinde son sözü Konsey vermektedir. OTP, üç temel ilkeye dayanmaktadır (26):

- (1)**Tek Pazar ilkesi;** üye ülkelerde tarım ürünlerinin serbest dolaşımını engelleyen kısıtlamaların kaldırılması yoluyla Tek Pazar oluşturulması hedeflenmektedir.
- (2)**Topluluk Tercihi ilkesi,** AB içinde üretilen ürünlerin öncelikli olarak tercih edilmesini içermekte ve bu maksatla AB tarım ürünlerinin ithalata karşı korunmasını, ihracatın ise sübvansede edilmesini gerektirmektedir.
- (3) **Ortak Mali Sorumluluk ilkesi,** OTP'ye ilişkin tüm harcamaların Birlik üyeleri tarafından ortaklaşa üstlenilmesini içermektedir.

AB, OTP'nin uygulanması sürecinde üreticilerinin gelir düzeyini iki ana mekanizmayı kullanarak desteklemeyi amaçlamıştır. Bu mekanizmalar, çiftçinin eline geçmesi hedeflenen fiyatın altında kalmayacak şekilde ithal ürünlere gümrük vergisi uygulanması ve eş etkili vergi uygulamaları yoluyla piyasa fiyatlarının kabul edilen asgari fiyatın veya müdahale fiyatının altına düşmesi halinde arz fazlasını satın alarak piyasaya müdahale edilmesidir. Söz konusu iç pazar desteğinin sağlanabilmesi için Birlik dışından yapılan düşük fiyatlı ithalatın doğuracağı zararın engellenmesi maksadıyla tarım ürünleri ithalatında ürünlerin eşik fiyatın altından girmesini önlemek için değişken nitelikli vergiler ve asgari ithalat fiyatı belirlenmiştir.

Ortak piyasa düzenlerinin hedeflerine ulaşabilmesi için AT Antlaşması Madde 34(4) ile bir veya bir kaç tane Tarımsal Yön Verme ve Garanti Fonu oluşturulması öngörülmüş ve 4 Nisan 1962 tarihinde 25/62 sayılı Tüzük ile ihracat geri ödemelerinin ve müdahale alımlarının karşılanabileceği ve ithalat vergilerinden doğan gelirin aktarılacağı ve Topluluk bütçesinin önemli bir kısmını oluşturan bir fon kurulmuştur. 1964 yılında fona

katılma koşulları belirlenmiş, Topluluk tarafından izlenen pazar ve fiyat politikalarının çeşitli yönleriyle ilgilenen **Garanti Bölümü** ve Topluluğun yapısal politikalarının uygulanması için gerekli önlemlerle ilgilenen **Yön verme Bölümü** adları altında iki kısma ayrılmıştır. Daha sonra 729/70 sayılı Tüzük ile Topluluk bütçesinin bir bölümü olarak **Avrupa Tarımsal Yön verme ve Garanti Fonu** (The European Agriculture Guidance and Guarrantee Fund-EAGGF veya Fransızca Fonds European d'Orientation et de Garanti Agricoles-**FEOGA**) son halini almıştır. Bu Tüzükle fonun idaresine ilişkin mekanizmalar da belirlenmiştir. 729/70 sayılı Tüzük'te bir dizi değişiklik geçirdikten sonra, bugün Ortak Tarım Politikası'nın finansmanı 1 Ocak 2000 tarihinde yürürlüğe giren 1258/1999 Sayılı Tüzük uyarınca gerçekleştirilmektedir (15). Fonun 3 önemli kaynağı bulunmaktadır. Bunlar;

- (1) Ortak piyasa düzeni kapsamına giren ürünlerin ithalatına konan vergiler,
- (2) 1984 yılında Fon'a yönlendirilen Üye Devletlerde tahsil edilmekte olan katma değer vergilerinin % 1.4'ü,
- (3) 1988 yılından itibaren Fon'a aktarılan Üye Devlet GSMH'ları paylarıdır (2, 4, 6).

4.2 Ortak Tarım Politikası Reformları

4.2.1 MacSharry Reformları

1990'lı yıllarda Gümrük Tarifeleri ve Ticaret Genel Anlaşması (GATT) müzakereleri ile birlikte, çevre bilincinin gelişerek ve bir baskı unsuru haline gelmesi OTP'de yeni bir reformu gündeme getirmiştir. Özellikle 1993-2000 yılları için uygulamaya koyulan 5. Çevre Eylem Programı, AB'nin tüm politikalarının çevre koruma ile bütünleştirilmesi için bir çerçeve oluşturmuştur. Bu kapsamda 1992 yılında uygulamaya koyulan MacSharry reformları, OTP'nin işleyişinden kaynaklanan sorunların yanı sıra, dünya ticaretindeki gelişmeleri ve çevre unsurunu da dikkate alarak OTP'nin pazar ve fiyat mekanizmalarında önemli değişiklikler yaratmıştır. MacSharry reformları ile OTP bütçesinde büyük yer tutan tahıllar ve sığır eti destek fiyatları 3 yıla yayılarak, önemli oranda indirilmiş, çiftçilerin gelirlerinde oluşan kayıp ise hektar başına veya hayvan başına doğrudan ödemeler ile karşılanmıştır. Bu bağlamda söz konusu ek tedbirlerle

sağlanan destekler artırılmış, çevre koruma, ormanlaştırmaya ve erken emekliliğe yönelik bazı girişimler Üye Devletler için zorunlu hale getirilmiştir (23, 26).

4.2.2 Dünya Ticaret Örgütü Tarım Anlaşması ve OTP

MacSharry Reformları ile OTP'nin aşırı müdahaleci yaklaşımının değişmesi sonucu, ABD ile AB arasındaki uyuşmazlıklar nedeniyle tıkanan Uruguay Turu müzakereleri tekrar başlamıştır. ABD ile AB'nin kendi aralarında uzlaşmaya vararak imzaladıkları Blair House Anlaşması'nın ardından Nisan 1994'de Marakeş'te imzalanan nihai anlaşma ile Uruguay Turu sona ermiş ve GATT yerini Dünya Ticaret Örgütü'ne (DTÖ) bırakmıştır. GATT'tan çok daha kapsamlı bir yapıya sahip olan DTÖ, Uruguay Turu Anlaşması çerçevesindeki Tarım Anlaşması'nı da içermektedir. DTÖ Tarım Anlaşması, tüm tarife dışı engellerin gümrük tarifesine dönüştürülmesi, ülkeler arasında haksız rekabet yaratan tarım ürünleri sübvansiyonlarının kullanımının sınırlandırılması, ithalat ve ihracatı düzenleyen bu iki önlemi desteklemek amacıyla iç piyasada tarım sektörüne yönelik desteklerin azaltılması olarak sıralanabilecek üçlü bir yapıya sahiptir. Tarife dışı engellerin kalkması ile OTP'nin dış rekabete karşı kullandığı temel koruma mekanizmaları olan eşik fiyat uygulaması ve değişken nitelikli özel vergiler (prelevmanlar), eşdeğer gümrük vergilerine (tarifelere) dönüştürülmüştür.

DTÖ Antlaşması çerçevesinde, dondurulmuş sığır ve dana eti kotası, belirli Dağlık Irklar için kesim amaçlı ithal edilenlerin haricindeki düve ve inekler için bir Birlik Tarife Kotası, Yüksek Kaliteli Kesimler taze, soğutulmuş veya dondurulmuş sığır ve dana etlerinin yıllık kota çerçevesinde ithali, donmuş manda etinin vergisiz ithalatı, donmuş ince etek kotası, işleme amaçlı dondurulmuş sığır eti için tarife kotası ve genç erkek büyükbaş hayvanlar için tarife kotası gibi programlar uygulanmıştır (23,26).

4.2.3 Gündem 2000

Aralık 1995 Madrid Zirvesi'nde Konsey'in isteği üzerine Komisyon tarafından hazırlanan ve 21. yüzyılda AB'nin karşılaştacağı sorunları saptayarak, çözüm önerileri sunan Gündem 2000 metninde, MacSharry reformlarının devamı niteliğinde hazırlanan bir dizi reforma yer verilmiştir. Bu kapsamda; Birlik üreticilerinin iç ve dış alanda

rekabet gücünün artırılması, ürün güvenliğinin sağlanması, tarım toplumunun yaşam kalitesi ve gelir düzeyinin artırılması, çevre korumanın OTP ile bütünleştirilmesi, tarım üreticilerine alternatif iş imkânları yaratılması, tarım alanındaki AB mevzuatının sadeleştirilmesi. 21. yüzyılda OTP'nin işleyişine yön verecek yeni amaçlar olarak saptanmıştır.

Gündem 2000'in getirdiği yeniliklerden biri, üreticilere doğrudan ödeme sağlayan bütün Ortak Piyasa Düzenlemelerini kapsayan bir "Yatay Tüzük" ile üye devletlere bazı yetkiler verilmiş ve sisteme esneklik getirilmiştir. Buna göre üreticilerin doğrudan ödemelerden yararlanabilmeleri için çevre unsurunu dikkate almaları şart koşulmuş, bu şarta uymamaları halinde ödemelerde kısıtlama yapılması, üreticilere ödenmeyen fonların kullanımının üye devletlerin insiyatifinde bulunması öngörülmüştür. 15 Temmuz 1997 tarihinde kabul edilen Gündem 2000 çerçevesinde tarım sektörüne yönelik olarak gerçekleştirilen değişikliklerin kırsal alanlardaki diğer yerel ekonomik faaliyetleri de etkileyeceği dikkate alınarak, kırsal kalkınma tedbirlerinin de geliştirilmesine karar verilmiştir (1).

4.2.4 Ara Dönem Değerlendirmeleri

Ortak Tarım Politikası'nda yapılan reform çalışmaları çerçevesinde, AB Komisyonu, 10 Temmuz 2002 tarihinde genişleme sürecini de dikkate alarak 10 yeni ülkenin katılacağı varsayımı ile OTP'nin gözden geçirilmesine ilişkin bir tebliğ yayınlamıştır (16). Tebliğin amacı, 2004-2006 arası yılların her biri için harcama tavanlarına uygun teklifler hazırlanması ve potansiyel yeni Üye Devletlere göre gerekli düzenlemelerin yapılmasıdır.

Bu tavanlar dahilinde, ortak piyasa düzenleri kapsamındaki ürünlere ilişkin olarak müdahale fiyatının düşürülmesi ve çiftçi kayıplarının karşılanması için telafi ödemelerinin yapılması, doğrudan ödemelerin basitleştirilerek tek bir üretimden bağımsız çiftlik geliri ödemesi haline getirilmesi, çapraz uyum zorunluluğu getirilerek doğrudan ödemelerin çiftçilerin çevre, gıda güvenliği ve kalitesi ile hayvan refahı standartlarına ilişkin gerçekleştirdikleri hizmetler ve uyum şartları temel alınarak gelir desteği alması, gıda güvenliği ve kalitesi ile hayvan refahı konularının OTP ile

bütünleştirilmesi, tarımın tüketiciler tarafından talep edilen ürün ve hizmetlere yönlendirilmesi, çiftçilerin ürünlerinin tüketicilere ve piyasaya yöneltilmesine destek olmak amacıyla ek fonlar oluşturulması, tarımsal gelirin istikrarı ve desteklenmesinin güvence altına alınması, idari işlemlerin hafifletilerek, çiftçilerin çalışmalarına yoğunlaşmaları yönünde desteklenmesi, çiftçilere gelişmekte olan piyasalardan yararlanma imkanı sağlanması, bir çiftlik muhasebe denetim sisteminin getirilmesi, dinamik modülasyon yolu ile doğrudan ödemelerin % 20 oranına kadar azaltılması ve bu yolla elde edilen tasarrufların kırsal kalkınmaya aktarılması, doğal değeri yüksek olan geleneksel üretim sistemlerinin daha çok desteklenmesi, tarımsal çevre önlemleri için yardımın artırılması ve gelişmekte olan ülkelere imkanlar sunan, uluslararası ticarete yönelik modern bir tarım politikası ile tarım ürünleri ticaretine ilişkin uluslararası müzakerelerde daha fazla söz sahibi olunmasına yönelik hedefler vurgulanmaktadır (23, 26).

4.3. Ortak Piyasa Düzenleri

OTP'nın amaçlarına ulaşılabilmesi için, 1962 yılından itibaren Avrupa Toplulukları içinde "Ortak Piyasa Düzenleri" gerçekleştirilmiştir. Ortak Piyasa Düzenleri'nin amacı; üye ülkelerdeki değişik biçimlerde yapılan piyasa düzenlemeleri yerine, ortak bir tarım politikası geliştirmek, üye ülkeler arasındaki ticari ilişkileri geliştirecek şartları temin etmek ve bu sayede mal alış-verişinin serbestçe yapılmasını sağlamak ve Avrupa Birliği içinde ortak bir tarımsal pazar oluşturarak iç pazar ve Birlik üretimini üçüncü ülkelere karşı korumaktır (8, 10, 26). Ortak Piyasa Düzenleri, dört temel kategoriye ayrılmakta olup, hepsi çeşitli piyasa destekleme mekanizmalarını kullanarak, iç pazarın korunmasına yöneliktir.

Bunları aşağıdaki gibi sıralamak mümkündür (17).

- | | |
|-------------------------------------|--------------------|
| ▪ Destek Fiyat | (Ürünlerin % 71,9) |
| ▪ Dışa Koruma Sağlayan Düzenlemeler | (Ürünlerin % 25,0) |
| ▪ Ek Yardımlar | (Ürünlerin % 2,5) |
| ▪ Götürü Yardımlar | (Ürünlerin % 0,6) |

4.3.1 Avrupa Birliği Sığır ve Dana Eti Ortak Piyasa Düzeni

Sığır ve Dana Eti Ortak Piyasa Düzeni'ne ilişkin 17 Mayıs 1999 tarih ve 1254/1999 sayılı Konsey Tüzüğü Topluluk pazar fiyatlarını, belirlenen ortak fiyat seviyesinde olabildiğince tutulmasını hedefleyen fiyat desteği sistemi öngörmektedir. Temel fiyat destek mekanizmaları destekleme alımları, özel depolama, prim ödemeleri gibi iç pazarı destekleme önlemleri ile AB dışından ithalatı etkileyecek önlemler ve üçüncü ülkelere gerçekleştirilen AB ihracatına geri ödemelerdir. Sığır ve dana eti rejimi; canlı sığır ve danalar, taze, soğutulmuş veya dondurulmuş sığır ve dana eti, taze, soğutulmuş veya dondurulmuş ince etek, tuzlanmış, kurutulmuş veya dumanlanmış salamura sığır ve dana eti ve ince etek, yenilebilir sığır ve dana sakatları taze, soğutulmuş veya dondurulmuş, tuzlanmış, kurutulmuş veya dumanlanmış, sığır ve dana eti veya sakatları ihtiva eden diğer işlenmiş veya konserve ürünler ve sığır ve dana eti yağı gibi ürünleri kapsamaktadır (9).

4.3.1.1 Uygulanmakta Olan Fiyat Mekanizması: Avrupa Birliği'nde sektöre ilişkin tüm fiyatlar kayıt altına alınmaktadır. Bunlar; canlı ağırlık referans fiyatı ve ölü ağırlık fiyatıdır.

4.3.1.1.1 Canlı Ağırlık Referans Fiyatı: AB referans fiyatı, haftalık olarak hesaplanmakta ve pazarın durumunu değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.

4.3.1.1.2 Ölü Ağırlık Fiyatı: Üye Devletler karkas sınıflandırması temelinde ölü ağırlık fiyatlarını, müdahale alımlarında belirleyici olmak üzere toplarlar.

4.3.1.2 Karkas Sınıflandırması: Doku ve yağlılık durumuna dayanmaktadır

4.3.1.3 İç Pazar Destek Önlemleri: Konsey hükümleri çerçevesinde, Üye Devletlerde uygun miktarlarda sığır eti alımları yapılabilmektedir. Söz konusu kamu alımları sadece erkek sığırların etleri için geçerlidir. Müdahale alımı fiyatları ihalelerde alınan fiyatlar temelinde sığır eti idari komitesi tarafından belirlenmektedir.

4.3.1.4 Müdahalenin başlatılması ve ihale prosedürleri: Bir Üye Devlette veya Üye Devletin bir bölgesinde ki, AB karkas sınıflandırması skalası temelinde kaydedilen ortalama pazar fiyatı arka arkaya iki hafta boyunca 1,560 ton/€'nun altına düşecek olursa müdahale yapılmaktadır.

4.3.1.5 Müdahale Yoluyla Alınan Sığır Etlerinin Elden Çıkarılması: Müdahale ile alınan sığır etleri İdari Komite'nin kararı ile müdahale kurumları tarafından satılmaktadır.

4.3.1.6 Özel Depolama Yardımı: Özel depolama yardımı belirli bir süre zarfında kendi imkânları ile sığır etini depolamayı kabul eden kişilere yapılan ödemeyi içeren bir programdır. Bu program eti etkin bir şekilde pazardan çekmektedir. Depolama süresinin bitiminde de sığır eti depolayan kişide kalmaktadır.

4.3.1.7 Özel Önlemler: AB pazarında fiyatların belirgin olarak artması veya düşmesi durumunda Komisyon tekrar pazar dengesini sağlayabilmek için gerekli önlemler alacaktır.

4.3.1.8 Doğrudan Ödemeler

4.3.1.8.1 Emziren İnek Primi: Emziren inek primi ilk olarak 1980 yılında süt üreticilerinin gelirlerini yükseltmeden sığır besicilerinin toplam gelirlerini arttırmak amacıyla uygulamaya konmuştur. Sadece etçi ırktan olan veya etçi ırk melezi olan ve sadece et üretimi için besiciliği yapılan buzağılara, süt vermesi için beslenen sürüye ait inekler için prim verilmektedir.

4.3.1.8.2 Özel Sığır Eti Prim Programı: Sığır eti üreticileri için özel sığır eti prim programı kapsamında işletmesinde erkek büyükbaş hayvan yetiştiren bir üretici işletme özel prim alabilmektedir. Her takvim yılı için, yıllık prim tarzında ve aşağıda değinilen yaş sınırlarına göre 90 baş hayvandan fazla olmayan bölgesel tavan limitleri içinde her işletmeye verilmektedir.

4.3.1.8.3 Mevsimden Çıkarma Primi: Üye Devletlerde kesim mevsiminde çok sayıda sığırın kesilmesi piyasadaki istikrarı bozabileceğinden ve özellikle piyasa fiyatlarında düşüşe neden olabileceğinden, kesimlerin yıllık otlatma periyodu dışında yapılmasını teşvik etmek için belirli koşullara bağlı olarak yılın ilk 23 haftasında sezon dışı kesilen hayvanlar için verilen özel prime ilaveten, ayrı bir prim daha verilmektedir. Bir Üye Devletteki kesilen öküz sayısı; bir yılda, toplam yıllık erkek büyükbaş hayvan kesimlerinin % 60'ını geçerse; 1 Eylül-30 Kasım tarihleri arasında, bir yılda, toplam öküz kesimlerinin % 35'ini geçerse, üreticiler başvuru halinde özel prime ilaveten mevsimden çıkarma primi almaya hak kazanmaktadırlar.

4.3.1.8.4 Hayvan Yoğunluğu: Sığır eti özel primi ve emziren inek primleri için başvurular belirlenen azami hayvan yoğunluğuna tabidir.

4.3.1.8.5 Yaygınlaştırma Ödemesi: Sığır eti özel primi ve /veya emziren inek primi alan üreticiler işletmenin hayvan yoğunluğu belirlenen sınırlar içinde ise yaygınlaştırma ödemesinden faydalanabilmektedir.

4.3.1.8.6 Kesim Primi: İşletmesinde büyükbaş hayvan bulunduran üretici, başvuru üzerine kesim primi alma hakkı kazanabilir. Bu prim ulusal tavanlar dahilinde üçüncü ülkeye ihraç veya uygun hayvanların kesimi durumlarında verilmektedir. Üretici tarafından belirlenen bir süre için beslenen 8 aylıktan büyük boğalar, öküzler, inekler ve düveler ve 1-7 aylık buzağılar ile karkas ağırlığı 160 kg'dan az olanlar hayvanlar için kesim primi verilmektedir. Sığircılık alt sektöründe verilen prim miktarları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Sığircılık Alt Sektöründe Verilen Prim Miktarları (EURO)

Yıllar	Erkek sığırlara özel primler		Emziren inek primi	Kesim primi	
	Prime ehil boğalara	Prime ehil öküzler ve yaş gruplarına	Prime ehil Emziren inek başına	Boğa, öküz, inek ve düvelere	Danalara
2000	160	122	163	27	17
2001	185	136	182	53	33
2002 ve sonrası	210	150	200	80	50

4.3.2 Koyun-Keçi Eti Ortak Piyasa Düzeni

AB'nde koyun keçi etine dair OPD ilk olarak 1980 yılında düzenlenmiştir. Bugünkü uygulamada AB koyun keçi eti OPD içinde desteklerini doğrudan ödemelerle yapmaktadır. İşletmesinde dişi koyun veya keçi (en az bir kez doğurmuş veya en az 1 yaşında olan) bulunduranlar, işletmelerinde bulundurdıkları hayvanlar için prim hakkına sahiptir. Keçi primleri ise belli bölgelerde esas olarak keçi, keçi-eti üretimine yönelik ise ve koyun ve keçinin yetiştirilme teknikleri doğadaki ile benzerlik taşıyorsa verilebilmektedir. Her bir işletme için belirlenecek tavanlar çerçevesinde, primler, her bir takvim yılı içinde hayvan başına yıllık ödeme şeklindedir (9).

4.3.3 Kümes Hayvanları Ortak Piyasa Düzeni

Kümes hayvanları OPD, canlı kümes hayvanları, kesilmiş kümes hayvanları (ayaklı başlı bütün, sakatatlı bütün, sakatatsız bütün), kümes hayvanlarının parça ve yenilebilen organları (kemikli, kemiksiz, but göğüs, kanat, ciğer ve sakatat gibi) (taze, soğutulmuş, dondurulmuş, tuzlanmış ve salamura) kümes hayvanları yağı ve hazırlanmış ürünleridir. Aynı şekilde, yumurtanın kabuklu, likit, toz ve türevleri ve hazırlanmış ürünlerini de kapsamaktadır. Oldukça esnek düzenlemelerin olduğu kümes hayvanları ve ürünlerinin piyasa düzenlerinde, piyasa desteklemesi veya müdahale sistemi bulunmamaktadır. Tarım ürünleri konusunda oldukça müdahaleci bir yaklaşımı olan AB, toprağa ve iklim koşullarına bağlı olmaksızın, her bölgede ve her iklim koşulunda sürdürülebilen kümes hayvanları üretiminde sıkı bir desteklemeye gerek duymamıştır. Sadece kümes hayvanlarının temel girdisi durumunda olan yemlik tahıl maliyeti sübvansede edilerek üreticiler dış pazarlara karşı korunmaktadır. Geçtiğimiz yıl AB üyesi 13 ülkede kuş gribi görülmesi üzerine yaşanan kriz üzerine AB komisyonu krizin olumsuz etkilerini azaltmak üzere kümes hayvanları ve yumurta üreticilerine 65 milyon Euro bir destek verilmesine yönelik bir programın başlatılmasını kararlaştırdı (11).

4.3.4 Süt Ortak Piyasa Düzeni

Süt Ortak Piyasa düzeni; tereyağı ve yağsız süt tozu için müdahale fiyatını, tereyağı ve krema, Grana Padano, Parmigiano Regiano ve Provolone peynirleri'ne depolama yardımını, hayvan yemlerine katılan yağsız süt ve süt tozu'na verilen yardımı, toplulukta üretilerek kazein ve kazeinat şeklinde işlenen yağsız sütün, krema, tereyağı ve konsantre tereyağının kâr amacı gütmeyen kurum ve kuruluşlarla pastacılık ve dondurma imalatçıları

tarafından düşük fiyatlarla alımında ve işlenmiş sütün eğitim kurumlarına dağıtımında yapılan yardımı, ürün fazlalarının düşük fiyatlarla satılması için verilen yardımları ve sütçülük primi olarak verilen doğrudan ödemeleri kapsamaktadır (22).

4.3.4.1 Fiyatlar

Süt için bir hedef fiyat, tereyağı ve yağsız süt tozu (YST) için müdahale fiyatı saptanmaktadır. Hedef fiyat bir gösterge fiyatıdır. Müdahale fiyatı ise piyasa fiyatının düşmesi halinde ilgili ülke müdahale kuruluşlarının alım işlemlerine başlayacakları bir fiyat düzeyini gösterir. Ancak alımların başlayabilmesi piyasa fiyatının temsili bir süre içinde müdahale fiyatının %92 sinin altında olması ve ürünün belli koşulları sağlaması halinde olur. Yapılan satın almalar da müdahale fiyatının %90'ından daha düşük bir fiyattan olmaz. Eğer bu temsili süre içinde fiyatlar müdahale fiyatının %90'ına eşit veya fazla olursa alımlar durdurulur.

4.3.4.2 Yardımlar

4.3.4.2.1 Depolama yardımı

Tereyağı ve kremaya yapımına ilişkin bazı özelliklerin yerine getirilmesi durumunda verilir. Yardımın miktarı tereyağının taze ve stok tereyağı fiyatları ve depolama maliyetleri dikkate alınarak belirlenebilir. Komisyon gerekirse depolama kontratı yapılan bir kısım veya tüm krema veya tereyağını tekrar pazarlayabilir. Kamu stokunda bulunan ve bir süt üretim yılı içinde normal olarak değerlendirilemeyen tereyağının bir düzenleme altına alınmasına karar verebilir. Ayrıca Grana Padano, Parmigiano Regiano ve Provolone peynirlerine de depolama yardımı yapılmaktadır.

4.3.4.2.2 Hayvan yemlerine katılan YST'na verilen yardım

Belirli standart özelliklere sahip yağsız süt ve yağsız süt tozu yemlere katıldığında yardıma konu olur. Yardım belirlenirken YST müdahale fiyatı, YS ve YST arzı ve bunların yemlerde kullanım durumu, dana fiyat trendi, ikame proteinlerin piyasa fiyatı trendi dikkate alınır.

4.3.4.2.3 Kazein ve kazeinata çevirmek için yardım

Toplulukta üretilerek kazein ve kazeinat şeklinde işlenen yağsız sütün krema, tereyağı ve konsantre tereyağının (özellikle kar amacı gütmeyen kurum ve kuruluşlarla pastacılık ve dondurma imalatçıları tarafından) düşük fiyatlarla alımında ve işlenmiş sütün eğitim kurumlarına dağıtımında ödenir. Bunun belirlenmesinde YST müdahale fiyatı, kazein/kazeinatın Topluluk ve dünya piyasa fiyatı dikkate alınır.

4.3.4.2.4 Ürün fazlalarının düşük fiyatlarla satılması için verilen yardımlar

Komisyon Kararı ile kar amacı gütmeyen kurum ve kuruluşlar, benzeri statüde askeri güç ve birimler, pastacılık ve dondurma imalatçıları, belirlenen diğer gıda maddeleri imalatçıları, konsantre tereyağının doğrudan tüketimi, eğitim kurumlarındaki öğrenciler (maksimum 250 gr-gün/öğrenci süt eşdeğeri) için bu süt ürünlerinin kullanımı gerekmektedir.

4.3.4.3 Doğrudan ödemeler: Sütçülük primi olarak verilen bu yardımlar ya Topluluk kaynaklarından ya da üye devletlerce ödenmektedir. **Topluluk ödemeleri** bir takvim yılı için süt üzerinden kişisel referans miktarı dikkate alınarak işletme başına ton olarak mevcut ürün üzerinden ödenir. 2005- 2007 yılları arasında artacaktır. Üye ülkeye ayrılan toplam miktar aşıldığında kişisel referans miktarları da yeniden düzenlenir. **Üye devlet ödemeleri** ise ilgili üretim yapı ve koşullarına göre eşit muamele koşullarına uyarak, piyasa dalgalanmalarına bağlı olmaksızın ton başına ek prim veya daimi mera arazisine ha. bazında yapılan ödemelerdir. Yıl boyu kullanılan meralarda sığır ve dana eti ortak piyasa organizasyonu çerçevesinde uygulanan belirli hayvan yoğunluğuna uymak ve o araziler için diğer tarla bitkileri, daimi kültürler, bahçecilik ürünleri ve kuru yemler için verilen yardımlardan yararlanmamak kaydıyla olur. 2005 yılı için bu yardım 350 euro/ha.ı aşamaz. Çizelge'den görüleceği gibi hedef fiyatlar ve müdahale fiyatları zaman içinde düşürülürken, hem Topluluk, hem üye ülkeler tarafından verilen yardımların miktarında artış olmaktadır. Bu da desteklerin fiyat mekanizmasından yardımlara kaydırıldığını açıkça göstermektedir. Toplulukta süt hedef fiyatı, tereyağı müdahale fiyatı ve prim ödemeleri Tablo 3'de gösterilmektedir.

Tablo 3. Toplulukta süt hedef fiyatı, tereyağı müdahale fiyatı ve prim ödemeleri

Yıllar	Süt hedef fiyatı	Tereyağı müdahale fiyatı	Yağsız Süt Tozu müdahale fiyatı	Okul Süt Desteği	Ek prim
	euro/100 kg			euro/ton	
2003-2004	-	328,2	205,52	23,24	-
2004-2005	33,27	305,23	195,24	21,69	8,15
2005-2006	30,91	282,44	184,97	20,16	16,31
2006-2007	28,54	259,52	184,97	18,61	24,49
1 Tem. 2007 sonrası	27,83	246,39	174,69	18,15	-

Süt ürünleri piyasa mekanizmasının önemli bir unsuru olan üretici kotalarında üreticinin kotasını aşması halinde ek bir vergi ile cezalandırılması söz konusudur. Bu hedef fiyatın %115'ine ulaşan bir vergidir.

5. Avrupa Birliği Gıda Mevzuatı

AB; anlaşılabilir "tarladan sofraya" önlemleri ve yeterli düzeyde izleme ile en üst seviyede gıda güvenirligi, hayvan sağlığı ve hayvan refahı ve bitki sağlığı önlemleri ile iç pazarın etkili işleyişini sağlamaktadır.

AB Komisyonu, 12 Ocak 2000'de Beyaz Kitap'ı (White Paper) yayımlanmıştır. Beyaz Kitap daha aktif yeni bir gıda politikası planı ortaya koymaktadır. İnsan sağlığının en üst düzeyde korunmasını amaçlayan bu plan, mevzuatın daha kolay anlaşılabilir şeffaf kurallarla modernleştirilmesini, çiftlikten sofraya kontrollerin güçlendirilmesini ve bilimsel öneri sisteminin etkisini artırmayı hedeflemektedir. Kitapta temel prensip olarak gıda güvenliği yaklaşımının ayrıntılı ve bütünlük olması gerektiğine vurgu yapılmaktadır.

178/2002/EC sayılı ve 28 Ocak 2002 tarihli "Gıda yasasıyla ilgili genel ilke ve şartları belirleyen, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi'ni kuran ve gıda güvenliği konularıyla ilgili işlemleri belirleyen yönetmelik", gıda ile ilgili olarak insan sağlığı ve tüketici haklarının yüksek bir düzeyde korunmasının, özellikle gıda arzının geleneksel ürünleri de içeren çeşitliliğini dikkate alarak gıda güvenliğine ilişkin konularda karar verme sürecine destek sağlamak üzere, ortak ilke ve sorumlulukları, bilimsel dayanak sağlayacak araçları, etkin kurumsal düzenleme ve işlemleri düzenlemektedir. 178/2002/EC'nin getirdiği en önemli gelişme, AB Gıda Otoritesinin (EFSA - European Food Safety Authority) kuruluşunu resmen onaylamasıdır (16).

AB Gıda Otoritesi, Komisyon'un diğer tüm kurumlarından bağımsız ve ayrıca gıda güvenliği üzerinde doğrudan veya dolaylı etkisi olan tüm konularda tavsiye verici, gıda ve

yem güvenliği, bilgi ve risk iletişimi konularında temel bilimsel kaynak olması öngörülmüştür. Gıda Otoritesinin tavsiyelerini dikkate almak, mevzuat önermek ve kabul etmek ile aynı zamanda, gerektiğinde düzenleyici ve kontrol önlemlerini almak AB kurumlarının görevidir. Gıda Otoritesi, ilk üretim safhasından hayvan yeminin güvenliğine, tüketicilere gıdanın sağlanmasına kadar gıda üretiminin tüm aşamalarından sorumludur. Gıda Otoritesi ayrıca, AB'nin beslenme ile ilgili mevzuatı da dahil, gıda ve yem dışı GMO'larla ilgili bilimsel tavsiyeler de verir. Kendi sorumluluk alanına giren konularda halk ile doğrudan temas kurabilir.

Gıda ve Yem Hızlı Alarm sistemi (RASFF), kurulduğu 1979'dan bu yana gıda güvenirliliğini sağlamak için alınan önlemlere yönelik olarak kontrol otoriteleri arasındaki bilgi alışverişini sağlamaktadır.

Komisyon tarafından 5 Şubat 2003'te kabul edilen 2003/52/EC sayılı yönetmelik, AB kontrol sistemi için Üye Ülkeler ve Komisyon arasında sorumlulukların sistematığını ortaya koymakta ve gıda üretim zincirinin tamamen resmi kontrole tabi olması prensibine dayanmaktadır. Yönetmelik üçüncü ülkelerden ithal edilen veya ihraç edilen ürünlerin kontrolüne yönelik genel bir yaklaşımı da içermektedir.

Avrupa Parlamentosu tarafından Nisan 2004'te kabul edilen 882/2004/EC sayılı "Hayvan sağlığı ile hayvan refahı uygulamalarının uygunluğunun doğrulanması için yapılacak resmi kontroller üzerine Yönetmelik" ise, gıda ve yem kanunu olarak adlandırılmaktadır. Bu yeni kontrol sistemi 1 Ocak 2006'dan itibaren uygulanmaya başlanmıştır.

"Hijyen Paketi" olarak adlandırılan ve 29 Nisan 2004 tarihinde yayınlanan 852/2004/EC Sayılı "Gıda maddelerinin hijyeni" ve 853/2004/EC Sayılı "Hayvansal kaynaklı gıdaların spesifik hijyen kuralları" adlı yönetmeliklerden ilki genel olarak gıda güvenliğinin sorumluluğunu birincil aşamadan başlayarak gıda zincirinde yer alan işyerlerine vermekte ve bu sorumluluğun gereğinin yerine getirilmesinde HACCP prensiplerinin ve iyi hijyen uygulamalarının önemine vurgu yaparken, diğeri hayvansal orijinli gıda maddeleri için uygulanacak spesifik hijyen kurallarını belirlemektedir. 854/2004/EC sayılı yönetmelikte insan tüketimine sunulan hayvansal kaynaklı gıdaların resmi kontrollerinin organizasyonu için spesifik kuralları ortaya koymaktadır (24).

Resmi kontrol ve hijyen mevzuatı uygulamalarının 1 Ocak 2006 itibariyle tüm üye ülkelerde başlamasıyla birlikte, AB içerisinde gıda güvenirliliği uygulamaları tam anlamıyla bütünleşmiştir.

Ayrıca ISO 22000 Gıda Güvenliği İşletme Sistemleri-Talepler standardı (HACCP) 2005 yılının Eylül ayından itibaren AB’de zorunlu standart olarak uygulanmaya başlanmıştır. ISO 22000 standardı HACCP uygulamasını üretim süreçleriyle sınırlamamakta, en baştan itibaren gıda tedarik zincirindeki çürükleri bulup çıkartmaktadır. ISO 22000 gıda güvenirliliğini arttırarak güvenli gıda üretimini sağlamakta ve üretim sistemini geliştirerek tüketici memnuniyetini artırmaktadır (15, 16, 18).

6. Türkiye Hayvancılık, Et ve Süt Endüstrisi

6.1. Mevcut Durum

6.1.1. Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvan Varlığı

Ülkemizin büyükbaş hayvan varlığı TÜİK verilerine göre, 10.526.440 baş sığırdır. Bu sığır varlığının 2.354.957 başı (% 22) kültür, 4.537.998 başı (% 43,11) kültür melezi ve 3.633.485 başı (% 34,52) yerli ırklardan oluşmaktadır. Ayrıca 104.965 baş manda varlığı da bulunmaktadır. Ülkemizde işletme başına düşen büyükbaş hayvan varlığı 5,2 baştır (12, 13, 14).

Ülkemizde 2005 yılı verilerine göre üretilen 11.107.896 toplam sütün 10.026.2002 tonu (% 90,26) büyükbaş inek varlığından elde edilmektedir. Bu üretimin 3.596.017 tonu (% 35,87) kültür ırkı ineklerden, 4.646.857 tonu (% 46,35) kültür melezi ineklerden ve 1.783.328 tonu (%17,79) yerli ineklerden elde edilmektedir. Ayrıca 38.058 ton da manda sütü üretilmektedir. Bir laktasyon dönemi için ortalama süt verimi sığırdan 1709 kg, mandadan 960 kg’dır. Kişi başına tüketilen sığır sütü miktarı 134,56 kg civarındadır (12, 13, 14).

TÜİK verilerine göre 2005 yılında üretilen toplam 409.423 ton etin 321.681 tonu (%78,57) sığırlardan elde edilmiştir. Bu etin 26,76’sı kültür ırkı, % 47,08’i kültür melezi ve % 26,17’si ise yerli ırk hayvanlardan elde edilmiştir. Ülkemizde kentleşme süreci ile birlikte büyükbaş hayvan etine olan talep artmıştır. Ortalama karkas ağırlığı 190 kg’dır. Ülkemizde kişi başına tüketilen sığır eti miktarı 8 kg civarındadır(12, 13, 14).

TÜİK verilerine göre 2005 yılında ülkemizde 31.821.789 baş küçükbaş hayvan varlığının % 79,52'si koyun, % 20,48'i keçidir. Ülkemizde 25.304.325 baş koyun varlığının 24.551.972 başı çeşitli yerli ırklardan oluşurken 752.353'ü merinos'tur. 6.517.464 baş olan keçi varlığı ağırlıklı olarak kıl keçisidir. 6.284.498 baş kıl keçisine karşılık 232.966 baş tiftik keçisi mevcuttur. Bölgeler itibariyle küçükbaş hayvancılığımıza bakıldığında koyunculüğün ağırlıklı olarak güneydoğu illerimizde ve yerli hayvanlarla yürütüldüğü Merinos yetiştiriciliğinin ise Ortakuzey olarak adlandırılan illerimizde yapıldığı, keçi varlığımıza bakıldığında da kıl keçisi varlığının ağırlıklı olarak Akdeniz ve Güneydoğu illerimizde bulunduğu Ankara keçisi varlığının ise ağırlıklı olarak Ortakuzey illerimizde yapıldığı görülmektedir. Ülkemizde işletme başına düşen ortalama küçükbaş hayvan varlığı 12'dir. Tablo 4'de Türkiye koyun ve keçi varlığında tarımsal bölgelerin payı (%) görülmektedir (12, 13, 14).

Tablo 4. Türkiye Koyun ve keçi varlığında tarımsal bölgelerin payı (%)

BÖLGELER	KOYUN		KEÇİ	
	Yerli	Merinos	Kıl keçi	Ankara Keçisi
Ortakuzey	7.86	53.43	5.52	70.47
Ege	10.27	13.81	19.99	0.98
Marmara	2.90	8.50	3.27	0.00
Akdeniz	6.58	2.16	26.63	0.02
Kuzeydoğu	14.56	0.03	4.74	0.00
Güneydoğu	33.86	4.27	26.59	7.95
Karadeniz	3.61	1.11	1.38	5.45
Ortadoğu	6.51	0.15	5.88	0.00
Ortagüney	13.85	16.54	6.00	15.13
Türkiye	100.00	100.00	100.00	100.00

Ülkemizde 2005 yılı verilerine göre üretilen toplam sütün 1.043.636 tonu (% 9,40) küçükbaş hayvan varlığından elde edilmektedir. Bu üretimin 789.877 tonu (% 75,69) koyun sütü, 253.759 tonu (% 24,31) keçi sütüdür. Koyun sütünün % 98,03'ü yerli koyun çeşitlerinden elde edilirken, keçi sütünün % 98,62'si kıl keçisinden elde edilmektedir. Ortalama süt verimi bir laktasyon döneminde koyunda 60 kg, keçide 82,4 kg civarındadır. Ülkemizde kişi başına 3,63 kg keçi sütü, 10,81 kg koyun sütü tüketilmektedir (12, 13, 14). 2005 yılında küçük baş hayvanlardan elde edilen etin 73.743 tonu koyun eti, 12.390 tonu ise keçi etidir. Koyun eti üretimi toplam et üretiminin % 18,01'ini karşılar iken, % 3,03'ünü keçi eti üretimi karşılamaktadır. Ortalama karkas ağırlığı koyunda 20 kg, keçide 19 kg civarındadır. Kişi başına tüketilen koyun eti miktarı 3 kg, keçi eti miktarı 0,56 kg civarındadır (12, 13, 14).

6.1.2.Kümes Hayvanları

Türkiye’de tavukçuluk sektörü, en gelişmiş hayvansal üretim dalı olarak kabul görmektedir. Bu sektörde gerek yumurta gerekse piliç eti üretiminde gelineen seviye, gelişmiş ülkeler seviyesinden geri değildir. 2005 yılı TÜİK verilerine göre tavuk eti üretim miktarı 936.697 tondur. Tavukçuluk sektöründe yaklaşık 10.000 et tavuğu (broyler) işletmesi ile 5.000’de yumurta işletmesi faaliyet göstermektedir. 12 milyar adet yumurta üretimi yapılmaktadır. Türkiye’nin hindi eti üretimi son yıllarda hızlı bir artış göstermiştir. TÜİK verilerine göre 2005 yılı hindi eti üretimi 42.709 tondur. Hindi üretiminde damızlık temini tamamen dışa bağımlıdır (12, 13, 14).

Ülkemizde TÜİK verilerine göre 2005 yılı sonu itibariyle 317, 4 milyon adet tavuk bulunmaktadır bunların 257,2 milyon adedi et tavuğu, 60,2 milyon adedi ise yumurtacı tavuktur. Ayrıca 3,7 milyon adet hindi, 656 bin adet ördek ve 1 milyon adet kaz varlığı bulunmaktadır. Ortalama piliç karkası 1,71 kg’dır. Yumurta verimi de tavuk başına 13,1 kg civarındadır. Ülkemizde kişi başına tüketilen tavuk eti miktarı 14,04 kg, yumurta miktarı 8,14 kg (veya 145 adet) civarındadır (12, 13, 14).

6.1.3.Et Endüstrisi

Ülkemizdeki kırmızı et endüstrisinde yer alan kuruluşları incelediğimizde bunların; belediye mezbaha ve kombinaları, özel Sektöre ait mezbaha ve kombinalar, Et ve Balık Ürünleri A.Ş.ne ait kombinalar ve et mamulleri üreten özel sektör tesisleri olduğu görülür. Kırmızı et endüstrisi içerisinde belediye mezbaha ve kombinaları sayısal olarak 803 adet işletme ile ilk sırada yer almaktadır. Ayrıca Et ve Balık Ürünleri A.Ş. ait 10 adet kombina ile özel sektöre ait 96 adet kombina ve mezbaha bulunmaktadır. Et mamulleri üretimi yapan çok sayıdaki özel sektör tesisinde sucuk, sosis, pastırma, füme dil vb. mamul maddeleri üretilmektedir(12, 13, 14).

6.1.4.Süt Endüstrisi

Ülkemizde Tarım ve Köyişleri Bakanlığı gıda sanayi envanterine göre 1000 ton/yıl ve üzerinde üretim kapasitesine sahip 1.300 adet süt ve süt mamulleri işleyen tesis bulunmaktadır. Bu işletmelerin % 6’sı kooperatif niteliğindedir. 1300 adet süt işletmesinin 190 adedi pastörizatöre, 13 adedi ise sterilizatöre sahip olup, geriye kalan işletmeler ise çift cidarlı kazana sahiptir. Üretilen toplam sütün % 35’i çiftliklerde hayvan besleme ve çiftçi

ailesi öz tüketiminde kullanılarak, % 35'i küçük mandıralarda ürüne işlenerek, % 11'i sokak satıcıları tarafından hane halkı tüketimine arz edilirken, sadece % 19'u modern süt fabrikalarında işlem görmektedir (12, 13, 14, 27).

6.2. Hayvancılık ve Gıda Politikaları

6.2.1. Hayvancılık Politikaları

Ülkemizde hayvancılığa yönelik uygulanan politikalar, girdi bazlı destekler, ürün destekleri ve fiyat destekleri şeklinde olmuştur. Girdi bazlı desteklerle yem sübvansiyonu, faizsiz veya düşük faizli besicilik, yatırım ve işletme kredisi verilmesi, suni tohumlama desteklemeleri, veteriner ilaçları sübvansiyonu, damızlık süt ineği sübvansiyonu, yatırım teşvikleri, yem bitkileri üretimi desteği, hastalıktan arınmış işletmelerin desteklenmesi şeklinde olmuştur. Ürün destekleri ise; süt teşvik primi, et teşvik primi ve buzağı teşvik primi verilmesi şeklindedir. Fiyat destekleri ise, geçmişte EBK ve SEK tarafından üreticinin ürünlerini belirlenen fiyattan satın alma yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Dış Satımda Vergi İadesi uygulaması yapılmış ve yerli üretimin korunması için ithalatta gümrük vergileri uygulaması devam etmektedir. Günümüzde Tarıma özelde de hayvancılığa yapılacak destekler Tarım Çerçeve Kanunu ve Tarım Strateji Belgesi (2006-2010) ile düzenlenmiştir (12).

6.2.2. Türk Gıda Mevzuatı

Ülkemizde Cumhuriyet dönemi gıda mevzuatına bakıldığında; 1995 yılına kadar gıda kontrolü hizmetinin, 24 Nisan 1930 tarihinde yürürlüğe konulmuş olan ve bir genel sağlık kanunu niteliğinde olan **1593 Sayılı Umumi Hıfzısıhha Kanunu** ile yürütülmüş olduğu görülmektedir. Bu kanuna göre gıda mevzuatının hazırlanması ve yapılacak gıda kontrolleri için Sağlık Bakanlığını yetkili merci olarak görevlendirmiştir. Buna ilave olarak nüfusu 10.000'den fazla olan belediyelere gıda kontrol hizmetlerini yürütmek üzere, 3 Nisan 1930 tarihinde çıkarılan **1580 Sayılı Belediye Kanunu** ile geçerli mevzuata göre Sağlık Bakanlığı sorumluluğu saklı olmak üzere gıda kontrolü yapabilme yetkisi verilmiştir. Bu nedenle kimi belediyelerin bünyesinde Sağlık, Veteriner, Kūşat ve Zabıta Müdürlükleri gibi birimler oluşturulmuş ve bu hizmetler için önemli miktarda ödenekler ayrılmıştır. Bu arada 1593 sayılı Umumi Hıfzısıhha Kanunu gereği, önce 1942 yılında Gıda Nizamnamesi daha sonra da 1952 yılında da Gıda Maddeleri Tüzüğü (GMT) yürürlüğe konulmuştur. Türkiye'de gıda hizmetlerine yönelik en temel ve yapısal

değişiklikler getiren düzenleme 28 Haziran 1995 tarih ve 22327 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan **560 sayılı Gıdaların Üretimi Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararname** oluşturmaktadır. 560 sayılı KHK, çerçeve bir kararnamedir. Bu kararname gıdaların hammaddeden başlayarak, üretimden son tüketiciye ulaşınca kadar geçen tüm aşamalarını disiplin altına alıp, gıda maddelerinin teknik ve hijyenik kurallara uygun olarak üretilmesini, işlenmesini, muhafaza edilmesini, depolanmasını, taşınmasını ve pazarlamasını sağlamak ve üretici ve tüketici çıkarları ile halk sağlığını korumak amacını taşımaktadır.

5179 Sayılı Gıdaların Üretimi Tüketimi ve Denetlenmesine Dair KHK’nin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanun, 27 Mayıs 2004 tarihinde TBMM’nde yasallaşmış ve 05 Haziran 2004 tarih ve 25483 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe girmiştir. Toplam 41 madde ile 6 geçici maddeden oluşan 5179 Sayılı Kanun Tarım ve Köyişleri Bakanlığını gıda ve gıda ile temasta bulunan madde ve malzemeler konularında üretim, işleme, ihracat ve ithalat aşamalarında yürütülen tescil, mevzuat, denetim ve kontrol hizmetlerinde tek yetkili kamu kurumu kılarak, gıdaya ilişkin tüm hizmetleri tek elde toplamıştır. Yasanın yürürlüğe girmesinden sonra ilk çıkan yönetmelik; **"Gıda ve Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemeleri Üreten İş Yerlerinin Çalışma İzni ve Gıda Sicili ve Üretim İzni İşlemleri ile Sorumlu Yönetici İstihdamı Hakkında Yönetmelik"** tir. Bunu 30 Mart 2005 tarih ve 25771 Sayılı Resmi Gazetede yayınlanan **"Gıda ve Gıda ile Temasta Bulunan Madde ve Malzemelerin Piyasa Gözetimi, Kontrolü ve Denetimi ile İşyeri Sorumluluklarına Dair Yönetmelik"** takip etmiştir. Bu yönetmeliğe göre gıda üretim ve satış yerlerinde HACCP uygulaması zorunlu hale getirilmiştir. Et, süt ve su ürünleri, hazır yemek fabrikaları ile düşük asitli konserve gıdaları üreten işyerlerinin işletmelerinin motor güçlerine ve istihdam ettikleri personel sayısına göre 2008 yılına kadar hijyen kodlarını oluşturarak HACCP uygulamasına geçmeleri gerekmektedir.

Belediyeler Kanunu ile çeliştiği gerekçesi ile Danıştay Genel Kurulu 5179 sayılı yasanın 4. maddesinin uygulanmasını Tarım ve Köyişleri Bakanlığından alıp, Belediyelere vermiştir. Bunun sonucu olarak gıda sicili tutma ve gıda üretim yerlerine çalışma izni verme sorumluluğunu 04 Ağustos 2005 itibari ile Belediyeler yürütmeye başlamıştır. Bunun neticesinde gıda güvenirliliği ve kontrol sisteminde tekrar çok başlılık dolayısı ile tam bir kargaşa meydana çıkmıştır. Gıda sicilinin tek elden tutulması, gıda üretim yerlerine çalışma ruhsatının verilmesi tek elden yürütülmesi gerekmektedir. Bu işlemlerden alınan

harç ve rüsum ödemeleri Belediyelerin bu konuda direnç göstermelerini sağlayan bir cazibe oluşturmaktadır (24).

7. Türkiye'nin Gıda Alanında AB'ye Uyum Çalışmaları

Türkiye-AB arasında müzakereler 3 Ekim 2005 tarihinde başlamıştır. Müzakerelerde gıda sektörünü temel olarak ilgilendiren ve 3 fasılda yürütülecek olan "Tarım ve kırsal kalkınma", "Gıda güvenliği, Veteriner ve bitki sağlığı", "Balıkçılık" konularında "Tanıtıcı" ve ayrıntılı tarama" süreci toplantıları tamamlanmış ve katılım müzakereleri görüşme süreci tamamlanmıştır. Tarama sürecinin sonrasında AB Komisyonu tarafından taslak tarama raporunun hazırlanması, 25 ülkeden oluşan AB konseyine sunulması, raporun konsey tarafından değerlendirilmesi ve müzakerelerin kararlaştırılması gibi bir seri faaliyet süreci devam etmektedir. Türkiye de, AB mevzuatının etkisinin değerlendirme çalışmaları, mevzuatlar arasındaki farklılığın giderilmesi için eylem planının hazırlanması, danışma gruplarının oluşturularak sürece dâhil edilmesi ve uyum sürecinde alınacak kurumsal, idari, teknik, hukuki ve mali tedbirlerin belirlenmesi yönelik çalışmalara başlanılmış ve süreç devam etmektedir (25).

8. AB Üyeliliğinin Etkileri

AB Katılım süreci sayesinde Türkiye'de, hayvanların kayıt altına alınması, hayvan kaçakçılığı, veteriner hizmetleri altyapısının iyileştirilmesi, salgın hastalıkların kontrolü, hayvansal ürünlerde kalite (karkas sınıflandırılması, sütte yağ, protein kuru madde oranları) ve hijyen (kimyasal kalıntı, bakteri yükü, somatik hücre vb), pazar fiyatının istikrarı, Türkiye'ye özgü et ve süt ürünlerinin (pastırma, sucuk, Urfa peyniri, örgü peyniri, Mihaliç peyniri vb) kalite ve hijyenik kriterleri açısından geliştirilmesi, kırmızı et, beyaz et ve süt üretiminde görülen mevsimsel dalgalanmaları önleyici müdahale kurumlarının kurulması suretiyle hayvansal ürünlerde yaşanan fiyat dalgalanmalarını önemli ölçüde önlenilebileceği, Sektörde oluşacak istikrarın yatırımcıları cesaretlendireceği ve sektöre yatırım yapabileceği ve işletme ölçeklerinin iyileştirilmesine yönelik önemli gelişmelerin yaşanacağı tahmin edilmektedir.

Buna karşılık geleneksel aile işletmelerinin bu süreçte giderek azalacağı, bu şekilde tarımdan çıkan nüfusun sosyal problemler doğurabileceği düşünülmelidir. AB uygulanan süt kotasının ülkemizde süt üretimine konulması bazı problemleri ortaya çıkaracaktır. AB, bu uygulamada Türkiye'nin ürettiği süt miktarı (DİE rakamları) yanında, bölgenin nüfus

yoğunluğu, iç tüketim/kendine yeterlilik, süt ve ürünleri dış ticareti gibi kriterleri dikkate almaktadır. Süt sektöründe var olan ciddi orandaki kayıt dışılık ve güvenilir olmayan istatistikler nedeniyle gerçek üretiminin tam yansıtılamaması Türkiye'yi gerçek üretiminin çok altında bir süt kotası alma riski ile karşı karşıya bırakabilecektir. Ayrıca hayvancılık yapan kesimin eğitim seviyesi gibi problemle, kalite ve hijyen konularındaki bilgisizlik, işletme ölçeklerinin çok küçük olması gibi unsurlar eğer zamanında tedbir alınarak çözülmezler ise sektörü rekabet edemez hale getirip devre dışı bırakabilecektir (9,12).

9. Sonuç ve Öneriler

Ülkemiz hayvancılığına genel olarak baktığımızda; AB dışındaki potansiyel pazarlara yakınlık, hayvansal üretim açısından farklı üretim biçimlerine uygun ekoloji, tüm toplum katmanlarının AB ile ilişkiler nedeniyle hayvancılıkta yeni yapılanma beklentisi, genetik materyal çeşitliliğinin ülkemize özgü hammadde potansiyeli ve ürün çeşitliliğine imkan sağlaması, hayvan varlığının sayısal çokluğu, işgücü maliyetinin nispeten düşük olması, halen kişi başına yetersiz hayvansal ürün tüketiminin gelecekte yaratacağı yüksek talep ihtimalinin varlığı, yetişmiş teknik eleman (Veteriner, Ziraat Mühendisi, Gıda Mühendisi vb.) sayısının yeterliliği hatta fazlalığı, tarım dışı sektörlerdeki yeni yatırım imkanlarında görülen daralmanın hayvancılığı daha cazip bir yatırım haline getirmiş olması gibi güçlü yönleri bulunmakla birlikte, güvenilir istatistik toplamada yaşanan problemler ve kayıt dışı hayvancılığın varlığı, kaliteli kaba yem üretimi ve meraların yetersizliği, karma yem hammaddesi iç piyasa fiyatlarının yüksekliği, fiyat istikrarsızlığı, yetersiz örgütlenme, hayvan hastalıkları, hijyen ve kaliteye ilişkin sorunlar, verim düşüklüğü, birim üretim maliyetinin yüksekliği ve işletme büyüklüğünün yetersizliği, araştırmacı, yayımcı ve üretici arasındaki bilgi akışının yetersizliği gibi zayıf yönleri de bulunmaktadır.

Ülkemiz hayvancılığının dolayısı ile hayvancılıktan hammadde sağlayan süt ve et endüstrisinin elinde, AB'ye üyelik sürecinin başlamasının itici gücü (Gıda güvenliği, sınır kontrolü, hayvan sağlığı, hayvancılık vb konularla ilgili gelişmeler), Türkiye'nin coğrafi konumu ve jeopolitik önemi, hayvan varlığının sayısal olarak yüksekliği, organik hayvancılık için potansiyelin mevcut olması, son yıllarda hayvancılığa yapılan desteklemelerde görülen artışlar, hayvansal ürünlere olan talebin artacağı beklentisi, hâlâ ıslah edilebilir mera varlığına sahip olunması, flora zenginliği, ham madde ve ürün çeşitliliğinin fazla olması, yetişmiş eleman ve işgücü potansiyelinin yüksek olması ve yatırım isteğinin olması gibi önemli sayılabilecek fırsatlar da mevcuttur.

Türkiye gıda alanında çıkardığı kanun ve yönetmeliklerle AB'ye uyum yolunda adımlar atmaktadır. Bu bağlamda bakıldığında AB üyelik müzakere süreci ülkemiz hayvancılığına, süt ve et endüstrisinin geleceğini belirleyecek önemli değişimler getireceği görülmektedir. Öncelikle gıda mevzuatı değişerek gelişmesinin yanı sıra hayvancılık cazip bir yatırım alanı olarak destek görmeye başlamıştır. Hayvancılık ve gıda sanayindeki dönüşüm, AB'nin şartlara göre değişebilen dinamik yapısı dikkatle takip edilerek gerçekleştirilmelidir. Uyumun sosyo-ekonomik dengeler gözetilerek büyük sarsıntı ve yıkımlar yapılmadan gerçekçi ve akılcı bir sistematik ile hayata geçirilmesi gerekmektedir. AB'ye katılım sürecinde süt ve et sanayinin gelişmesi ve rekabet edebilir hale getirilmesi için, öncelikli olarak tarım ve sanayi entegrasyonun sağlanması yolu ile sanayinin ihtiyaç duyduğu kaliteli ve standartlara uygun bitkisel ve hayvansal hammaddenin temin edilmesi, işletmelerde üretim girdi maliyetlerinin düşürülerek tarımsal hammaddelerin dünya fiyatlarıyla temininin sağlanması, kayıt dışılığın ve kaçakların azaltılması, sanayinin bilim, teknoloji ve AR-GE'ye dayalı faaliyetlerinin geliştirilmesi, laboratuvar hizmetleri ve araştırmaları yürüten kurum ve kuruluşların sayısının artırılması, bu kuruluşlarda iyi yetişmiş personel istihdam edilmesi, alt yapı ve teknik donanımlarla güçlendirilmesi, EUROCAP, ISO 9000, ISO 22000 (HACCP), gibi gıda güvenliği ve kalite sistemleriyle ilgilenen kurum ve kuruluşlar arası koordinasyonun sağlanması ve bu sistemlerin kullanımının yaygınlaştırılması, üretimden tüketime izlenebilirliğin ve gıda denetiminin artırılması, üretici ve tüketici haklarını koruyarak gıda güvenliğinin sağlanması gerekmektedir.

Ayrıca süt ve et endüstrisinde yer alan KOBİ'lerin ve Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü'ne bağlı olarak faaliyet gösteren Araştırma Enstitüleri ve İl Kontrol Laboratuvarlarının AB'nin araştırma çerçeve programlarından özellikle yakında başlayacak olan 7. çerçeve programından daha etkin faydalanmaları süt ve et endüstrisinin ihtiyaç duyduğu yeni bilgi ve bulguların karşılanmasını sağlayacaktır. Bu bakımdan AB fonlarından yeterince etkin faydalanılması yönünde tedbirlerin alınması gereklidir.

AB'ne üyelik süreci diğer sektörlerde olduğu gibi tarım sektöründe de bazı yüksek beklentilere sebep olmuştur. Bu beklentiler hiç şüphesiz AB ülkelerinde ortak tarım politikası ve ürün bazında kurulu olan ortak piyasa düzenlerinin yarattığı ortamın cazibesinden kaynaklanmaktadır. Ancak AB değişen ve gelişen şartlara göre politikalarını sürekli olarak değiştiren dinamik karakteristikte bir yapıdır. AB her genişleme sürecinde yeni üye ülkelere sağladığı imkanları daraltmış ve yeni üyelerin sisteme entegrasyon

süreçlerini sancısız atlatabilecekleri politikalar uygulamıştır. Bu durum ülkemiz için de geçerli olacaktır. Bilinmesi gereken müzakere sürecinin sonuçlanacağı 10-15 yıl sonrasında karşılaşıacağımız tablonun bugünden oldukça farklı olacaktır. Onun için AB uyum süreci hayvancılık, et ve süt endüstrisinin yapısına uygun, iyiye kaliteye ve güvenilir olana yönelik akılcı ve gerçekçi olan tercihlerle yürütülmelidir.

Kaynaklar

1. Anonim. 2006. ABGS Kayıtları, www.ABGS.gov.tr.
2. Anonim. 2000. The CAP reform: Milk and Milk Products, Fact Sheet, Publication Office, European Commission Directorate-General for Agriculture, Brussels.
3. Anonim. 2004. The Meat Sector in the European Union, Fact sheet (954204), Publication Office, European Commission Directorate-General for Agriculture, Brussels.
4. Anonim 2006. Simplification of the common, agricultural policy, Fact sheet, Publication Office of the European Communities, Germany.
5. Anonim 2004. The Milk Sector http://europa.eu.int/comm/agriculture/index_en.htm
6. Anonim 2004. Report from the Commission to the Council and the European Parliament, Commission of European Communities, Brussels.
7. Anonim. 2005. FDF's WTO Priorities for the Meat Sector, Food and Drink Federation, www.fdf.org.uk.
8. Anonim. 2005. Sığır-Dana, Koyun ve Keçi Eti Ortak Piyasa Düzeni Alt çalışma Grubu Raporu 2005
9. Anonim. 2005. Sığır-Dana, Koyun ve Keçi Eti Ortak Piyasa Düzeni Alt Çalışma Grubu Raporu. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara.
10. Anonim. 2006. Agricultural commodity markets past developments and outlook, European Commission, Directorate General For Agriculture and Rural Development, Directorate G. Enomics analyses and Evaluation, Agricultural trade policy analysis, Italy.
11. Anonim. 2006. Foreign Agricultural service PSD online database records www.fass.usda.gov
12. Anonim. 2006. Hayvancılık Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Dokuzuncu Kalkınma Planı, DPT, ANKARA.
13. Anonim. 2006. Tarım İstatistikleri Özetleri, TÜİK, ANKARA
14. Anonim. 2006. Tarımsal veriler, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Strateji Geliştirme Başkanlığı, ANKARA

15. Anonim. 1999. Council Regulation (EC) No 1258/1999 of 17 May 1999 on the financing of the common agricultural policy. Official Journal L 160 , 26/06/1999 P. 0103 – 0112.
16. Anonim. 2002. Communication from the Commission to the Council and the European Parliament: Mid-Term Review of the Common Agricultural Policy - COM(2002) 394 final. Brussels. 10.7.2002 COM (2002) 394.
17. Anonim. 1992. Agriculture in Europe (Development, Constrains and Perspectives). European Commission, Luxembourg s 45.
18. Anonim. 1999. Council Regulation (EC) No 1254/1999 of 17 May 1999 on the common organisation of the market in beef and veal, Official Journal L 160, 26/06/1999, p.21
19. Bessey, M. and Wilson, B. Europe's Dairy Industry.
20. MAHON, G. and WEILER F. 2006. EU cattle populations in December 2005 and production forecasts for 2006, Statistic in focus, Agriculture and fisheries, Eurostat, Luxembourg.
21. McRITCHIE, S.. 2005. Europe shrinks to expand, dairy industry, Industry Overview, http://www.findarticles.com/p/articles/mi_m3301/is_1_100/ai_53889338
22. NORVAL, A.F. and POLET, Y. 2006. EU-25 Dairy and Products Semi-Annual 2006, Gain Report. USDA Foreign Agricultural Service, Brussels.
23. ÖZGÜL, T. 2001. Avrupa Birliği Sığır ve Dana Eti Ortak Piyasa Düzeni ve Türkiye'nin Uyumu, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Yayınlanmamış AB Uzmanlık Tezi, Ankara
24. ÖZTAN, A. ve KAHRAMAN, M. (2005), Gıda Mevzuatı ve Avrupa Birliği Entegrasyonu www.ggd.org.tr
25. PERACHINO, S. And VEIDAL, A.. 2003. Country Report Turkey, Agricultural Situation in the Candidate Countries, European Commision, Directorate- General for Agriculture, Brussels.
26. TAN, S. ve DELLAL, İ. 2001. Türkiye ve Avrupa Birliği İlişkilerinde Tarım ile İlgili Son Gelişmeler ve Tam Üyeliliğin Türk Tarımına Etkileri, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Yayınları, Ankara.
27. VOORBERGEN, M. 2004. The Turkish Dairy Sector.

GIDA GÜVENLİĞİ

Ümit GÜRBÜZ¹

Mukadderat GÖKMEN²

Emrah TORLAK²

¹ Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Konya, Türkiye

² İl Kontrol Laboratuvarı, Konya, Türkiye

Özet

Günümüzde gıda güvenliği bütün gelişmiş ülkelerde ulusal bir mesele olarak algılanmaktadır. AB’de 2006 yılında daha yüksek standartlı gıda güvenliği yasasını yürürlüğe koymuş bulunmaktadır. Güncelleştirilen bu gıda ve beslenme yasası AB’deki gıda güvenliği açısından kilometre taşı olarak kabul edilmektedir. Yeni sistem gıda hijyen paketi, mikrobiyolojik kriterler, beslenme, gıda denetimi gibi konuları kapsamaktadır.

Gıda güvenliği yaşam kalitesinin temel unsurlarından birisi olarak kabul edilmektedir. Yaşam kalitesini yükseltme çabaları, güvenli gıda üretimini sağlayan metot ve uygulamaları önemli hale getirmektedir. Gıda üretiminin ve tüketiminin tüm aşamalarında kalite bütünlüğü ve onun en önemli unsuru olan gıda güvenliği tüm insanlık için bir ihtiyaçtır. Gıda güvenliğini etkileyen tüm tehlikeler biyolojik, kimyasal, fiziksel bulaşmalardan ve üretim esnasındaki bazı hatalı uygulamalardan kaynaklanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Gıda güvenliği, kalite, hijyen, AB yasası

Abstract

FOOD SAFETY

In Today, food safety is perceived as a national matter in whole developed countries. In 2006, the food safety law which has higher standarts has been bring into force by EU. This current law which is related with food and also nutrition is accepted as a kilometer stone in terms of food safety in EU. New system food hygiene package covers the subjects which are microbiological criteria, nutrition and food control.

Food safety is accepted as an essential elements of life quality. The efforts to increase the life quality makes very important the methods and practices which provides the safety food production. The wholeness of quality which take place in all stages of food production and consuming and an important element of this matter named as food safety is a need for whole humanity.

The all hazards which effect the food safety are resulted from the biological, chemical and physcal contamination and result from some wrong application in the stage of production.

Keywords: Food safety, quality, hygiene, EU law

1.Giriş

Gıdaların insan sağlığı açısından güvenilirliği günümüzde bütün dünyada ulusal bir mesele olarak algılanmaktadır. Son yıllarda pek çok ülkede, üretim maliyetlerinin düşürülmesi, verimliliğin artırılması, ihracat ve ithalatın geliştirilmesi yönünde her gıdanın niteliklerine uygun üretim sistemleri geliştirilmekte ve uygulanmaya konmaktadır.

İnsanların gıdalarla karşı karşıya bulunduğu sorunların tümü gıda güvencesi (food security), gıda güvenliği (food safety) başlıkları altında toplanmaktadır. Gıda güvencesi her insanın ruhsal ve bedensel sağlığı için gerekli, yeterli ve dengeli gıdaya erişme hakkı olarak tanımlanmaktadır.

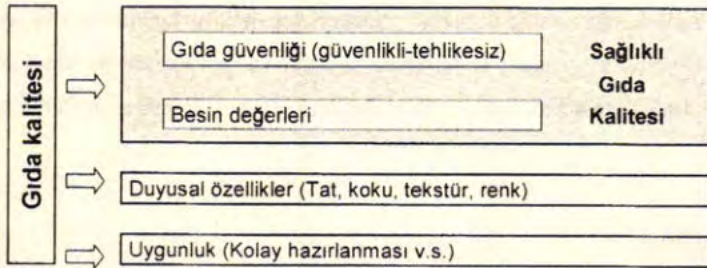
Türkiye’de gıda endüstrisi açısından son yıllarda hızlı gelişmeler kaydedilmiştir. Ancak güncel değişiklikler bu gelişmelerin daha da ileri götürülmesini zorunlu kılmaktadır. Avrupa Birliği çerçevesinde Türkiye’yi, iç ve dış pazarlarda önemli piyasa rekabeti koşulları beklemektedir. Bu boyuttaki bir rekabeti sürdürebilmek için Türkiye; güvenli, sağlıklı, kaliteli gıda üretme zorunluluğu yanında, kalite yönetim sistemlerini kurabilmeli ve aynı zamanda modern teknolojileri uygulayan, endüstriyel gelişimi takip edebilen bir nitelikte olmalıdır. Aksi takdirde Türk gıda sektörü iç ve dış pazarlarda rekabet edebilme gücünü önemli ölçüde kaybedebilir.

2. Gıda Güvenliği

Gıda güvenliği, gıdaların tüketim için uygunluğu ve tüketicilerin gıda kaynaklı sağlık risklerine karşı korunması olarak tanımlanır. Gıda güvenliğini etkileyen tüm tehlikeler, biyolojik (örn; parazitler, bakteriler, viruslar, küfler, algler, prionlar), kimyasal (örn; pestisitler, antibiyotikler, veteriner ilaçları, toksik mineraller, gıda katkı maddeleri vs), fiziksel (örn;cam, taş, tahta parçası vs) bulaşmalardan ve üretim sırasındaki bazı hatalı uygulamalardan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle “gıda güvenliği” gıda zincirinde görev alan herkesin (tüketiciler, yöneticiler, yetiştiriciler, üreticiler, dağıtımıcılar ve medyanın) üzerine düşen sorumluluğu yerine getirmesiyle sağlanabilir.Gıda güvenliği ve kalitesi gıda endüstrinde gıda güvenliği ve kalite programları uygulanarak düzenlenebilir (1,5).

Gıda güvenliği ve kalitesi, gıda kalitesi, sağlıklı gıda kalitesi, gıda güvenliği, gıdanın duyuşal nitelikleri ve uygunluk gibi nitelikleri içine almaktadır. Gıda kalitesi, gıdaların duyuşal ve besleyicilik niteliklerini ve tüketici sağlığı için güvenli ve uygun olması gibi kriterlerin toplamı olarak tanımlanabilir. Bu nedenle, gıda kalitesi gıda güvenliğinden daha kapsamlıdır. Gıda güvenliğinin gıda kalitesinden en önemli farkı, müşterilerin güvenli gıda satın alma hususunda isteklerini karşılayan yasal düzenlemelerin yapılmış olmasıdır (2).

Dünyadaki bütün yönetimler, çeşitli gıda tehlikeleri ve riskleri konusunda artan tüketici kaygıları ve çok sayıdaki problemlere çözüm bulmak amacıyla gıda güvenliğini geliştirmeye yönelmişlerdir. Ayrıca gıda kalitesi ile sağlıklı gıda kalitesi arasındaki fark da önemlidir. Gıda kalitesi bütün nitelikleri içine alan geniş bir anlayışa sahip iken, sağlıklı gıda kalitesi, yalnızca sağlıkla ilgili özellikleri (güvenlikli-tehlikesiz ve besleyici değerler) kapsamaktadır. Bu nedenle gıda kalitesi, sağlıklı gıda kalitesinin özelliklerine ilave olarak, gıdanın duyuşal (tat, koku vb.) ve uygunluk (kolay hazırlama vb.) niteliklerini de içine de almaktadır (Şekil 1) (12).



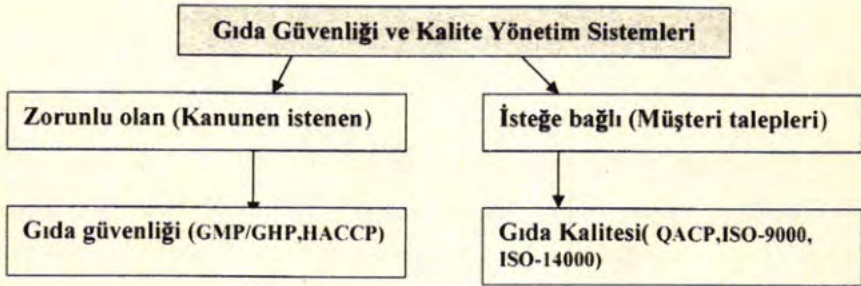
Şekil 1. Gıda kalitesi, sağlıklı gıda kalitesi ve güvenliği arasındaki ilişki

2.1. Gıda Güvenlik Sistemleri

Gıda ürünlerinde üstün kalite niteliklerini korumak amacıyla kalite güvence sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemler, gıdaların özellikle üretim ve dağıtım aşamalarında ürünün niteliklerini koruyan ve güvence altına alan sistematik yaklaşımlardır. Gıda güvenliğinde, iyi uygulamalardan toplam kaliteye gidilmektedir. Yani gıda güvenliği yönetim sisteminin temelini iyi uygulamalar adı verilen GMP (İyi Üretim Uygulamaları), GAP (İyi Tarım

Uygulamaları), GVP (İyi Veteriner Uygulamaları) ve GHP (İyi Hijyen Uygulamaları) oluşturmaktadırlar (9).

Gıda güvenliği ve kalite yönetim sistemlerinde zorunlu ve isteğe bağlı olmak üzere iki sistem mevcuttur (Şekil2). Bu sistemler arasındaki fark, gıdalarda istenen zorunlu güvenlik sistemlerinin yasalarla belirlenmiş olmasıdır. Dolayısıyla gıda güvenlik sistemleri olarak adlandırılan zorunlu sistemler gıda güvenliğini sağlamak için kurulmaktadır. Bunlar, *İyi Hijyen Uygulamaları* (GHP), *İyi Üretim Uygulamaları* (GMP) ve *Tehlike Analizi Kritik Kontrol Noktaları* (HACCP) içine almaktadır. AB’de 2003 yılında faaliyetlerine tam olarak başlayan Avrupa Gıda Güvenlik Otoritesi (EFSA) ile GMP, GHP ve HACCP sistemleri de yasal olarak yürürlüğe girmiştir. Bu yasa AB ülkelerinin sorumluluk altına alırken aday ülkeleri ve ticaret yapan 3. ülkeleri de kapsamaktadır (6)



Şekil 2. Zorunlu ve isteğe bağlı gıda güvenliği ve kalite yönetim sistemleri

2.1.1. İyi Üretim Uygulamaları (GMP)

GMP, gıda ürünlerinin üretim ve dağıtımında temel yaklaşımlardan olup, ürünlerde kaliteyi sağlamak için hammadde, işleme, ürün geliştirme, üretim, paketlenme, depolama ve dağıtım aşamalarında kesintisiz uygulanması gereken bir teknikler dizisi olarak ifade edilmektedir. GMP, imalatla bir kalite yaklaşımıdır. GMP ile tüm gıda sanayi elemanlarının profesyonel çalışmasını temin edilmekte, güvenilir ve etkili ürün üretimini sağlanmaktadır. Ayrıca GMP ile işletmelerin üretim yeri, çevre, alet- ekipman, hammaddenin kalitesi, üretim süreci, personel ve ürünün güvenilirliklerini tanımlamakta ve kontrol altına almaktadır (13).

2.1.2. İyi Hijyen Uygulamaları

Gıda sanayinde gıda güvenliğini sağlamak için üretim hattının tüm basamaklarında hijyenik şartların oluşturulmasını ve izlenmesini sağlayan bir rehber kaynaktır. GHP içerisinde; personel hijyeni, üretim hijyeni, işletme hijyeni ve bunlarla ilgili tutulan kayıtları bulundurmaktadır (9,12).

Hem GMP hem de GHP, gıda kuruluşlarında HACCP sisteminin uygulanması için bir ön gereksinim programlarını oluşturmaktadırlar (Şekil 3).



Şekil 3. GMP/GHP ve HACCP arasındaki ilişki

2.1.3. HACCP- Tehlike Analizleri ve Kritik Kontrol Noktaları

Avrupa'da bugünkü haliyle gıda üretim hattının 93/43/EEC hijyen kurallarına göre tanımlanmasıdır. HACCP(Hazard Analysis and Critical Kontrol Points) gıda güvenliğini satın alma, üretim ve dağıtımın tüm aşamalarında hammadde son ürünün tüketilmesine kadar fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikeleri belirleyerek kontrol altına alan ve sürekliliği sağlayan bir yönetim sistemidir. HACCP sistemi başlangıçta TS 13001 standardı olarak gıda işletmelerinde uygulanmaya konmuştur. Daha sonra TS 13001- HACCP Standardı iptal edilerek yürürlükten kaldırılmıştır. 24.04.2006 tarihinden itibaren gıda sektöründe TS EN-ISO 22000 Standardı "Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi-Gıda Güvenliğindeki Gıda Zincirinde Tüm Kuruluşlar İçin Şartlar" olarak yeniden düzenlenerek uygulamaya konulmuştur (12,14).

ISO 22000: 2005 Standardı, "müşteriler için ürünlerin kullanımının güvenli olmasını sağlayacak bir gıda güvenliği yönetim sistemini planla, tasarla, uygula, işlet, bakım yap ve güncelleme" ana prensibine dayanmaktadır (14).

Güvenli gıda alımına karşı artan müşteri talebi, birçok ülke tarafından farklı Gıda Güvenliği Standartlarının (örn: BRC (British Retail Consortium) İngiltere, IFS (International Food Standard) Almanya ve Fransa v.s) geliştirilmesine yol açmıştır. Farklı ülkelerde değişik gıda

güvenliği standartlarının oluşması uluslar arası bir karışıklığa neden olmuştur. ISO 22000:2005 ile bu karışıklığın ortadan kaldırılması hedeflenmiştir (11).

ISO 22000 ve HACCP arasındaki farklılıklar; ISO 22000, gıda zinciri boyunca mevcut ve potansiyel tehlikelerin, tehlike analizi ile belirlenmesi, kontrol önlemlerinin(ön koşul, operasyonel ön koşul ve KKN) belirlenmesini, uygulanmasını, izlenmesini ve sonuçlarının gözden geçirilerek değerlendirilmesini ve analizin, iyileştirilmesini, iç-dış şartlardaki değişiklikler doğrultusunda güncelleşmesini talep etmektedir. TS 13001-HACCP standardında, ön koşullara ait kontrol önlemleri ve bunların izlenmesi ve değerlendirilmesi konusu tetkiklerde gündeme gelmemektedir (14).

3. Gıda Kalite Güvence Yönetim Sistemi

3.1. Kalite Yönetim Sistemi

Gıda güvenliği ve kalite yönetim sistemi, işletmeye özgü kurulmalı ve aynı zamanda işletmenin en iyi uygulamalarını gösteren proses dokümanlarını, şartlarını ve politikalarını da içine almalıdır. Sistem, gıda kalitesi ve güvenliğine etkisi olan ve üretimin tüm basamaklarında, belirlenen, uygulanan bütün faaliyetleri güvence altına almalıdır. Dolayısıyla bir işletme Kalite Yönetim Sisteminin (KYS) ve ürünlerinin uygunluğunu göstermek için kalite sisteminin etkin, planlı, kontrol altında çalıştığını ve prosesin izlendiğini kayıtlarla belgelemelidir (8,10).

Gıdaların özelliklerinin (besleyici, duyuşal ve uygunluk değerleri) kalıcı ve sürdürülebilir olması müşteriler tarafından istenmesine rağmen, kanunen zorunlu değildir. İsteğe bağlı olarak uygulanan bu sistemler, kalite yönetim sistemleri olarak bilinen, Kalite Güvence Kontrol Noktaları (QACP), ISO-9000 (Kalite Yönetimi) ve ISO-14000'ü (Çevre Yönetimi) kapsamaktadır (3).

QACP, gıda üretiminde HACCP sistemine dayalı olarak oluşturulan kalite güvence sistemlerinden biridir. QACP'de parametreler ve kritik değerler belirlenirken, HACCP sisteminde ise kritik limitleri belirlemesi tehlikelerin eliminasyonu hedeflenmektedir. QACP'de, HACCP'de olduğu gibi her şirketin kendi üretim hattına özgü oluşturulmalıdır.

GMP/GHP, HACCP ve QACP sistemlerini uygulayan şirketler bir sonraki basamak da ISO-9000 gibi diğer kalite sistemlerinin uygulayabilmektedirler. ISO-9000 serisi standartlarında, her şirkette üretimin güvenilirliğini, malın zamanında dağıtımını ve pazara uygun şartlarda sunumunu istenmektedir. ISO-9000 serileri çok popüler olmasına rağmen, uygulanması zorunlu değildir (2,7,12).



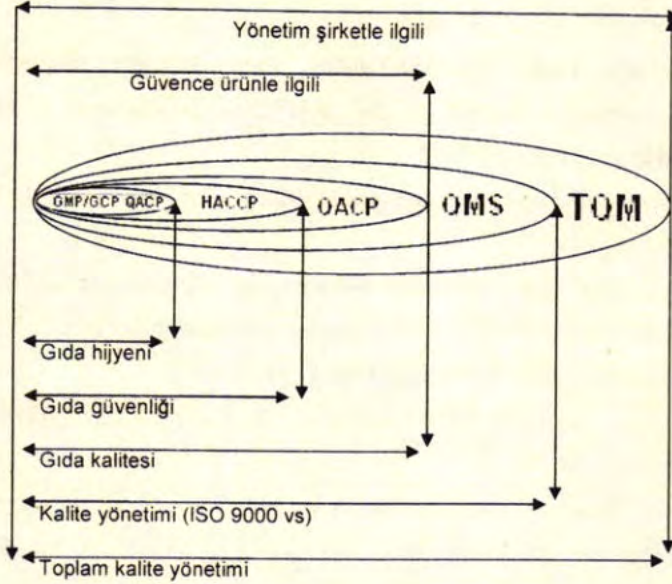
Şekil 4. GMP, GHP, HACCP ve QACP arasındaki ilişki

Günümüzde gıda endüstrisinin gıda güvenliği yönetimi hususundaki gereksinimlerini karşılayacak yeni bir norm (ISO/CD 22000) hazırlanmıştır. Yönetim ile güvenlik terimleri arasındaki fark önemlidir. Güvenlik teriminin, ürünün kendisi ile ilgili olduğu, tüm güvenlik sistemlerini (GMP, GHP ve HACCP) ve kalite güvence sistemlerini (QACP) içine almaktadır (Şekil 4). Diğer yandan, Kalite Yönetim Sistemlerini (ISO-9000, ISO-14000 vb.) ve Toplam Kalite Yönetimini (TQM) birlikte içine alan yönetim terimi ise, ürünlerin kalitesi (güvenliği de dahil) konusunda şirketin tüm örgütlerinin uyumlu çalışmasını ifade etmektedir (Şekil 5). Popüler olan gıda güvenlik sistemleri (GMP, GHP, HACCP) ve kalite sistemleri (örneğin, ISO-9000) izlenebilirlik sistemlerinin gelişmesine katkıda bulunmuştur. Bir gereksinim olan izlenebilirlik, aynı zamanda tüketicilerin gıda güvenliği konusunda artan endişeleri sonucunda ortaya çıkmıştır. Kısaca izlenebilirlik, üretim hattının tüm basamaklarında ürünün geçmişinin izlenmesini sağlayan bir sistemdir. Ham maddenin kaynağının bulunması, bunun yanı sıra ürünün üretiminde veya dağıtımında bir problemle karşılaşıldığında bu sisteme başvurulmaktadır (4,6).

3.2. Toplam Kalite Yönetimi

Toplam kalite yönetimi, organizasyonlarda "kalite"nin artırılmasını amaçlayan bir yönetim felsefesidir. Bu yönetim anlayışında: müşteri odaklılık, müşterilerin istek ve beklentileri doğrultusunda ürün ve hizmetlerin kalitesinin yükseltilmesi ve verimliliğin artırılması hedeflenmektedir. Toplam kalite felsefesinde kalite ve verimliliğin artırılması için çalışanların

memnuniyeti, motivasyonu ve ödüllendirilmesi, performans değerlendirme ve ölçme yöntemlerinin kullanılması, organizasyondaki hataların ve yanlışların ortadan kaldırılması, ekip çalışmasına ağırlık verilmesi, başarılı organizasyonların tecrübelerinden yararlanılması, stratejik planlamanın yapılması ve benzeri hedefler üzerinde durulmaktadır (15).



Şekil 5. GMP, GHP, HACCP, QACP, QMS (ISO- 9000, ISO 14000) ve TQM arasındaki ilişki

Gıda yasaları, ham madde, ürün ve bunlarla temas eden ambalaj malzemeleri olmak üzere tüm bunların üretim ve dağıtımındaki izlenecek prensipleri, tüketici sağlığını korunması ve tüketicilerin gıda güvenliği konusundaki taleplerinin karşılanması ile ilgili yasal ilkeleri kapsamaktadır. Avrupa ülkelerinde, aslında gıda yasaları ile gıda güvenliği konusunda doğrudan ilişki olmasına rağmen, gıda yasaları, gıda güvenlik sistemleri (yani GMP,GHP.ve HACCP) aracılığıyla uygulanmaktadır..

4. Sonuç

Sonuç olarak günümüzde artan ülkelerarası ticari ilişkilerin yoğunluğu ve küreselleşme nedeniyle yansımalarını bölgesel değil, ulusal veya daha da kapsamlı uluslar arası boyutlara

taşımaktadır. Bu nedenle gıda güvenlik riskleri, gelişmiş ülkeleri de hızla etkilemektedir. Gıda güvenliğine dair riskler giderek artmakta ve bu riskler tüketicilere gerçek boyutu ile yansıtılmamaktadır. Bu nedenle gıda bilimi üzerinde çalışan tüm kurum ve kuruluşlara düşen görev sistematik yaklaşımlarla riskleri engellemek ve tüketicileri bilinçlendirmek olmalıdır.

5. Kaynaklar:

1. Anonymus(2002) Food Safety And Quality, Policy Statement adopted at the 35 th World Farmers' Congress of the IFAPCairo, International Federation of Agricultural Producers Egypt, 2002
2. Barendz A.W.(1998) Food safety and quality management , Food Control , Volume 9, Number(2-3) 163-179.
3. Bredahl, M.E., et al. (2001) Consumer demand sparks the growth of quality assurance schemes in the European food sector. *Changing structure of global food consumption and trade*. Economic Research Service/USDA: 90-102
4. Goldberg, R.A., Hogan, H. (2003) *Launching the European food safety authority*. Harvard Business School.
5. Hobbs, J.E., Spriggs, J. and Fearn, A. (1999) Institutional arrangements and incentive structures for food safety and quality assurance in the food chain *Interdisciplinary Food Safety Research*. CRC Pres
6. Jones, E. and Bailey, D.V. (2004) Food traceability and assurance: an emerging driving developments in the global food system. [White paper published by Farm Foundation, Chicago, IL,
7. Kij Anders, V., et al. (1999) Quality assurance programs in beef production: a study tour of Denmark, Holland and United Kingdom [on line]. Iowa State University Extension. Available from: [Date accessed: 18.8.04]
8. Luning, P.A., Marcelis, W.J. and Jongen, W.M.F. (2005) Food quality management: technomanagerial approach. WNT, Warszawa
9. Nicolaides, L. (2002). Private Sector Systems for Providing Quality Assurance: From 'Good Practices' to HACCP to Total Quality Management.
10. Nutrition Unit Code of Practice for Food Premix Operations. Washington, D.C.: PAHO, 2005.
11. Peri, C.(2006) The universe of food quality, Food Quality and Preference ,17 (3-8).

12. Sikora T and Strada A (2005) Safety and Quality Assurance and Management Systems in Food Industry: An Overview, Cracow University of Economics
13. Topal, Ş.(1996) Gıda Güvenliği ve Kalite Yönetim Sistemleri, Tübitak Marmara Araştırma Merkezi Matbaası, Gebze/Kocaeli
14. TS (2006) TS EN-ISO 22000 Standardı “Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi-Gıda Güvenliğindeki Gıda Zincirinde Tüm Kuruluşlar İçin Şartlar”
15. www.ias.com.tr

KIRMIZI ET VE ÜRÜNLERİNDE GIDA GÜVENİRLİĞİ AÇISINDAN TÜKETİCİLERİN TUTUM VE DAVRANIŞLARI

Seval MUTLU

Oğuz YURDAKUL

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Adana
smutlu@cu.edu.tr, yurdakul@cu.edu.tr

Özet

Son yıllarda ortaya çıkan krizler (hayvan hastalıklarının insanlara bulaşması gibi) ve kırmızı et tüketiminin insan sağlığı üzerine etkileri ile ilgili olarak medyada sıklıkla çıkan haberler tüketicilerin kırmızı et tüketimi üzerine olan duyarlılıklarını artırmış ve bir çok tüketicinin tüketim tercihinde değişimlere neden olmuştur. Birçok beslenme uzmanına göre gıda güvenirliliği konusu bugün olduğu gibi hiçbir zaman bu kadar ön plana çıkmamıştır. Bütün bu gelişmeler tüketicilerin kitlesel büyük gıda dağıtım kanallarına olan güvenlerinin azalmasına ve bu kanallardan uzaklaşmalarına neden olmaktadır. Dahası, toplumda gıda denetçilerinin ve gıda biliminin de içinde bulunduğu kurumlara ve otoritelere güvensizlik hakim olmaya başlamıştır. Bu durum, üretim ve dağıtım sisteminde şeffaflık konusunu ön plana çıkarmakta ve güvenilir olduğu garanti edilen besinlere ve sağlıklı gıdalara olan talebi artırmaktadır. Bu çalışmanın amacı, tüketicilerin kırmızı et ve ürünleri için gıda güvenirliliği açısından tüketim kararlarını etkileyen unsurları çeşitli yönleriyle incelemektir. Araştırma kapsamında Adana kentsel kesimde 400 hane ile yüz yüze görüşme yöntemiyle anket çalışması yapılmıştır. Anket çalışması sonucunda; görüülen kişilerin yaklaşık %62'sinin gıda güvenirliliği ile ilgili haberlerden etkilendikleri belirlenmiş ve tüketim alışkanlıklarında değişimler saptanmıştır. Bu kişilerin yaklaşık olarak %90'ının kırmızı et tüketiminde azalma olmuştur.

Anahtar kelimeler : Gıda Güvenirliliği, Tüketici Davranışları, Kırmızı et

Abstract

CONSUMER BEHAVIOR AND ATTITUDES TOWARDS FOOD SAFETY FOR RED MEAT AND PRODUCTS

In recent years, many consumers are subject to perception distortions caused by numerous food scandals and effects of meat consumption on human health with extensive media emphasis induced to change consumption preferences. According to most nutritional scientists, food safety has never been at such a high level as today. These developments have been accompanied by an increasing alienation of the consumer in the mass distribution system, leading to more distrust. Moreover, it can be observed a general deterioration of the confidence in authorities and institutions which includes food inspection and food science in society. This circumstance is driven to more transparency in the production and distribution system, and growing demand for controlled food and health food which assure more food safety. The aim of this study is to investigate by several aspects of factors that affect consumer decisions in point of food safety for red meats and its products. The data was collected through a face-to-face interview with 400 households, living in urban areas of Adana province. In the result of survey, 62% of respondents declared to be more concerned about news on food safety and have changed their shopping habits. %90 of these concerned respondents, determined a decrease in red meat consumption.

Key words: Food Safety, Consumer Behavior, Red Meat

GİRİŞ

Son on yılda kırmızı et ve et ürünlerinde gıda güvenirliliği ile ilgili olarak uluslararası düzeyde krizler (BSE krizi "1996-...", Dioksin krizi "1999-2000", Şap hastalığı "2001" vb.) meydana gelmiştir^[3]. Ulusal düzeyde ise bu krizlerin yankı bulmasının yanısıra, kırmızı et ve et ürünleri arz zinciri sürecinde sağlık ve hijyene uygun olmayan koşullar ve insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri medyada sıklıkla işlenmiştir. Bu durum, kırmızı et ve et ürünlerinde tüketici güveninin sarsılmasına ve dolayısıyla tüketim tercihlerinde değişmelere neden olmuştur. Kırmızı et ve et ürünlerinde, insan sağlığını tehdit eden (*Listeria Monocytogenes*, *E.coli*, *Salmonella*, BSE, Dioksin, hormonlar ve antibiyotikler) kontaminantların arz zincirinden tamamen ortadan kaldırılması çok güçtür^[6]. Bütün bu gelişmeler tüketicilerin kitlesel büyük gıda dağıtım kanallarına güvenmemelerine neden olarak tüketicilerin bu kanallardan uzaklaşmalarına yol açmaktadır. Dahası, toplumda gıda denetçilerinin ve gıda biliminin de içinde bulunduğu kurumlara ve otoritelere güvensizlik hakim olmaktadır. Bu durum, üretim ve dağıtım sisteminde şeffaflık konusunu ön plana çıkarmakta ve güvenilir olduğu garanti edilen besinlere ve sağlıklı gıdalara olan talebi artırmaktadır. Buna bağlı olarak bir çok ülke gıda güvenirliliği konusunu düzenleyici yasaları uygulamaya koymaktadır. Bütün bu gelişmeler doğrultusunda, tüketicilerin kırmızı et ve et ürünleri için gıda güvenirliliği algılama düzeylerinin ve bu ürünleri satın alırken önem verdiği kriterlerin ortaya konulması, gıda güvenirliliğini düzenleyici uygulamaların etkinliğinin artmasına yardımcı olacaktır. Bu çalışmada, tüketicilerin kırmızı et ve ürünleri için gıda güvenirliliği açısından tüketim kararlarını etkileyen unsurların çeşitli yönleriyle incelenmesi amaçlanmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın ana materyalini, Adana ili kentsel kesimde yaşayan hanehalkından örnekleme yöntemiyle seçilen ailelerle yapılan anketlerden sağlanan veriler oluşturmaktadır. Bu kapsamda Adana kentsel kesimde 400 hane ile yüz yüze görüşme yöntemiyle anket çalışması yapılmıştır. Araştırmanın örnek hacmi, "Anakitle Oranlarına Dayalı Basit Tesadüfi Olasılık Örneklemesi" yöntemiyle belirlenmiştir.

Adana şehir merkezinde yaşayan ailelerin örnekleme eşit olarak girme şansını sağlamak amacıyla, Adana ili kentsel alanı çoğunlukla düşük, çoğunlukla orta ve çoğunlukla yüksek gelirli hanelerin yaşadığı bölgeler olmak üzere üç bölgeye ayrılmıştır. Bu bölgelerde yaşayan nüfus tespit edilmiş ve toplam örnek hacmi üç bölgenin nüfuslarına göre oransal olarak dağıtılmıştır. Bunun yanı sıra gıda güvenirliliği ve kırmızı et tüketimi konusunda teorik ve uygulamalı araştırmalardan da yararlanılmıştır.

Çalışmada hanehalkı gelir grupları aylık 800 YTL'den daha az gelire sahip haneler düşük gelirli, 800 YTL ile 1500 YTL arasında gelire sahip olanlar orta ve 1500 YTL'den daha fazla gelire sahip olanlar ise yüksek gelirli haneler olarak adlandırılmıştır.

Hanelerin kırmızı et ve et ürünleri satın alma kararı ile ilgili davranış, tutum ve görüşlerinin ölçülmesinde Likert tipi ölçek kullanılmıştır. Likert derecelemesi bir soru türü olmayıp, ifadelere katılma şiddetini ya da derecesini gösteren bir ölçektir^[11]. Sorular ve değişkenler arası ilişkilerin analizinde çapraz tablolama kurularak değerlendirilmiştir. Değişkenler arası ilişkilerin istatistiksel olarak anlamlılığının değerlendirilmesinde, her iki değişkenin kesikli olduğu durumlarda ki-kare testi (χ^2) ve biri kesikli diğeri sürekli değişken olduğu durumlarda tek faktörlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır^[10].

BULGULAR

Hanehalkının Sosyo-Demografik Özellikleri ve Tüketim Düzeyleri

Tüketicilerin kırmızı et ve et ürünleri için satın alma tutum ve davranışları konusunu incelemeden önce görüşme yapılan tüketici grubunun sosyo-demografik ve ekonomik özelliklerinin ortaya konulması anakitle hakkında bir fikir edinilmesi ve tüketici davranış yapısının anlaşılması açısından gerekmektedir. Görüşülen hanelerde yaşayan ortalama birey sayısı yaklaşık 4, ortalama çocuk sayısı yaklaşık 2 ve Adana'da ikamet ettikleri ortalama süre ise yaklaşık 23 yıldır. Hanelerde kadının ortalama yaşı yaklaşık

44 ve %36 gibi çoğunluğu ilk ve orta düzeyde eğitime sahiptir. Hanelerde erkeğin ortalama yaşı yaklaşık 47 ve %31 gibi çoğunluğu lise mezunudur. Görüşülen hanelerin yaklaşık %88 gibi büyük çoğunluğu evli ve bu ailelerde gıda alışverişini çoğunlukla karı koca birlikte (~%39) yapmaktadır.

Çalışma kapsamında görüşülen hanelerin aylık ortalama kişi başına sığır eti tüketimi 0.37 kg, koyun eti tüketimi 0.71 kg ve kırmızı et ürünleri tüketimi ise 0.03 kg ile 0.24 kg arasında değişmektedir. Sığır eti, sosis, salam ve pastırma ürünlerinde tüketim ile gelir grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuş ve gelir düzeyleri arttıkça kişi başına tüketim miktarında artış olduğu tespit edilmiştir. Araştırma yapılan bölgede koyun eti tüketimi, diğer kırmızı et ve ürünlerine göre daha fazladır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Gelir gruplarına göre kişi başına et ve et ürünleri ortalama tüketim miktarları (kg/ay)

Gelir Grupları	Sığır eti**	Koyun eti	Sucuk	Sosis**	Salam**	Pastırma***	Sakatat
Düşük (<800 YTL/ay)	0.23 (0.43) ^a	0.69 (0.88)	0.20 (0.22)	0.10 (0.20)	0.07 (0.14)	0.02 (0.07)	0.07 (0.16)
Orta (800 YTL/ay -1500 YTL/ay)	0.43 (0.62)	0.73 (0.66)	0.27 (0.41)	0.11 (0.19)	0.10 (0.21)	0.03 (0.08)	0.05 (0.15)
Yüksek (>1500 YTL/ay)	0.45 (0.45)	0.70 (0.69)	0.24 (0.27)	0.19 (0.23)	0.14 (0.21)	0.07 (0.12)	0.05 (0.15)
<i>Tüm Haneler</i>	0.37 (0.54)	0.71 (0.74)	0.24 (0.33)	0.13 (0.20)	0.10 (0.19)	0.03 (0.09)	0.06 (0.15)

^a Parantez içinde standart sapmalar verilmiştir; ** %5 düzeyinde anlamlı, *** %1 düzeyinde anlamlı

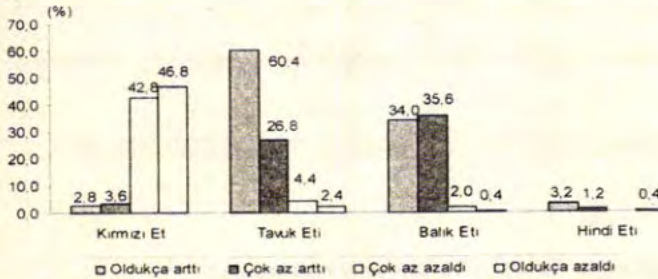
Gıda Güvenirliği Açısından Tüketici Tutum ve Davranışları

¶

Son yıllarda kırmızı et ve ürünlerinin güvenirliliği ile ilgili haberler medyada sıklıkla yer almaktadır. Özellikle hayvanlardan insanlara geçmesi muhtemel hastalıkların gözlemlendiği kriz dönemlerinde, gıda güvenirliliğine olan ilgi daha da artmaktadır. Bu dönemlerde ilgili ürünün tüketiminde azalmalar gözlenmektedir. Medya haberleri ya da mesajları, reklamların talep üzerine olan etkisine benzer özellikler taşımaktadır.

Reklamın talebi artırma amacı varken, medya mesajlarının talep üzerine böyle bir amacı yoktur. Bazı mesajlar talebi artırabildiği gibi bazıları da azaltabilmektedir^[1].

Görüşülen kişilerin yaklaşık %62'si gıda güvenirliliği ile ilgili bu haberlerden etkilendiklerini belirtmişlerdir. Bu haberlerden etkilenen ailelerin yaklaşık %90'ının kırmızı et tüketiminde azalma olmuştur. Bu ailelerin %4'ü ise artık kırmızı et ve et ürünlerini tüketmediklerini belirtmişlerdir. Kırmızı etlerin güvenirliliği ile ilgili haberlerden etkilenen ailelerin yaklaşık %87'si tavuk eti, yaklaşık %70'i balık eti ve yaklaşık %4'ü de hindi eti tüketimlerini artırmışlardır (Şekil 1). Sağlıksız koşullarda kesim ve işleme, çeşitli hayvan hastalıkları, veteriner denetimlerinin yetersizliği, kolesterol içeriği gibi insan sağlığını olumsuz etkileyen problemler kırmızı et tüketiminin azalmasına ve tüketicilerin diğer et çeşitlerini kırmızı et yerine ikame etmelerine neden olmuştur. Özellikle Avrupa'da tüketiciler deli dana krizinden hemen sonra sığır etinden diğer et çeşitleri tüketimine yönelmiş ve hatta diğer kırmızı et (örneğin; koyun eti) tüketimlerinde de azalmalar tespit edilmiştir^[7]. Bu durum tavuk etini, kırmızı et açığını kapatan stratejik bir ürün haline getirmiştir. Ancak, 2005 yılının son aylarında ortaya çıkan kuş gribi vakası, tavuk eti tüketiminin geçici de olsa azalmasına neden olmuştur^[5].

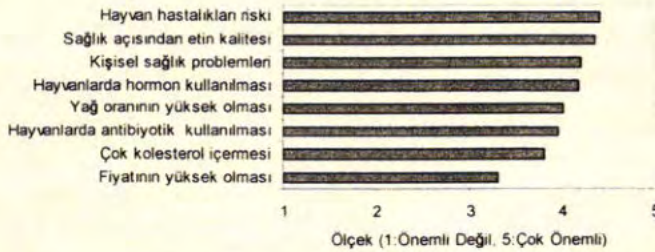


Şekil 1. Kırmızı etlerin güvenirliliği ile ilgili haberlerinin tüketim üzerine etkisi

Tüketicilerin kırmızı et ve et ürünleri ile ilgili bilgi sağladığı kaynaklar incelendiğinde, tüketicilerin birinci sırada belirttiği kaynak: %53,9 ile gazete ve dergilerdir. Bunu %24,7 ile tüketicinin alış veriş yaptığı kasap takip etmektedir. İkinci sırada en çok belirtilen kaynaklar ise %59,5 ile televizyon, radyo ve %18,9 ile yine gazete ve

dergilerdir. Üçüncü sırada belirtilen kaynaklar; %43.8 ile aile ve arkadaşları gibi yakın çevresi ve %27.2 ile ürün etiketleridir. Dördüncü sırada en çok belirtilen kaynaklar ise %47.6 ile ürün etiketleri ve %23.3 ile doktorlar ve uzmanlardır.

Tüketicilerin kırmızı et tüketimlerini azaltmalarında temel olan faktörlerin neler olduğunun ortaya konulması için görüşülen kişilerden, et tüketim kompozisyonlarındaki değişime neden olan olası faktörleri değerlendirilmesi istenmiştir (Şekil 2). Buna göre hayvan hastalıkları riski en ön plana çıkmakta, daha sonra sağlık ile ilgili kriterle bunu takip etmektedir.



Şekil 2. Kırmızı et tüketiminde değişime neden olan faktörler

Son yıllarda kırmızı et ve et ürünleri satın alırken fiyat, kalite, tat ve yumuşaklık özelliklerinde piyasada satılan ürünlerin geçmişte daha iyi olduğu, etiket, ambalaj ve tazelik konularında ise şimdi daha iyi olduğu düşünülmektedir. Etin yağlı olması konusunda zaman içerisinde belirgin bir değişim olmadığı belirtilebilir (Çizelge 2). Tüketicilerin kırmızı et ve et ürünleri satın alma kararında, kalite mi yoksa fiyatın mı daha etkili olduğunun belirlenmesi amacı ile kalitenin 1'i, fiyatın 9'u temsil ettiği bir ölçekle değerlendirilen sorunun sonuçları gelir gruplarına göre Çizelge 3'de verilmiştir. Buna göre yüksek ve orta gelir grubundaki ailelerin kırmızı et satın alırken kaliteye daha öncelik verdikleri, ancak düşük gelir grubundaki ailelerin kalite ve fiyatı hemen hemen eşit düzeyde önemli buldukları belirlenmiştir. Bu ilişki %1 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 2. Son yıllarda kırmızı et ve et ürünlerinin bazı özelliklerinde gözlenen değişimler (%)

	Herhangi bir değişim olmadı	Geçmişte daha iyiydi	Şimdi daha iyi
Fiyat	21,3	70,2	8,5
Kalite	16,1	49,5	34,4
Etiket	17,6	14,2	68,2
Ambalaj	13,6	5,4	81,1
Yağlılık	33,4	32,4	34,2
Tazelik	18,5	39,5	42,0
Tat	20,4	60,6	19,1
Yumuşaklık	27,6	47,9	24,5

Çizelge 3. Gelir gruplarına göre kırmızı et satın alırken tüketicilerin kalite ve fiyat arasındaki tercihleri (ortalama)

Gelir Grupları	Kalite mi Fiyat mı? (Ölçek: Kalite: 1 . Fiyat: 9)***
Düşük	4,33 (1,55) ^a
Orta	3,52 (1,66)
Yüksek	3,24 (1,57)
Tüm Haneler	3,70 (1,66)

^a Parantez içinde standart sapmalar verilmiştir, *** %1 düzeyinde anlamlıdır

Tüketicilerin %59'u gibi önemli bir çoğunluğu geçmiş yıllara göre gıdaları sağlık açısından daha az güvenilir bulmaktadırlar (Çizelge 4). Genel olarak gıda güvenilirliği algılamaya düzeyi ise orta derecededir. Az güvenilir ve hiç güvenilir bulmayanların oranı toplam %34,18'dir (Çizelge 5).

Çizelge 4. Geçmiş yıllara göre gıdaların sağlık açısından güvenilir olup olmadığı konusunda tüketici düşünceleri

	(%)
Daha az güvenilir	58,56
Aynı düzeyde güvenilir	12,41
Daha fazla güvenilir	29,03

Çizelge 5. Gıdaların genel olarak sağlık açısından güvenilir olup olmadığı konusunda tüketici düşünceleri

	(%)
Hiç güvenilir değil	9,37
Az güvenilir	24,81
Orta derecede güvenilir	61,01
Oldukça güvenilir	4,56
Çok güvenilir	0,25

Tüketicilerin bazı özel işlemlerden geçmiş gıda maddelerine olan gıda güvenilirliği algılamaya değerleri, düşük gelir grubundaki ailelerden yüksek gelir grubuna gidildikçe bu ürünlerin güvenilirliği için duyulan endişenin daha da arttığını göstermektedir. Özellikle, izin verilen ölçülerde antibiyotik kullanılarak tedavi edilen ve hormon kullanılarak yetiştirilen hayvanlardan sağlanan etler, pişirme işleminden geçirildikten sonra dondurulmuş etler ve çiğ köfte gibi ürünler için güvenilirlik algılamaya değeri ile gelir grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Genel ortalamaya bakıldığında, özel bazı işlemlerden geçmiş et ürünlerinin tümünde güvenilirlik algılamaya değeri orta derecede güvenilirlik düzeyinin altında kalmaktadır.

Çizelge 6. Tüketicilerin özel bazı işlemlerden geçmiş ürünler için gıda güvenirliliği algılamaları

	Gelir Grupları (ortalama)			Ortalama
	Düşük	Orta	Yüksek	
İzin verilen ölçülerde antibiyotik kullanılarak tedavi edilen hayvanlardan sağlanan etler**	2.42	2.47	2.17	2.39
İzin verilen ölçülerde hormon kullanılarak üretilen hayvanlardan sağlanan etler*	2.10	2.12	1.86	2.06
Çiğ köfte**	1.95	1.81	1.58	1.80
Piştirilip dondurulmuş etler***	2.36	2.16	1.94	2.17
İzin verilen ölçülerde ilaç kalıntısı içeren gıdalar	1.91	1.86	1.84	1.87
İzin verilen katkı ve koruyucuları içeren et ürünleri	2.21	2.10	2.07	2.13
İthal edilen et ve et ürünler	1.95	1.81	1.86	1.86
Genetik yapısı değiştirilmiş hayvanlardan sağlanan etler	1.57	1.63	1.53	1.59

Not: Ölçek; 1: Hiç sağlıklı değil, 5: Çok sağlıklı; ** %5 düzeyinde anlamlı, *** %1 düzeyinde anlamlı

Tüketicilerin çoğunluğu gıda satış ve tüketim yerlerini gıda güvenirliliği açısından orta derecede ve az güvenilir bulmaktadırlar. Özellikle, seyyar kebabçılar ve seyyar satıcıların sağlık açısından güvenilir olduğu düşünülmemektedirler. Gıda satış yerleri içinde süpermarketler, gıda ürünleri tüketim yerleri içinde ise restoranlar diğer yerlere göre sağlık açısından daha güvenilir olarak algılanmaktadır (Çizelge 7). Kırmızı et ve ürünlerini satın alırken çok temiz bir yerden alınsa dahi etin çeşitli hastalık ve parazitlerle kirlenmiş olduğunu satan ve alan kişinin fark etmesi çok güçtür. Ancak, herhangi bir hastalık olup olmadığı hayvan kesilmeden önce ve kesildikten sonra yapılacak olan veteriner kontrolüyle anlaşılabilir^[9].

Çizelge 7. Gıda satış ve tüketim yerleri için tüketici gıda güvenirliliği algılama düzeyi (%)

	Hiç güvenilir değil	Az güvenilir	Orta derecede güvenilir	Oldukça güvenilir	Çok güvenilir	Ortalama
Restoranlar	12.75	30.75	46.25	9.75	0.50	2.55
Fast-food restoranlar	22.75	35.25	36.25	5.75	0.00	2.25
Kantinler	32.75	44.75	21.75	0.75	0.00	1.91
Seyyar kebabçılar	76.12	20.65	2.49	0.50	0.25	1.28
Lokantalar	15.75	43.25	37.00	3.50	0.50	2.30
Yemekhaneler	17.96	38.40	34.91	7.98	0.75	2.35
Kafeteryalar	15.62	41.06	38.79	4.03	0.50	2.33
Pastaneler	14.61	40.05	40.55	4.53	0.25	2.36
24 saat açık yerler	37.73	36.95	21.96	3.10	0.26	1.91
Süpermarketler	1.00	5.97	38.06	48.01	6.97	3.54
Kasaplar	10.20	29.35	49.50	9.70	1.24	2.62
Balikhaneler	5.01	27.57	45.36	19.05	3.01	2.87
Bakkallar	21.01	44.30	30.38	3.80	0.51	2.18
Seyyar satıcılar	71.57	22.69	4.24	0.75	0.75	1.36
Semt pazarları	22.14	30.85	33.83	10.70	2.49	2.41

Not: Ölçek; 1: Hiç güvenilir değil, 5: Çok güvenilir

Kırmızı et ve et ürünleri üretim ve dağıtım yerlerinin sağlık açısından güvenilirliği konusunda tüketicilerin büyük çoğunluğu, pazarlama kanalı sürecini gıda güvenilirliği açısından az ve orta derecede güvenilir bulmaktadırlar. Ortalama değerlere bakıldığında; tüketicilerin en güvenilir bulduğu süreç, et ve et ürünlerinin evde muhafaza edilmesidir. Mezbahalar ise diğer aşamalara göre en düşük düzeyde güvenilir bulunan yerlerdir (Çizelge 8). Bunda, Türkiye’de kaçak et kesiminin oldukça yaygın olmasının ve etlerin bir bölümünün veteriner kontrolü altındaki çağdaş mezbahalar yerine kaçak çalışan sağlıklı yerlerde kesiliyor olmasının etkisi olduğu düşünülebilir^[9].

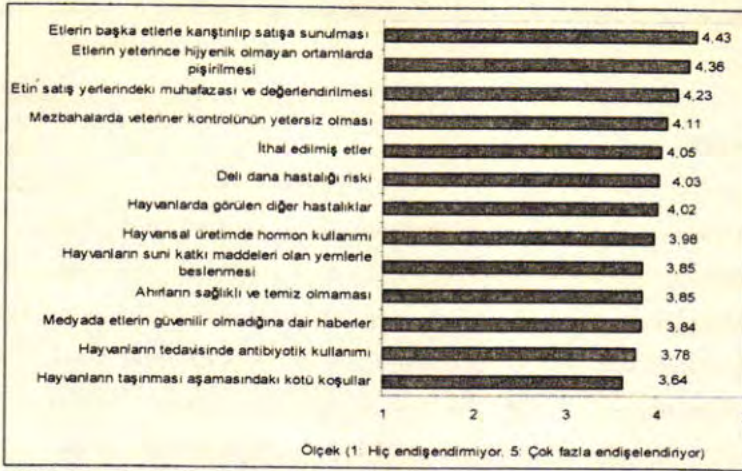
Çizelge 8. Kırmızı et ve et ürünleri üretim ve dağıtım yerleri için gıda güvenliğinin tüketici açısından algılama düzeyi (%)

	Hiç güvenilir değil	Az güvenilir	Orta derecede güvenilir	Oldukça güvenilir	Çok güvenilir	Ortalama
Üretim	10.47	34.71	43.25	9.92	1.66	2.88
Taşıma	17.32	38.82	37.99	4.47	1.40	2.71
Mezbaha	28.11	44.05	23.79	2.70	1.35	2.32
İşleme	21.59	44.81	27.05	4.92	1.64	2.52
Paketlenme	12.02	34.70	40.99	9.29	3.00	2.83
Depolanma	17.04	37.37	36.26	7.69	1.65	2.70
Satış Yeri	9.77	23.90	52.18	11.31	2.83	2.79
Evde Muhafaza	3.07	11.03	37.95	30.00	17.95	3.53

Not: Ölçek, 1: Hiç güvenilir değil, 5: Çok güvenilir

Kırmızı et ile ilgili hangi konuların tüketicileri endişelendirdiğini belirlemek için tüketicilerden Şekil 3’de verilen konuları 5’li ölçek yardımıyla puanlandırmaları istenmiştir. Etlerin başka etler ile karıştırılıp satışa sunulması, etlerin yeterince hijyenik olmayan ortamlarda pişirilmesi ve etin satış yerlerinde muhafazası ve değerlendirilmesi tüketiciyi en çok endişelendiren ilk üç konu olarak belirlenmiştir. Bu konular dışında, hayvanların kesim şekli, bakımı, yetiştirilmesi ve üretiminden tüketimine kadar olan süreçte kalite kontrollerin yeterince yapılmaması tüketicileri endişelendiren konulardır.

Görüşülen tüketicilerin büyük bir çoğunluğu (%91), bozuk ve hatalı gıda problemi ile karşılaştığında satın aldığı yere şikayetini bildirmektedir. Şikayetlerini bildiren tüketicilerin yaklaşık %73’ü sonuç almaktadır. Ancak tüketicilerin satın aldığı zamanda tespit edebildiği problemler çoğunlukla gıdanın dış özellikleri (renk, koku, görünüş,...) ile ilgilidir ki bunlar ürünün araştırma (search) özellikleridir. Bazı sorunlar



Şekil 3. Tüketiciciyi endişelendiren kırmızı et ile ilgili konuların ortalama puanlaması

ise ürün kullanıldıktan hemen sonra ortaya çıkmaktadır ki bunlarda ürünün tadı, tazeliği, yumuşaklığı gibi ürünün deneyim (experience) özellikleridir. Genellikle

tüketici şikayetleri bu iki özellik üzerine yoğunlaşmaktadır. Esasen, gıdaların bireylerin sağlığı üzerine doğrudan etkilerinin çoğu belirgin değildir ve kullanılan hormon, antibiyotiklerin uzun dönemde etkileri gözlenemeyebilir. Diğer bir deyişle, ürünü aldıktan ve kullandıktan sonra bazı kalite özellikleri anlaşılamaz ki bunlar itimat (credence) özelliği olarak adlandırılır. Gıda güvenirliliği, çoğu zaman tüketici ürünün kalitesini ölçemeyeceği ve deneyerek anlayamayacağı itimat özelliği ile tarif edilir^{[2][8]}.

Tüketiciler bozuk ve hatalı gıda ile karşılaştığında şikayetlerini satın aldığı yere bildirmemelerinde temel nedenler; sonuçsuz kalacağını düşünmeleri, uğraşmak istememeleri, şikayet etmek yerine alışveriş yaptığı yeri değiştirme yollarını tercih etmeleri, nereye müracaat etmeleri gerektiğini bilmemeleridir.

Tüketicilerin yaklaşık %55'inin gıda ürünlerinin sağlığa zararlı olup olmadığını denetleyen kurum veya kuruluşlar hakkında bilgileri yoktur. Tüketicilerin bildiği kurum veya kuruluşlar olarak ilk üç sırada; Sağlık Bakanlığı, Belediyeler ve Tarım ve Köyşleri Bakanlığı gelmektedir. Tüketicilerin Türkiye'de piyasada satılan et ve et ürünlerinin insan sağlığına zararlı olup olmadığının denetiminin yapmasını istediği ilk

üç kurum ve kuruluş sırasıyla; Sağlık Bakanlığı, Üniversiteler ve Tarım ve Köyişleri Bakanlığıdır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırma sonuçları tüketicilerin önemli bir bölümünün gıda maddelerinin güvenilirliği konusunda endişesini ve güven kaybını ortaya koymaktadır. Tüketiciler gıda güvenilirliği konusundaki haberlerden etkilenmekte ve et tüketim kompozisyonunu buna göre yeniden şekillendirmektedir. Bu yapının değişmesinde en önemli etkenler olarak hayvan hastalıkları ve kırmızı et ve ürünlerinin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler ön plana çıkmaktadır. Gıda güvenilirliği konusunda bilgi sağlamada kitle iletişim araçlarının önemli bir rolü vardır. Tüketiciler et ve et ürünlerinde dış görünümle (ambalaj, etiket, vs.) ilgili özelliklerde iyi yönde değişim gözlerken, kalite ve tat gibi özelliklerinde kötüye gidildiğini düşünmektedirler. Araştırma sonuçları, satın alma kararını verirken yüksek ve orta gelir düzeyine sahip tüketicilerin kaliteye daha fazla önem verdiğini göstermektedir. Mezbahalar, pazarlama kanalı sürecinde en düşük düzeyde güvenilir bulunan yerlerdir.

Tüketiciler genellikle bozuk ve hatalı gıda ile karşılaştığında satın aldığı yere şikayetini bildirmektedir. Bunların yanı sıra bir çok tüketici de şikayetini bildirdiği halde sonuç alamamakta ya da bozuk gıda ile karşılaştığında nereye müracaat edeceğini bilmemektedir. Bu durumda tüketicinin bu tarz problemler ile karşılaştığında ne yapacağı konusunda bilgilendirilmesi gerekmektedir.

Tüketici şikayetleri ürünün rengi, kokusu, görünüşü, tadı, tazeliği, yumuşaklığı özellikleri üzerine yoğunlaşmaktadır. Tüketici ürünü aldıktan ve kullandıktan sonra bazı kalite özelliklerini (ilaç kalıntısı, hormon vb.) anlaması çok güçtür. Bu durumda tüketicinin dağıtım kanalına güvenmekten ve itimat etmekten başka alternatifi yoktur. Bu konuda gıda güvenliğini denetleyen kurumlara önemli bir rol düşmektedir.

Gıda Güvenirliği, tüm ülkelerin üzerinde titizlikle durduğu, yasal düzenlemeler yaptığı ve geliştirdiği öncelikli konulardan biridir. Türkiye’de de bu alanda birçok yasal

düzenlemeler yapılmıştır. 5 Haziran 2004'den önce gıda kalitesi denetiminde; Belediyeler, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı görev almıştır. Bu durum kurumlar arasında yetki ve hizmet kargaşası ve tekerrürlere neden olmuştur^{[4][9]}. 2004 yılında yeni gıda yasası ile beraber tüm yetkiler Tarım ve Köyişleri Bakanlığında toplanmıştır.

Gıda endüstrisi çok sayıda karmaşık ilişkilerin birbiriyle bağlantılı olduğu bir sistemdir. Bu nedenle, stratejiler oluşturulurken sadece gıda talebin teknolojik ve ekonomik yönü ile değil, bunun yanı sıra gıda maddelerinin sağlıklı ve güvenilir olması konularına da odaklanılmalıdır. Bu çalışmanın sonuçları sadece gıda perakendecilerini değil aynı zamanda gıda arz zincirinde yer alan diğer birimleri de (üretici, işleyici, dağıtıcı, vs.) ilgilendirmektedir. Çünkü arz zincirindeki üretim ve dağıtım sistemi, tüketici talebi ve gıda güvenliği gibi konularla uyumlu olmalıdır. Üretim ve dağıtım sürecinin her aşamasında tüketicilere yönelik bilgilendirici ve bilinçlendirici faaliyetlerin artırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Burton, M. Young, T., 1996. The Impact of BSE on the Demand for Beef and Other Meats in Great Britain. *Applied Economics*, 28, 687-693.
- [2] Caswell, J. A., Modjuszka, E. M. 1996. Using Informational Labeling to Influence the Market for Quality in Food Products. *American Journal of Agricultural Economics*, 78, 1248-1253.
- [3] Çelteç, E.G., 2006. Avrupa Birliği'nde Gıda Güvenliği Yaklaşımı ve Uygulamaları. (www.tarim.gov.tr/kurumsal/birimler/merkez/diatk/web/sunumlar/GIDAguvenL.ppt)
- [4] Çoksöyler, N., Dizdar, G., Korkut, H., Ataman, P., Çepni, J., 2005. Türkiye Gıda Denetim Sistemi ve Tüketici Hakları. (<http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/052makalenaifcoksoyler.pdf>)
- [5] DPT, 2006. Dokuzuncu Kalkınma Planı (2007-2013) Gıda Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu, T.C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı, Ankara, s.105.
- [6] Goddard, E.W., Lomeli, J., Hailu, G., Wang, C., 2003. Can Advertising and Media Health Coverage Mitigate the Consumer Effects of Food Safety Occurrences: The Case of Meat in Canada? Conference of the Agricultural Institute of Canada Foundation.
- [7] Gracia, A., 2005. Comportamiento del Consumidor de Carne de Cordero con Indicación Geográfica Protegida en Aragón. Unidad de Economía Agraria.CITA, Ispanya
- [8] Henson, S., Traill, B., 1993. The Demand for Food Safety, Market Imperfections and the Role of Government. *Food Policy*, 18, 152 – 162.
- [9] <http://www.tuketiciler.org>
- [10] Malhotra, N. K., 2004. Marketing Research (An Applied Orientation). Pearson Prentice Hall. Fourth Edition, 713s.
- [11] Nakip, M., 2003. Pazarlama Araştırmaları Teknikler ve (SPSS Destekli) Uygulamalar. Seçkin Yayıncılık

MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERDE ÖLÇÜM BELİRSİZLİĞİ

Emrah TORLAK¹ Mustafa NİZAMLIOĞLU² Ümit GÜRBÜZ²

¹ TKB II Kontrol Laboratuvarı, Konya, Türkiye

² Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Konya, Türkiye

e-mail: torlakemrah@yahoo.com

Özet

Gıda mikrobiyolojisinde sonuçlar ile beraber ölçüm belirsizliğinin verilmesi yalnızca kantitatif analizler için geçerli olmaktadır. Var/yok şeklinde sonuç verilen kalitatif analizlerde sayısal bir değer olarak ölçüm belirsizliği hesaplanamamaktadır. Ancak kalitatif analizlerde belirsizliğe katkıda bulunan bileşenler tanımlanmak zorundadır.

Ölçüm belirsizliği sonucun kantitatif olarak analitik varyasyonunu göstermektedir. Aynı zamanda; ölçüm belirsizliği, elde edilen sonuçların güvenilirliğini, farklı kaynaklardan elde edilen sonuçlarla, referans değerlerle veya mikrobiyolojik standartlar, rehberler ve şartnamelerde verilen kriterler ile karşılaştırarak değerlendirmemizi sağlamaktadır. Bu durum resmi kontrollerde sonuçların yorumlanmasında büyük önem taşımaktadır.

Gıda mikrobiyolojisinde bileşenlerden belirsizliğin hesaplanmasındaki zorluk nedeniyle tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik değerlerinden belirsizliğin hesaplanması yaklaşımı tüm dünyada destek görmektedir. Bununla beraber bu yöntemle laboratuvar hatasının saptanması mümkün olmamaktadır. Laboratuvar hatası dış kalite kontrolü programı dahilinde yeterlilik testleri örnekleri kullanılarak değerlendirilebilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gıda, mikrobiyoloji, belirsizlik

Abstract

In food microbiology, as uncertainty of measurement is a parameter associated with the result of a measurement it is only applicable to quantitative methods. However, factors that contribute to the uncertainty of the result of presence/absence tests should be identified.

Uncertainty of measurement is a quantitative indication of the analytical variability of a result. It allows an assessment of the reliability of the result, for example in comparing the results from different sources or with reference values or criteria given in microbiological standards, guidelines or specifications. This is particularly important when interpreting the results of official controls.

International consensus supports the use of reproducibility and repeatability data in the evaluation of uncertainty in food microbiology, recognising the difficulties in calculating the contributions of individual components. However this will not determine laboratory bias. This may be assessed by using proficiency test samples from external quality assessment schemes.

Key words: Food, microbiology, uncertainty

1. Giriş

Ölçüm belirsizliği, ölçülen büyüklüğün gerçek değerini içinde bulunduran değerler aralığını karakterize eden tahmini değer olarak tanımlanmaktadır (3,4). Gıda mikrobiyolojisinde ölçüm belirsizliğinin sayısal bir değer olarak hesaplanması yalnızca kantitatif analizler için geçerlidir. Kalitatif analizlerde sonucun var/yok şeklinde ifade edilmesinden dolayı ölçüm belirsizliği kavramı yoktur (3,7,11). ISO 17025 standardına göre laboratuvarlar sayısal sonuç verdikleri mikrobiyolojik analizler için analiz sonucunun güven aralıklarını tespit etmelidirler (1,5,12).

2. Belirsizliğin Hesaplanmasındaki Yaklaşımlar

Gıda mikrobiyolojisinde belirsizlik hesaplamaları farklı üç yaklaşımla yapılabilir. Bunlardan birincisi, analiz sonucunu etkileyecek belirsizlik bileşenlerinin tek tek toplam belirsizliğe olan katkılarının hesaplanmasıdır. İkincisi, EMS tabloları gibi standart metotlar ile veya ayrıca yayınlanmış literatür verilerinin kullanılmasıdır. Ancak bu yaklaşımın uygulanması çoğu zaman, metoda yönelik bilimsel dergilerde veya uluslararası standartlarda yayınlanmış validasyon çalışmalarına ulaşamaması nedeniyle mümkün değildir. Üçüncü yaklaşım ise kesinlik (*precision*) verilerinden belirsizlik hesaplamalarıdır (1,3,6,7)

Gıda mikrobiyolojisinde belirsizlik kaynakları fiziksel ve kimyasal analizlere nazaran oldukça fazladır. Örneklerin laboratuvara gönderilme şartlarından, kullanılan suyun pH ve iletkenliğine, petrideki besiyerinin nem düzeyinden, besiyerleri ve ayıraçların seçicilik (*selectivity*) ve hassasiyet (*sensitivity*) oranlarına kadar onlarca faktör belirsizlik kaynağı olarak değerlendirilebilir (6,11). Sonuç olarak bu durum GUM (*Guide to the expression of Uncertainty in Measurement*) veya balık kılıcı diyagramı (*fish-bone diagram*) yaklaşımı olarak da adlandırılan bileşenler üzerinden belirsizlik hesaplanmasını zorlaştırmaktadır (7). Bu yaklaşıma göre başlıca iki tip belirsizlik bileşeni vardır. Bunlar; A tipi olarak adlandırılan ve tekrar analizlerinin sonuçlarından uygun istatistiksel metotlar kullanılarak elde edilen belirsizlik bileşenleri ve B tipi olarak adlandırılan, kalibrasyon verileri gibi kaynaklardan elde edilen belirsizlik

bileşenleridir. A tipi belirsizlik bileşenleri tesadüfi sapmalar, B tipi belirsizlik bileşenleri ise sistematik sapmalar olarak da adlandırılmaktadır (4,11).

Gıda mikrobiyolojisinde, tekrarlanabilirlik (*repeatability*) ve tekrarüretilebilirlik (*reproducibility*) verileri dışındaki, B tipi olarak adlandırılan bileşenlerin, belirsizliğe önemli bir katkıları olmamaktadır. Bu belirsizlik bileşenlerinden en önemli katkırı yapan uzun dilüsyon aşamaları dahi kontrollü şartlarda belirsizliğe önemli bir katkıda bulunmamaktadır (7). Örneğin, A sınıfı belirsizliğe sahip 1 ml pipet ve A sınıfı belirsizliğe sahip 9 ml' lik dispenser kullanılarak yapılan 3 aşamalı bir dilüsyon işleminin toplam belirsizliğe katkısı yaklaşık % 0,0015' tir (11). Bu değer ihmal edilebilecek kadar küçüktür .

3. Kesinlik (Precision) Verilerinin Kullanılması

Bileşenlerden belirsizlik hesaplamalarındaki zorluk nedeniyle bugün tüm dünyada kesinlik (*precision*) verileri üzerinden belirsizlik hesaplanması yaklaşımı destek görmektedir (7). Bir laboratuvar mikrobiyolojik analizlerde kesinlik verilerini farklı kaynaklardan elde edebilir. Kesinlik verileri; yeterlilik testleri tekrarüretilebilirlik değerinden, laboratuvarlar arası çalışmalardan ve laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik çalışmalarından elde edilebilir (6,8). Aynı laboratuvar içinde farklı ölçme şartları altında (farklı personel, farklı ekipman, farklı zaman), aynı büyüklüğün birbiri ardına yapılan ölçmeleri ile elde edilen sonuçlar arasındaki uyum olarak nitelendirilen laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik kavramı intermediate precision olarak da adlandırılmaktadır (4,6).

Yeterlilik testlerinden elde edilen tekrarüretilebilirlik standart sapmasının kullanılmasında bazı sakıncalar vardır. Yeterlilik testlerinde analiz edilen örneklerin genellikle tam analiz edilecek miktarda (10 g, 25 g) katılımcılara gönderilmesi nedeniyle örnekteki mikrobiyal yükün heterojenliği ve örneklemeden kaynaklanan belirsizlik bileşenleri gibi faktörler hesaba katılmamış olur (1,10). Yeterlilik testi verilerinin kullanımdaki diğer bir sakınca ise örneklerdeki mikrobiyal yükün laboratuvarların rutin çalışma aralığını temsil etmekteki yetersizliğidir. Ayrıca yeterlilik testlerine katılan laboratuvarlar farklı metotlar kullanmaktadır (6). Bu nedenlerle

belirsizlik hesaplamalarında yeterlilik testleri verilerinin kullanılması tavsiye edilmemektedir. Laboratuvarlar arası çalışmaların yetersizliği de göz önüne alındığı zaman laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik çalışmaları sonuçları gıdaların mikrobiyolojik analizlerinde belirsizliğin hesaplanması için en önemli verilerdir (6,7,10).

Mikrobiyolojik analizlerde en büyük belirsizlik kaynağı örnekteki mikroorganizmaların homojen olarak bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Örneğin süt gibi sıvı gıdalar, kıyma gibi katı gıdalara nazaran her zaman daha fazla homojenlik gösterir (2,9). Bu nedenle laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik çalışmaları ile ölçüm belirsizliği hesaplanırken matriks etkisinin göz önünde bulundurmak ve farklı matriksler kullanılması önemlidir (7,8). Matriks yapılarını genel olarak sıvılar, tozlar, iyi karıştırılmış katılar ve heterojen katılar olarak sınıflandırabiliriz (8). Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik çalışmalarında ağırlıklı olarak heterojen numunelerin kullanılması doğru olan yaklaşımdır (9). Böylece daha güvenilir bir ölçüm belirsizliği saptanmış olur. Yaş pasta gibi farklı matriks özelliklerine sahip örneklerde tekrar analizlerinin sonuçları arasında çok büyük farklılıklar varsa matriks komponentleri ayrı ayrı değerlendirilebilir (7).

Ölçüm belirsizliği hesaplamalarında tercih sırası doğal kontamine örnekler, doğal kontamine örnekler ile karıştırılarak kontamine edilmiş örnekler ve yapay kontamine örnekler şeklinde olmalıdır (6). Doğal kontamine örneklerin tercih edilmesindeki neden örneklerdeki stres altındaki mikroorganizma varlığı ve rekabetçi flora etkisidir (2). Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik standart sapması hesaplama çalışmalarında laboratuvarlar arası çalışma örnekleri ve yeterlilik testleri örnekleri de kullanılabilir (6).

4. Çift (Duplicate) Analizler

Laboratuvar içi tekrarüretilebilirlik çalışmaları çift (*duplicate*) analizlerle yapılabilir (8). Yani aynı örnek farklı analistler tarafından çalışılır ve elde edilen sonuçlar kullanılır (6,7,8). Böylece tekrarüretilebilirlik koşullarından olan farklı analist kullanılması sağlanmış olur. Laboratuvarlarda aynı amaçla kullanılan birden fazla terazi ve inkübatör gibi cihazlar varsa çift analizlerde farklı cihazlar kullanılmalıdır. Ayrıca bu çift analizler

mümkünse farklı günlerde ve farklı besiyerleri ve ayıraçlar kullanılarak yapılmalıdır. Yani analizlerin yapıldığı şartlar arasındaki varyasyon mümkün olduğu kadar farklı olmalıdır (4,8).

Ölçüm belirsizliğinin saptanması için ideal örnek sayısı 20' dir (8). Burada önemli olan analistlerin alt örneklemelemlerini kendilerinin yapmasıdır. Daha öncede belirttiğimiz gibi alt örnekleme en önemli belirsizlik kaynaklarından biridir (6).

Çift analizlerin verileri kullanılarak ölçüm belirsizliğinin hesaplanması aşağıdaki örnekte verilmiştir;

<i>i</i>	<i>Analiz sonuçları (kob/g)</i>		<i>Logaritmik</i>		<i>S_{Ri}</i>
	<i>X_{IA}</i>	<i>X_{IB}</i>	<i>y_{IA}</i>	<i>y_{IB}</i>	
1	21000	28000	4,3222	4,4472	0,1249
2	5500	6000	3,7404	3,7782	0,0378
3	215000	190000	5,3324	5,2788	0,0537
4	25000	21000	4,3979	4,3222	0,0757
5	390000	330000	5,5911	5,5185	0,0726
6	27000	30000	4,4314	4,4771	0,0458
7	5500	7800	3,7404	3,8921	0,1517
8	125000	150000	5,0969	5,1761	0,0792
9	24000	21000	4,3802	4,3222	0,0580

$$\sum (y_{IA} - y_{IB})^2 = 0,0657$$

$$\sum (y_{IA} - y_{IB})^2 / 2n = 0,0036$$

$$\sqrt{\sum (y_{IA} - y_{IB})^2 / 2n} = 0,064$$

$$S_R = 0,06$$

$$U \text{ (genişletilmiş belirsizlik) } = 0,12$$

Örnekte 9 çift analizin sonuçları üzerinden ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır. Burada hesaplanan tekrarüretilebilirlik standart sapması (*S_R*) birleştirilmiş belirsizlik (*Combined uncertainty*) olarak kabul edilmiştir. Genişletilmiş belirsizlik (*Expanded uncertainty*) birleştirilmiş belirsizlik değerinin %95 güven aralığı için 2 olarak alınan coverage factor

ile çarpılması ile bulunur. Hesaplanan belirsizlik değeri logaritmik bir değerdir. Ölçüm belirsizliği analiz sonuçları ile beraber verilirken;

$$\text{Logaritmik analiz sonucu} \pm U$$

şeklinde ifade edilir (8).

5. Sonuç

Ulusal veya uluslararası kriterlere göre analiz sonuçlarının değerlendirilmesindeki öneminin yanında ölçüm belirsizliği laboratuvarları da doğrudan ilgilendirmektedir. Laboratuvarların uyguladığı kalite güvence programları dahilinde, yeterli örnek üzerinde çalışılarak uygunluğu doğrulanmış metotlar ile yapılan her kantitatif analiz için ölçüm belirsizliği hesaplanmalıdır. Böylece laboratuvarlar uyguladıkları kalite programlarının analiz sonuçlarının varyasyonu üzerine olan etkilerin daha iyi görebilirler.

Ölçüm belirsizliği hesaplamalarında bir çok parametre içeren ve uzun matematiksel işlemlere dayalı yaklaşımlar gıda mikrobiyolojisinde artık kabul görmemektedir. Bu doğrultuda ISO, 2006 yılında gıda ve yemlerde mikrobiyolojik analizler için 19036 numaralı yeni bir rehber doküman yayınlanmıştır. Bu rehber dokümanın yayınlanması ile gıda mikrobiyolojisinde kesinlik verileri üzerinden belirsizlik hesaplamaları en üst düzeyde kabul görmüştür.

6. Kaynaklar

- 1 Adams. TM. 2002. *Guide for the Estimation of Measurement Uncertainty In Testing*, American Association for Laboratory Accreditation
- 2 Anon. 1994. *Quality Control in the microbiological laboratory. Analyst performance assessment for colony count*. International Dairy Federation, Brussels.
- 3 Anon. 1995. *Guide to the expression of uncertainty in measurement* First Edition, corrected and reprinted. International Organization for Standardization, Geneva.
- 4 Anon. 2000. EURACHEM/CITAC Guide. *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, second ed. Editors: Ellison, S.L.R., M. Mosslein and A.Williams, London.
- 5 Anon. 2002. *Accreditation for Microbiological Laboratories*, revision 2. European co-operation for Accreditation

- 6 Anon. 2003. *Uncertainty of measurements precision and limit of detection in chemical and microbiological testing laboratories*. International accreditation New Zealand
- 7 Anon. 2005. *Uncertainty of measurement in testing*. National Standard Method QSOP 4 Issue 5. Health Protection Agency
- 8 Anon. 2006. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations*. International Organization for Standardization, Geneva.
- 9 Halvorson, H.O. and N.R. Ziegler, 1933. *Application of statistics to problems in bacteriology I. A means of determining bacterial population by the dilution method*. J. Bact., 25:101-121
- 10 Jarvis, B. 1989. *Statistical Aspects of the Microbiological Analysis of Foods*. Progress in Industrial Microbiology, vol. 21, 179 pp. Elsevier, Amsterdam.
- 11 Niemela SI, 2003. *Uncertainty of quantitative determinations derived by cultivation of microorganisms*. Centre for Metrology and Accreditation, Helsinki.
- 12 Robertson, M, Chan TS, 2003. *APLAC Interpretation and Guidance on the Estimation of Uncertainty of Measurement in Testing*. Journal of AOAC International. 86(5):1070-6

GIDA KAYNAKLI STAFİLOKOKLARIN BİYOFİLM YAPMA VE VİRÜLANS ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mert SUDAĞIDAN¹

Burcu OKUKLU²

Ali AYDIN³

¹ Biyoteknoloji ve Biyomühendislik A.D., İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gülbahçe kampüsü, Urla 35430, İzmir.

² Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gülbahçe kampüsü, Urla 35430, İzmir.

³ Besin Hijyeni ve Teknolojisi A.D., Veteriner Fak., İstanbul Üniversitesi, İstanbul

E-mail: msudagidan@yahoo.com.tr

Özet

Gıda kaynaklı stafilocokların toksin üretmelerine bağlı olarak öne çıkan önemlerinin yanı sıra stafilocokların yüzeylere tutunma ve biyofilm oluşturma yetenekleri bu bakterilerin bir patojenite özelliği olarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızda İstanbul ve çevresinden toplanan değişik et ve et ürünlerinden izole edilen *Staphylococcus* sp. tür düzeyinde biyokimyasal testler ve 16S-ITS rRNA RFLP yöntemiyle tespit edilmiştir. Stafilocokların biyofilm yapma ve slime üretme özellikleri plak testi, Christensen testi ve Congo Red Agar testleri kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca izole edilen suşların oksasilin, vankomisin, teikoplanin, ofloksasin, gentamisin, ve eritromisin antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak bulunmuştur. Biyofilm yapımında rol oynayan genler (*icaAC*, *atlE*, *bap*), metisilin direncinden sorumlu *mecA* geni ve virülans genlerini kontrol eden *agrCA* ve *sarA* genlerinin varlığı PCR ile tespit edilmiştir. İzole edilen suşlar arasındaki filogenetik ilişki PFGE-RFLP analizi ile incelenmiştir. 10/24 izolat *S. aureus* olarak belirlenmiş ve 11 stafilocok suşının plak testi ile biyofilm yaptığı tespit edilmiştir. Christensen testi sonuçları incelendiğinde 3 izolatin kuvvetli bağlanma gösterirken 9 izolatin düşük bağlanma gösterdiği, 12 izolatin ise cam tüp yüzeylerine bağlanma özelliği göstermediği görülmüştür. İzolatlardan 7 adedi novobiocin'e dirençli iken, 8 izolat oksasilin direnci göstermiş ve hiçbir izolatın *mecA* geni taşımadığı bulunmuştur. PCR çalışmaları sonucunda biyofilm yapan ve yapmayan izolatlarda *icaAC*, *atlE* ve *bap* genleri bulunamamıştır. 15 izolatin *sarA* genini taşıdığı, fakat izolatların hiçbirinde *agrCA* geninin bulunmadığı tespit edilmiştir. PFGE-RFLP sonucunda izolatlar arasında %23-%92 homoloji görülmüştür. Çalışmamız sonucunda gıda kaynaklı ve biyofilm yapan stafilocokların *icaADBC*, *atlE* ve *bap* genleri dışında başka mekanizmalar kullanarak biyofilm yapma özelliği gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Abstract

INVESTIGATION OF BIOFILM FORMING AND VIRULENCE PROPERTIES OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM FOOD SOURCES

Adhesion and biofilm formation by staphylococci, in addition to their toxin production, assumed as virulence factor and have gained importance for their pathogenicity. In this study, *Staphylococcus* sp. were isolated from meat and meat products in İstanbul. The isolates were identified at the species level by biochemical tests and 16S-ITS rRNA RFLP analysis. Biofilm forming and slime production capacities of staphylococci were examined by plate test, Christensen test and Congo Red Agar test. Furthermore, antibiotic susceptibilities of the isolates to oxacillin, vancomycin, teicoplanin, ofloxacin, gentamicin, and erythromycin were investigated by agar disc diffusion method. The presence of the adhesion related genes (*icaAC*, *atlE*, and *bap*), methicillin resistance gene (*mecA*), and the genes (*agrCA* and *sarA*) which were known to have regulatory roles in virulence were determined by PCR. The phylogenetic relationships between the isolates were investigated by PFGE-RFLP analysis. 10/24 of the isolates were identified as *S. aureus* and 11 of the isolates were found to form biofilm in the plate tests. Christensen test results revealed that 3 of the isolates showed strong adhesion and 9 of the isolates showed weak adhesion, while 12 of the isolates did not show any adhesion to glass tube surfaces. Seven of the isolates were resistant to novobiocin and eight isolates was found to be resistant to oxacillin and none of the isolates contained *mecA* gene. PCR results indicated that none of the isolates had *icaAC*, *atlE* and *bap* genes in their genome. On the other hand, 15 of the isolates were positive for *sarA*, but none of the isolates contained *agrCA* gene. PFGE-RFLP analysis indicated a 23%-92% homology among the isolates. In conclusion, staphylococci isolated from meat and meat products were found to form biofilm by using other mechanisms rather than *icaAC*, *atlE* and *bap* genes which have been known to mediated biofilm formation.

GİRİŞ

Stafilokoklar Gram pozitif, katalaz pozitif ve kok morfolojisinde bulunan ve değişik kaynaklarda (insan, hayvan, gıda, su vb.) yaşayabilen bakteri grubudur. Bu grubun en önemli üyeleri *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* suşlarıdır. Stafilokok suşlarının büyüme sıcaklığının geniş olması (7-48.5 °C) ve ekstrem yaşam koşullarına adapte olabildikleri için bir çok gıdada rahatlıkla büyüebilmektedirler. Stafilokoklar enterotoksin üretmelerinden dolayı gıda zehirlenmelerine neden olmaktadır. Özellikle *S. aureus* toksin üretebilen bir patojen olarak, invaziv özelliği ve antibiyotik dirençliliği ile gıda kaynaklı zehirlenmelerde önemli mikroorganizmalar arasındadır (11).

Klinik stafilokok suşlarında *ica* geninin varlığı ve biyofilm oluşturma özelliği patojenitelerinin saptanmasında oldukça önemlidir. Gıda kaynaklı stafilokok suşlarında ise biyofilm oluşturma yeteneği hem patojenite açısından hem de gıdada canlı kalma açısından büyük öneme sahiptir. Ayrıca biyofilm oluşturan stafilokoklar çevresel stres koşullarına karşı daha dirençlidirler (12). Biyofilm oluşturmada ilk adım bakterinin yüzeye tutunması olup bu özellik hücre yüzey proteinleri ve fiziksel kuvvetler (van der Waals kuvvetleri, hidrofobik ve iyonik etkileşim gibi) tarafından sağlanmaktadır. Yüzey proteinlerden otolisin bağlanmada rol oynamakta ve bu protein *atlE* geni tarafından kodlanmaktadır (9). İkinci adım ise; biyofilm oluşturma aşamasıdır. Bu aşama hücre yığını ile birlikte biyofilm oluşturma aşaması olup, bu aşamada hücreler arası yapışma meydana gelmektedir (1). *icaR* regülatör geni ile *icaADBC* biyosentetik genlerinden ekspresyonu hücreler arası yapışmadan sorumlu olan polisakkaritlerin (slime) üretilmesinden sorumludur. Stafilokok suşlarında özellikle de *S. aureus*'ta hücre duvarı adhesinleri, eksotoksin üretimi gibi birçok virulans özelliğini *sarA* ve *agr* kontrol etmektedir (4). Ayrıca metisilin direncinden sorumlu ve genomik DNA üzerinden kodlanan *mecA* geninin tespiti izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi için oldukça önemlidir (10).

Bu çalışmada değişik et ve et ürünlerinden izole edilen ve stafilokok olarak tanımlanan bakterilerin biyofilm yapma, slime üretime, antibiyotiklere karşı duyarlılıkları,

bağlanma, virulans ve metisilin direncinden sorumlu genlerin tespiti ile izole edilen stafilocoklar arasındaki filogenetik ilişki moleküler yöntemler kullanılarak araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Stafilokok Suşları: Çalışmamızda İstanbul ve çevresinden toplanan kırmızı et, tavuk eti, hindi eti ve et ürünlerinden izole edilen stafilocoklar Gram boyanma, hücre morfolojisi, katalaz, koagülaz, DNaz gibi biyokimyasal testler ile 16S-ITS rRNA RFLP (15) yöntemiyle tür düzeyinde tanımlanmışlardır.

Biyofilm Testleri: Stafilocokların biyofilm yapma özellikleri modifiye edilmiş plak yöntemiyle test edilmiştir (14). Bu yöntemde 1 gece Tryptic Soy Broth (TSB) içerisinde büyütülen bakteriler sentrifüj ile çöktürülmüş ve fosfat tampon çözeltisi (PBS; 8.5 g l⁻¹ NaCl, 0.3 g l⁻¹ KH₂PO₄, 0.6 g l⁻¹ Na₂HPO₄ and 0.1 g l⁻¹ peptone, pH 7.0) ile yıkandıktan sonra 96-kuyucuklu plaklarda 1:10 %'lik sükröz içeren TSB ile seyreltilerek 1 gece 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bunu takiben kuyucuklar boşaltılmış ve 3 kez PBS ile yıkanmış ve metanol ile bakteriler fiske edilmiştir. Metanol uzaklaştırılmış ve plaklar kurutulmuş ve 5 dakika kristal viyole ile boyanmıştır. Kuyucuklar yıkanarak boya uzaklaştırılmış ve kurutulmuştur. Bakteriler tarafından tutulan boya %33 Glacial Asetik Asit ile çözündürülmüş ve absorbans değerleri 570 nm ELISA okuyucusu kullanılarak belirlenmiştir (14). Stafilocokların cam tüp yüzeylerinde biyofilm oluşturmaları Christensen yöntemi ile belirlenmiştir (5). TSB içerisinde cam tüp içerisinde büyütülen bakteriler ertesi gün dökülmüş ve tüpler PBS ile yıkandıktan sonra kurutulmuştur. Tutunan bakteriler kristal viyole ile boyanarak belirlenmiştir. Congo Red Agar yönteminde Congo Red içeren besiyerinde 37 °C'de 1 gece ve takiben oda sıcaklığında 1 gün büyütülen stafilocok suşlarından siyah ve koyu bordo koloni oluşturanlar slime pozitif, kırmızı ve pembe koloni oluşturanlar slime negatif olarak değerlendirilmiştir (2,8).

Antibiyotik Duyarlılık Testleri: İzole edilen stafilocok suşlarının oksasilin, vankomisin, teikoplanin, ofloksasin, gentamisin, ve eritromisin antibiyotiklerine karşı

duyarlılıkları Mueller-Hinton Agar kullanılarak agar disk difüzyon yöntemi ile NCCLS kriterlerine göre tespit edilmiştir (13).

Hedef Genlerin Tespiti: Biyofilm yapımında rol oynayan genler *icaA* ve *icaC* (16), *atlE* (7), *bap* (6), metisilin direncinden sorumlu *mecA* geni (10) ve virulans genlerini kontrol eden *agrCA* ve *sarA* genlerinin varlığı hedef genlere özel dizayn edilen primerler kullanılarak PCR ile tespit edilmiştir. PCR çalışmalarında kullanılan genomik DNA'lar Arciola ve ark. tarafından daha önce belirtilen şekilde izole edilmiştir (3).

Suşlar Arasındaki Filogenetik İlişkinin Belirlenmesi: İzole edilen suşlar arasındaki filogenetik ilişki PFGE-RFLP yöntemiyle CHEF DRII sistemi (Bio-Rad) kullanılarak tespit edilmiştir. Agaroz plak içerisinde parçalanmış hücrelerin genomik DNA'sının *SmaI* enzimi ile kesiminden elde edilen bandların analizi Bio-ID++ yazılımı kullanılarak çözümlenmiştir.

BULGULAR

Bakterileri tanımlama çalışmaları sonucunda 10/24 izolat DNaz pozitif, Dry Spot testinde pozitif sonuç vermiş ve *S. aureus* olarak tanımlanmıştır.

Plak testi sonucunda 11 stafilokok suşu'nun plak yüzeylerine kuvvetli bağlandığı ve burada biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir ($OD_{570} > 0.5$). Diğer suşların ise OD_{570} değerlerinin 0.5'in altında olduğu ve biyofilm oluşturmadıkları görülmüştür. Christensen testi sonuçları incelendiğinde 3 suşun kuvvetli bağlanma gösterirken 9 suşun düşük bağlanma gösterdiği ve 12 suşun ise cam tüp yüzeylerine bağlanma özelliği göstermediği görülmüştür. Christensen yönteminde cam yüzeylerine kuvvetli bağlanma gösteren 3 suşun da plak testinde biyofilm oluşturduğu ve cam yüzeylerinin hidrofilik olduğundan özellikle cam tüp yüzeylerine bağlanmada bakterilerin yüzey yükleri ve hidrofobisitelerinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Stafilokokların slime üretmeleri Congo Red Agar yöntemiyle belirlenmiştir. Bu test sonucunda inkübasyon sürecini takiben koloni renkleri değerlendirilmiş ve 1 suş koyu

bordo, 9 suş koyu kırmızı, 7 suş kırmızı ve 4 suş pembe koloni oluşturmuşlardır. Bunun yanı sıra 3 suş inkübasyonlar sonunda plakta siyahlaşmaya neden olmamış ve kırmızı renkte koloniler oluşturmuşlardır.

Stafilokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları bakterilerin Mueller-Hinton agar besiyerinde büyütülerek antibiyotik disklerinin oluşturduğu zonların 37 °C'de 1 gece inkübasyondan sonra ölçülmesi ile tespit edilmiş ve NCCLS kriterlerine değerlendirilmiştir. 7 suş novobiosin'e ve 8 suş oksasilin karşı direnç göstermiştir. Stafilokok suşlarının hepsi vankomisin'e, teikoplanin'e ve ofloksasin'e karşı duyarlı bulunmuştur. Sadece 1 *S. aureus* suşu eritromisin'e karşı dirençli bulunmuştur.

PCR çalışmaları ile stafilokokların yüzeylere bağlanma ve biyofilm oluşturmalarında rol oynayan protein ve polisakkarit yapılarını kodlayan genlerin varlığı araştırılmıştır. Bu bağlamda *icaA*, *icaC*, *atlE* ve *bap* genlerinin hiçbir stafilokok suşlarında bulunamamıştır. Metisilin direncinden sorumlu *mecA* genine ise hiçbir suшта rastlanmamıştır. Diğer yandan birçok genin regülasyonunda rol oynayan *sarA* geninin 15 suшта bulunduğu tespit edilmiştir. Fakat, diğer bir regülatör gen olan *agrCA* ise hiçbir suшта pozitif bulunmamıştır.

İzole edilen suşlar arasındaki filogenetik ilişki PFGE-RFLP analizi ile belirlenmiş ve %13 homoloji co-efficiency kullanıldığında suşlar arasında %23-%92 homoloji görülmüştür.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamız sonucunda gıda kaynaklı ve biyofilm yapan stafilokokların *icaAC*, *atlE* ve *bap* genleri dışında başka mekanizmalar kullanarak biyofilm yapma özelliği gösterdiği ve izole edilen stafilokok suşları arasında çok yakın bir akrabağlık ilişkisi olamadığı ve biyofilm yapma özelliklerinin suş bazında olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. An, Y.H. & Friedman, R.J. (1998). Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* **43**, 338-348.
2. Arciola, C.R., Campoccia, D., Gamberini, S., Cervellati, M., Donati, E. & Montanaro, L. (2002). Detection of slime production by means of an optimized Congo red agar plate test based on a colourimetric scale in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates genotyped for *ica* locus. *Biomaterials* **23**, 4233-4239.
3. Arciola, C.R., Collamati, S., Donati, E. & Montanaro, L. (2001). A rapid PCR method for the detection of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* and *S. aureus* in periprostheses infections. *Diagn Mol Pathol* **10**, 130-137.
4. Cheung, A. L. & Zhang, G. (2002). Global regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus* by the SarA protein family. *Frontiers in Bioscience* **7**, 1825-1842.
5. Christensen, G.D., Simpson, W.A., Bisno, A.L. & Beachey, E.H. (1982). Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* **37**, 318-326.
6. Cucarella, C., Solano, C., Vale, J., Amorena, B., Lasa, Í. & Penadés, J. R. (2001). Bap, a *Staphylococcus aureus* Surface Protein Involved in Biofilm Formation *J Bacteriol* **183**, 2888-2896.
7. Frebourg, N.B., Lefebvre, S., Baert, S. & Lemeland, J-F. (2000). PCR-based assay for discrimination between invasive and contaminating *Staphylococcus epidermidis* strains. *J Clin Microbiol* **38**, 877-880.
8. Freeman, D.J., Falkiner, F.R. & Keane, C.T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol* **42**, 872-874.
9. Heilmann, C., Hussain, M., Peters, G. & Götz, F. (1997). Evidence for autolysin-mediated primary attachment of *Staphylococcus epidermidis* to a polystyrene surface. *Mol Microbiol* **24**, 1013-1024.
10. Lem, P., Spiegelman, J., Toye, B. & Ramotar, K. (2001). Direct detection of *mecA*, *nuc* and 16S rRNA genes in BacT/Alert blood culture bottles. *Diag Microbiol Infect Dis* **41**, 165-168.
11. Loir, Y. L., Baron, F. & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res* **2**, 63-76.

12. Møretro, T., Hermansen, L., Holck, A. L., Sidhu, M. S., Rudi, K. & Langsrud, S. (2003). Biofilm formation and the presence of the intercellular adhesion locus *ica* among staphylococci from food and food processing environments. *Appl Environ Microbiol* **69**, 5648-5655.
13. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard-Fifth Edition, NCCLS, Vol. 20 No.2, January 2000.
14. Stepanovic, S., Djukic, V., Djordjevic, V. & Djukic, S. (2003). Influence of the incubation atmosphere on the production of biofilm by staphylococci. *Clin Microbiol Infect* **9**, 955-958.
15. Sudagidan, M., Yenidunya, A.F. & Gunes, H. (2005). Identification of staphylococci by 16S internal transcribed spacer rRNA gene restriction fragment length polymorphism. *J Med Microbiol* **54**, 823-826.
16. Ziebuhr, W., Krimmer, V., Rachid, S., Löbner, Götz, F. & Hacker, J. (1999). A novel mechanism of phase variation of virulence in *Staphylococcus epidermidis*: evidence for control of polysaccharide intercellular adhesion synthesis by altering insertion and excision of the insertion sequence element IS256. *Mol Microbiol* **32**, 345-356.

GIDALARDAKİ *Enterococcus faecium*'un ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Zerrin ERGİNKAYA

Naci Erhan YURDAKUL

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü – Adana

zerriner@cu.edu.tr, yurdakulerhan@gmail.com

Özet

Gıda kaynaklı *Enterococcus*'lar günümüze kadar herhangi bir klinik enfeksiyona neden olmaması ve şimdiye kadar herhangi bir probiyotik *Enterococcus* enfeksiyonu rapor edilmemesi nedeni ile özellikle hayvansal kökenli gıdalarda probiyotik ve/veya starter kültür olarak önerilmektedir. Klinik kökenli *Enterococcus*'lar ise daha çok hastane enfeksiyonları yapan bakteriler olarak karşımıza çıkmakta ve antibiyotiklere karşı dirençli olmasıyla dikkat çekmektedir. Ayrıca patojenik *Enterococcus faecium*'un çok çabuk antibiyotik direnç mekanizması geliştirebilmesi ve bu özelliğini diğer patojen bakterilere de transfer edebilme kabiliyetinin olması sağlık açısından önemli bir risk olduğu düşünülmektedir. Antibiyotiğe dirençli bazı suşlarının gıdalardan izole edilmesi, antibiyotik direncin gıda zincirine girebileceği endişesini doğurmaktadır. Ayrıca bu suşların gıda yoluyla insan bağırsak florasında bulunan diğer bakterilerin antibiyotik direnci kazanmasına yol açabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada gıda kaynaklı ve klinik kökenli *Enterococcus faecium*'un özellikleri karşılaştırılarak, gıda kökenli *Enterococcus faecium*'un antibiyotik direnci ile ilgili bilgiler ayrıca ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler : Gıda, *Enterococcus faecium*, antibiyotik direnci

Abstract

ANTİBİOTIC RESISTANCE OF *Enterococcus faecium* in FOOD

Enterococcus in food production was benefited from properties of probiotic and/or starter for long years. *Enterococcus* originating from food has not cause any clinical infection up until now. In addition, it has not recorded any infection report until this moment. *Enterococcus faecium* is generally harmless microorganisms, however this bacteria originating from clinical is caused to hospital infection and it is considered as resistance against antibiotics. Moreover, it is a considerable risk in point of health that pathogenic *Enterococcus faecium* can develop antibiotic resistance mechanism rapidly and able to transfer of this property. Isolating from food some strains resisted antibiotic causes concerns that antibiotic resistance might enter to the food chain. Also, those strains might cause to have antibiotic resistance other bacterium in the intestinal floras by taking food.

In this study, it was reviewed information related to antibiotic-resistance of *Enterococcus* originating from food.

Keywords : Food, *Enterococcus faecium*, antibiotic-resistance

Giriş

Enterococcus'lar gıda mikrobiyolojisi ve klinik mikrobiyoloji açısından önemli laktik asit bakterileri arasında yer almaktadır (32,18). *Enterococcus* cinsi bakteriler doğada yaygın olarak bulunmakta olup, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemindeki floralarının bir parçasıdır. Bu nedenle, bu bakterilerin primer kaynağı olarak, insan ve sıcak kanlı hayvanların intestinal yolları gösterilmektedir (33,30,6). Ayrıca memeliler, kuşlar, böcekler, sürüngenler ile hava, su, lağım, toprak, bitki materyalleri ve çığ materyaller gibi fekal kontamine olmuş ortamlarda bulunurlar (37, 11). Bu kaynakların dışında, deniz ürünleri ve süt ürünleri gibi hayvansal kaynaklı gıdalar, sebzeler ile fermente gıdalarda da bu mikroorganizmalara rastlanmaktadır (28, 34).

Enterococcus cinsine ait bakteriler, genelde fekal çevrelerde yoğun olarak bulunmalarına karşın, gıdalarda üretim aşamalarında hijyenik olmayan koşullar sonucunda ortaya çıkarlar (23,38). Ayrıca intestinal ve çevresel kontaminasyonla da süt ve et gibi çığ gıdalarda kolonize olabilirler. pH, sıcaklık ve tuza karşı olan dirençleri sayesinde, gıda üretimi sırasında canlı kalarak son ürünü de kontamine edebilirler. Bu sebeple gıdalarda bulunmaları kontaminasyonun bir göstergesi olarak kabul edilirken, fermente gıdalarda kötü üretim koşulları ve kontaminasyon seviyesinin bir göstergesi olarak bilinir(29). Bu özelliklerinden dolayı *Enterococcus*'ların sularda ve bazı gıda ürünlerinde hijyen indikatörü olarak kullanılmaktadır (3,17,32).

Enterococcus cinsi bakteriler, gıdaların normal floralarının da bir parçası oldukları için, sadece kötü hijyen koşullarının göstergesi değildirler (32,22). Bu bakteriler birçok gıdada doğal olarak bulunan ve çeşitli gıdaların fermentasyonunda rol oynayan önemli mikroorganizmalardır (8,26). Özellikle bazı fermente et ürünlerinin ve bazı peynir çeşitlerinin mikrofloralarının önemli bir kısmını oluştururlar (23).

Enterococcus faecium ve *Enterococcus faecalis* gıdalardan ve bağırsaklardan en sık izole edilen, gıda proseslerinde yer alan en önemli türlerdir (10,32). Bu iki tür, sucukların fermentasyonu sırasındaki baskın mikroflorayı oluştururlar (43). Ayrıca süt ürünleri ve peynirlerde de yüksek sayılarda bulunurlar (25,20,51).

Enterococcus faecium, bakteriyosin üretimi ve probiyotik özellikleri nedeniyle biyoteknolojik uygulamalar bulmasına rağmen, diğer taraftan bu bakterilerin birçok enfeksiyona neden olan fırsatçı patojenler oldukları da bildirilmektedir (25,6,1,14,8,39). Bu organizmalar endocartitis, üriner yol enfeksiyonları ile merkezi sinir sistemi ve solunum yollarında enfeksiyonlara neden olurlar (21,51). Ayrıca, karın, safra yolu ve yanık ve kesiklerde enfeksiyon yapabilirler (12,48).

Enterococcus'lar düşük virulans faktör göstermelerine ve yüksek patojenik organizmalar olarak adlandırılmamalarına rağmen, önemli patojenler arasında gösterilmektedir (37) *Enterococcus*'ların antimikrobiyel ajanlara olan dirençleri bu bakterileri fırsatçı patojenlere dönüştürmektedir (27). Düşük virulans özelliklerine sahip olsalar bile, virulans özellikleri ve antibiyotiklere karşı dirençleri birleştğinde tedavileri zor olmaktadır (39).

Glikopeptide dirençli *Enterococcus*'ların sayısının artmasıyla birlikte bu türler dünya çapında önemli bir problem olarak ortaya çıkmaktadır (30). Glikopeptidler immün sistemi zayıf ya da bastırılmış bireylerde birkaç enfeksiyona karşı en son çare olarak kullanılan antibiyotiklerdir. Günümüzde *Enterococcus* cinsi bakteriler Amerika'da ikinci en sık hastane enfeksiyonu yapan bakteri olarak bildirilmektedir (32). Enfeksiyona neden olan *Enterococcus* cinsi bakteriler arasında en sık izole edilen türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur (48,39).

Meydana gelen enfeksiyonlarda, *Enterococcus faecium*, antibiyotiklere karşı *Enterococcus faecalis*'ten daha dirençli olmasıyla dikkat çekmekte ve patojenik *Enterococcus faecium*'un çok çabuk antibiyotik direnç mekanizması geliştirebilmesinin ve bu özelliğini transfer edebilme kabiliyetinin sağlık açısından önemli bir risk olduğu düşünülmektedir (39,46).

Enterococcus'lar yıllardır probiyotik ve starter kültür olarak güvenli bir şekilde kullanılmıştır (13). Gıda kaynaklı *Enterococcus*'lar günümüze kadar herhangi bir klinik enfeksiyona neden olmamıştır. Ayrıca şimdiye kadar herhangi bir probiyotik

Enterococcus enfeksiyonu rapor edilmemiştir (46). Ancak bazı gıda hijyenistleri *Enterococcus* cinsi bakterilerin gıdalarda bulunmasından endişe etmektedir. Çünkü bu mikroorganizmalar henüz GRAS (generally recognised as safe) yani güvenilir olarak kabul edilmemişlerdir (24,20). *Enterococcus* cinsi bakterilerin klinik olaylara neden olması sebebiyle, bu bakterilerin gıda fermentasyonlarında ve probiyotik olarak kullanılmaları günümüzde sorgulanmaktadır (51).

Enterococcus faecium genellikle gıdalarda bulunan zararsız mikroorganizmalar iken, hastane enfeksiyonları yapan bakteriler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle bu organizmaların gıda mikrobiyolojisinde ve gıda proseslerinde kontrolü önem taşımaktadır.

Enterococcus faecium

Enterococcus faecium'un belirgin bir kaynağı olmayıp, değişik kaynaklarda bulunurlar. Bu bakteriler lağım, hayvansal atıklar, toprak, yüzey suları, bitki ve sebzelerde bulunmaktadır (40). Bu bakteriler birçok gıdada, özellikle de hayvansal orijinli gıdalarda bulunmaktadır. *Enterococcus faecium* fermente gıdalardan sıklıkla izole edilmektedir (6,32).

Enterococcus faecium enzim aktiviteleri ile primer ve sekonder metabolitler oluşturarak, peynirlerin aromasına katkıda bulunmaktadır (23). *Enterococcus faecium*, asidifikasyon, proteoliz, sitrattan yararlanma, uçucu aromatik bileşikler üretme gibi fonksiyonel özelliklere sahip olması nedeniyle, bir çok geleneksel fermente gıdanın tat, koku ve aromasında önemli rol oynamaktadırlar. Bu nedenle de bazı gıdaların fermentasyonunda duyuusal özellikleri arttırmak amacıyla da kullanılmaktadır (9,8).

Enterococcus faecium insanlarda ve hayvanlarda intestinal mikrofloranın dengesini korumak amacıyla probiyotik olarak kullanılmaktadır (13,50).

***Enterococcus faecium*'un Antibiyotik Direnci**

Enterococcus cinsi bakteriler genellikle düşük virulansa sahip olmalarına rağmen, *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli olmaları nedeniyle, klinik terapilerde önemli problemlere neden olmaktadır (42,24,7,48). Amerika'da sağlıklı bireylerin ortalama % 5-20'sinde *Enterococcus* kolonizasyonu ya da enfeksiyonu rapor edilmiştir (41). *Enterococcus faecalis* enfeksiyonların % 80-9'ından sorumlu iken, *Enterococcus faecium* ise % 5-15'inden sorumlu olduğu bildirilmiştir (15,16). Amerika'da *Enterococcus faecium*, hastane enfeksiyonlarına en sık neden olan ikinci bakteridir (52,31). Bu bakteriler klinik uygulamalarda kullanılan bir çok antibiyotiğe karşı dirençlidirler (38). Bazı kaynaklarda *Enterococcus faecium*'un antibiyotiklere karşı *Enterococcus faecalis*'ten daha dirençli olduğu belirtilmektedir (45).

Antibiyotiklerin hayvan yemlerinde gelişim arttırmak amacı ile kontrolsüz olarak kullanılması ile antibiyotiğe dirençli *Enterococcus faecium* türlerinin ortaya çıkmaktadır (19,45,22,8). Özellikle de belirtilen amaç için kullanılan antibiyotiklerin önemli bir kısmı insan tedavisinde de kullanıldığı için çapraz direnç kazanmaları söz konusu olmaktadır (19).

1980'li yılların sonunda ilk defa glikopeptidlere karşı dirençli *Enterococcus* (GRE) tespit edilmiş ve bunun neden olduğu enfeksiyon güçlülkle tedavi edilebilmiştir (48). Vancomycin ve teicoplanine karşı direnç, gıda kaynaklı *Enterococcus*'lar arasında en sık izole edilen direnç fenotipidir (22). *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* bu glikopeptidlere karşı direnç kazanmışlardır (4). Teicoplanin ve vancomycin gibi glikopeptidlerin önemi, çoklu ilaç direnci gösteren türlere ya da penicilin, ampicillin gibi antibiyotiklere karşı alerji gösteren kişilerin klinik tedavisinde kullanılmalarından kaynaklanmaktadır (22). Bu antibiyotikler immun sistemi zayıf ya da bastırılmış bireylerde birkaç enfeksiyona karşı en son çare olarak kullanılan antibiyotiklerdir (48). Bu nedenle vancomycine dirençli *Enterococcus*'lar (VRE) halk sağlığı için global bir tehdit olarak ortaya çıkmaktadır (21).

VRE'ler çoklu ilaç direnci gösteren bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde ve vancomycin ile tedaviye ihtiyaç duyulan hastalarda tedavinin başarısız olmasına neden olmaktadır (38). Bu nedenle hastanelerde vancomycine dirençli *Enterococcus*'ların ortaya çıkması endişe vermektedir (21). VRE'lerin ortaya çıkmasıyla *Enterococcus*'lar kullanılan bütün antibiyotiklere karşı direnç kazanmış durumdadırlar (52). VRE'lerin sebep olduğu enfeksiyonlar, Avrupa ve Amerika'da önemli bir problem haline gelmiştir (14). Son yıllarda *Enterococcus faecium* en sık ortaya çıkan VRE olarak tanımlanmaktadır (48,10).

Vancomycine dirençli *Enterococcus faecium* (VREF) suşları, hastane ortamları, insanlar, hayvansal kaynaklardan, sulardan ve tarımsal ürünlerden izole edilmiştir (38). Yapılan çalışmalar, vancomycine yüksek derecede direnç gösteren *Enterococcus faecium* suşlarının hayvansal orjinli gıdalarda bulunduğunu göstermiştir (47). Vancomycine dirençli *Enterococcus faecium* suşları lağım suları ile sulanmış bitkiler, atık sular ve dışkıları gibi çeşitli kaynaklardan çevresel kontaminasyon yoluyla gıdalara ulaşabilmektedir (22). Kesim yerlerindeki kötü hijyen koşulları sonucunda karkaslar fekal kontaminasyonla kontamine olarak hayvansal gıdalar bu dirençli türler için bir vektör olmaktadır (36). VREF suşları biftek, kümes hayvanları, domuz ve diğer et ürünlerinden izole edilmiştir.

Kontamine gıdalar aracılığı ile VRE'lerin insanlara transfer edilebilme riski endişe doğurmaktadır (47,31). Direnç genlerinin gıda zinciri aracılığı ile insanları da etkileyebileceği düşünülmektedir (48).

Pastörize ve çiğ sütlerde antibiyotiğe dirençli *Enterococcus*'ların (ARE) varlığı tespit edilmiştir. ARE'ler et ürünleri, yemeye hazır gıdalar ve hatta probiyotik kültürlerde bulunmaktadır. Bu ürünlerde antibiyotik direnç bulunması, direncin gıda zincirine yayılması riskini doğurmaktadır. Kanamycin ve gentamicine yüksek direnç gösteren *Enterococcus faecium* türleri Fransız peynirlerinden ve hastanedeki hastalardan izole edilmiştir (22). *Enterococcus faecium* süt endüstrisinde, özellikle de peynir üretiminde starter olarak kullanılmasına rağmen günümüze kadar süt ürünlerinde VRE ile ilgili bir enfeksiyon rapor edilmemiştir (47).

Gıda kaynaklı *Enterococcus faecium* türlerinin patojen olduklarına dair hiçbir kanıt bulunmamasına rağmen, bu organizmalar taşıyıcıya adapte olabilen antimikrobiyel direnç ve virulans özellikler taşıyabilirler (28). Bu bakteriler, genetik materyallerini değiştirebilmeleri ve genetik bilgilerini diğer türlerle bile paylaşabilmeleri nedeniyle, mevcut genomun değişmesine yol açmakta yada plazmidler aracılığıyla genetik materyallerin hücreler arası transferine neden olmaktadır (53). Böylece bu organizmalar kendisi bile virulans faktör taşımazken, zararsız bir türü patojen haline dönüştürebilmektedir (45,10).

Yapılan konjugasyon çalışmaları klinik *Enterococcus* türlerindeki transfer sıklığının, gıda kaynaklı veya probiyotik türlere göre daha başarılı olduğunu göstermiştir (32). Birçok araştırma klinik örneklerdeki *Enterococcus* türlerinin, gıda kaynaklı türlerden daha fazla virulans faktör taşıdığını ve ayrıca starter kültür olarak kullanılan *Enterococcus* türlerinin, klinik izolatlara göre daha düşük patojeniteye sahip olduklarını göstermektedir. Klinik izolatlardaki virulans faktörlerin etkileri, gıdalardan izole edilen türlerinkinden çok daha fazladır. Gıdalardan izole edilen *Enterococcus faecium* suşları genellikle virulans faktör taşımamaktadır (13). Ancak halen güvenli olarak bilinen bir suşun konjugasyonla bilinen virulans faktörlerden birini kazanma riski vardır. Probiyotik ve starter kültür olarak yüksek sayılarda *Enterococcus* tüketilmesi sonucunda, virulans gen taşıyan plazmidlerin yayılabileceği düşünülmektedir (14). Çünkü gıdalarda bulunan *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un antibiyotik direnç taşıyabildikleri tespit edilmiştir (49). Ayrıca gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan *Enterococcus faecium* suşlarının, klinik örneklerden izole edilen medikal orijinli patojenlerden in vitro koşullarda transkonjugasyon yoluyla virulans faktörler elde edilebildikleri tespit edilmiştir (45,10). Bu nedenle antimikrobiyel dirençli *Enterococcus faecium* popülasyonları taşıyan gıdaların tüketimi, muhtemel transferlere aracı olabilir ve taşıyıcıda direnç determinantlarının oluşması ve kolonizasyonu ile sonuçlanabilir (28).

Günümüzde halen *Enterococcus* 'ların fermente gıdalardaki virulans faktörleri ve antibiyotik direnci hakkında çok az veri bulunmaktadır. Gıda ortamındaki gen transferinin ve fermentasyon sırasındaki antibiyotik direnç dinamiklerinin nasıl

meydana geldiği ile ilgili bilgilere ihtiyaç duyulmaktadır (8). Patojen olan *Enterococcus* türleri ile gıdalarda güvenli olarak kullanılan kültürler arasındaki fark tam olarak bilinmemektedir (13).

Sonuç

Virülans faktörlerin ortaya çıkması ve fermente gıdalarda kullanılan bakteriyosin üreten ya da koruyucu, starter veya probiyotik olarak kullanılan kültürlerin güvenliği suşa özgüdür. Günümüzde halen *Enterococcus*'ların starter kültür olarak kullanılmalarının güvenilir olup olmadığına yanıt vermek güçtür. Bu organizmaların endüstriyel alanda ve gıda proseslerinde kullanılmaları halen sorgulanmaktadır. Gıda kültürü olarak kullanılacak *Enterococcus* türlerinin antibiyotik dirençliliği ve virulans özellikleri açısından güvenilirliği test edilmelidir.

Kaynaklar

1. AHMAD, M.; SMITH, D., G.; MAHBOOB, S., 2002. Effect of NaCl on Heat Tolerance of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. OnLine Journal of Biological Sciences, 2, 7, 483-484.
2. AHMAD, M.; SMITH, D., G.; MAHBOOB, S., 2002. Effect of pH Medium During Growth on Heat Tolerance of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. OnLine Journal of Biological Sciences, 2, 7, 502-504.
3. ARIZCUN, C.; BARCINA, Y.; TORRE, P.; 1997. Identification and Characterization of Proteolytic Activity of *Enterococcus faecium* spp. Isolated from Milk and Roncal and Idiazabal Cheese. International Journal of Food Microbiology, 38, 17-24.
4. BAŞUSTAOĞLU, A.; AYDOĞAN, H.; BEYAN, C.; YALÇIN, A.; ÜNAL, S., 2001. First Glycopeptide-Resistant *Enterococcus faecium* Isolate From Blood Culture in Ankara, Turkey. Emerging Infectious Diseases, Vol. 7, No. 1, 1-3.
5. BIROLLO, G., A.; REINHEIMER, J., A.; VINDEROLA, C., G.; 2001. Enterococci vs non-lactic Acid Microflora as Hygiene Indicators for Sweetened Yoghurt. Food Microbiology, 18, 597-604.

6. BODIL, L., 2003. Different Roles of *Enterococcus faecium* from a human perspective. Doktorsavhandling Vid Karolinska Institutet, 3, 435.
7. BODIL, L., ADAMSSON, I.; EDLUND, C.; 2002. Gastrointestinal Transit Survival of *Enterococcus faecium* Probiotic Strain Administered With or Without Vancomycin. International Journal of Food Microbiology, 77, 109-115.
8. COCCONCELLI, P., S.; CATTIVELLI, D.; GAZZOLA, S.; 2003. Gene Transfer of Vancomycin and Tetracycline Resistances Among *Enterococcus faecalis* During Cheese and Sausage Fermentations. International Journal of Food Microbiology, 88, 315-323.
9. DE VUYST, L.; 2000. Technology Aspects Related to The Application of Functional Starter Cultures. Food Technology Biotechnology, Vol. 38, No. 2, 105-112.
10. DE VUYST, L.; MORENO, M., R.; REVETS, H.; 2003. Screening for Enterocin and Detection of Hemolysin and Vancomycin Resistance in Enterococci of Different Origins. International Journal of Food Microbiology, 84, 299-318.
11. DOMING, K., J.; MAYER, H., K.; KNEIFEL, W.; 2003. Methods Used for The Isolation, Enumeration, Characterisation and Identification of *Enterococcus* spp. 1. Media for The Isolation and Enumeration. International Journal of Food Microbiology, 88, 2-3, 147-164.
12. DOMING, K., J.; MAYER, H., K.; KNEIFEL, W.; 2003. Methods Used for The Isolation, Enumeration, Characterisation and Identification of *Enterococcus* spp. 2. Pheno- and Genotyping Criteria. International Journal of Food Microbiology, 88, 165-188.
13. EATON, T., J., GASSON, M., J., 2001. Molecular Screening of *Enterococcus* Virulence Determinants and Potential for Genetic Exchange Between Food and Medical Isolates. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 67, No. 4, 1628-1635.
14. EATON, T., J.; GASSON, M., J., 2002. A Variant Enterococcal Surface Protein Esp_{fm} In *Enterococcus faecium*; Distribution Among Food, Commensal, Medical And Environmental Isolates. FEMS Microbiology Letters 216, 269-275.

15. EL-DIN, B., B., EL-SODA, M.; EZZAT, N., 2002. Proteolytic, Lipolytic And Autolytic Activities of Enterococci Strains Isolated From Egyptian Dairy Products. *Lait*, 82, 289-304.
16. ERDEM, İ.; CİÇEK-ŞENTÜRK, G.; YÜCESOY-DEDE, B.; YÜKSEL-KOÇDOĞAN, F.; YÜKSEL, S.; KARAGÜL, E., 2004. In Vitro Effect Of Levofloxacin And Vancomycin Combination Against Aminoglycosid-Resistant Enterococci. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20, 92-94.
17. FRAHM, E., OBST, U., 2003. Application of the Fluorogenic Probe Technique (TaqMan PCR) to the Detection of *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* in Water Samples. *Journal of Microbiological Methods* 52, 123-131.
18. FRANZ, C., M., A., P., STILES, M., E.; SCHLEIFER, K., H.; HOLZAPFEL, W., H.; 2003. Enterococci in Foods- A Conundrum for Food Safety. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 2-3, 105-122.
19. 19, V.; SPIEB, W., E., L.; 1998. 3. Karlsruhe Nutrition Symposium European Research Towards Safer and Better Food.
20. GELSOMINO, R.; VANCANNEYT, M.; CODON, S.; SWINGS, J.; COGAN, T., M.; 2001. Enterococcal Diversity in the Enviroment of an Irish Cheddar-type Cheesemaking Factory. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 177-188.
21. GELSOMINO, R.; VANCANNEYT, M.; COGAN, T., M.; SWINGS, 2003. Effect of Raw-Milk Cheese Consumption on the Enterococcal Flora of Human Feces. *J. Applied and Enviromental Microbiology*, Vol. 69, No. 1, 312-319.
22. GIRAFFA, G.; 2002. Enterococci From Food. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 163-171.
23. GIRAFFA, G.; 2003. Functionality of Enterococci in Dairy Products. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 2-3, 215-222.
24. GIRAFFA, G.; OLIVARI, A., M.; NEVIANIE., 2000. Isolation of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* from Italian Cheeses. *Food Microbiology*, 17, 671-677.
25. GIRAFFA, G.; SISTO, F.; 1997. Susceptibility to Vancomycin of Enterococci Isolated from Dairy Products. *Letters in Applied Microbiology*, 25, 335-338.

26. GUESSAS, B.; KIHAL, M.; 2004. Characterisation of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Arid Zone Raw Goat's Milk. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 3, No. 6, 339-342.
27. HAMMES, W., P.; HERTEL, C.; 2001. Research Approaches for pre- and Probiotics: Challenges and Outlook Food Research. *International Journal of Food Microbiology*, 35, 165-170.
28. HAYES, J., R., ENGLISH, L., L., CARTER, P., J., PROESCHOLDT, T., LEE, K., Y., WAGNER, D., D., WHITE, D., G.; 2003. Prevalence and Antimicrobial Resistnce of *Enterococcus* Species Isolated from Retail Meats. *Applied and Enviromental Microbiology*, Vol. 69, No. 12, 7153-7160.
29. HUGAS, M., GARIGGA, M., AYMERICH, M., T.; 2003. Functionality of Enterococci in Meat Products. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 2-3, 223-233.
30. KE, D., PICARD, F., J., MARTINEAU, F., MENARD, C., ROY, P., H., OUELLETTE, M., BERGERON, M.; 1999. Development of a PCR Assay for Rapid Detection of Enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 37, No. 11., 3497-3503.
31. KLARE, I.; 2003. Occurrence and Spread of Antibiotic Resistances in *Enterococcus faecium*. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 88, No. 2-3, 269-29.
32. KLEIN, G.; 2003. Taxonomy, Ecology and Antibiotic Resistance of Enterococci From Food and Gastro-Intestinal Tract. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 2-3, 123-131.
33. KLEIN, G.; PACK, A.; BONAPARTE, C.; REUTER, G.; 1998. Taxonomy and Physiology of Probiotic Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 103-125.
34. KUHN, I., IVERSEN, A., BURMAN, L., G.; OLSSON-LIJEQUIST, B.; FRANKLIN, A.; FINN, M.; AARESTRUP, F.; SEFRTH, A., M.; BLANCH, A., R.; VILANOVA, X.; TAYLOR, H.; CAPLIN, J.; MORENO, M., A.; DOMÍNGUEZ, L.; HERRERO, H.; MOLLBY, R. 2003. Comparison of Enterococcal Populations in Animals, Humans and The Enviroment-A European Study. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 2-3, 133-145.

35. KUHN, I., IVERSEN, A., MOLLBY, R., 2003. The phene plate™ System for Studies of the Diversity of Enterococcal Populations from the Food Chain and the Enviroment. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 2-3, 189-196.
36. LEMCKE, R.; BULTE, M., 2000. Occurrence of the Vancomycin-resistant Genes Van A, Van B, Van C₁, Van C₂ and Van C₃ in *Enterococcus* Strains Isolated from Poultry and Pork. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 60, Issue 2-3, 185-194.
37. LU, H., Z.; WENG, X., H.; LI, H.; YIN, Y., K.; PANG, M., Y.; TANG, Y., W.; 2002. *Enterococcus faecium*-related Outbreak With Molecular Evidence Transmission From Pigs To Humans. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 40, No. 3, 913-917.
38. LUKASOVA, J.; SUSTACKOVA, A.; 2003. Enterococci and Antibiotic Resistance. *Acta Vet. Brno*, 72, 315-323.
39. LUND, B.; ADAMSSON, I.; EDLUND, C., 2002. Gastrointestinal Transit Survival of an *Enterococcus faecium* Probiotic Strain Administered with or without Vancomycin. *Interniotanal Journal of Food Microbiology*, 77, 109-115.
40. MAREKOVA, M.; LAUKOVA, A.; DE VUYST, L.; NES, I.; F., 2003. Partial Characterization of Bacteriocins Produced Enviromental Strain *Enterococcus faecium* EK13. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 523-530.
41. NAMDARI, H., 1998. Application of PCR for the Characterisation of Enterococci. *Clinical Microbiology Newsletter*, Vol. 20, No.11, 91-93.
42. PANAGEA, S., CHADWICK, P., R., 1996. Heat Tolerance of Vancomycin Resistant *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Pathology*, 49, 687-689.
43. PAPAMANOLI, E.; TZANESTAKIS, N.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; KOTZEKIDOU, P.; 2003. Characterisation of Lactic Acid Bacteria Isolated From a Greek Dry- Sausages in Respect of Their Technological and Probiotic Properties. *Meat Science*, 65, 859-867.
44. PETERS, J.; MAC, K.; WICHMANN-SCHAUER, H.; KLEIN, G.; ELLERBROEK, L., 2003. Species Distribution and Antibiotic Resistance Patterns of Enterococci Isolated from Food of Animal Origin in Germany. *International Journal of Food Microbiology* 88, 311-314.

45. QUEDNAU, M.; AHRNE, S.; MOLIN, G., 1999. Genomic Relationships Between *Enterococcus faecium* Strains From Different Sources With Different Antibiotic Resistance Profiles Evaluated By Restriction Endonuclease Analysis Of Total Chromosomal Dna Using *EcoRI* And *PvuII*. Applied and Environmental Microbiology Apr., 1777-1780
46. RINKINEN, M.; JALAVA, K.; WESTERMARCK, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.; C., 2003. Interaction Between Probiotic Lactic Acid Bacteria and Canine Enteric Pathogens: A Risk Factor for Intestinal *Enterococcus faecium* Colonization. Veterinary Microbiology, 92, 111-119.
47. ROBREDO, B.; SINGH, K., V., BAQUERO, F.; MURRAY, B., E.; TORRES, C., 2000. Vancomycin Resistant Enterococci Isolated From Animals And Food. International Journal of Food Microbiology, 54, 197-204.
48. SALMINEN, S.; WRIGHT, A., V., MORELLI, L., MARTEAU, P., BRASSART, D., DE VOS, W., M., FONDEN, R., SAXELIN, M., COLLINS, K., MOGENSEN, G., BIRKELAND, S., E., MATILLA-SANDHOLM, T., 1998. Demonstration of Safety of Probiotics- a Review. International Journal of Food Microbiology, 44, 93-106.
49. SEMEDO, T., SANTOS, M., A., LOPES, M., S., MARQUES, J., J., CRESPO, M., T., B., TENREIRO, R., 2003. Virulence Factors in Food, Clinical and Reference Enterococci : A Common Trait in the Genus?, System Appl. Microbiology, 26, 13-22.
50. STROMPFOVA, V.; LAUKOVA, A.; OUWEHAND, A., C.; 2004. Selection of Enterococci for Potential Canine Probiotic Additives. Veterinary Microbiology, 100, 1-2, 107-114.
51. VANCANNEYT, M.; LOMBARDI, A.; ANDRIGHETTO, C.; KNIFF, E.; TORRIANIS; BJORKROTH, K., J.; FRANZ, C., M., A., P.; MORENO, M., R., F.; REVETS, H.; DE VUYST, L.; SWINGS, J.; KERSTERS, K.; DELLAGLIO, F.; HOLZAPFEL, W., H.; 2002. Intraspecies Genomic Groups in *Enterococcus faecium* and Correlation with Origin and Pathogenicity. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 68, No.3, 1381-1391.

52. WEGENER, H., C.; MADSEN, M.; NIELSEN, N.; AARESTRUP, F., M., 1997. Isolation of Vancomycin Resistant *Enterococcus faecium* from Food. International Journal of Food Microbiology, 35, 57-66.
53. YAMAN, F.; ESENDAL, Ö.; 2004. Balıklarda Probiyotik Kullanımı. Orlab on-line Mikrobiyoloji Dergisi, Vol. 2, No. 6, 1-18.

HİNDİ KIYMALARINDAN *LISTERIA MONOCYTOGENES*'İN İMMUNO MANYETİK SEPARASYON TEKNİĞİ İLE SAPTANMASI VE İZOLATLARIN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Naim Deniz AYAZ¹

İrfan EROL²

¹ Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, KIRIKKALE.

E-mail: naimdenizayaz@kku.edu.tr

² Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, ANKARA.

E-mail: erol@ankara.veterinary.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, Ankara'da değişik firmalar tarafından paketlenmiş formda tüketime sunulan taze hindi kıymalarından immuno manyetik separasyon (IMS) tekniği ile *Listeria monocytogenes*'in saptanması ve izolatların disk difüzyon tekniği ile antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 1 yıllık süre içerisinde aylık periyotlar halinde alınan toplam 180 hindi kıyma örneği analiz edilmiş ve örneklerin 32'sinden (%17.7) *L. monocytogenes* izole ve identifiye edilmiştir. *L. monocytogenes* insidensinde mevsimsel farklılık tespit edilmemiştir. Genel olarak, 32 izolatın 27'sinin (%84.37) en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu, bu kapsamda izolatlardan 22'sinin (%68.75) ampiciline ve 26'sının (%81.25) penisilin G'ye dirençli olduğu saptanmıştır. İzolatlardan 21'inin (%65.62) 1'den fazla antibiyotiğe direnç gösterdiği belirlenmiş olup çoklu direnç gösteren 21 (%65.62) izolatın ampicilin ve penisilin G'ye dirençli oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca 13 izolatla eritromisine, 6 izolatla da streptomisine orta düzeyde direnç saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada incelenen hindi kıymalarının *L. monocytogenes* ile yüksek oranda kontamine olduğu ve izolatların önemli bir bölümünün antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, hindi kesim ve işleme sürecinde gerekli hijyenik ve teknik koşulların sağlanması, uygun muhafaza koşullarının uygulanması halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Ayrıca entansif hayvan yetiştiriciliğinde ve hastalıkların tedavisinde bilinçsiz ve aşırı antibiyotik kullanımının engellenmesi, bu konuyla ilgili gerekli yasal düzenlemelerin uygulamaya geçirilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler : *Listeria monocytogenes*, hindi kıyma, IMS, antibiyotik dirençlilik

ABSTRACT

DETECTION OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN GROUND TURKEY BY IMMUNOMAGNETIC SEPARATION AND DETERMINATION OF THE ANTIBIOTIC RESISTANCE

The objectives of this study were to determine the incidence of *Listeria monocytogenes* by immunomagnetic separation (IMS) in packaged fresh ground turkey from different producers marketed in Ankara and to detect the antibiotic resistance of the isolates by disc diffusion method.

In the present study, a total of 180 ground turkey samples were analysed during 1 year period (15 samples each month) and in 32 (17.7%) of the tested samples *L. monocytogenes* were detected. For the incidence of *L. monocytogenes* seasonal differences was not significant. In generally it was determined, 27 (84.37%) of the 32 isolates were resistant to at least one antibiotic. According to these results, 22 (68.75%) isolates were resistant to ampicillin and 26 (81.25%) to penicillin G. So, 21 (65.62%) of the isolates were resistant to more than one antibiotic. Isolates that showed multiple drug resistance were resistant to ampicillin and penicillin G. Furthermore, 13 isolates were found intermediately resistant to erythromycin and 6 isolates to streptomycin.

In conclusion, the incidence of *L. monocytogenes* in raw ground turkey was found high and most of the isolates were resistant to widely used antibiotics. Based on the results, the ground turkey should be produced under suitable hygienic and technological conditions for the prevention of public health. Also, the use of antimicrobials as prophylactic or growth promoter agent should be controlled systematically by the governmental agencies.

Key words : *Listeria monocytogenes*, ground turkey, IMS, antibiotic resistance

1.GİRİŞ

Önemli bir alternatif hayvansal protein kaynağı olarak hindi eti üretimi tüm dünyada giderek artan bir önem kazanmaktadır. Türkiye’de de bu eğilime paralel olarak hindi eti üretimi önemli artış göstermiş olup 2000 yılında 20.000 ton olup (8), 2003 yılında 34.078 tona (5) yükselmiştir. Son yıllarda Türkiye’de çeşitli firmalar entansif hindi yetiştiriciliğine yönelmiş olup ürünlerini bütün, parça, kıyma ve ileri işlenmiş ürünler (salam, sosis, jambon vb.) şekilde piyasaya sunmaktadır (18).

Gıda üretiminde kullanımının pratik ve ekonomik olmasıyla yoğun olarak tercih edilen kıyma, uygulanan parçalama işlemine bağlı olarak yüzeyinin genişlemesi ve yapısının bozulması sonucu, saprofitik ve patojen mikroorganizmaların gelişimi için ideal bir ortam özelliğine sahip olmasıyla risk grubu gıdalar içerisinde yer almaktadır (9).

Listeriosis, hücre içi, Gram pozitif, zoonoz bir bakteri olan, *Listeria monocytogenes* tarafından oluşturulmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar listeriosis olgularının önemli bir bölümünün kontamine gıdalardan kaynaklandığını ortaya koymaktadır (14). Listeriosis ensefalitis, meningitis, abort ve sepsis gibi çeşitli formlarda şekillenebilmektedir. *L. monocytogenes*’in sebep olduğu gıda kaynaklı infeksiyonlarda etken başlıca süt ürünleri, kırmızı et , kanatlı eti, balık, sebzeler ve gıda üretim tesislerinden izole edilmiştir (10). Çeşitli araştırmacıların (11, 26) yapmış oldukları çalışmalarda, hindi etinden üretilen sosislerin %90’ının, hindi kıymaların %76’sının ve hindi but, kanat gibi bölümlerinin ise %38’inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Kayıtlı verilere göre ABD’de *L. monocytogenes*’in, yılda 1.500 vakaya neden olduğu ve bunlardan yaklaşık %35’inin ölümle sonuçlandığı bildirilmiştir (21). Dolayısıyla kontamine gıdalardan *L. monocytogenes*’in hızlı ve güvenilir metotlarla tespiti ve identifiye edilmesi halk sağlığının korunması açısından büyük önem taşımaktadır.

İmmuno manyetik separasyon (IMS) tekniği, heterojen hücre süspansiyonlarından spesifik hücrelerin ayrılmasında etkili bir yöntem olarak bildirilmiştir. Dynabeads Anti-*Listeria*’nın (Dynal, Oslo, Norway) *L. monocytogenes*’in selektif tespitinde etkin olarak

kullanılabileceği ortaya konmuştur. Bu yöntem ile *L. monocytogenes*'in gıdalardan saptanmasında 24 saatlik bir ön zenginleştirme işleminden sonra düşük sayılardaki (<10 kob/g) *L. monocytogenes*'in tespit edilebildiği belirtilmiştir (24).

Değişik bakteriler türleri her geçen gün yeni antibiyotiklere direnç kazanmaktadırlar (12). Önceleri listeriosis tedavisinde tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, penisilin ve ampisilin kullanılırken (6) günümüzde ampisilin ve gentamisin kombine bir şekilde kullanılmaktadır (22).

Bir çok antibiyotik kanatlı yetiştiriciliğinde yemlere ve içme sularına tedavi edici, hastalıktan koruyucu veya büyütme faktörü olarak katılmaktadır (26). Özellikle kanatlılardan izole edilen bakterilerin antibiyotiklere dirençli olmasının başlıca sebebinin, profilaktik olarak antibiyotik kullanımı olduğu belirtilmiştir (7, 19, 25).

Antibiyotik dirençliliğin daha çok sulfisokzazol, amoksisilinklavulanik asit, ampisilin, spektinomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, florfenikol, streptomisin, kotrimokzazol, karbadoks ve trimetoprim karşı şekillendiği bunun nedeninin ise bu antibiyotiklerin kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde yoğun olarak kullanılması olarak belirtilmiştir (1, 16).

Bu çalışmada, etkin ve duyarlı bir teknik olan immuno manyetik separasyon (IMS) ile hindi kıymalarındaki *L. monocytogenes* insidensinin tespiti ve izole edilen izolatların çeşitli antibiyotiklere karşı dirençliliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, paketlenmiş formda tüketime sunulan değişik firmalara ait 180 taze hindi kıyma örneği materyal olarak kullanılmıştır. Mevsimsel farklılıkları da inceleyebilmek amacıyla, 1 yıl süre ile her ay 15 örnek alınmıştır.

Paketlenmiş olarak alınan örnekler, soğuk zincir altında laboratuvara getirildikten sonra aseptik koşullarda *L. monocytogenes* yönünden analiz edilmiştir. Çalışmada *L. monocytogenes*'in IMS tekniği ile izolasyonunda, Lee ve McClain (13, 16), ISO/ TC 34/

SC 9 (Uluslararası standartlar organizasyonu) (2) ve Dynal firması (3) tarafından bildirilen yöntemler kullanılmıştır. Antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesinde ise disk difüzyon testi uygulanmıştır (4, 27).

2.1. IMS TEKNİĞİ

Aseptik koşullarda hindi kıyma örneklerinden 10'ar gram tartılıp, 90ml Half Fraser Broth (Oxoid CM 895, SR 156) ile homojenize edilerek 30°C'de 20-24 saat ön zenginleştirme işlemi yapılmıştır. Ön zenginleştirme yapılan homojenattan 1ml alınarak, içlerinde 20 µl anti-*Listeria* immunomanyetik beadler (Dynal) bulunan 1.5 ml'lik steril santrifüj tüplerine ilave edilmiştir. Süspansiyon immunomanyetik separasyona tabi tutulmuş ve prosedürde belirtildiği şekilde %0.05 Tween 20 içeren phosphate-buffered saline (PBS-Tween 20, Sigma P-3563) (pH 7.4) ile 3 kez yıkama işlemi yapılmıştır. PBS ile son yıkamadan sonra beadler 100 µl steril %0.1 Tween 20 PBS içerisinde yeniden süspanse edilmiş ve konsantre edilen bu sıvıdan MOX agara (Oxford Agar; Oxoid CM 856, SR 140) ekimler yapılarak 35°C'de 24-48 saat inkübasyona alınmıştır. MOX agarda üreyen tipik koloniler biyokimyasal testler yapılmak üzere, litresinde 6 g yeast extract içeren TSA'ya (Tryptic Soy Agar; Oxoid CM 131) geçildikten sonra plaklar 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Üreyen kolonilerden sırası ile; Gram boyama, katalaz (% 3'lük H₂O₂ ile), oksidaz (Bactident oxidase; Merck 113300) ve SIM mediumda (Sulphate Indole Motility Medium; Merck 5470) hareketlilik testleri yapılmıştır. İzole edilen *Listeria* ların identifikasyonu amacıyla % 7'lik koyun kanlı agarda β-hemoliz ile L-ramnoz, D-ksiloz, mannitol, salisin, dulsit ile karbonhidrat redüksiyon testleri, nitrat redüksiyon ve CAMP testleri yapılarak izolatların identifikasyonu gerçekleştirilmiştir (2, 3, 13, 15).

2.2. ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİN SAPTANMASI

İzolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu işlem, NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) tarafından bildirilen yöntem esas alınarak Mueller-Hinton agarda, ampicillin (A10), chloramphenicol (C30), erythromycin (E15), gentamicin (CN10), penicillin G (P10),

streptomycin (S10), tetracycline (TE30) ve vancomycin (VA30) diskleri (Oxoid) kullanılarak yapılmıştır (4, 27).

3. BULGULAR

Her ay 15 hindi kıyma örneği olmak üzere 1 yıl boyunca toplam 180 örnek IMS tekniği ile *L. monocytogenes* yönünden incelenmiştir. IMS tekniği ile izolasyon sonuçlarına göre 180 örnekten 32'sinin (%17.77) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir.

Aylara göre hindi kıymalarının *L. monocytogenes* ile kontaminasyon düzeyi incelendiğinde ise, Aralık, Ocak ve Şubat aylarını kapsayan soğuk dönemde 8 (%25) örneğin, Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarını kapsayan sıcak dönemde de 8 (%25) örneğin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla *L. monocytogenes* ile hindi kıymalarının kontaminasyon düzeyinde herhangi bir mevsimsel etki saptanmamıştır.

Genel olarak, 32 izolatın 27'sinin (%84.37) en az bir antibiyotiğe dirençli olduğu bu kapsamda, izolatlardan 22'sinin (%68.75) ampisiline ve 26'sının (%81.25) penisilin G'ye dirençli olduğu saptanmıştır. İzolatlardan 21'inin (%65.62) 1'den fazla antibiyotiğe direnç gösterdiği belirlenmiş olup, antibiyotiklere çoklu direnç gösteren 21 (%65.62) izolatın ampisilin ve penisilin G'ye dirençli oldukları tespit edilmiştir.

İzolatlardan 13'ü (%40.62) eritromisine, 6'sı da (%18.75) streptomisine orta düzeyde direnç göstermişlerdir. Bununla birlikte 32 izolatın 10'u (%31.25) ampisiline, 32'si (%100) kloramfenikole, 19'u (%59.37) eritromisine, 32'si (%100) gentamisine, 6'sı (%18.75) penisilin G'ye, 26'sı (%81.25) streptomisine, 32'si (%100) tetrasikline ve 32'si (%100) vankomisine duyarlılık göstermişlerdir (Tablo 1).

Tablo 1. *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri.

Antibiyotik	Duyarlı (S)	Orta Dirençli (I)	Dirençli (R)
Ampicillin	10	-	22
Chloramphenicol	32	-	-
Erythromycin	19	13	-
Gentamicin	32	-	-
Penicilin G	6	-	26
Streptomycin	26	6	-
Tetracyclin	32	-	-
Vancomycin	32	-	-

S: Susceptibility, I: Intermediate, R: Resistance

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada 180 hindi kıyma örneğinin 32'sinin (%17.7) *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın Wesley ve ark. (2002) yapmış oldukları çalışmada, 150 parça hindi eti örneğinin 57'sinde (%38) *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir (28).

Buna ek olarak Uyttendaele ve ark.(1997) 1992-1995 yılları arasında Belçika ve Fransa'da, kanatlı kesimhanelerindeki çiğ kanatlı ürünlerinde *L. monocytogenes*'in varlığının belirlenmesine yönelik yaptıkları bir çalışmada, hindi karkas ve parça etleri ile ileri işlenmiş ürünlerin (kanat, göğüs, fileto ve hindi etinden yapılan hamburger ve sos) yıllara göre sırasıyla %9, %2.2, %8.5 ve %0.9'undan etkeni izole etmişlerdir (23).

Danimarka'da hindi işleme tesisinde yapılan bir çalışmada, kritik kontrol noktalarında işlem esnasında *L. monocytogenes* varlığının %25.9'dan %41.4'e çıktığı gözlenmiştir. Elde edilen bu izolatların DNA'larının listeriosisli insanlardan izole edilen *L. monocytogenes*'ler ile büyük benzerlik gösterdiği de tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak hindi etlerinde *L. monocytogenes* varlığının tüketime hazır gıdalarda %7.3, çiğ ürünlerde ise %17.4 olduğunu ortaya koymuşlardır (17).

İzolatların antibiyotik direnç profilleri incelendiğinde ise, yapmış olduğumuz çalışmada, 32 *L. monocytogenes* izolatından 22'sinin (%68.75) ampisiline ve 26'sının (%81.25) penisilin G'ye dirençli olduğu tespit edilmiştir. Buna paralel olarak Walsh ve ark. (2001) yapmış oldukları çalışmada, Dublin bölgesindeki çeşitli yerel gıdalardan izole edilen *L. monocytogenes*'lerin bazılarının tetrasikline, penisiline ve ampisiline karşı dirençli olduklarını ortaya koymuşlardır (27).

Bir başka çalışmada gıdalardan izole edilen *L. monocytogenes*'lerin eritromisine dirençli olduğu tespit edilmiştir (20). Charpentier ve Courvalin (1999) insanlardan, gıdalardan ve çevreden izole ettikleri *Listeria* türlerinin ise penisilin ve gentamisine dirençli olduğunu belirtmişlerdir (6).

Sonuç olarak, bu çalışmada incelenen hindi kıymalarının *L. monocytogenes* ile yüksek oranda kontamine olduğu ve izolatların önemli bir bölümünün farklı antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, hindi kesim ve işleme prosesinde gerekli hijyenik ve teknik koşulların sağlanması, uygun muhafaza koşullarının uygulanması halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Ayrıca entansif hayvan yetiştiriciliğinde ve hastalıkların tedavisinde bilinçsiz ve aşırı antibiyotik kullanımının engellenmesi, bu konuyla ilgili gerekli yasal düzenlemelerin uygulamaya geçirilmesi gerekmektedir.

5. KAYNAKLAR

1. ALEMAYEHU D., MOLLA B., MUCKLE, A. (2003). Prevalence and antimicrobial resistance pattern of *Salmonella* isolates from apparently healthy slaughtered cattle in Ethiopia. *Trop. Anl. Hlth. Prod.* **35**: 309-319.
2. ANON. (1995). ISO (The International Standards Organization). Microbiology of food and animal feeding stuffs: Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. ISO/TC 34 / SC 9.
3. ANON. (1996). Cell separation and protein purification. Technical handbook, 2nd Ed. Dynal A.S., Norway Printed: 02 96.
4. ANON. (1997). NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standart M2-A6. Wayne, PA, USA.
5. ANON. (2004). Besd-Bir. Kanatlı bilgileri yılığı. Besd-bir yayımları, No: 4.
6. CHARPENTIER, E., COURVALIN, P. (1999). Antibiotic resistance in *Listeria* spp. *Antimicro. Agents Chemo.* **43**: 2103-2108.
7. D'AOUST J.Y., SEWELL A.M., DALEY E., GRECO P. (1992). Antibiotic resistance of agricultural and foodborne *Salmonella* isolates in Canada. *J. Food. Prot.* **55**: 428-434.
8. DPT (2001). Devlet Planlama Teşkilatı, Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı (2001-2005), Sanayii Sektörleri, Beyaz Et ve Yumurta Ürünleri Sanayii, Hindicilik Alt Komisyon Raporu.

9. EROL, İ. (1999). Ankara'da tüketime sunulan kıymalarda *Salmonella*'ların varlığı ve serotip dağılımı. *Tr. J. Vet. Anim. Sci.* **20**: 89-93.
10. GELLINE, B.G., BROOME, C.V. (1989). Listeriosis. *J. Am. Med. Assoc.* **261**: 1313-1320.
11. HAYES, P.S., GRAVES, L.M., AJELLO, G.W., SWAMINATHAN B., WEAVER, R.E., WENGER, J.D., SHUCHAT, A., BROOME, C.V., The *Listeria* Group. (1991). Comparison of cold enrichment and U.S. Department of Agriculture methods for isolating *Listeria monocytogenes* from naturally contaminated foods. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 2109-2113.
12. HOF, H. (1991) Therapeutic activities of antibiotics in listeriosis. *Infect.* **19** (4): 229-233.
13. LEE, W.H., MCCLAIN, D. (1989). Laboratory communication No.57, USDA, FSIS Microbiology Division, Bethesda.
14. LOW, J.C., DONACHIE, W. (1997). A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Vet. J.* **153**: 9-29.
15. MCCLAIN, D., LEE, W.H. (1988). Development of USDA-FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**: 660-664.
16. MOLLA B., KLEER J., SINELL H.J. (1999). Antibiotic resistance pattern of foodborne *Salmonella* isolates in Addis Ababa (Ethiopia). *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **112**: 41-43.
17. OJENIYI, B., CHRISTENSEN, J., BISGAARD, M. (2000). Comparative investigations of *Listeria monocytogenes* isolated from a turkey processing plant, turkey products and from human cases of listeriosis in Denmark. *Epidemiol. Infect.* **125**: 303-308.
18. ÖZDEMİR, G., AKSOY, T. (2001). Yarı entansif tarzda üretim yapan hindi üreticilerinin örgütlenme yoluyla pazarlık gücünü artırma olanakları. TEAE, Ankara.
19. POPPE, C., KOLAR, J.J., DEMCZUK, W.H.B., HARRIS, J.E. (1995). Drug resistance and biochemical characteristics of *Salmonella* from turkeys. *Can. J. Vet. Res.* **59**: 241-248.
20. ROBERTS, M.C., FACINELLI, B., GIOVANETTI, E., VARALDO, P.E. (1994). Transferable erythromycin resistance in *Listeria* spp. isolated from food. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 269-270.
21. SCIACCHITANO, C. J. (1998). DNA fingerprinting of *Listeria monocytogenes* using enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) motifs/polymerase chain reaction/capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **19**: 66-70.
22. SCHLECH, W.F. (2000) Epidemiology and clinical manifestations of *Listeria monocytogenes* infections. In Fischetti, V. et al. (ed) Gram positive pathogens. American Society for Microbiology Press, Washington DC, USA.
23. UYTENDAELE, M.R., NEYTS, K.D., LIPS, R.M., DEBEVERE, J.M. (1997). Incidence of *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry products obtained from Belgian and French abattoirs. *Food Microbiol.* **14**: 339-345.
24. UYTENDAELE, M.R., VAN HOORDE, I., DEBEVERE, J.M. (2000). The use of immunomagnetic separation (IMS) as a tool in a sample preparation method for direct detection of *L. monocytogenes* in cheese. *Int. J. Food Microbiol.* **25**:54(3):205-12.
25. VAN DUJKEREN E., HOUWERS D.J. (2000). A critical assessment of antimicrobial treatment in uncomplicated *Salmonella* Enteritis. *Vet. Microbiol.* **73**: 61-75.
26. VERSALOVIC, K., KOEUTH, T.J., LUPISKI, A. (1991). Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application of fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acid Res.* **24**: 6823-6831.
27. WALSH, D., DUFFY, G., SHERIDAN, J.J., BLAIR, I.S., MCDOWELL, D.A. (2001) Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria monocytogenes*, in retail foods. *J. Appl. Microbiol.* **90**: 517-522.
28. WESLEY, I.V., HARMON, K.M., DICKSON, J.S., SCHWARTZ, A.R. (2002). Application of a multiplex polymerase chain reaction assay for the simultaneous confirmation of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in turkey sample surveillance. *J. Food Protect.* **65**(5): 780-786.

HİNDİ ETLERİNDEN İZOLE EDİLEN *SALMONELLA* SPP., *LISTERIA MONOCYTOGENES* VE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* İZOLATLARININ ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİNİN BELİRLENMESİ¹

İrfan EROL, F. Seda BİLİR ORMANCI, N. Deniz AYAZ,
Özlem İŞERİ, Devrim SARIGÜZEL

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Higiyesi ve Teknolojisi Bölümü 06110, Dışkapı- ANKARA,
sedaormanci@yahoo.com

Özet

Bu çalışmada Ankara'daki marketlerde, Haziran 2005- Ocak 2006 tarihleri arasında satışa sunulan 3 farklı firmaya ait hindi but, göğüs ve kuşbaşı etlerinden izole edilen *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* izolatlarının antibiyotik dirençliliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada toplam 180 hindi eti örneğinden elde edilen 55 *Salmonella* spp., 24 *L. monocytogenes* ve 78 *C. perfringens* izolatı materyal olarak kullanılmıştır. İzolatların antibiyotik dirençliliği disk difüzyon yöntemi (NCCLS- National Committee for Clinical Laboratory Standards) ile belirlenmiştir.

Salmonella spp. izolatlarında en fazla dirençlilik % 50.9 ile tetrasikline karşı bulunurken bu antibiyotiği % 41.8 ile nalidiksik asit, % 40.0 ile streptomisin ve ampicilin, % 5.4 ile gentamisin izlemiştir. İzolatların 48'inin (%87.2) kanamisine karşı orta düzeyde dirençli olduğu bulunmuştur. Çoklu direnç bulgusu olarak 5 izolatın 2 antibiyotiğe, 17 izolatın 3 antibiyotiğe, 6 izolatın 4 antibiyotiğe karşı dirençli olduğu saptanmıştır.

L. monocytogenes izolatlarından 20'sinin (% 83.3) penisiline, 18'inin (% 75.0) ampiciline karşı dirençli olduğu görülmüştür. İzolatlardan 9'unda (% 37.5) eritromisine, 8'inde (% 33.3) streptomisine orta düzeyde direnç saptanmıştır. İzolatlardan tamamının kloramfenikol, gentamisin, tetrasiklin ve vankomisine duyarlı oldukları tespit edilmiştir. On yedi izolatın ise 2 antibiyotiğe karşı çoklu direnç gösterdiği saptanmıştır.

C. perfringens izolatları arasında en fazla dirençlilik % 100 ile trimetoprima karşı bulunurken, bu antibiyotiği % 85.8 ile gentamisin, % 10.2 ile tetrasiklin ve % 6.4 ile siprofloksasin izlemiştir. Ayrıca izolatların 3'ünün (% 3.8) gentamisine karşı, 24'ünün (% 30.7) tetrasikline karşı orta düzeyde dirençli olduğu bulunmuştur. Çoklu antibiyotik direnci profiline bakıldığında 58 izolatın 2 antibiyotiğe, 11 izolatın 3 antibiyotiğe karşı dirençli olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada hindi etlerinden izole edilen önemli bazı patojen bakterilerin birçok antibiyotiğe karşı dirençli bulunması halk sağlığı yönünden potansiyel bir sorun olarak değerlendirilebilir. Antibiyotiklere dirençliliğin hayvansal gıdalarla ilişkilendirilmesi tüm dünyayı ilgilendiren bir problemdir. Bu nedenle antibiyotiklerin gıda üretiminde kullanılan hayvanlarda profilaktik ve gelişmeyi arttırıcı amaçlı kullanımına ilişkin AB direktifleri ile uyumlu olan regülasyonların titizlikle uygulanmasına özen gösterilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik dirençliliği, Hindi eti, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *C. perfringens*

¹Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 0810072).

Abstract

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *SALMONELLA* SPP., *LISTERIA MONOCYTOGENES* AND *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* ISOLATES FROM TURKEY MEAT²

The objective of this study was to determine the antibiotic resistance of the *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* isolated from brisket, leg and minced turkey meat samples obtained from 3 different producers marketed in Ankara, from June 2005 to January 2006. In this study 55 *Salmonella* spp., 24 *L. monocytogenes* and 78 *C. perfringens* isolates from 180 turkey meat samples were used for antibiotic susceptibility by disc diffusion technique (NCCLS-National Committee for Clinical Laboratory Standards).

As a result *Salmonella* spp. isolates were most often found to be resistant to tetracycline (50.9 %), nalidixic acid (41.8 %), streptomycin and ampicillin (40.0 %) and gentamicin (5.4 %). Intermediate sensitivity was found in 48 isolates to kanamycin. Multiple antibiotic resistance were observed as followed: 5 isolates were resistant to 2 antibiotics, 17 isolates to 3 antibiotics and 6 isolates to 4 antibiotics.

Twenty isolates of *L. monocytogenes* showed resistance against penicillin (83.3 %) and 18 isolates to ampicillin (75 %). Nine isolates were found intermediate sensitive to erythromycin (37.5 %) and 8 isolates to streptomycin (33.3 %). All of the *L. monocytogenes* isolates were found susceptible to chloramphenicol, gentamicin, tetracycline and vancomycin. In addition to that 17 isolates were multiple resistant to 2 antibiotics.

C. perfringens isolates were most often found to be resistant to trimethoprim (100 %) and gentamicin (85.8 %). Relatively lesser resistance was observed against tetracycline (10.2 %) and ciprofloxacin (6.4 %). Three isolates were intermediate sensitive to gentamicin (3.8 %) and 24 isolates to tetracycline (30.7 %). Multiple antibiotic resistance were observed as followed: 58 isolates were resistant to 2 antibiotics and 11 isolates to 3 antibiotics.

In conclusion, some of the important foodborne pathogens isolated from turkey meat was found resistance to many of the widely used antibiotics. Antibiotic resistance associated with animal origin food has been a global public health concern. Therefore the Turkish regulation which is mostly in compliance with the EU prohibition regulation for the use of antibiotics in animals for prophylactic and growth promoter agents should apply.

Key words : Antibiotic resistance, turkey meat, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *C. perfringens*

² This study was supported by Scientific Research Council of Ankara University (Project number: 0810072).

GİRİŞ

Veteriner hekimlikte profilaksi, gelişmeyi arttırma veya yem kalitesini yükseltme amacı ile uzun bir periyot halinde, düşük konsantrasyonlarda verilen antibiyotiklerin, tamamen metabolize olmaması veya vücuttan tamamen atılmamasına bağlı olarak, kasaplık hayvanların etleri, iç organları ile yumurta ve sütlerinde antibiyotik kalıntısı bulunabilir. Bu durumda sadece gıdaları tüketen insanlarda toksik ve alerjik etkiler değil, aynı zamanda mikroorganizmalarda direnç gelişimi meydana gelir. Antibiyotiklere dirençlilik plazmidler, transpozonlar ve integronlar vasıtasıyla konak hücre bölünmesi sırasında vertikal olarak geçtiği gibi, karışık bakteriyel popülasyonlardaki aynı veya farklı tür ve soylardaki patojen veya apatojen bakteriler arasında transdüksiyon, konjugasyon veya transformasyon vasıtasıyla horizontal olarak da geçmektedir (6, 9, 10).

Artan dirençlilik nedeni ile antibiyotiklerden bir çoğunun profilaktik ve gelişmeyi arttırıcı olarak yem maddelerine ilave edilmesi AB’de yasaklanmıştır. AB, 1998-1999 yıllarında insan tedavisinde kullanılan antibiyotikler ile benzer veya yakın ilişkili antibiyotiklerden avoparsin, tilyosin, spiramisin, virginamisin ve Zn- basitrasin ile muhtemel toksik etkilerinden dolayı karbadoks ve olakindoksun veteriner hekimlikte kullanımını yasaklamıştır (7).

FAO’nun 2004 yılı verilerine göre dünyada hindi eti üretimi 5.113.000 tondur. Türkiye’de ise yıllık hindi eti üretimi yaklaşık 10.000 ton dolayındadır (1, 2, 5). Hindi eti içerdiği yüksek kaliteli protein ile, düşük kolesterol ve kalori düzeyi ile sağlıklı bir hayvansal gıda olup, tüketimi tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artış eğilimi göstermektedir (8).

Bu çalışmada hindi etlerinden izole edilen *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* izolatlarının antibiyotik dirençlilik profillerinin saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Ankara’daki marketlerde, Haziran 2005- Ocak 2006 tarihleri arasında satışı sunulan 3 farklı firmaya ait, toplam 180 etinden (hindi but, göğüs ve kuşbaşı etleri) izole

edilen 55 *Salmonella* spp., 24 *Listeria monocytogenes* ve 78 *Clostridium perfringens* izolatu materyal olarak kullanıldı.

İzolatların antimikrobiyel dirençlilik profilleri disk difüzyon yöntemi (NCCLS- National Committee for Clinical Laboratory Standards) ile belirlendi (3, 4). Dirençlilik profillerinin belirlenmesi için tablo 1'de belirtilen antibiyotikler kullanıldı.

Tablo.1 İzolatların antimikrobiyel dirençlilik profillerini belirlemek amacı ile kullanılan antibiyotik diskleri

Antibiyotikler	<i>Salmonella</i> spp.,	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i>
Tetrasiklin (10µg, Oxoid CT0003B)	*	*	*
Kloramfenikol (30µg, Oxoid CT0013B)	*	*	*
Gentamisin (10µg, Oxoid CT0024B)	*	*	*
Ampisilin (10µg, Oxoid CT0003B)	*	*	*
Trimetoprim (5µg, Oxoid CT0076B)	*		*
Nalidiksik asit (30µg, Oxoid CT0031B)	*		*
Siprofloksasin (5µg, Oxoid CT0425B)	*		*
Streptomisin (10µg, Oxoid CT0047B)	*	*	
Penisilin (1U, Oxoid CT0152B)		*	*
Trimetoprim/sulfametoksazol (25µg, Oxoid CT0052B)	*		
Kanamisin (30µg, Oxoid CT0026B)	*		
Eritromisin (5µg, Oxoid CT0066B)		*	
Vankomisin (5µg, Oxoid CT0188B)		*	
Amoksisilin (2µg, Oxoid CT0060B)			*

Tryptic Soy Agardan (TSA; Oxoid CM 131) alınan koloniler içerisinde Tryptone Soy Broth (TSB, Oxoid CM0129) bulunan tüplere transfer edilerek, 37°C'de yaklaşık 6-8 saat inkübe edildikten sonra, turbiditesi 0.5 McFarland standardına ayarlandı. İnkübasyondan sonra, hazırlanan steril svab ile Mueller-Hinton Agara (Oxoid CM 0337) yayma yöntemi ile ekim yapıldı. Ekimi takiben 15 dk kurumaya bırakılan petrilere aralarında 30 mm olacak şekilde antibiyotik diskleri yerleştirildi ve 35°C'de, 16-18 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra disklerin etrafındaki inhibisyon zonlarının çapı ölçüldü. Ölçülen zonlar NCCLS'de belirtilen zon çapları esas alınarak "duyarlı, orta dirençli ve dirençli" olarak sınıflandırılıp; dokümantasyonları yapıldı.

BULGULAR

Salmonella spp. izolatlarında antibiyotik dirençlilik testi sonucunda, izolatlardan 13'ü (%23.6) yalnızca bir antibiyotiğe dirençli bulunurken, 5'i (%9.0) iki antibiyotiğe, 17'si (%30.9) üç antibiyotiğe ve 6'sı (%10.9) dört antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. Bu çalışma bulgularına göre 41 (%74.5) izolat en az bir antibiyotiğe dirençli bulunurken, 28 (%50.9) izolat en az iki antibiyotiğe, 23 (%41.8) izolat ise en az 3 antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuştur. İzolatlar arasında en fazla dirençlilik %50.9 ile tetrasikline karşı bulunurken bu antibiyotiği %41.8 ile nalidiksik asit, %40.0 ile streptomisin ve ampisilin, %5.4 ile gentamisin izlemiştir. Çalışmada bazı izolatlarda çoklu dirençlilik gözlenmiştir. Bu kapsamda, 6 (%10.9) izolat tetrasiklin, nalidiksik asit, streptomisin ve ampisiline direnç gösterirken, 15 (%27.2) izolat tetrasiklin, nalidiksik asit ve ampisiline, 2 (%3.6) izolat tetrasiklin, nalidiksik asit ve streptomisine, 3 (%5.4) izolat gentamisin ve streptomisine, 2 (%3.6) izolat ise tetrasiklin ve streptomisine dirençli bulunmuştur. Trimetoprim ve trimetoprim/sulfametaksazole karşı % 100'lük bir duyarlılık saptanırken, kloramfenikol ve siprofloksasine karşı duyarlılık sırasıyla %92.7 ve %91.1 olarak belirlenmiştir. Ayrıca incelenen 55 izolatın 48'inin (%87.2) kanamisine karşı orta düzeyde dirençli olduğu saptanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2: *Salmonella* spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri (n:55)

Antibiyotikler	Duyarlı (%)	Orta Dirençli (%)	Dirençli (%)
Tetrasiklin	24 (43.6)	3 (5.4)	28 (50.9)
Nalidiksik Asit	3 (5.3)	1 (1.8)	23 (41.8)
Streptomisin	2 (3.6)	31 (56.3)	22 (40.0)
Ampisilin	31 (56.3)	2 (3.6)	22 (40.0)
Gentamisin	34 (61.8)	18 (32.7)	3 (5.4)
Kanamisin	7 (12.7)	48 (87.2)	-
Siprofloksasin	51 (92.7)	4 (7.2)	-
Kloramfenikol	54 (98.1)	1 (1.8)	-
Trimetoprim	55 (100)	-	-
Trimetoprim/Sulfametaksazol	55 (100)	-	-

L. monocytogenes izolatlarından 21'i (%87.5) en az bir antibiyotiğe direnç gösterirken, 17 (%70.83) izolatın ise çoklu direnç (ampisilin + penisilin) gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada izolatların 20'sinin (%83.3) penisiline, 18'inin (%75.0) ampisiline direnç gösterdiği saptanmıştır. İzolatlardan 9'unda (%37.5) eritromisine, 8'inde (%33.3) de streptomisine orta düzeyde direnç saptanmıştır. İzolatların tamamının kloramfenikol, gentamisin, tetrasiklin ve vankomisine duyarlı oldukları tespit edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. *L. monocytogenes* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri (n:24)

Antibiyotik	Duyarlı (%)	Orta Dirençli (%)	Dirençli (%)
Ampisilin	6 (25.0)	-	18 (75.0)
Kloramfenikol	24 (100)	-	-
Eritromisin	15 (62.5)	9 (37.5)	-
Gentamisin	24 (100)	-	-
Penisilin	4 (16.7)	-	20 (83.3)
Streptomisin	16 (66.7)	8 (33.3)	-
Tetrasiklin	24 (100)	-	-
Vankomisin	24 (100)	-	-

C. perfringens izolatlarında yapılan testler neticesinde 78 izolatdan, 9'u (%11.5) yalnızca bir antibiyotiğe dirençli bulunurken, 58'i (% 74.3) iki antibiyotiğe, 11'i (%14.1) üç antibiyotiğe karşı dirençli bulunmuştur. İzolatların tamamı (% 100) en az bir antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. İzolatlar arasında en fazla dirençlilik % 100 ile trimetoprim karşı bulunurken, bu antibiyotiği % 85.8 ile gentamisin, % 10.2 ile tetrasiklin ve % 6.4 ile siprofloksasin izlemiştir. İzolatların 3'ünün (% 3.8) gentamisine, 24'ünün (% 30.7) tetrasikline karşı orta düzeyde dirençli olduğu bulunmuştur. Çoklu antibiyotik direnç profiline bakıldığında, 58 izolatın 2 antibiyotiğe, 11 izolatın 3 antibiyotiğe karşı dirençli olduğu saptanmıştır. Ayrıca, 6 izolat trimetoprim, gentamisin ve tetrasikline karşı dirençli bulunurken, 4 izolat trimetoprim, gentamisin ve siprofloksasine, 1 izolat trimetoprim, penisilin ve gentamisine karşı dirençli bulunmuştur. İzolatların tamamı nalidiksik asit, ampisilin, kloramfenikol ve amoksasiline karşı duyarlılık gösterirken, penisiline % 98.7'lik, siprofloksasine 93.5'lik, tetrasikline 58.9'luk, gentamisine % 10.2'lik bir duyarlılık saptanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. *C. perfringens* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri (n:78)

Antibiyotik	Duyarlı (%)	Orta Dirençli (%)	Dirençli (%)
Ampisilin	78 (100)	-	-
Kloramfenikol	78 (100)	-	-
Trimetoprim	-	-	78 (100)
Tetrasiklin	46 (58.9)	24 (30.7)	8 (10.2)
Nalidiksik Asit	78 (100)	-	-
Siprofloksasin	73 (93.5)	-	5 (6.4)
Gentamisin	8 (10.2)	3 (3.8)	67 (85.8)
Penisilin	77 (98.7)	1 (1.2)	-
Amoksisilin	78 (100)	-	-

SONUÇ

Bu çalışmada hindi etlerinden izole edilen önemli bazı patojen bakterilerin birçok antibiyotiğe karşı dirençli bulunması halk sağlığı yönünden potansiyel bir sorun olarak değerlendirilebilir. Antibiyotiklere dirençliliğin hayvansal gıdalarla ilişkilendirilmesi tüm dünyayı ilgilendiren bir problemdir. Bu nedenle antibiyotiklerin gıda üretiminde kullanılan hayvanlarda profilaktik ve gelişmeyi artırıcı amaçlı kullanımına ilişkin AB direktifleri ile uyumlu olan regülasyonların titizlikle uygulanmasına özen gösterilmelidir.

KAYNAKLAR

1. ANON., (2001). Devlet Planlama Teşkilatı, Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, Kanatlı Etleri ve Yumurta Ürünleri Sanayi Alt Komisyon Raporu. <http://www.dtp.gov.tr/gida/oik646.pdf> (erişim tarihi: 01.03.2004).
2. ANON., (2003a). Turkey summary selected countries. http://www.fas.usda.gov/dlp/circular/2003-10LP/turk_sum.pdf (erişim tarihi: 15.03.2004)
3. ANON (2003b). NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standart M2-A8. Pennsylvania, USA.
4. ANON (2003c)., NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria, Volume 24 Number 2 ISSN 0273-3099 Approved Standard—Sixth Edition. M11-A6. Pennsylvania, USA.
5. ANON., (2004). FAO. Turkey meat products. <http://www.fao.org/ag/againfo/subject/en/products> (erişim tarihi: 03.03.2005).
6. DOYLE, M.E., (2006). Veterinary Drug Residues in Processed Meats-Potential Health Risk. FRI Briefings: Food Research Institute, Univ. of Wisconsin- Madison., March 2006.

7. EMEA, (1999). Antibiotic Resistance in the European Union Associated with Therapeutic Use of Veterinary Medicines Report and Qualitative Risk Assessment by the Committee for Veterinary Medicinal Products. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA)/CVMP/342/99-corr-final. 14.06.1999. 7 Westferry Circus Canary, Wharf, London, E 14 4 HB, UK.
8. EROL, I., (2005). Poultry Meat Safety in Turkey. In: Proceeding of 14 th World Veterinary Poultry Congress, İstanbul, Turkey. 22-26 August 2005, p.166.
9. SCHWARZ, S., CHASLUS-DANCLA, E. 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanism of resistance. Vet. Res. 32: 201-225.
10. TEALE, C.J. 2002. Antimicrobial resistance and food chain. J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl. 92: 85S-89S. Handbuch LMBHYG

MUTFAK PERSONELİNDEN İZOLE EDİLEN KOAGULAZ POZİTİF STAFİLOKOKLARIN TOKSİN OLUŞTURMA YETENEĞİ İLE BAZI ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

Leyla VATANSEVER

Haluk ÇEPOĞLU

Nebahat ORAL

*Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
36200 KARS lvatansever@hotmail.com*

Amaç: Bu çalışma ile, Karsın Sarıkamış ilçesindeki lokantalarda, gıdaların hazırlanmasında çalışan bireylerin, el ve burun mukozalarında Koagulaz Pozitif Stafilokok (KPS) varlığını araştırmak ve elde edilen izolatların enterotoksin üretme yetenekleri ile bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını incelemek amaçlanmıştır.

Yöntem: Gıdaların hazırlanması aşamasında çalışan 25 kişinin burun ve ellerinden alınan 50 swab direk Baird Parker agara ekildi. 37°C'de 48 saat inkübasyon sonucunda her plaktan 5 adet tipik ve atipik staphilococ kolonisi seçilip Baird Parker agara tekrar ekilmek suretiyle koloniler saflaştırıldı. Buradan alınan koloniler Brain Heart İnfüzyon Brotha ekildi. İdentifikasyon amacı ile gram boyama, katalaz test ve koagulaz test uygulandı. Burun ve ellerden izole edilen koagulaz pozitif stafilokokların Erytromycin, Gentamicin, Methicillin, Tetracycline ve Vancomycine antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları araştırıldı. Toksin üretme yeteneklerinin araştırılması amacı ile RIDASCREEN SET-A.B.C.D.E (R-Biopharm, D-64293) test kiti kullanıldı.

Bulgu: 125 burundan ve 125 elden olmak üzere toplam 250 izolat incelendi. Burundan 13 izolatın, elden 7 izolatın koagulaz pozitif olduğu belirlendi. Bütün burun ve el izolatları methycillin, vancomycin ve gentamicine duyarlı bulundu. 1 burun ve 2 el izolatı eritromicin ve tetracycline dirençli bulundu. Koagulaz pozitif stafilokok izolatlarından dördünün (ikisi elden ikisi burundan) stafilokok enterotoksini (SE) ürettiği tespit edildi. Burundan elde edilen swaplardan birinin SEA, SEC, SED ve SEE diğerinin ise SEC ürettiği, Elizolatlarından birinin SEE ve diğerinde SEC ürettiği tespit edildi. Hiçbiri SEB üretmedi.

Sonuç: Gıda çalışanlarında tespit edilen enterotoksijenik stafilokoklar, eğer personel hijyenine dikkat edilmez ise kolaylıkla bu suşlar ile gıdaların bulaşabileceğinin ve gıda intoksikasyonuna neden olabileceklerinin bir göstergesidir.

Anahtar kelimeler : Enterotoksin, Stafilokok, restaurant, antibiyotik

ISOLATION OF COAGULASE POSITIVE STAPHYLOCOCCI FROM RESTAURANT WORKERS AND INVESTIGATION OF THEIR ENTEROTOXIGENICITY AND SUSCEPTIBILITY OF SOME ANTIBIOTICS

Leyla VATANSEVER

Haluk ÇEPOĞLU

Nebahat ORAL

Food Hygiene and Technology Department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas, 36200 KARS lvatansever@hotmail.com

Aims: The aim of this study was isolation of coagulase-positive staphylococci from restaurant workers in Sarıkamış (Kars) and investigation of their enterotoxigenicity and susceptibility of some antibiotics.

Methods: A total of 50 nasal and hand swabs were obtained from 25 food handlers and these swabs were used to inoculate Baird Parker Agar (BP). After incubation of plates at 37C for 48 h, five colony were subcultured again BP agar and then Brain Heart Infusion Broth. Gram's stain reaction catalase and coagulase tests were performed for the identification of Staphylococcal strains. Susceptibility to antibiotics, eritromycin, gentamycin, methicilline, tetracycline and vancomycin were tested using a disc diffusion method. The ability of enterotoxin production of isolates were detected using RIDA SCREEN SET A, B, C, D, E (R-Biopharm AG, D-64293, Germany) test kit.

Results: A total of 250 isolates, 125 isolates from hands and 125 isolates from nasal swabs were examined. A 20 isolates were identified as coagulase positive staphylococci (CPS), 13 isolates from the nares and 7 isolates from the hands of healthy workers. All the nasal and hand CPS isolates were found to be susceptible to methycillin, vancomycin and gentamicin. One nasal CPS isolate and two hand CPS were found to be resistance to eritromycin and tetracycline. Four CPS isolates 2 from nasal and 2 from hand swabs were found to be produce SE. One isolate from nasal swabs produced SEA, SEC, SED and SEE others produced SEC. One isolate from hand swabs produced SEE and others produced SEC. Non of them produced SEB.

Conclusions: The detection of enterotoxigenic staphylococci on food handlers suggests that such strains may contribute to food poisoning if food is contaminated by them.

Key words : Enterotoxin, Staphylococci, Restaurant, antibiotics

KIYMALI PİDE ÜRETİM KOŞULLARININ *SALMONELLA*, *LİSTERİA MONOCYTOGENES* VE *ESCHERİCHİA COLİ* O157:H7 PATOJENLERİNİN İNAKTİVASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Mehmet ÇALICIOĞLU Abdullah DİKİCİ Gülsüm ATEŞ
O. İrfan İLHAK Pelin BOZKURT Pınar ŞEKER

Fırat Üniversitesi ,Veteriner Fakültesi,Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
23119 ELAZIĞ/TÜRKİYE
E-posta: mcalicioglu@firat.edu.tr

Özet

Bu çalışmanın amacı ticari lokantalarda kıymalı pide üretiminde kullanılan pişirme işleminin *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, ve *Listeria monocytogenes* patojenlerinin yıkımlanmasındaki etkinliklerini belirlemektir. Elazığ'da bulunan 87 adet kıymalı pide lokantasından tesadüfi olarak seçilen 23 lokantada saha çalışmaları yapıldı. Bu ürünün mikrobiyel güvenliğine etkisi bulunan pişirmede kullanılan fırının sıcaklık derecesi, pişirme süresi, pişirme sonrası sıcaklık, kıyma içeren karışımın mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi belirlendi. Laboratuvarımızda deneysel olarak 7.0 log₁₀ kb/g seviyesinde *E. coli* O157:H7, *Salmonella* veya *L. monocytogenes* ile inokule edilmiş kıymalı pide karışımından pideler üretilerek konvensiyonel fırında saha çalışmaları sonucu belirlenmiş olan ve en kötü ihtimal senaryosuna uygun sıcaklık derecesi olan 180°C'de 180 sn, 240 sn, 270 sn, 300 sn, ve 330 sn sürelerle pişirildi. Pişirme işlemi esnasında termokupllar kullanılarak kıymalı karışımın sıcaklığında meydana gelen değişimler izlendi. Patojen bakterilerin sayıları pişirme işlemi sonrası selektif besi yerleri kullanılarak belirlendi. 180°C'deki pişirme işlemi sonunda ise karışımın sıcaklığı 60.77°C (180sn) ile 75.47°C (330 sn) arasında değişti. Bu sıcaklıktaki pişirme işleminde *Salmonella* ve *L. monocytogenes* 300sn sonunda tespit edilebilir seviyenin altına (<1.0 log₁₀ kob/g) düşerken, *E. coli* O157 sayısı 330 sn sonra bile ancak 1.35 log₁₀ kob/g seviyesine düştü. Bu çalışmanın sonuçlarına göre halkımızın severek tükettiği kıymalı pidenin en az 180°C'de ve en az 330 sn (5.5dk) süreyle pişirilmesinin, incelenen her 3 patojen yönünden de yeterli gıda güvenliğini sağlayacağı (≥5.0 log₁₀ kob/g azalma) kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Pide, kıyma, *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli* O157:H7, pişirme

**EFFECT OF THERMAL PROCESSING APPLIED FOR PRODCUTION OF
KIYMALI PIDE ON INACTIVATION OF *SALMONELLA*, *LISTERIA*
MONOCYTOGENES, AND *ESCHERICHIA COLI* O157:H7**

Abstract

The objective of the present study was to investigate the effects of cooking procedures applied for kıymalı pide making in commercial restaurants on destruction of *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes*. Field studies were conducted in randomly selected 23 of 87 kıymalı pide restaurants in Elazığ. Processing parameters contributing to the safety of this food including oven temperature, cooking period, post-cooking temperature, and microbiological and chemical quality of the mixture containing ground beef were determined. Kıymalı pide samples were prepared using pide mixture experimentally inoculated with *E. coli* O157:H7, *Salmonella* or *L. monocytogenes* at the level of $7.0 \log_{10}$ cfu/g. Pide samples were cooked at a conventional oven at 180°C representing the worst case scenario based on the results of field studies for 180sec, 240sec, 270sec, 300sec, or 330sec. Changes in the temperature of the kıymalı pide mix was monitored during cooking using thermocouples. Numbers of the pathogens after cooking were determined using appropriate selective media. At the end of cooking at 180°C, the temperature of the mixture varied between 60.77°C (180 sec) and 75.47°C (330 sec) depending on the cooking period. Numbers of *Salmonella* and *L. monocytogenes* decreased below detection limit ($<1.0 \log_{10}$ cfu/g) after 300 sec cooking while those of *E. coli* O157:H7 decreased to $1.35 \log_{10}$ cfu/g even after 330 sec cooking at this temperature. Results of the current study suggest that cooking kıymalı pide, a type of fast food enjoyed by Turkish customers, at 180°C for at least 330 sec (5.5 min) may provide sufficient food safety assurance ($\geq 5.0 \log_{10}$ cfu/g reduction) for 3 pathogens investigated.

Key words: Pide, ground beef, *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli* O157:H7, cooking

GİRİŞ

Kıymalı pide, üretimi ve tüketimi ülkemizde yaygın olarak yapılmakta olan fast-food tipi gıdalardandır. Üretim aşamalarındaki tek antibakteriyel bariyer ısı işlemidir. Isı işleminin bakterileri inaktivasyon derecesi uygulanan ısı derecesi ve bu ısıda tutulan zaman ile ilişkilidir. Ülkemizde ise pide işletmelerinde kullanılan ısı işlemi bilimsel temeli olan metotlarla değil, personelin tecrübesi, ürünün görünüşü, iş yoğunluğu gibi göreceli dinamiklerle belirlenmektedir ve işletmeler arasında büyük farklılıklar mevcuttur. Kıymalı pide üretiminde kullanılan kıyma, patojenik bakterilerin bulunması olasılığı yüksek bir üründür. Ülkemizde yapılan çalışmalarda perakende satış noktalarından elde edilen kıyma örneklerinin %28'inde *Listeria monocytogenes* ($0.79-2.9 \times 10^3$ MPN/g) olduğu bildirilmiştir (16). %2-5'inden *Salmonella* izole edilmiştir (5, 13). Ülkemizde satılmakta olan kıyma örneklerinde *E. coli* O157:H7 serotipinin varlığı bildirilmiştir (2). Kıymalı pide üretimindeki en önemli antibakteriyel bariyer pişirme işlemidir. Pişirme esnasında uygulanan ısı işleminin mikroorganizmalar üzerine yıkımlayıcı etkisi ani değildir ve yeterli zamana ihtiyaç vardır. D ve z değerleriyle açıklanan bu ilişki, spesifik patojenlerin tamamıyla yıkımlanmasını sağlayacak ısı işleminin "°C" ve "zaman" olarak tanımlanmasına imkan vermektedir. D-değeri bakterilerin ısıya dirençliliğini de ifade eder ve sıcaklık derecesi (°C), ortam (gıda, besiyeri vs.), tür (*Salmonella*, *L. monocytogenes* vb.) spesifiktir. Literatürde, *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'in değişik ortamlarda thermal inaktivasyonu ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur ve bu çalışmaların sonuçları geniş derlemelerde değerlendirilmiştir (4). *E. coli* O157:H7 serotipinin kıymalarda ısıya dayanıklılığı da pek çok çalışmada incelenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, sonuçlar bu patojenin *L. monocytogenes* ve *Salmonella*'dan daha çok ısıya duyarlı olduğunu göstermekte ve 70°C de 2 dk'lık bir ısı işleminin bakteri sayısında 6.0 log kob/g azalma için yeterli olduğu rapor edilmiştir (15). *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* enfeksiyöz dozu düşük olarak bilinen patojenlerdir. *Salmonella* için enfeksiyöz doz serotipler arasında büyük farklılıklar göstermektedir (8). Dolayısıyla bu patojenlerin gıdalarda düşük seviyelerde bile bulunması sağlık riski taşımaktadır ve tüketime hazır gıdalarda tamamen yıkımlanmaları istenir. Bu çalışmanın amacı kıymalı pide üretiminde ticari fırınlarda kullanılan üretim koşullarını belirlemek ve deneysel

olarak üretilen pidelerde *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *Salmonella*'nın inaktivasyonunu incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Saha çalışmaları

Saha çalışmaları, Elazığ Merkez ilçede bulunan 87 adet kıymalı pide-lahmacun üreten ticari fırından tesadüfi olarak seçilen 23 adet pide ve lahmacun fırınında yapıldı. Her fırında, pişirme sıcaklığı, pişirme süresi ve fırın çıkışı-pide sıcaklık dereceleriyle ilgili veriler toplandı. Ayrıca, çiğ-kıymalı pide iç'lerinden alınan örneklerin kimyasal (yağ, tuz, pH) ve mikrobiyolojik (pişirmeden önce ve sonra olmak üzere toplam aerobik mezofil bakteri sayısı, toplam koliform sayısı, *Salmonella* varlığı) analizleri yapıldı.

İnokulumun Hazırlanması

Çalışmada 5 farklı *Salmonella* (ATCC- 14028, RSKK- 86046, RSKK- 91, RSKK- 92, RSKK- 1017), 5 farklı *L. monocytogenes* (RSKK 472, 474, 475, 476, 02028) ve 5 farklı *E. coli* O157:H7 suşu (RSKK 232, 95024, 96102, ATCC 35150 ve *E. coli* O157:H7) kullanıldı. Suşlar Tryptic Soy Broth (TSB)'da 2 kez pasajlandıktan sonra santrifüj (5000g X 15 dakika) edilerek steril %0.1'lik peptonlu su ile 2 kez yıkandı. Her bir suş için ayrı ayrı elde edilen peletler %0.1'lik peptonlu suda çözündürülerek ayrı bir tüpte bir araya getirildi. 5 suştan oluşan bu karışımda patojen yoğunluğu yaklaşık 9 log₁₀ kob/ml olarak tespit edildi.

Kıymalı pide içi'ne inokulasyon ve pide yapımı

Her tekerrür için Fırat Üniversitesi Sosyal Tesisler yemekhanesinden pide hamuru ve kıymalı pide içi (yaklaşık 1.5 kg) temin edildi. Pide içi'ne 10 ml inokulum eklenerek homojen dağılım için karıştırıldı. Bu şekilde elde edilen patojen seviyesi 10⁶-10⁷ kob/g idi. Pide hamuru ustalar tarafından şekil verilerek şeklinin muhafazası için ön pişirme işleminden geçirildi. İnokule edilmiş iç'ten her bir pide hamuruna 100g olmak üzere 10 adet pide hamuruna dağıtılıp yayıldıktan sonra pideler 2'şer pideden oluşan 5 gruba

ayrıldı. Ön ısıtması yapılmış ve sıcaklığı 180°C'ye ayarlanmış fırında (Arçelik MF2009) 1. grup pideye 180 sn, 2. grup pideye 240 sn, 3. grup pideye 270 sn, 4. grup pideye 300sn, ve 5.grup pideye 330 sn pişirme işlemi uygulandı. Pişirme işlemi sırasında fırın- içi sıcaklık ve pide içi'nin sıcaklık artışlar K tipi Thermocoupl ile kaydedildi.

Analizler

Her grup pide fırından çıktıktan sonra -18°C'de 2 dk tutularak soğutuldu. Soğutmayı takiben Pide içi aseptik teknikler kullanılarak kazındı. Her pideden 25 g pide içi steril stomacher poşetlerine aktarıldı ve desimal seyreltileri hazırlanıp yayma plak yöntemi ile ekimleri yapıldı. *Salmonella* sayısının tespiti için Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) agara ekimler yapıldı. Plaklar 37 ± 1 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkubasyon sonunda merkezi yada tamamı siyah renkte olan karakteristik *Salmonella* morfolojisine sahip kolonilerden birkaçı alınarak API 20E (Biomeriux) test kiti ile teyit edildi (19). *L. monocytogenes* sayısının belirlenmesi için daha önceden modifiye Oxford agara ekimler yapıldı ve 30 ± 1 °C'de 36-48 saat inkübe edildi. *E. coli* O157:H7'nin sayısı ise sorbitol MacConkey agara yapılan ekimler sonucu, 37 ± 1 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra belirlendi. İnkubasyon sonunda karakteristik *E. coli* O157:H7 morfolojisine sahip kolonilerden 3 tanesi alınarak *E. coli* O157 lateks test kiti ile teyit edildi. Bunlardan başka, çiğ pide iç'inin pH'sı., tuz oranı ve yağ oranı belirlendi.

İstatistiksel Analizler:

Saha çalışmaları sonucu elde edilen verilerin aritmetik ortalamaları ve standart sapma değerleri hesaplandı. Deneysel çalışmalardan elde edilen mikrobiyolojik verilerin analizinde ise her bir patojen için, bakteri sayıları $\log_{10}$ kob/g'a çevrilerek, 5x3x2 (pişirme süresi x tekerrür sayısı x örnek sayısı) faktöryel dizayna uygun olarak sabit etkiler (pişirme süresi) 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. Verilerin analizi, Statistical Analysis System (SAS) programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Saha çalışmalarının sonuçları

Fırın sıcaklıkları ve pişirme süreleriyle ilgili veriler Tablo 1. de verilmiştir.

Tablo 1. Elazığ'da kıymalı pide üreten lokantlarda belirlenen fırın sıcaklığı, pişirme süresi ve fırın çıkışı-ürün sıcaklığı değerleri (n=23)

	Zemin 1 ^a °C	Zemin 2 ^b °C	Zemin 3 ^c °C	Tavan ^d °C	Pişirme. Süresi (sn)	Pide ısısı ^e °C
Ortalama	198±44	220±39	178±33	413±94	180±77	87±4
Maksimum	285	302	245	565	330	94
Minimum	118	152	125	240	110	81

a, fırın merkezinden ölçülen sıcaklık değeri, b, ateşin önünden ölçülen sıcaklık değeri

c, fırının ateşe en uzak noktasından ölçülen sıcaklık değeri, d, fırın tavanına yakın ölçülen havanın sıcaklık değeri, e, tel-prob yardımıyla, karışımın en kalın olduğu düşünülen 2 noktasından ölçüldü

Karışımın, pişirme işleminden önce ve sonra (pide yüzeyinden steril bıçak ve pens kullanarak kazındıktan sonra) yapılan mikrobiyolojik analizlerinin sonuçları Tablo 2'te özetlenmiştir.

Tablo 2. Elazığ'da kıymalı pide üreten lokantalardan alınan çiğ ve pişmiş kıymalı pide-karışımlarında belirlenen mikroorganizma sayıları (log₁₀ kob/g) (n=23).

	Toplam aerobik mezofil		Toplam koliform		Samonella
	Çiğ	Pişmiş	Çiğ	Pişmiş	Çiğ
Ortalama	6,7±0,8	4,3±0,5	5,2±0,4	<1,0	TE ^a
Maksimum	8,01	5,08	5,99	-	-
Minimum	5,62	3,81	4,55	-	-

a, 25 gr' örnekte tespit edilemedi.

Kıymalı pide karışımının kimyasal analizlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 3.'te özetlenmiştir.

Tablo 3. Elazığ'da kıymalı pide üreten lokantalardan alınan çiğ kıymalı pide-karışımlarında (iç) belirlenen yağ, tuz, ve pH değerleri (n=23).

	Yağ (%)	NaCl (%)	pH	Karışım sıcaklığı (°C)
Ortalama	15,9±5,9	1,8±0,3	4,8±0,3	13,6±6,7
Maksimum	27,84	2,34	5,25	22
Minimum	4,1 ^a	1,4	4,3	2,4

a, et miktarı oldukça az - yeşil biber miktarı fazla olan bir örnekteki bu yağ oranı ortalama değerde %2 lik azalmaya neden olmaktadır.

Patojenlerin inaktivasyonu

180°C fırın sıcaklığında farklı sürelerde pişirme işlemine tabi tutulan pidelerdeki patojenlerin sayılarındaki değişimler Tablo 4' de sunulmuştur. Çiğ kıymalı pide karışımında elde edilen başlangıç seviyesi her 3 patojen için de önemli farklılık göstermemiştir. İstatiksel anlamda azalmalar *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 için 240 sn'de *L. monocytogenes* için 180 sn'de gözlemlenmiştir. 180-240 sn'lerde pidenin kazandığı görünüm tüketime hazır düzeyde değildir. 300 sn ve 330 sn' lik pişirme süreleri sonunda pideler organoleptik olarak servise hazır hale gelmiştir. Bu süre sonunda *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* direk-ekim yöntemi ile belirlenebilir seviyenin ($1.0 \log_{10}$ kob/g) altına düşmüştür. Belirlenen ortalama azalma $5.0 \log_{10}$ kob/g ve üzerindedir. Öte yandan 300 sn'lik pişirme işlemi sonunda *E. coli* O157 seviyesi $5.24 \log_{10}$ kob/g olup elde edilen azalma $3.0 \log_{10}$ kob/g'dan azdır. Ancak 30 sn daha fazla pişirilmesi sonucunda bu patojenin seviyesi de $1.35 \log_{10}$ kob/g seviyesine düşmüştür.

Tablo.4 Kıymalı pide karışımına inoküle edilen patojenlerin sayılarında 180°C fırın ısısında pişirme işlemi esnasında oluşan azalmalar ($\log_{10}$ kob/g $\pm$ sd. sp N= 6)

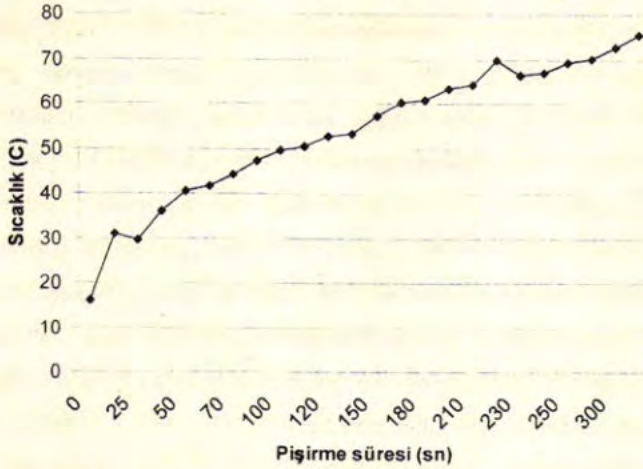
Piştirme süresi (saniye)	<i>Salmonella</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>E.coli</i> O157:H7
0 (çiğ)	6.93 $\pm$ 0.46 a	7.63 $\pm$ 0.08 a	7.62 $\pm$ 0.11 a
180	5.87 $\pm$ 1.10 b	6.85 $\pm$ 0.35 b	7.10 $\pm$ 0.35 a
240	3.68 $\pm$ 1.83 b	5.36 $\pm$ 0.54 c	5.97 $\pm$ 0.16 b
270	1.47 $\pm$ 0.78 c	2.90 $\pm$ 0.26 d	5.42 $\pm$ 0.59 b
300	<1.0*	<1.0	5.24 $\pm$ 0.16 b
330	<1.0	<1.0	1.35 $\pm$ 0.98 c

a,b,c, aynı sütunda farklı harfleri taşıyan veriler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05).

*, direk ekimlerde koloni oluşumu saptanmadı.

Kıymalı pidelerin pişirilmesi esnasında, kıymalı pide iç'i ile hamur arasında ölçülen sıcaklık (merkezi sıcaklık) artışları Şekil 1'de verilmiştir. Buna göre ortalama sıcaklık 180 sn'de 60.7°C, 240 sn'de 67.2°C, 270 sn'de 70.1°C, 300 sn'de 72.6°C, 330 sn'de 75.5°C olarak ölçülmüştür.

Şekil 1. Deneysel olarak hazırlanan kıymalı pidenin konvansiyonel fırında 180°C ısıda pişirilmesi esnasında karışım ısısında meydana gelen değişimler (n=6)



TARTIŞMA VE SONUÇ

Kıymalı pide ve diğer pide çeşitleri çabuk hazırlanması, doyurucu olması ve ekonomik olması gibi nedenlerden ülkemizde tüketicilerin sıklıkla tercih ettiği fast food tipi gıdalardandır. Diğer fast food tipi gıdalarda da olduğu gibi, pidelerin de üretim parametrelerinin yeterli gıda güvenliği sağlayacak düzeyde olması gerekmektedir. Kıymalı pide, sığır kıyması içermesi nedeniyle halk sağlığını tehdit eden riskleri taşıma potansiyeli yüksek bir pide tipidir. Sığır kıymalarında gıda kaynaklı hastalık ve zehirlenmelere neden olan *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *C. jejuni* gibi patojen bakterilerin sık bulunduğu bilinmektedir (8). Pişirme işlemi, pidede bulunması muhtemel patojenlerin yıkımlandığı yegane işlem basamağıdır. Bu aşamada ortaya çıkacak bir hatanın tüketici sağlığını tehdit etmesi kaçınılmazdır.

Ülkemizde kıymalı pide de dahil hiçbir pide tipinin üretimini düzenleyen, gıda güvenliği parametrelerini (pişirme sıcaklığı/süresi, ürün merkezi sıcaklığı vb.) standartlara bağlayan hiç bir resmi düzenleme bulunmamaktadır (11, 17). Pide, lahmacun ve pizza salonlarıyla ilgili TSE standardında (18) ise sadece işyerlerinin sahip olması gereken alt yapı unsurları konu edilmektedir. Bu şartlar altında, çalışmamız kıymalı pide üreten işletmeler arasındaki varyasyonu değerlendirmek ve en kötü durum senaryosuna uygun

olarak pişirme işleminin kıymalarda bulunan en önemli patojenlerden olan *Salmonella*, *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7'nin yıkılmasını üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Yaptığımız saha çalışmalarının sonuçları (Tablo 1, 2, 3) genel olarak değerlendirildiğinde, sınırlı sayıda veri olmasına rağmen, kıymalı pide yapımında, mikrobiyolojik kalitesi kötü karışım kullanılması, karışımın muhafaza sıcaklığının yüksek olması gibi risk faktörleri mevcuttur. Pişirme işleminin koliformları tamamen yıkılaması, uygulanan ısı işleminin yeterliliği konusunda bir fikir vermekle birlikte yeterli değildir. pH değerlerindeki varyasyon, asidik ortamın ısı işleminin mikroorganizmalar üzerine yıkımlayıcı etkisini arttıracığından dolayı, dikkate değer bulunmuştur. Kıymalı pide karışımları günlük hazırlanmakta ve gün boyu muhafaza edilmektedir. Saha çalışmalarımız esnasında bu karışımların sıcaklıkları da belirlendi ve 2.4°C ile 22 °C arasında değiştiği tespit edilmiştir (Tablo 2). Mezofil bakterilerin 8-45 °C arasında çoğalabildikleri dikkate alındığında bazı işyerlerinin gıda güvenliğini bu aşamada riske ettikleri görülmektedir.

Pişirme işlemi esnasında, uygulanan işlemin gıdada bulunan bakterileri hangi seviyede yıkımladığını tespit etmek mümkün değildir. Gıda içerisinde bakterilerin bulunduğu ortamın sıcaklığı genel olarak 60°C ye ulaştığında, bakteriler ölmeye başlarlar. Sabit bir letal sıcaklık derecesinde zamana bağlı olarak lineer bir ölüm profili gösterirler. Belli bir sıcaklık derecesinde bakteri sayısının %90'nının ($1.0 \log_{10}$ kob/g) ölmesi için geçmesi gereken süreye D-değeri yada "desimal ölüm zamanı" denir (8). Ancak ölmeleri için gereken süreye çok sayıda faktör etkilidir. *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'in sığır kıymasındaki ısıya dayanıklılıkları incelendiğinde rapor edilen D-değerlerinin hepsinin birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Buna rağmen bu 3 patojeninde D₇₀ değerlerinin 0,2-0,4 dk arasında değiştiği genellemesi yapılabilir (9, 12, 14, 4). Pişirme işlemlerinin yeterliliğini belirlemek için uzun yıllardır D-değerlerinden yararlanılmaktadır. Ancak bir patojenin D-değerine çok sayıda faktörün etkilemesi bu hesaplamalardan pratikte yararlanımı kısıtlamaktadır. Özellikle et ve et içeren ürünlerinde D-değerlerine dayalı pişirme işlemlerinin bu faktörlerden daha belirgin şekilde etkilendiği bildirilmiştir (12). Alternatif olarak, her işletmenin, uyguladığı ısı işleminin etkinliğini değerlendirmesi ve gerekirse modifiye etmesi (process validation) yada en kötü durum senaryolarına göre hazırlanmış ısı işlem parametrelerinin

uygulanması önerilmektedir (7). Çalışmamızda 180°C' deki fırında yapılan pişirme işlemlerinde pide hamuru üzerine serilen kıymalı karışımın sıcaklığının 180 sn sonra 60°C'ye 270 sn sonra da 70°C ye ulaştığı görülmektedir. Yani patojenler şiddeti giderek artan letal sıcaklık derecelerine 150 sn süreyle maruz kalmışlardır. Teorik olarak 60°C ye ulaşıncaya kadar ölüm şekillenmemesi gerekirken patojenlerde 0.5-1.0 log azalma meydana gelmiştir. Bunun en önemli nedeninin karışımın pH'ının 5.08 olması düşünülmektedir. Düşük pH derecelerinde ısının letal etkisinin arttığı bilinmektedir (8). Farklı işletmelerde pide karışımında limon suyu, nar ekşisi gibi katkıların ilave edildiği saha çalışmaları tespit edilmiştir. Bu organik asitlerin pH'yı düşürerek pişirme işleminin yıkımlayıcı etkisini arttırmaktadır. 270 sn pişirme sonunda *Salmonella*'da 5.0 log'luk azalma gerçekleşmiştir. 300 sn sonunda ise *L. monocytogenes* tespit edilebilir seviyenin altına düşmüştür. Çalışmamızın sonuçlarına göre *E. coli* O157:H7 inaktivasyona en dirençli patojen olarak bulunmuştur. Bu patojenin sayısı 7.62 log'dan 330 sn sonra ancak 1.35 log'a düşmüştür. Thermal inaktivasyonla ilgili literatür verileri incelendiğinde *E. coli* O157:H7'nin *Salmonella* ve *L. monocytogenes*'den ısıya daha duyarlı olduğu bilgisine ulaşılır. Çalışmamızda, *Salmonella* ve *L. monocytogenes* den farklı olarak *E. coli* O157:H7'de gözlenen bu yaşam profili bu patojen için şaşırtıcı değildir (6). Şaşırtıcı olan bu patojende 300 sn ile 330 sn arasında gözlenen ölüm hızıdır. 330 sn'de gözlenen yüksek varyasyon bu hızı kısmen açıklasa da 3 ayrı bağımsız tekrürde de benzer inaktivasyon profilinin gözlenmesi kayda değer bulunmuştur. Bu bulgu, patojenin direncini dramatik bir şekilde azaltan letal bir ortamın oluşmuş olabileceğini akla getirmektedir. Bu ortam intrinsik ve ekstrinsik faktörlerin kombinasyonu sonucu oluşmuş olabilir. Karışımındaki yağ oranının ve NaCl oranının da bakterilerin ısıya direncini arttırdığı bilinmektedir. Ancak çalışmamızda kullanılan yağ (%15) ve NaCl (%3) oranları Literatürlerde belirtilen koruyucu oranların (1, 9, 10) altındadır.

SONUÇ

Kıymalı pide ve lahmacun gibi kıyma içeren diğer pide çeşitlerinin hazırlanması ve pişirilmesiyle ilgili resmi düzenlemeler mevcut değildir. Pide içi'nin bileşimi ile ilgili kriterlerin olmaması, tüketicilerin aldatılmasına imkan veren yasal boşluklar

oluşturmaktadır. Pide fırınları için İyi Üretim Teknikleri'nin (GMP) tanımlanması ve uygulanması gerekmektedir. Saha çalışmaları esnasında, çalışanların çapraz kontaminasyona yol açan uygulamaları, yetersiz temizlik ve dezenfeksiyon, sinek-fare gibi zararlılarla mücadelenin yetersiz olduğuna dair çok sayıda örnek karşılaşılmıştır. Çalışmamızın patojenlerin inaktivasyonu ile ilgili sonuçları, pide karışımına inokule edilen *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 sayılarında 5.0 log₁₀ kob/g ve üzerinde ölüm sağlanabilmesi için pidenin 180°C fırın ısısında en az 330 sn (5.5dk) pişirilmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Bu sonuçların ülkemizin özgün gıdalarından olan kıymalı pidenin hazırlanması ve pişirilmesiyle ilgili gıda güvenliğinin iyileştirilmesine katkıda bulunacağına inanılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. AHMED, N.M., Conner, D.E., Haffman, D.L. Heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in meat and poultry as affected by product composition. *J. Food Sci.* 60:606-610, (1995).
2. AKSU, H., ARUN, Ö., AYDIN, A., UĞUR, M. *Escherichia coli* O157:H7'nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı. *Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 30:77-81, 1999.
3. BYRNE, C.M., Bolton, D.J., Sheridan, J.J., Blair, I.S., McDowell, D.A. The effect of production and product formulation stresses on the heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 CN CTC (200) in beef burgers. *Int. J. Food Microbiol.* 79: 183-192, (2002).
4. DOYLE, M.E., Mazzotta, A.S. Review of studies on the thermal resistance of *Salmonella*. *J. Food Prot.* 63: 770-795, (2000).
5. EROL, I. Ankara'da tüketime sunulan kıymalarda *Salmonellaların* varlığı ve serotip dağılımı. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 23:321-325, (1999).
6. ESTHER D., Van Asselt, Marcel H. Zwietering. A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 107: 73-82 (2006).
7. ILSI RESEARCH FOUNDATION; RISK SCIENCE INSTITUTE. Achieving continuous improvement in reductions in foodborne listeriosis--a risk-based approach. *J Food Prot.* 68:1932-94,(2005)
8. JAY, J.M. High-Temperature food preservation and characteristics of thermophilic microorganisms. *Modern Food Microbiology* 6th Edition, Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland, (2000) pp: 341-362
9. JUNEJA, V.K., Eblen, B.S., Marks, H.M. Thermal inactivation of *Salmonella* serotypes in red meat as affected by fat content. *Quantitative Microbiology*, 2: 189-225 (2000).
10. KAUR, J., Lendward, D.A., Park, R.W., Robson, R.L. Factors affecting the heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7. *Lett. Appl. Microbiol.*, 26(4), 325-330, (1998).
11. MİKROBİYOLOJİK KRİTERLER TEBLİĞİ Türk Gıda Kodeksi, <http://www.kkgm.gov.tr/Mevzuat/Kodeks.asp?Adres=KodeksList.htm> (2001).
12. O'BRYAN, C.A. Crandall, P.G., Martin, E.M., Griffis, C.L., Johnson, M.G. Heat resistance of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria innocua* M1, a potential surrogate for *Listeria monocytogenes*, in meat and poultry: A review. *J. Food Sci.*, 71: R23-R30, (2006).
13. SARIGÖL, C. Elazığ'da tüketilen kıymalarda *Clostridium* ve *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmaların varlığı üzerinde araştırmalar. *F.Ü. Vet. Fak. Dergisi*, 7: 179-186, (1982).
14. SMITH, S.E., Maurer, J.L., Orta-Ramirez, A., Ryser, E.T., Smith, D.M. Thermal inactivation of *Salmonella* spp., *Salmonella typhimurium* DT104, and *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. *Journal of Food Science*, 66:1164-1168, (2001).

15. STRINGER, S.C., George, S. M., Peck, M.W. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Appl. Microbiol.*, 88: 74S-89S Suppl. (2000).
16. ŞİRELİ, U. T., Erol, I. Hazır kıymalarda *Listeria* türlerinin araştırılması. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 23: 373-380, (1999).
17. TAZE ET. HAZIRLANMIŞ ET VE HAZIRLANMIŞ ET KARIŞIMLARI TEBLİĞİ Türk Gıda Kodeksi, <http://www.kkgm.gov.tr/Mevzuat/Kodeks.asp?Adres=KodeksList.htm> (2000).
18. TÜRK STANDARTLARI ENSTİTÜSÜ. Pide, Lâhmacun Ve Pizza Salonları Sınıflandırma Ve Genel Kurallar, TS 7040 (Aralık 2005).
19. USDA/FSIS'S MICROBIOLOGY LABORATORY GUIDEBOOK, Compendium of microbiological methods for the analysis of food and agricultural methods. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA. (2000).

VAN'DA TÜKETİME SUNULAN BAZI ET ÜRÜNLERİNDE *LISTERIA MONOCYTOGENES* VARLIĞI

Yakup Can SANCAK¹

Özgür İŞLEYİCİ¹

Emrullah SAĞUN¹

¹YYÜ Vet. Fak. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı 65080 Van/TÜRKİYE
yescan@yyu.edu.tr oisleyici@yyu.edu.tr esagun@yyu.edu.tr

Özet

Bu çalışma, Van'da tüketime sunulan sucuk, salam ve sosislerde *Listeria monocytogenes*'in varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Bu çalışmada Van'da tüketime sunulan Fermente Türk Sucuğu, salam ve sosislerden 20'şer adet vakumsuz ve 20'şer adet de vakumlu paketlenmiş olmak üzere toplam 120 örnek analize alınmıştır. *L. monocytogenes* izolasyon ve identifikasyonunda modifiye USDA/FSIS (United States Department of Agricultural/Food Safety Inspection Service) metodu kullanılmıştır.

Vakumlu paketlenmiş sucuklardan *Listeria* türleri hiç izole edilemezken, vakumlu paketlenmiş salam ve sosislerde sırasıyla %10 ve %30 oranında, vakumsuz paketlenmiş sucuklarda, salamlarda ve sosislerde de sırasıyla %45, %20 ve %45 oranında *Listeria* spp. tespit edilmiştir.

L. monocytogenes, vakumlu paketlenmiş sucuk ve salamlarda tespit edilemezken, vakumlu paketlenmiş sosislerde %5 oranında, vakumsuz paketlenmiş sucuk, salam ve sosislerde de sırasıyla %15, %10 ve %25 oranında belirlenmiştir.

Vakumsuz paketlenmiş sucuklardaki *Listeria* pozitif örneklerin %33.3'ünden *L. monocytogenes*, %44.4'ünden *L. innocua*, %11.1'inden *L. welshimeri* ve %11.1'inden *L. innocua* ile *L. seeligeri*, vakumlu paketlenmiş salamlardaki *Listeria* pozitif örneklerin %100'ünden *L. innocua*, vakumsuz paketlenmiş salamlardaki *Listeria* pozitif örneklerin %50'sinden *L. monocytogenes*, %50'sinden *L. innocua*, vakumlu paketlenmiş sosislerdeki *Listeria* pozitif örneklerin %16.7'sinden *L. monocytogenes*, %50'sinden *L. innocua*, % 16.7'sinden *L. welshimeri* ve %16.7'sinden *L. ivanovii*, vakumsuz paketlenmiş sosislerdeki *Listeria* pozitif örneklerin ise %55.6'sından *L. monocytogenes*, %33.3'ünden *L. innocua* ve %11.1'inden de *L. welshimeri* identifiye edilmiştir.

Sonuç olarak; incelenen örneklerde *Listeria* türlerinin özellikle de *L. monocytogenes*'in bulunması bu ürünlerin halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Fermente Türk sucuğu, salam, sosis, *L. monocytogenes*

Abstract
**PRESENCE OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN SOME MEAT PRODUCTS
CONSUMED IN VAN**

This study was conducted to determine the presence and prevalence of *Listeria monocytogenes* in Turkish fermented sausages, salami, and sausage consumed in Van province.

In this study, Turkish fermented sausages (20), salami (20), and sausage (20) non-vacuum packages and 60 samples vacuum packages total 120 samples were analysed. In the isolation and identification of *Listeria* species was used modified USDA/FSIS method.

In vacuum packaged Turkish fermented sausages *Listeria* spp. was not detected. However, in vacuum packaged salami 10%, vacuum packaged sausages 30%, non-vacuum packaged Turkish fermented sausages 45%, non-vacuum packaged salami 20%, and non-vacuum packaged sausages 45% was found.

While *L. monocytogenes* was not detected in vacuum packaged Turkish fermented sausages and vacuum packaged salami, it was found in vacuum packaged sausages, non-vacuum packaged Turkish fermented sausages, non-vacuum packaged salami and non-vacuum packaged sausages 5%, 15%, 10% and 25% respectively.

In non-vacuum packaged Turkish fermented sausages samples of *Listeria* positive was of them 33.3% *L. monocytogenes*, 44.4% *L. innocua*, 11.1% *L. welshimeri* and 11.1% *L. innocua* and *L. seeligeri* together, in vacuum packaged salami samples of *Listeria* positive was of them 100% *L. innocua*, in non-vacuum packaged salami samples of *Listeria* positive was of them 50% *L. monocytogenes*, 50% *L. innocua*, in vacuum packaged sausages samples of *Listeria* positive was of them 16.7% *L. monocytogenes*, 50% *L. innocua*, 16.7% *L. welshimerii* and 16.7% *L. ivanovii*, in non-vacuum packages sausages samples of *Listeria* positive was of them 55.6% *L. monocytogenes*, 33.3% *L. innocua* and 11.1% *L. welshimeri*.

In conclusion, it is indicated that include *Listeria* species particularly *L. monocytogenes* in studied samples can be hazardous for public health.

Key words : Fermented Turkish sausage, salami, sausage, *L. monocytogenes*

Giriş

Listeria'lar 1980'li yıllardan sonra birçok gıdadan izole edilmişler ve gıdalardan insanlara geçerek ölümlerle yada değişik sağlık problemleriyle sonuçlanan enfeksiyonlara neden olabildikleri belirlenmiştir (12,16,22,32). *Listeria* türleri içerisinde sadece *L.*

monocytogenes insanlar için patojen olup diğerleri patojen değildir (33). Bu yüzden, listeriozis vakalarında ilk akla gelen tür *L. monocytogenes* olmaktadır.

İlk *L. monocytogenes* salgınlarından lahana salatası (32), pastörize süt (16) ve yumuşak peynirler (26) gibi gıdalar sorumlu tutulmuştur. Ancak daha sonra yapılan araştırmalarda et ve et ürünlerinin de yoğun şekilde *Listeria* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır (1,6,8,12,13,15).

Listeria türleri çevrede, sularda ve gıda işletmelerinin ekipmanlarında bol miktarda bulunabilmekte ve bu kaynaklardan besin maddelerine üretim, hazırlama ve muhafaza esnasında bulaşmaktadır. Etkenin insanlara bulaşarak hastalık oluşturmada enfekte besinlerin tüketilmesi önemli bir rol oynamaktadır (12,19,22,35).

Et ve et ürünlerinin *Listeria* türleri ile kontamine olmasında çeşitli kaynaklar rol oynamaktadır. Kontaminasyonda mezbaha ve et işletmelerinin çok önemli bir yeri vardır. Buralarda hayvanların dışkıları, derileri ve ayaklarından, ayrıca işletmede çalışan personelin elleri, elbiseleri ile kullandıkları aletlerden, işletmede kullanılan sulardan ve çevreden bulaşma olmaktadır. Etin işlenmesi ve et ürünlerinin üretimi esnasında insanlar ile et kesme ve işleme ekipmanları da *Listeria*'ların bulaşma kaynağı olabilir (8,12,19,35).

Son yıllarda ülkemizdeki araştırmacılar da konuya ilgi göstererek *Listeria*'larla ilgili araştırmalar yapmışlardır (1,6,21,29,30,34).

Van İli'nde konuyla ilgili olarak yapılan çalışmalarda et ve et ürünlerindeki *L. monocytogenes* insidensi çiğ süt, Otlu peynir ve Kremalı pastalara nazaran dikkati çekecek ölçüde yüksek bulunmuştur (1,6,29,30).

Bu araştırmayla, Van'da tüketime sunulan hayvansal kökenli besin maddelerinden fermente Türk sucuğu, salam ve sosislerde *Listeria* türlerinin, özellikle de *L. monocytogenes*'in varlığı ve yaygınlığı tespit edilmiştir.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada, Van şehir merkezinde bulunan market ve şarküterilerde satılan fermente Türk sucuğu, salam ve sosislerden 20'şer adet vakumsuz ve 20'şer adet vakumlu olarak ambalajlanmış olmak üzere toplam 120 örnek materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler steril cam kaplara aseptik şartlarda alınarak soğuk zincirle laboratuvara getirilmiş ve aynı gün içinde analize alınmıştır.

Metot

Örneklerden *Listeria* türlerinin izolasyonunda modifiye USDA/FSIS (United States Department of Agricultural/Food Safety Inspection Service) metodu kullanılmıştır (9,27).

Bu amaçla; 25 ± 1 g örnek aseptik olarak tartılıp steril plastik stomacher torbasına alınmış ve üzerine 225 ± 5 ml *Listeria* Primary Selective Enrichment Broth (Oxoid CM863+Oxoid SR142) ilave edildikten sonra Stomacherde (IUL Instruments Mastikor) 3 dakika süreyle homojenize edilmiş ve 30 ± 2 °C'de 22 ± 2 saat inkubasyona bırakılmıştır.

Bu ilk zenginleştirme işleminden sonra, buradan alınan 0.1 ± 0.02 ml'lik homojenizat, önceden sterilize edilmiş ve içlerinde 10 ± 0.5 ml *Listeria* Secondary Selective Enrichment Broth (Oxoid CM863+Oxoid SR143) bulunan tüplere aktarıldıktan sonra tekrar 30 ± 2 °C'de 24 ± 2 saat inkube edilerek 2. zenginleştirme işlemi yapılmıştır.

İzolasyon aşamasında; 1. ve 2. Zenginleştirme Broth'larından *Listeria* Selective Agar'a (Oxoid CM 856+Oxoid SR140) tek koloni düşecek şekilde çizme yöntemiyle ekim yapılmış ve besiyerleri 35°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda besiyerinde üreyen 1-3 mm çapında, gri-kahverengi renkli ve etrafı siyah haleli olan tipik 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) koloniler tek düşecek şekilde çizilmiş ve petriler 30°C'de 24-48 saat inkube edilmiştir.

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 (2,3).

Bulgular

İncelenen 120 adet sucuk, salam ve sosis örneğinin 30 tanesi (%25) *Listeria* türleri yönünden pozitif bulunmuştur. *Listeria* pozitif örneklerin 11 (%36.7) tanesinden *L. monocytogenes*, 14 (%46.7) tanesinden *L. innocua*, 3 (%10.0) tanesinden *L. welshimeri*, 1 (%3.3) tanesinden *L. ivanovii* ve 1 (%3.3) tanesinden de *L. innocua* ile *L. seeligeri* birlikte identifiye edilmiştir (Tablo 1). Analize alınan örneklerde *Listeria* türlerinin dağılımı Tablo 1.'de verilmiştir.

Tablo 1. Sucuk, salam ve sosis örneklerinden izole edilen *Listeria* türlerinin dağılımı ve izolasyon oranları

Örnek	N	<i>Listeria</i> spp.		<i>L. monocytogenes</i>		<i>L. innocua</i>		<i>L. welshimeri</i>		<i>L. ivanovii</i>		<i>L. innocua</i> ve <i>L. seeligeri</i>	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Vakumlu Sucuk	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vakumsuz Sucuk	20	9	45	3	15	4	20	1	5.0	-	-	1	5.0
Vakumlu Salam	20	2	10	-	-	2	10	-	-	-	-	-	-
Vakumsuz Salam	20	4	20	2	10	2	10	-	-	-	-	-	-
Vakumlu Sosis	20	6	30	1	5.0	3	15	1	5.0	1	5.0	-	-
Vakumsuz Sosis	20	9	45	5	25	3	15	1	5.0	-	-	-	-
Toplam	120	30	25	11	9.2	14	11.7	3	2.5	1	0.8	1	0.8

Tartışma ve Sonuç

Değişik ülkelerde sucuk, salam ve sosisler üzerinde yapılan araştırmalarda farklı oranlarda *Listeria* türleri izole edilmiştir (1,8,13,15,37).

Bu araştırmada analize alınan vakumla paketlenmiş sucuk, salam ve sosislerde *Listeria* türlerinin ve *L. monocytogenes*'in izolasyon oranı, vakumsuz paketlenenlere göre daha düşük bulunmuştur. Bazı araştırmacılar vakumla paketlenmiş et ürünlerinin *L. monocytogenes*'in üremesi için iyi bir ortam olduğunu söylerken (8,38), bazı araştırmacılar da bunun aksini iddia etmişlerdir (18,23). *L. monocytogenes*'in vakumla paketlenmiş ette ve et ürünlerinde canlı kalması ve çoğalması; ürünün çeşidi, doku tipi, kullanılan katkı maddeleri, muhafaza ısısı, pH'sı ve ette bulunan doğal mikrofloranın kompozisyonu ile yakından ilgilidir (11,18,20,38). Ette bulunan mikroflora bakteriosin veya peroksitler gibi antibakteriyel ajanları ürettiyorsa, bunlar vakumla paketlenmiş ette antimikrobiyal aktivite gösterirler (7,14).

Bu çalışmada incelenen vakumlu paketlenmiş sucuk örneklerinden *Listeria* spp. izole edilememiştir. Vakumlu paketlenmiş sucuk örneklerinden *Listeria* spp. izole edilememesi; sucuklarda kullanılan starter kültürlerin ürettiği inhibitör maddelerin ve nitrat ve nitrit gibi katkı maddelerinin etkisine ve vakumlu paketlenmiş sucuklarda *Listeria* türlerinin üreyebilmesi için gerekli atmosfer şartlarının yeterli olmamasına bağlanabilir (7,13,14,17,25). Nitekim, Encinas ve ark. (13), fermente sucuklarda yaptıkları bir çalışmada starter ve sorbat kullanarak yüksek ısıda olgunlaştırdıkları örneklerde *Listeria* spp. tespit edemezken, starter ve sorbat kullanmadan ve düşük ısıda olgunlaştırdıkları örneklerde 3.5 log/cfu düzeyinde *Listeria* spp. bulmuşlar, starter ve sorbat kullanmadan ve doğal iklimik şartlarda olgunlaştırdıkları örneklerde ise 1.17 log/cfu düzeyinde *Listeria* spp. tespit etmişlerdir. Kaya ve Gökalp (25)'de, 500 ppm NaNO₃ ve starter kültür kullanılarak üretilen sucuklarda *L. monocytogenes*'in sayısında çok az artış olduğunu, buna karşın NaNO₃ ve starter kültür kullanılmadan üretilen sucuklarda *L. monocytogenes*'in sayısında 3. günde yaklaşık 2 logaritmik birimlik bir artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Analize alınan vakumsuz paketlenmiş sucuk örneklerinin %45'inden *Listeria* türleri izole edilmiştir. Bu oran Trussel (36)'in sucuklarda bulduğu (%94.4) ve yine Bozkurt (6) tarafından sucuklarda belirlenen %76'lık izolasyon oranından oranından düşük, Çon ve ark. (10) tarafından 30 adet sucukta tespit edilen %23.3'lük izolasyon oranından ise yüksektir. Vakumsuz paketlenmiş sucuklarda tespit edilen *L. monocytogenes* kontaminasyon oranı (%15); Bozkurt (6) tarafından 25 sucuk örneğinde bulunan %31.58'lik, Farber ve ark. (15) tarafından fermente sucuklarda tespit edilen %20'lik, Buncic (8) tarafından çiğ kurutulmuş sucuklarda bulunan %19'luk ve Kaya ve Gökalp (24) tarafından 28 sucuk örneğinde bulunan %18'lik izolasyon oranlarından düşüktür. Vakumsuz paketlenmiş sucuklarda *Listeria* kontaminasyon oranının yüksek çıkması, üretimin hijyenik şartlar altında yapılmamasına ve üretim sonrası kontaminasyonlara bağlanabilir. Nitekim, Sancak ve ark. (31)'da Van'da satılan sunulan sucuklarda mikroorganizma yükünü oldukça yüksek bulmuşlardır.

Ayrıca vakumsuz paketlenmiş sucuklarda dominant tür olarak *L. innocua* (%20) tespit edilmiş, bu türün yanında örneklerden *L. monocytogenes* (%15), *L. welshimeri* (%5) ve *L. seeligeri* ile *L. innocua* birlikte (%5) izole edilmiştir. Dominant florayı *L. innocua*'nın oluşturması, Bozkurt (6)'un elde ettiği sonuçların aksine birçok araştırmacının et ve et ürünlerinde yaptığı çalışmalarda elde ettiği (10,12,21,34) bulgularla uyumludur. Bozkurt (6) sucuk örneklerindeki *Listeria* türlerinin 6 (%24)'sinin *L. monocytogenes*, 5 (%20)'inin *L. innocua*, 3 (%12)'ünün *L. welshimeri*, 3 (%12)'ünün *L. grayi* ve 2 (%8)'sinin *L. murrayi* olduğunu, en sık rastlanan türün *L. monocytogenes* olduğunu tespit etmiştir. Analize alınan vakumsuz paketlenmiş sucuk örneklerinde *L. innocua*'nın yüksek düzeyde izole edilmesi, izolasyonda kullanılan besiyerlerinde *L. innocua*'nın diğer türlere göre daha iyi gelişmesine bağlı olabilir (28). Diğer araştırmalarda (21,34) olduğu gibi bu çalışmada da bir örnekten *L. innocua* ve *L. seeligeri* birlikte izole edilmiştir.

İncelenen vakumlu paketlenmiş salamlardaki *Listeria* spp. izolasyon oranı (%10) ve vakumsuz paketlenmiş salamlardaki *Listeria* spp. izolasyon oranı (%20), Trussel (36) tarafından salamlarda tespit edilen %46.7'lik ve Alişarlı ve ark (1) tarafından vakumlu salamlarda belirlenen %40'lık izolasyon oranından daha düşük, Bozkurt (6) tarafından

belirlenen %16'lık izolasyon oranına ise benzerdir. Alişarlı ve ark. (1) salam örneklerinde %40 *Listeria* spp. ve %16 *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir. Bozkurt (6) salam örneklerindeki *Listeria* türlerinin 2 (%8)'sini *L. welshimeri*, 1 (%4)'ini *L. grayi* ve 1 (%4)'ini de *L. murrayi* olarak tanımlamıştır. Bozkurt (6), salamlardan en sık *L. welshimeri* izole ederken hiç *L. monocytogenes* ve *L. innocua* izole edememiştir. Bu çalışmada ise vakumlu paketlenmiş salamlardan 2 adet (%10) *L. innocua*, vakumsuz paketlenmiş salamlardan ise 2 adet (%10) *L. monocytogenes* ve 2 adet de (%10) *L. innocua* izole edilmiştir. Bu oranlarda ve türlerde görülen farklılıklar, salam yapımının ülkeden ülkeye hatta işletmeden işletmeye değişmesine ve örneklerin farklı bölgelerden temin edilmesine bağlanabilir. Yapım tekniğindeki bu değişikliklerle birlikte üretim aşamalarında uygulanan ısı dereceleri ve süreleri de farklı olmakta ve *Listeria* türlerinin canlı kalma oranlarını etkilemektedir (4,34).

Analize alınan vakumlu paketlenmiş sosislerdeki *Listeria* spp. izolasyon oranı (%30); Buncic (8) tarafından vakumla paketlenmiş ve dumanlanmış sosislerde belirlenen %21'lik izolasyon oranından daha yüksek, Bozkurt (6) tarafından bulunan %44'lük ve Alişarlı ve ark. (1) tarafından vakumla paketlenmiş sosislerde bulunan %48'lik izolasyon oranından daha düşüktür. Vakumsuz paketlenmiş sosislerdeki izolasyon oranı ise (%45) Bozkurt (6) tarafından bulunan %44'lük izolasyon oranına benzemektedir. Buncic (6), sosis yapımı esnasında iç ısının 70-75°C olması durumunda *L. monocytogenes* izolasyonunun hiç yapılamadığını bildirmiştir. Bozkurt (6) sosis örneklerindeki *Listeria* türlerinin 5 (%20)'ini *L. innocua*, 3 (%12)'ünü *L. monocytogenes*, 2 (%8)'sini *L. ivanovii*, 1 (%4)'ini de *L. welshimeri* olarak tespit etmiş, en sık rastlanan türün *L. innocua* olduğunu bildirmiştir. Alişarlı ve ark. (1) ise vakumla paketlenmiş sosislerde, bu çalışmada elde edilen *L. monocytogenes* izolasyon oranından (%5) daha yüksek oranda (%12) *L. monocytogenes* belirlemişlerdir. Bu çalışmada, vakumlu paketlenmiş sosis örneklerinden sadece 1 adet *L. monocytogenes* (%5) izole edilirken, vakumsuz paketlenmiş sosislerden 5 adet *L. monocytogenes* (%25) izolasyonu yapılmıştır. Bozkurt (6), sosislerdeki *L. innocua* izolasyon oranını (%20) *L. monocytogenes*'ten (%12) daha yüksek bulurken, bu çalışmada vakumlu ve vakumsuz paketlenmiş bütün sosis örneklerinden elde edilen *L. monocytogenes* (%15) ve *L. innocua* (%15) izolasyon oranı birbirine eşit bulunmuştur.

Çalışmada incelenen vakumlu ve vakumsuz paketlenmiş bütün salamlardaki *Listeria* izolasyon oranı (%15) Bozkurt (6) tarafından bulunan sonuçlarla da uyumlu olarak sosislerden (%37.5) daha düşük bulunmuştur. Bunun sebebi salamlarda pişirme işleminin daha uzun süreli yapılmasına bağlı olabilir. Salamlar çok kalın olduklarında içlerinde 80°C'lik sıcak su bulunan pişirme kazanlarında 1-3 saat süreyle pişirilmektedirler (4,5). Nitekim, Trussel (36)'de *L. monocytogenes* ve *L. innocua*'nın olgunlaşma proseslerinden dolayı salamların iç kısımlarında çok düşük sayıda olduklarını bildirmiştir. Ancak, *L. monocytogenes*'in etlerdeki dayanıklılığı diğer gıdalardan daha fazladır. Besin maddesinde yüksek miktarda (7-8 log cfu/gr) *L. monocytogenes* varsa, iç ısı 50, 60, 65 hatta 70°C olacak şekilde pişirilen ette mikroorganizma canlılığını muhafaza eder (5). Salamlarda bulunan *Lactobacillus sake* gibi mikroorganizmalarda *L. monocytogenes* üzerine baskılayıcı etkide bulunabilirler (24).

Farklı araştırmacılar (1,6,8,10,15,24,36) tarafından yapılan çalışmalarda izole edilen *Listeria* türleri ile insidenslerinin bu çalışmada elde edilen bulgulardan farklı olması, üretim hijyeni ve tekniği, alınan örnek tipleri ve yerleri, seçilen örnekleme tekniği, kullanılan analiz yöntemleri ve analize alınan örneklerin ambalajlanması gibi farklılıklardan kaynaklanabilir (34).

Sonuç olarak, Van'da satışa sunulan vakumlu ve vakumsuz paketlenmiş sucuk, salam ve sosislerde *Listeria* türlerinin, özellikle de patojen olan *L. monocytogenes*'in tespit edilmesi, bu ürünlerin çiğ yada yetersiz ısı uygulanarak tüketilmesi durumunda halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, üretimden tüketime kadar olan tüm aşamalarda hijyenik kurallara azami ölçüde dikkat edilmesi gerekmektedir.

Teşekkür: Bu çalışmayı 2001-VF-011 no'lu proje olarak destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Alişarlı M, Atasever M, Gökmen M (2005): Contamination of Some Vacuum-Packaged Meat Products with *Listeria monocytogenes*. *Acta Alimentaria*, 34(3): 331-334.
2. Amdt G, Feier U, Goetsch PH, Hamann R, Hildebrandt G, Weiss UH (1991): Simulationsstudie zur Auswirkung der Laborpraxis auf die MPN Schätzung. *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.
3. Anonymous (1994): Agricultural Food Products: General Guidance for Detection of *Listeria monocytogenes*. ISO/TC 34/SC 9.
4. Arslan A (1990): Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipress, Malatya, s: 506, 1992.
5. Boyle, D.L.: Thermal Destruction of *L. monocytogenes* in a Meat Slurry and Ground Beef. *J. Food Sci.* 55:327-329.
6. Bozkurt ENN (2003): Et ve Et Ürünlerinden *Listeria monocytogenes*'in İzolasyonu. YYÜ Sağlık Bil. Enst., Doktora Tezi, 59 s.
7. Bredholt S, Nesbakken T, Holck A (1999): Protective Cultures Inhibit Growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in Cooked, Sliced, Vacuum- and Gas-Packaged Meat. *Int. J. Food Microbiol.*, 53(1):43-52.
8. Buncic S (1991): The Incidence of *Listeria monocytogenes* in Slaughtered Animals in Meat and in Meat Products in Yugoslavia. *Int. J. Food Microbiol.*, 12(2-3):173-80.
9. 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.
10. Çon AH, Kaya M, Gökalp HY (1993): Sucuklardan *Listeria monocytogenes* ve Diğer *Listeria* Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu. *KÜKEM Derg.*, 16(2):78.
11. Deumier F, Collignan A (2003): The Effects of Sodium Lactate and Starter Cultures on pH, Lactic Acid Bacteria, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. Levels in Pure Chicken Dry Fermented Sausage. *Meat Science*, 65: 1165-1174.
12. Dhanashree B, Ottab SK, Karunasagarb I, Goebelc W, Karunasagarb I (2003): Incidence of *Listeria* spp. in Clinical and Food Samples in Mangalore, India. *Food Microbiology*, 20:447-453.
13. Encinas JP, Sanz JJ, Garcia-Lopez ML, Otero A (1999): Behaviour of *Listeria* spp. in Naturally Contaminated Chorizo (Spanish Fermented Sausage). *Int. J. Food Microbiol.*, Feb 2:46(2):167-71.
14. Erol İ, Çelik TH, Şireli UT, Özdemir H (1999): Bakteriyoisin Oluşturan Starter Kültürlerin Fermente Türk Sucuklarında *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi. *Tr. J. Vet. Animal Sci.*, 23(4):793-802.
15. Farber JM, Sanders GW, Johnston MA (1989): A Survey of Various Foods for the Presence of *Listeria* Species. *J. Food Prot.*, 52(7): 456- 458.
16. Fleming DW, Cochi SL, Kristine L, MacDonald MD (1985): Pasteurized Milk as a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis. *N. Engl. J. Med.*, 312(7):404-407.
17. Garcia MT, Canamero MM, Lucas CR, Omar NB, Pulido RP, Galvez A (2004): Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Enterocin EJ97 Produced by *Enterococcus faecalis* EJ97. *Int. J. Food Microbiol.*, 90:161-170.
18. Glass K, Doyle MP (1989): Fate of *L. monocytogenes* in Processed Meat Products During Refrigerated Storage. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1565-1569.
19. Gobat PF, Jemmi T (1990): Epidemiological Studies on *Listeria* spp. in Slaughterhouses. *Fleischwirtsch.*, 70(12), 1448-1450.
20. Grau FH, Vanderline PB (1992): Occurrence, Numbers, and Growth of *L. monocytogenes* on Some Vacuum Packaged Processed Meats. *J. Food Prot.* 55(1): 4-7.
21. Güven A, Patır B (1998): Elazığ İlinde Tüketime Sunulan Et ve Bazı Et Ürünlerinde *Listeria* Türlerinin Araştırılması. *Tr. J. Vet. Animal Sci.*, 22:205-212.
22. James SM, Fanning SL, Agee BAA, Parker HE, Vogt J, Run G, William SL, Lieb L, Salminen C, Prendergast T, Werner SB, Chin J (1985): Listeriosis Outbreak Associated with Mexican-style Cheese-California. *Morb. Mort. Weekly Rep.*, 34, 357-359.
23. Johnson J, Doyle MP, Cassens RG, Schoeni JL (1988): Fate of *L.monocytogenes* in Tissues of Experimentally Infected Cattle and in Hard Salami. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:497-501
24. Kaya M, Gökalp HY (1991): Bazı Et Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in Aranması, Karakterizasyonu ve Kontrolü Üzerine Araştırmalar. II. Uluslararası Gıda Sempozyumu, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Gıda Tek Araş Enst, Sempozyum Kitabı, sh. 168-179, 1-3 Ekim, Bursa.

25. Kaya M, Gökalp HY (1993): Sucuk Üretiminde Nitrat Kullanımının *Listeria monocytogenes*'in Çoğalımı Üzerine Etkisi. KÜKEM Derg., 16(2):80.
26. Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May S, Salminen C, Hird DW (1988): Epidemic Listeriosis Associated with Mexican-Style Cheese. N. Eng. J. Med., 319, 823-828.
27. McClain D, Lee WH (1988): Development of USDA-FSIS Method for Isolation of *Listeria monocytogenes* from Raw Meat and Poultry. J. Assoc. Off Anal. Chem., 71(3):660-664.
28. Petran RL, Swanson MJ (1993): Simultaneous Growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. J. Food Prot., 56(7): 616-618.
29. Sağun E, Sancak YC, İşleyici Ö, Ekici K (2001): Van ve Çevresi Süt ve Otlı Peynirlerinde *Listeria* Türlerinin Varlığı ve Yaygınlığı Üzerine Bir Araştırma. Tr. J. Animal Sci., 25(1): 15-19.
30. Sancak YC, İşleyici Ö, Elibol C, Ekici K (2002): Van İlinde Tüketime Sunulan Yaş Pastalarda *Listeria* Türlerinin Varlığı Üzerine Bir Araştırma. YYU Vet. Fak. Derg. 13(1-2): 8-11.
31. Sancak YC, Kayaardı S, Sağun E, İşleyici Ö, Sancak H (1996): Van Piyasasında Tüketime Sunulan Fermente Türk Sucuklarının Fiziksel, Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Organoleptik Niteliklerinin İncelenmesi. Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg., 7 (1-2): 67-73.
32. Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, Allen AC, Holdane EV, Worth AS (1983): Epidemic Listeriosis-Evidence for Transmission by Food. N. Engl. J. Med., 308, 203-206.
33. Seeliger HPR, Jones D (1986): Genus *Listeria*, In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Ed. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holth, J.G. 2:1235-1245.
34. Şireli UT, Erol I (1999): Detection of *Listeria* Species in Minced Meat. Tr. J. Animal Sci., 23(2): 373-380.
35. Thévenot D, Delignette-Muller ML, Christieans S, Vernozy-Rozand C (2005): Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 Dried Sausage Processing Plants and Their Products. Int. J. Food Microbiol., 102:85-94.
36. Trussel M (1989): The Occurrence of *Listeria* in the Production of Processed Meat, Salami and Mettwurst. Schweiz. Arch. Tierheilkd., 131(7):409-412, 417-421.
37. Uyttendaele M, De Troy P, Debevere J (1999): Incidence of *Listeria monocytogenes* in Different Types of Meat Products on the Belgian Retail Market. Int. J. Food Microbiol., Dec 1;53(1):75-80.
38. Williams RC, Golden DA (2001): Influence of Modified Atmospheric Storage, Lactic Acid, and NaCl on Survival of Sublethally Heat-Injured *Listeria monocytogenes*. Int. J. Food Microbiol., 64:379-386.

ANKARA'DA MARKETLERDE SATILAN PİLİÇ PARÇA ETLERİNDE TERMOFİLİK *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN VARLIĞI¹

Mustafa SAVAŞCI², Haydar ÖZDEMİR³

²: Vet. Hek. Yüzbaşı., 9. Piyade Tugayı B Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı,
Sarıkamış/Kars.

³: Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı, 06110-Dışkapı Ankara.
E-mail: hozdemir@veterinary.ankara.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, mayıs-ağustos 2004 tarihleri arası Ankara'da marketlerde satılan 127 adet piliç parça etlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı araştırılmıştır. Örneklerde termofilik *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda, ISO'nun referans yöntemi kullanılmıştır. Analiz edilen örneklerin % 83.4'ünde termofilik *Campylobacter* türleri izole edilmiştir. *C. jejuni* ise örneklerin % 74.8'inde saptanmıştır. İzole edilen toplam 364 *Campylobacter* suşundan % 70.1'i *C. jejuni*, % 21.1'i *C. coli* ve % 8.6'sı *C. lari* olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, kanatlı işletmelerinde kesimin tüm aşamalarında hijyenik ve teknik önlemlerin alınmasının, kontaminasyonların azaltılması ve halk sağlığının korunması bakımından önemli olduğunu göstermektedir. *C. jejuni* infeksiyonlarından korunmak için, çiflikten masaya kadar HACCP sistemi uygulanmalıdır.

Anahtar kelimeler: Piliç eti, termofilik *Campylobacter* spp., *C. jejuni*.

¹ : Bu çalışma, Doç. Dr. Haydar Özdemir danışmanlığında Vet. Hek. Yüzbaşı Mustafa Savaşçı tarafından yapılan aynı başlıklı Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.

Abstract

PREVALENCE OF THERMOPHILIC CAMPYLOBACTER SPP. IN RETAIL CHICKEN MEAT IN ANKARA

From May to August 2004, 127 samples of chicken meat for sale on the retail market in Ankara were analysed for the prevalence of thermophilic *Campylobacter* spp. Isolation and identification of thermophilic campylobacter spp. proceeded using methods recommended by ISO. Campylobacters were isolated from 83.4% of the samples analysed. *Campylobacter jejuni* was found in 74.8% of all samples. A total of 364 thermophilic *Campylobacter* strains were isolated and the species distribution among these strains was 70.1% *C. jejuni*, 21.1% *C. coli* and 8.6% *C. lari*.

The results obtained from the study indicate that hygienic and technical compliance is needed in all stages of poultry processing to reduce contamination and to prevent public health hazard. An integrated HACCP plan must be applied from the farm to the table for the prevention of *C. jejuni* infections.

Key words: Chicken meat, thermophilic *Campylobacter* spp., *C. jejuni*.

Giriş

Termofilik *Campylobacter* türleri insanlardaki gastroenteritis infeksiyonlarının önemli etkenleri arasında yer almaktadırlar. Gıda infeksiyonları yönünden önemli olan termofilik *Campylobacter*'ler 42°C'de üreyebilen *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari* türlerinden oluşmakla birlikte, gıda infeksiyonlarının % 80-90'ından *C. jejuni* sorumludur (8, 18). Başta Avrupa ülkeleri olmak üzere, ABD ve Japonya'da *Campylobacter* türlerinden kaynaklanan gıda infeksiyonlarında artış görüldüğü ve Japonya'da *Campylobacter* türlerinden kaynaklanan gıda infeksiyonlarının, *Salmonella* türlerinden kaynaklanan gıda infeksiyonlarından daha fazla olduğu bildirilmektedir (2, 8, 19).

Campylobacter türleri başta kanatlı hayvanlar olmak üzere, sığır ve domuzların bağırsak içeriklerinde bulunmakta olup, kesim sırasında karkasların bağırsak içeriği ile

kontamine olması infeksiyonların oluşumunda önemli rol oynar (5). Aynı şekilde, çiğ veya az pişirilmiş et, çiğ süt ve kontamine sular epidemik ve sporadik infeksiyonların oluşmasında önemlidir (2, 5). Yapılan çalışmalarda (10, 11) etkenlerin kanatlı hayvanların deri, boyun derisi ve göğüs etlerinden sıklıkla izole edildiği bildirilmiştir.

Campylobacter infeksiyonlarında sıklıkla görülen semptom diyare olup, bununla birlikte meningitis, endokarditis, septik artritis ve osteomyelitis gibi ekstra intestinal semptomlarda oluşabilmektedir. En önemli post-infeksiyon komplikasyon Guillan-Barré Sendromu'dur (1, 15, 17).

Bu çalışma, Ankara'da marketlerde satılan piliç parça etlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığını saptamak amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Örneklerin Alınması: Bu çalışmada, 2004 yılı mayıs-aoğustos ayları arasında Ankara'daki 6 farklı marketten temin edilen 44 adet piliç kanat, 43 adet piliç göğüs ve 40 adet piliç but örneği olmak üzere toplam 127 adet piliç eti örneği gereç olarak kullanılmıştır. Alınan örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek, hemen analiz edilmiştir.

Termofilik *Campylobacter*'lerin İzolasyon ve İdentifikasyonu: Alınan örneklerde termofilik *Campylobacter*'lerin izolasyon ve identifikasyonunda zenginleştirme işlemine dayalı ISO yöntemi kullanılmıştır (3). Bu amaçla analiz edilecek örneklerden aseptik koşullarda 10 g (deri ve kas) alınıp, üzerine 90 ml Preston *Campylobacter* selektif zenginleştirme buyyonu (Nutrient broth, Oxoid No:2, supplement Oxoid SR117, Oxoid SR84, Oxoid SR48), ilave edilerek 42°C'de 24 saat süreyle mikroaerofilik (Campygen Oxoid CN 025, 035) ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası zenginleştirme sıvısından 1 öze dolusu CCD agara (*Campylobacter* Blood Free Selective Agar, Oxoid CM 739) ekim yapılarak, plaklar 42°C'de 48-72 saat süreyle mikroaerofilik ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası CCD agarda üreyen *Campylobacter* şüpheli kolonilerden 5'i seçilerek, kanlı agarda

(Columbia Agar Base, Oxoid CM 331, % 5 koyun kanı) k ltiviye edilmiştir. Bunu takiben Gram negatif, katalaz ve oksidaz pozitif hareketli koloniler ayrılarak, identifikasyon amacıyla sodyum hippurat hidrolizi, nalidiksit asit ve sefalotin (CT 010, CT 031, Oxoid) duyarlılık, 25 C'de üreme ve TSI agarda (Triple Sugar Iron Agar, Oxoid CM277) H₂S oluşumu yönünden test edilmişlerdir.

Bulgular

Bu çalışmada, analiz edilen 127 örneğin 106'sının (% 83.4) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olduğu saptanmıştır. *C. jejuni* ise örneklerin 95'inde (% 74.8) saptanmış olup, en fazla piliç göğüs etlerinde bulunmuştur. Bu bulgulara ilişkin sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Piliç eti örneklerinde termofilik *Campylobacter* türleri ve *C. jejuni*'nin bulunuşu.

�rnek Tipi	<u>Termofilik <i>Campylobacter</i> spp.</u>	<u><i>C. jejuni</i></u>
	Pozitif �rnek sayısı/analiz edilen örnek sayısı (% pozitif)	Pozitif �rnek sayısı/analiz edilen örnek sayısı (% pozitif)
Piliç kanat	36/44 (81.8)	33/44 (75.0)
Piliç göğüs	40/43 (93.0)	37/43 (86.0)
Piliç but	30/40 (% 75.0)	25/40 (62.5)
Toplam	106/127 (83.4)	95/127 (74.8)

Yine bu çalışmada, örneklerden 364 adet termofilik *Campylobacter* suşu izole edilmiş olup, bu suşlardan 252'si (% 70.1) *C. jejuni*, 76'sı (% 21.1) *C. coli* ve 36'sı (% 8.6) *C. lari* olarak identifiye edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, incelenen 127 örneğin 106'sı (% 83.4) termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine bulunmuştur. Bu bulgular, Kramer ve ark. (14) ile Moore ve ark.nın (16) bulgularıyla uyum göstermektedir. Nitekim, Kramer ve ark. (14)  alışmalarında 198 adet piliç göğüs ve kanat örneklerinin % 83.3'n n termofilik *Campylobacter* türleriyle kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Moore ve

ark. da (16) çalışmalarında termofilik *Campylobacter* türlerinin taze piliç etlerinde % 94, dondurulmuş piliç etlerinde ise % 77 düzeyinde bulmuşlardır.

Bununla birlikte, bu çalışmada örneklerde saptanan % 83.4'lük oran, benzer konuda çalışan bazı araştırmacıların (4, 6, 7, 9, 20) bulgularından daha yüksek olup, bunun muhtemelen örnekler arası farklılık, örnekleme tekniği ile mevsimsel farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma Mayıs ve Ağustos ayları arasında yapılmış olup, bazı araştırmacılar (21, 22) bu aylarda piliç etlerinde *C. jejuni*'nin daha fazla bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada piliç eti örnekleri deri ile birlikte alınmıştır. Uyttendaele ve ark. (20) *Salmonella* spp., *C. jejuni* ve *C. coli*'nin derili örneklerde, derisiz örneklere oranla daha yüksek düzeyde bulunduğunu bildirmişlerdir.

C. jejuni ise bu çalışmada örneklerin 95'inde (% 74.8) bulunmuş olup, örnekler arasında en fazla piliç göğüs etlerinde saptanmıştır. Bu bulgular, piliç göğüs derilerinde *C. jejuni*'nin karkasın diğer bölümlerine oranla daha fazla bulunduğunu bildiren araştırmacıların (12, 13) sonuçlarıyla uyum göstermektedir.

KAYNAKLAR

- 1- ALLOS, B. M. 1997. Association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barré Syndrome. *J. Infect. Dis.* 176, 125-128.
- 2- ALTEKRUSE, S. F., STERN, N. J., FIELDS, P. I., SWERDLOW, D. L. 1999. *Campylobacter jejuni*-an emerging foodborne pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 28-35.
- 3- ANONYMOUS. 1995. Microbiology of food and animal feeding stuff-horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter*. The International Organization for Standardization-10272.
- 4- ATANASSOVA, V. and RING, C. 1999. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry meat in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 51, 187-190.
- 5- BUTZLER, J. P. and OOSTEROM, J. 1991. *Campylobacter*: pathogenicity and significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 12, 1-8.
- 6- DOMINGUEZ, C., GOMEZ, I., ZUMALACARREGUI, J. 2002. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *Int. J. Food Microbiol.* 72, 165-168.
- 7- FLYNN, O. M. J., BLAIR, I. S., MCDOWELL, D. A. 1994. Prevalence of *Campylobacter* species on fresh retail chicken wings in Northern Ireland. *J. Food Prot.* 57, 334-336.
- 8- FROST, J. A., OZA, A. N., THWAITES, R. T., ROWE, B. 1998. Serotyping schema for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on direct agglutination of heat-stable antigens. *J. Clin. Microbiol.* 36, 335-339.
- 9- HARRISON, W. A., GRIFFITH, C. J., TENNANT, D., PETERS, A. C. 2001. Incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* isolated from retail chicken and associated packaging in South Wales. *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 450-454.
- 10- HOOD, A. M., PEARSON, A. D. and SHAHAMT, M. 1988. The extent of surface contamination of retailed chickens with *Campylobacter jejuni* serogroups. *Epidemiol. Infect.* 100, 17-25.

- 11- HUMPHREY, T. J., HENLEY, A., LANNING, U. D. G. 1993. The colonization of broiler chickens with *Campylobacter jejuni*: some epidemiological investigations. *Epidemiol. Infect.* 110, 601-607.
- 12- KOTULA, K. L., PANDYA, Y. 1995. Bacterial contamination of broiler chickens before scalding. *J. Food Prot.* 58, 1326-1329.
- 13- KOTULA, K. L., DAVIS, M. E. 1999. Broiler skin sampling for optimum recovery of *Salmonella* spp. *J. Food Prot.* 62, 284-286.
- 14- KRAMER, J. M., FROST, J. A., BOLTON, F. J., WAREING, D. R. A. 2000. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *J. Food Prot.* 63, 1654-1659.
- 15- MC CARTHY, N., ANDERSSON, Y., JORMANAINEN, V., GUSTAVSSON, O., GIESECKE, J. 1999. The risk of Guillain-Barre syndrome following infection with *Campylobacter jejuni*. *Epidemiol. Infect.* 122, 15-17.
- 16- MOORE, J. E., WILSON, T. S., WAREING, D. R. A., HUMPHREY, T. J., MURPHY, P. G. 2002. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* spp. in ready-to-eat foods and raw poultry in Northern Ireland. *J. Food Prot.* 65, 1326-1328.
- 17- NACHAMKIN, I., ALLOS, B. M., HO, T. 1998. *Campylobacter* species and Guillain-Barre syndrome. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 555-567.
- 18- PARK, S. 2002. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.* 74, 177-188.
- 19- TOKUMARU, M., KONUMA, H., UMESAKO, M., KONNO, S., SHINAGAWA, K. 1991. Rates of detection of *Salmonella* and *Campylobacter* in meats in response to the sample size and the infection level of such species. *Int. J. Food Microbiol.* 1, 41-46.
- 20- UYTENDAELE, M., TROY, P. D., DEBEVERE, J. 1999. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J. Food Prot.* 62, 735-740.
- 21- WALLACE, J. S., STANLEY, K. N., CURRIE, J. E., DIGGLE, P. I., JONES, K. 1997. Seasonality of thermophilic *Campylobacter* populations in chickens. *J. Appl. Microbiol.* 82, 219-224.
- 22- WILLIS, W. L., MURRAY, C. 1997. *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. *Poultry Sci.* 76, 314-317.

HİNDİ ETİ VE ÜRÜNLERİNDE TERMOFİLİK CAMPYLOBACTER TÜRLERİNİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI*

Gürkan UÇAR^{1@} Abdullah KELEŞ¹ Ahmet GÜNER¹ Yusuf DOĞRUER¹ Mustafa ARDIÇ²

¹ Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 42075 Kampüs, Konya.

@: gucar@selcuk.edu.tr

² Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa.

Özet

Araştırmada, Konya piyasasından temin edilen hindi eti ve ürünlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) insidensi araştırıldı. *Campylobacter* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda FDA (Food Drug Administration) tarafından önerilen metot kullanıldı. Araştırmada 55 adet hindi karkas parçaları (but, göğüs, kanat, gerdan), 52 adet hindi eti ürünü (köfte, burger, döner, sucuk, salam, sosis, jambon) ve 10 adet yenilebilir iç organ (5 adet karaciğer, 5 adet kalp) incelendi.

İncelenen toplam 117 numunedan 25'inde *Campylobacter* izole edildi. Bunların 6 adedinin *C. jejuni* (%5.12), 10 adedinin *C. coli* (%8.54), ve 9 adedinin de *C. lari* (%7.69) olduğu belirlendi. Hindi eti ürünlerinde ise *Campylobacter* türlerine rastlanılmadı.

Sonuç olarak hindi karkas parçalarında ve iç organlarda önemli düzeyde *Campylobacter* türleri tespit edildi. Halk sağlığı açısından hindi karkaslarının risk oluşturabileceği, fakat hindi eti ürünlerinin güvenli tüketilebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Termofilik *Campylobacter*, Hindi eti, Hindi et ürünleri

*: Araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2002 / 060 no'lu proje olarak desteklenmiştir

Abstract

INVESTIGATIONS ON THERMOPHYLIC CAMPYLOBACTER SSP. IN TURKEY MEAT AND PRODUCTS

In this study, totally 117 turkey meat and turkey meat product samples obtained from Konya retail markets were investigated for presence of *Campylobacter* spp. For isolation and identification of *Campylobacter* spp., the method recommended by FDA was used. In the study, 55 turkey meat samples, 52 turkey meat product samples and 10 edible offal samples (5 liver and 5 heart) were investigated. *Campylobacter* spp. were isolated from 25 samples of totally 117 samples (21,36%) while 6 of them (5.12%) were identified as *C. jejuni*, 10 of them (8.54%) were identified as *C. coli* and 9 of them (7.69%) were identified as *C. lari*. *Campylobacter* spp. were not found in turkey meat products.

As a result, *Campylobacter* spp. were isolated from turkey meat and edible offals at important levels. It was concluded that turkey meat carcasses have a potential risk to human health.

Key words: Termophilic *Campylobacter*, Turkey meat, Turkey meat products

Giriş

Dünyadaki birçok ülkede başta *Campylobacter*, *Salmonella*, *E. coli* ve *Shigella* olmak üzere gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar halk sağlığını olumsuz yönde etkilemekte ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (3).

Campylobacter 'ler, çeşitli evcil ve yabani hayvanlar ile insanlarda sindirim ve genital sistem infeksiyonlarına sebep olmalarının yanı sıra, bu konakçıların normal floralarında da bulunabilen mikroorganizmalardır (8). En önemli türleri termofilik olan, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* 'dir ve birçok ülkede halk sağlığı açısından problem yaratan campylobacteriosis'e neden olurlar (7).

Campylobacter'ler, üremek için hem oksijene hem de karbondioksit gereksinim gösteren mikroaerofilik mikroorganizmalardır. %5-10 oksijenli ortamda iyi üredikleri için mikroaerofilik olarak bilinirler. Normal atmosferde bulunan oksijen düzeyi (%21) *Campylobacter*'lerin üremelerini engeller (22). *Campylobacter*'ler konakçı dışında çoğalamazlar ve kısa sürede ölürler. Çevresel faktörlerden (örn, rutubet, pH, ısıtma, kurutma) diğer bakterilere oranla daha fazla etkilenmektedirler (30).

Campylobacter türleri, insanlara hasta hayvanlardan, kontamine hayvan karkaslarından direk temas ile veya indirek olarak çiğ veya az pişmiş kontamine gıda ve içme sularından bulaşmaktadır (6). *C. jejuni*'nin enteritis oluşturması için 500 adet mikroorganizmanın yeterli olduğu bildirilmiştir (19). Dünyanın birçok ülkesinde yapılan araştırmalar sonucunda *Campylobacter*'lerden ileri gelen enteritis vakalarının oldukça yaygın olduğu ve enfeksiyon oranının gittikçe arttığı belirtilmiştir (3, 9, 24, 26, 41, 42). Yapılan çalışmalar, enfeksiyonunun enteritisle sınırlı kalmadığını bazen septik artritis, menenjit, üriner sistem enfeksiyonu, kolesistitis, pankreatitis, kolitis, kronik ishal, subakut endokarditis, spontane peritonitis, septik abort, apandisit gibi enfeksiyonlara da yol açabileceğini göstermektedir (3,4,14). Bu konudaki araştırmalar arttıkça *Campylobacter* enfeksiyonlarının önemi anlaşılmış ve reaktif artritis, Reiter sendromu, Gullian-Barre sendromu gibi önemli immunolojik hastalıklarla da ilişkisi olduğu belirlenmiştir (3, 24).

Doğada yaygın olarak bulunan termofilik *Campylobacter* türleri, hayvanlara ve çeşitli besinlere kolayca kontamine olurlar. Çoğunlukla kanatlı, sığır, domuz etleri ve ürünleri, süt ve süt ürünleri, balık ve balık ürünleri, sebzeler ve hatta klorlanmamış sularda bile bulunabilmektedir (28).

Yapılan birçok araştırma sonucunda kanatlı etlerinin önemli bir kısmının termofilik *Campylobacter* yönünden pozitif olduğu belirlenmiştir (1,10,11,17,29, 38,39,40).

Hindi eti, insan beslenmesi için gerekli olan amino asitleri yeterli miktarda ihtiva eden, B vitaminleri bakımından oldukça zengin, yağ oranı oldukça düşük ve kolay sindirilebilen, yüksek besleyici değere sahip bir besin maddesidir (2,15).

Yemek alışkanlığı değişmekte olan Türkiye’de gelişmiş ülkelerde olduğu gibi tüketime hazır çiğ ve pişmiş ürünlere olan talep artmaktadır. Hindi etinden yapılan ürünlerin çeşitliliği ve tüketimi de hızla artış göstermektedir. Yapılan literatür taraması sonucunda kanatlılarda *Campylobacter* türlerinin varlığı ile ilgili olarak özellikle tavuklarda çok sayıda araştırmanın yapıldığı, fakat hindi eti ve ürünleri ile ilgili yeterli sayıda araştırmanın yapılmadığı belirlenmiştir.

Araştırmada hindi eti ve ürünlerinde Termofilik *Camphybacter* türlerinin varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada materyal olarak Konya’da çeşitli marketlerde ve kasaplarda tüketime sunulan 55 adet hindi karkas parçası (20 adet but, 15 adet göğüs, 15 adet kanat ve 5 adet boyun), 10 adet sakatat (5 adet karaciğer ve 5 adet kalp), 52 adet hindi eti ürünü (10 adet salam, 5 adet sosıs, 10 adet sucuk, 5 adet döner, 5 adet jambon, 10 adet burger ve 7 adet köfte) olmak üzere toplam 117 numune termofilik *Campylobacter* türleri yönünden incelendi. Numuneler tesadüfî örnekleme yöntemiyle toplandıktan sonra aseptik şartlarda alınıp soğuk koşullarda laboratuara getirildi.

Numunelerden termofilik *Campylobacter* izolasyon ve identifikasyonu Food and Drug Administration (5) tarafından bildirilen yöntem esas alınarak aşağıda belirtildiği şekilde yapıldı.

Ön zenginleştirme amacıyla her numuneden 25 g tartılıp üzerine 225 ml supplement ilave edilmiş Bolton Broth (Oxoid, CM0983) eklenerek stomacherde kısa süreli parçalama işlemine tabi tutuldu. Daha sonra steril pyrex şişe içerisine konularak, etüvde, mikroaerofilik koşullarda 37⁰C’de 4 saat ön zenginleştirmeyi takiben sıcaklık 42⁰C’ye ayarlanarak 20–44 saat selektif zenginleştirme yapıldı. Selektif zenginleştirme sıvısından, mCCDA (Modified *Campylobacter* Blood-Free Selective Agar Base) (Oxoid, CM 0739) besi yerine öze ile azaltma tekniği kullanılarak paralel ekim yapıldı ve 42⁰C’de 24-48 saat mikroaerofilik olarak inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda

mCCDA'da merkezi gri, çevresi siyah renkli, konveks görünümlü tipik 5 koloni seçildi. Koloniler %7 defibrine koyun kanı katkılı Muller-Hinton Agar'a (Oxoid, CM 0337) platin öze ile geçildikten sonra 37 °C'de 24-48 saat mikroaerofilik şartlarda inkübasyona bırakıldı. Muller-Hinton Agar'da üreyen şüpheli kolonilere Tablo 1'de belirtilen testler uygulandı.

Tablo 1. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin İzolasyon ve İdentifikasyonunda Kullanılan Testler

Testler	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>
Oksidaz	+	+	+
Katalaz	+	+	+
Gram boyama	-	-	-
NaCl (%3,5)	-	-	-
Glicin (%1)	+	+	+
H ₂ S	+	+	+
Hareketlilik	+	+	+
Hippurat hidroliz	+	-	-
25°C'de üreme	-	-	-
37°C'de üreme	+	+	+
42°C'de üreme	+	+	+
Aerobik üreme	-	-	-
Cephalothin'e duyarlılık	Di	Di	Di
Nalidiksik asite duyarlılık	Du	Du	Di

Di: Dirençli, Du: Duyarlı

Bulgular

İncelenen toplam 117 numunede tespit edilen termofilik *Campylobacter* türleri oranları Tablo 2.'de, hindi karkas parçalarında ve sakatat numunelerinde identifiye edilen termofilik *Campylobacter* türleri ve oranları Tablo 3.'de gösterilmektedir.

Tablo 2. İncelenen Numunelerde Tespit Edilen Termofilik *Campylobacter* Türleri ve Oranları

Numune	N	n	%	Termofilik <i>Campylobacter</i> Türleri					
				<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>		<i>C. lari</i>	
Hindi karkas parçaları	55	20	36.36	5	9.09	8	14.54	7	12.72
Hindi eti ürünleri	52	0		0		0		0	
Sakatat	10	5	50.0	1	10.0	2	20.0	2	20.0
Toplam	117	25	21.36	6	5.12	10	8.54	9	7.69

Tablo 3. İncelenen Hindi Karkas Parçaları ve Sakatat Numunelerinde Termofilik *Campylobacter* Türleri

Numune	N	n	%	Oranları					
				Termofilik <i>Campylobacter</i> Türleri					
				C. jejuni		C.coli		C. lari	
Kanat	15	7	46.66)	2	13.33	2	13.33	3	20.0
Göğüs	15	6	40.0	1	6.66	3	20.0	2	13.33
But	20	6	30.0	2	10.0	2	10.0	2	10.0
Gerdan	5	1	20.0	-		1	20.0	-	
Karaciğer	5	3	60.0	1	20	-		2	40.0
Kalp	5	2	40.0	-		2	40.0	-	
Toplam	65	25	38.46	6	9.23	10	15.38	9	13.84

Tartışma ve Sonuç

Araştırmada incelenen toplam 117 adet numunenin 25'inde (%21.36) *Campylobacter* türleri tespit edilmiştir. Bunların toplam numune içindeki dağılımları %5.12 *C. jejuni*, %8.54 *C. Coli* ve %7.69 *C. lari* olarak belirlenmiştir.

İncelenen 55 adet hindi karkas parça numunelerinin 20'sinde (%36.36) termofilik *Campylobacter* türleri tespit edilmiştir. *Campylobacter* pozitif numunelerin 5'i (%9.09) *C. jejuni*, 8'i (%14.54) *C. coli* ve 7'si (%12.72) *C. lari* olarak idendifiye edildi.

Elde edilen bulgular bazı araştırmacıların (4,35) bildirdikleri değerler ile benzerlik göstermektedir. Buna karşın, hindi karkaslarında *Campylobacter* türlerini Kwiatak ve ark. (32) %3, Cloak ve ark. (18) ile Lammerding ve ark. (33) %0-100, Hartung (25) da %0-70 arasında değişen oranlarda bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu farklılıklar araştırmacıların çalıştıkları bölgelerdeki termofilik *Campylobacter* 'lerin epidemiyolojisi, kanatlı sürü hijyeni, kesim teknikleri, kesim hijyeni uygulamaları ile karkas muhafaza metotlarının farklı olmasından kaynaklanabilir (16,27,34).

Araştırmada incelenen 52 adet hindi eti ürününde termofilik *Campylobacter* türleri tespit edilmemiştir. Moore ve ark. (37) 1061 adet, Meldrum ve Riberio (36) da 4469 adet tüketime hazır kanatlı eti ürününde termofilik *Campylobacter* türlerine

rastlanmadığını bildirmişlerdir. Dizgah (20) tavuk etinden üretilen salam, sucuk ve sosis numunelerinde *Campylobacter* türlerine rastlanılmadığını bildirmiştir. Araştırmacı incelenen numunelerde *Campylobacter* türlerinin bulunmayışını kızartma, haşlama ve ısı işlemleri sonucu bu mikroorganizmaların yıkımlanmasına bağlamaktadır. *Campylobacter*ler ısıtma, dondurma, kurutma, düşük pH gibi çevresel etkilerden çok çabuk etkilenirler. Nitekim Genigeorgis ve ark (23) dondurulmuş ve pişirmeye hazır hindi eti ürünlerinde yalnızca paketteki akıntılar ve sızıntılarda etkenin bulunduğu belirtmişlerdir. Moore ve ark.(37) ısı işlemi görmüş ürünlerde *Campylobacter*' lerin bulunmayacağını bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar Dizgah (20) ve Meldrum ve Riberio (36) tarafından da belirtilmiştir.

İncelenen 10 adet sakatat numunesinin (5 adet karaciğer, 5 adet kalp) 5'inde (%50) *Campylobacter* türleri belirlendi. Karaciğer numunelerinin 3'ünde (%60), kalp numunelerinin ise 2'sinde (%40) *Campylobacter* türleri tespit edildi. Barot ve ark (12) karaciğer numunelerinin % 47.86'sında *C. jejuni* belirlendiğini, Koç (31) karaciğerde %45.0 oranında, Baysal ve Güler (13) %31,6 oranında termofilik *Camhylobacter* türlerini tespit etmişlerdir. Genigeorgis ve ark (23) kalp ve karaciğer numunelerinde *C. jejuni* bulunma oranını, sırasıyla, %66,7 ve %97 şeklinde bildirmişlerdir.

Araştırmada hindi karkas parçalarının önemli bir kısmının (%36.36) termofilik *Campylobacter* türleri ile kontamine olarak tespit edilmesi, *Campylobacter* izolasyonunun rutin olarak yapılmadığı Türkiye'de halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Bu riskin ortadan kaldırılması veya en az düzeye indirilebilmesi için:

- Entansif hindi yetiştiriciliğinin özendirilmesi ve artırılması
- Kümes hijyeninde uygun programların uygulanması
- Kesim tekniklerinde olası kontaminasyonu en az düzeye düşüren araç ve metotların kullanılması
- Hindi karkasının ambalajlanması, taşınması ve muhafazasının usulüne uygun yapılması
- Soğuk zincirin kırılmaması
- Satış noktalarında hindi ve diğer reyonların ve burada çalışan personelin ayrı olması

- Tüketime hazırlama safhasında yeterli ısı işlemi uygulanması
- *Campylobacter* izolasyon ve identifikasyonunun rutin hale getirilmesi

konularında gerekli çaba ve hassasiyetin gösterilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Acuff, G.R., Vanderzant, C., Hana, M.O., Ehlers, J.G. and Gardner, F.A. (1986). *Effects of handling and preparation of turkey products on the survival of Campylobacter jejuni*. J Food Prot, 49 (8): 627-631.
2. Addis, P.B. (1986). Poultry muscle as food. In: "Muscle as Food" Ed., Bechtel, P.J., Academic Press Inc., London
3. Altekruse, S. F., Stern, N.J., Fields, P.I. and Swardlow D.L. (1999). *Campylobacter jejuni* - An emerging foodborne pathogen. Emerging Infectious Diseases, 5, 128-35.
4. Anonymous. (1998). In: Hald T, Wegener HC, Jorgensen BB (ed), *Animal Report on Zoonoses in Denmark 1997*, Danish Veterinary Laboratory, Copenhagen, pp.1-20.
5. Anonymous. (2001). *Bacteriological Analytical Manual, Campylobacter*. Chapter 7 FDA
6. Anonymous (2002). Report of the join FAO/WHO expert consultation on risk assesment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens and *Vibrio* spp. in seafood. Bangkok, Tailand, August . 5-9, 2002
7. Anonymous (2004). *Trends and sources of zoonotic agents in animal, feedstuffs, food and man in the European Union and Norway in 2002 to the European Commission in accordance with article 5 of the directive 92/117/EEC, prepared by the community reference labarotory on the epidemiology of zoonoses*. BgVV, Berlin, Germany
8. Arda, M., Minbay, A. ve Aydın, N. (1982). *Özel Mikrobiyoloji ve Bakteriyel Enfeksiyöz Hastalıklar*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayın No : 386, Ankara.
9. Aşkın, O. ve Acar, J. (1986). *Campylobacter jejuni*'nin özellikleri, gıdalarda taşınması ve izolasyon yöntemleri, Hacettepe Üniv. Müh. Fak. Gıda. Müh. Böl. Gıda Derg., 4, 187-193.
10. Atanassova, V. and Ring, C. (1999). *Prevalence of Campylobacter spp. in poultry meat in Germany*. Int J Food Microbiology 51, 2-3, 187-190.
11. Baker, R.C., Paredes, M.D.C. and Qureshi, R.A. (1986). *Prevalence of Campylobacter jejuni in eggs and poultry meat in New York state*. Poultry Sci., 66, 1766-1770.
12. Barot, M.S., Mosenthal, A.C. and Bokkenheuser, V.D. (1983). *Location of Campylobacter jejuni in infected chicken livers*. J Clin. Microbiol, 17 (5) 921-922.
13. Baysal, T. ve Güler, L. (1992). *Konya Bölgesi'ndeki tavuklardan Campylobacter etkenlerinin izolasyonu*. Veterinarium, 3 (1), 6-11.
14. Blaser, M.J. and Reler, B.L. (1981). *Campylobacter enteritis*. N. Eng J. Med., 305, 1444-1452.
15. Bodwel, C.E. and Anderson, B.A. (1986). *Nutritional composition and value of meat and meat products*. In: "Muscle as Food." Ed., Bechtel, P.J., Academic Press, Inc., London.

16. Borck, B., Pederson, K. and Madsen, M. (2002). *Prevalence of thermophilic Campylobacter spp. in Danish turkeys at slaughter. In: Food safety assurance and veterinary public health, Volume 1: Food safety assurance in the preharvest phase. Eds. Smulders FJM, and Collins JD. Wageningen Academic Publishers, Netherlands.*
17. Braun, P. (2001). *Turkey Slaughter. Safety as a result of high standards of hygiene. Bacterial contamination as a risk source in turkey meat and turkey meat products. Fleischwirtschaft, 81(7), 17-18.*
18. Cloak, O.M., Duffy, G., Sheridan, J.J., Blair, I.S. and McDowell, D.A. (2001). *A survey on the incidence of Campylobacter spp. and the development of a surface adhesion polymerase chain reaction (SA-PCR) assay for the detection of Campylobacter jejuni in retail meat products. Food Microbiol., 18, 287-294.*
19. Diker, K.S. (1984). *Çeşitli hayvanlardan izole edilen Campylobacter türlerinin biyokimyasal ve serolojik özellikleri üzerinde çalışmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniv. Sağıl. Bil. Enst., Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.*
20. Dizgah, D.G. (1996). *İstanbul piyasasında satışa sunulan çeşitli kanatlı eti ve ürünlerinde Campylobacter jejuni'nin varlığı üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul Üniv. Sağıl. Bil. Enst., Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul*
21. Elmalı, M., Yaman, H., Ulukanlı, Z. ve Gençtav, K. (2004). *Kaz karkası, kloakası, altlığı ile kaz, tavuk ve bildircin yumurtalarından Campylobacter jejuni'nin izolasyon ve idenfikasyonu. Vet. Bil. Derg. 20, 4, 47-52.*
22. Franco, D.A. (1988). *Campylobacter species: Consideration for controlling a foodborne pathogen. J. Food Prot., 51 (2), 145-153.*
23. Genigeorgis, C., Hassuneh, M. and 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.*
24. Hariharan, H., Murphy, G.A. and Kempf, I. (2004). *Campylobacter jejuni. Public health hazards and potential control methods in poultry. Vet. Med.- Czech., 49(11), 441-446.*
25. Hartung, M. (2002). *Bericht über die epidemiologisch situation der zoonosen in Deutschland für 2001 Übersicht de Meldungen Bundeslander BfR, Berlin*
26. Haşcelik, G., Akyön, Y., Hayran, M., Yurdakök, K. and Berkman, E. (1991). *Campylobacter as a cause of acute enteritis in Turkey. Therapy of Infect Dis., 6 (3/4), 288-292.*
27. Izat, A.L. and Gardner, F.A. (1988). *Incidence of Campylobacter jejuni in processed egg products. Poultry Sci, 67, 1431-1435.*
28. Jacobs – Reisma, W. (2000). *Campylobacter in the food supply. In: Campylobacter. 2nd edition. Eds., Nachamkin, I. And Blaser, M. J. ASM Pres. Washington, D.C., pp. 467-481.*
29. Jones, F.T., Axtell, R.C., Rives, D.V., Scheideler, S.E., Tarver, F.R., Walker, R.L. and Winland, M.J. (1991). *A survey of Campylobacter jejuni contamination in modern broiler production and processing systems. J. Food. Prot., 54 (4), 256-262.*
30. Keener, K.M., Bashor, M.P., Curtis, P.A., Sheldon, B.W. and Kathariou, S. (2004). *Comprehensive review of Campylobacter and poultry processing. Comprehensive Reviews in Food Sci. and Food Safety, 3, 105-116.*
31. Koç, F. (1990). *Normal ve hepatitisi tavuklardan Campylobacter izolasyonu üzerine çalışmalar. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Etlik Hay Hast. Araşt. Enst., Uzmanlık Tezi, Ankara.*

32. Kwiatek, K., Wojton, B. and Stern, N.J. (1990). *Prevalence and distribution of Campylobacter spp. on poultry and selected red meat carcasses in Poland*. J. Food Prot., 53 (2), 127-130.
33. Lammerding, A.M., Garcia, M.M., Mann, E.D., Robinson, Y., Dorward, W.J., Truscott, R.B. and Tittiger, F. (1988). *Prevalence of Salmonella and thermophilic Campylobacter in fresh pork, beef, veal and poultry in Canada*. J. Food Prot., 51 (1), 47-52.
34. Logue, C.M., Sherwood, J.S., Elijah, L.M., Olah, P.A. and Dockter, M.R. (2003). *The incidence of Campylobacter spp. on processed turkey from processing plants in the Midwestern United States*. J. Appl. Microbiol., 95, 234-241.
35. Luechtefeld, N. and Wang, W.L.L. (1981). *Campylobacter fetus subsp. jejuni in a turkey processing plant*. J. Clin. Microbiol., 30, 1528-1534.
36. Meldrum, R.J. and Riberio, C.D. (2003). *Campylobacter in ready-to-eat foods: The result of 15 month survey*. J. Food Prot., 66, 11, 2135-2137.
37. Moore, J.E., Caldwell, P.S., Millar, B.C. and Murphy, P.G. (2002). *Prevalence of thermophilic Campylobacter spp. in ready-to-eat foods and raw poultry in Northern Ireland*. J. Food Prot., 65 (8), 1326-1328.
38. Nielsen, E.M. and Nielsen, N.L. (1999). *Serotypes and typeability of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from poultry products*. Int. J. of Food Microbiol., 46, 199-205.
39. Schrot, S. (1990). *Vorkommen und verbreitung thermophiler Campylobacter spezie bei puten in Baden- Württemberg*. München, Tierartztl. Fakultät d. Ludwig-Maximilians- Univ., DFiss.
40. Shane, S.M. (1991). *Campylobacteriosis*. In: *Diseases of Poultry*. Eds., Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Reid WM, Yoder HW, 9th ed., Iowa State Univ., Press. Iowa, USA.
41. Skirrow, M.B. (1990). *Foodborne illness. Campylobacter*. The Lancet, 336, 921-923.
42. Wartes, W.M. and Arbutnott, J.P., (1991). *Foodborne illness. (A lancet reviews)*, 1st Ed., Edward Arnold. Great Britain
43. Yusufu, H.I., Genigeorgis, C., Farver, T.B. and Wempe, J.M., (1983). *Prevalence of Campylobacter jejuni at different sampling sites in two Californian turkey processing plants*. J. Food Prot., 46, 868-872.

DEĞİŞİK YÖNTEMLERLE MARİNE EDİLMİŞ KANATLI ETLERİNİN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Haluk ERGEZER

Ramazan GÖKÇE

*Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Çamlık/DENİZLİ
hergezer@pau.edu.tr rgokce@pau.edu.tr*

Özet

Kanatlı endüstrisi ülkemizde ticari potansiyeli oldukça yüksek bir iş koludur. Özellikle son 15 yılda büyük bir gelişme gösteren kanatlı eti sektöründe üretim sürekli ve katlanarak artmasına rağmen tüketim aynı oranda artmamaktadır. Kanatlı etlerindeki tüketimi arttırmanın en etkili yollarından biri katma değerli ve ileri işlenmiş ürünler üretmektir. Bu teknolojilerden biri de marinasyondur. Marinasyon ile daha yumuşak, daha sulu dolayısıyla daha lezzetli ürünler üretilabilmektedir. Bunun yanında marinasyonda kullanılan tuz, organik asitler ve fosfatlar gibi katkı maddelerinin ürünün hijyenik kalitesi üzerine olumlu etkileri de vardır.

Hedeflerinden biri de kanatlı etlerinin mikrobiyolojik kalitesini arttırmak olan marinasyon tekniği, bu çalışmada çeşitli yönlerden incelenmiştir. Çalışmada broiler ve hindi göğüs ve but etleri farklı konsantrasyonlardaki bazik ve asidik karakterli solüsyonlarla tamburlama yöntemi kullanılarak marine edilmiştir. Uygulama grupları toplam aerobik mezofilik bakteri, koliform, salmonella, küf ve maya açısından değerlendirildiğinde asidik marinasyon uygulamasının bazik marinasyon uygulamasından daha etkili olduğu, ancak asidik marinasyonun küf ve maya gelişimini engellemede yetersiz kaldığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler : Kanatlı eti, marinasyon, mikrobiyolojik kriter

Abstract

Poultry industry has a rather high commercial potential in Turkey. Especially last fifteen years poultry industry showed a huge development. In spite of the poultry meat production has been risen continuously, the consumption amount has not been risen at the same rate. One of the efficient ways to increase the consumption of poultry meat is to produce value

added and further processed meat products. "Marination" is one of these techniques. By this technique more tender, juicy and delicious meat products can be produced. Beside these some additives like salt, phosphates and organic acids used in marination have positive effects on the hygienic quality of meat products.

In this research, the marination technique that one of the main targets is to improve microbiological quality of poultry meats was investigated in different ways. Different concentrations of acidic and basic marinades were applied to broiler and turkey breast and leg meats with tumbling technique. It was found that acidic marination was more effective on total aerobic bacteria, coliform bacteria, yeast and mould count according to the basic marination. But acidic marination was inadequate for the prevention of the yeast and mould growth.

1. GİRİŞ

Kanatlı etleri domuz etinden sonra dünya genelinde en fazla tüketilen ikinci et türü olup sektörde en dinamik iş kolunu oluşturmaktadır. Gelişmiş teknolojilerin sektöre adaptasyonu ve ürün yelpazesinin sürekli gelişmesi sektörü olumlu etkilemekte, bu sayede hem kanatlı eti üretimi hem de tüketimi sürekli artış göstermektedir. Ancak tüketimdeki artış üretimdeki artışın gerisinde kalmaktadır. Halen kişi başına kanatlı eti tüketimimiz 12 kg civarında olup, bu tüketim gelişmiş ülkelerin oldukça gerisinde kalmaktadır. Tüketimi arttırmanın en etkili yollarından birisi katma değerli ve ileri işlenmiş ürünler üretmektir. Bu teknolojilerden biri de marinasyondur (2,5).

Çeşitli hayvan etlerinin yumuşatılması, gevrekleştirilmesi, lezzet ve aromasının arttırılması için tuz, fosfatlar, organik asitler, çeşitli baharatlar ve diğer bazı katkı maddeleriyle muamele edilmesine marinasyon denilmektedir. Marinasyonda kullanılan ve içeriğinde tuz, fosfat, organik asitler, baharatlar ve çeşni vericiler bulunan sıvıya da marinat denilmektedir (4,5,11).

Marinasyon işlemi temelde, daldırma (durgun marinasyon), tamburlama ve enjeksiyon olmak üzere üç farklı şekilde yapılmaktadır (6,7,9,10,12).

Marinasyon tekniğiyle katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülen kanatlı etlerinin fiziksel, kimyasal, duysal ve tekstürel özelliklerinde pek çok değişim meydana gelmektedir. Ortaya çıkan bu değişimler kısaca özetlenecek olursa;

- Kas fibrillerinin yumuşaması sonucu daha gevrek ve kolay ığnenebilir ürünler elde edilebilmektedir,
- Kullanılan marinasyon yöntemine bağlı olarak (tamburlama, enjeksiyon) marinatın et içerisine üniform difüzyonu sağlanmakta ve böylece standart son ürünler elde edilebilmektedir,
- Pişirme kayıpları azalmaktadır,
- Son rn rengi ve tekstürü iyileşmektedir,
- Son rn randımanı artmaktadır,
- Lezzet ve aroma gelişmektedir,
- Oksidasyon rnlerinin oluşturduğu lezzet kayıpları önlenmektedir,
- Mikrobiyal gelişmeyi sınırlandırdığı için son ürün raf ömrünü uzatmaktadır,
- rn eitliliği artmaktadır (6,9,12).

Yukarıda belirtildiği üzere marinasyon, uygulanan marinat bileşimine bağlı olarak mikrobiyal gelişmeyi limitleyebilmektedir. Marinasyon tekniğinde bazik karakterli (polifosfatlar) ve asidik karakterli (organik asitler) marinatlar kullanılmaktadır. Hem fosfatlar hem de organik asitlerin mikroorganizmaların gelişmelerini limitleyebilme kabiliyetleri mevcuttur. Bu katkılar antimikrobiyal etkilerini ortam pH'sını ve elektrolit dengesini değiştirerek sağlamaktadırlar.

Bu çalışmada marinasyon tekniğinin kanatlı etlerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Çalışmada özel bir tavuk kesimhanesinde kesilmiş, temizlenmiş, +4 °C'ye soğutulmuş ve olgunlaştırılmış broiler ve hindi etleri kullanılmıştır. Karkasın Çizelge 2.1. 'de belirtilen kısımları taze olarak soğuk zincir altında, analiz günlerinde Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Et Ürünleri Pilot Tesisine transfer edilmiş ve aynı gün içerisinde marinasyonları tamamlanmıştır. Marinatların hazırlanmasında kullanılan sodyumtripolifosfat (STPP) (Sigma Co.), laktik asit (Merck Co.), tuz (NaCl) da gıda sanayi tuzu olarak piyasadan temin edilmiştir.

Çizelge 2.1. Çalışmada Kullanılan Materyallerin Tasnifi

Karkas Çeşidi	Karkas Bölgesi	Bölge Özelliği
Broiler	Göğüs	Kemiksiz ve derisiz
Broiler	Drumstick (Baget)	Kemikli ve derisiz
Hindi	Göğüs	Kemiksiz ve derisiz
Hindi	But	Kemiksiz ve derisiz

2.2. Metot

Çalışmada tarafımızdan modifiye edilmiş 20 cm çapında, 15 cm derinliğinde içerisinde 3 adet şaşırtma levhası bulunan, hız kontrolü yapılabilen, atmosferik basınçta çalışan, sızdırmaz nitelikli, paslanmaz çelikten imal edilmiş tambur kullanılmıştır. Marinasyon işlemi tamburlama yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmada Çizelge 2.2.'de belirtilen farklı formülasyonlarda bazik ve asidik karakterli marinatlar kullanılmıştır.

Marinasyon öncesi, kullanılan parçalarda mevcut deri, kemik ve aşırı yağlı kısımlar uzaklaştırılmıştır (Broiler bagetleri kemiklidir!). Etler tambura alındıktan sonra, tambur içerisine etin ağırlığına eşit şekilde marinat ilavesi yapılmıştır. Marinat ilavesini takiben tamburun kapağı kapatılmış ve 35-40 rpm'de 7 dak tamburlama, 10 dak ara şeklinde 4 tur, atmosferik şartlarda, ürün sıcaklığı, 4 °C'yi geçmeyecek şekilde tamburlama yapılmıştır.

Çalışmada marine edilmiş örnekler vakit kaybetmeden buz tamponu içerisinde mikrobiyoloji laboratuvarına nakledilmiştir. Laboratuara nakledilen örneklerin her birinden aseptik şartlar altında steril Stomacher poşeti (Curafos Co.) içerisine 10 g örnek tartılarak üzerine 90 ml steril fizyolojik su (SFS) ilave edilerek Stomacher içerisinde hızlı devirde 2 dak. süreyle homojenize edilmiş ve SFS kullanılarak 10^{-7} 'ye kadar dilusyonlar hazırlanmıştır (1). Marine edilmiş örnekler 1., 4. ve 7. günlerin sonunda mikrobiyolojik analizlere alınmıştır.

Bütün örneklerde kalitatif Salmonella aranması ile total aerobik mezofilik bakteri (TAMB), psikrotrof bakteri, koliform grubu bakteri, ve maya-küf sayımları gerçekleştirilmiştir(1).

Çizelge 2.2. Çalışmada Kullanılan Materyalin Kodlanması, Marinat Bileşimi ve pH Değerleri

Uygulama Grubu	Kodu	Marinat Bileşimi	Marinat pH Değeri
Bazık/ Broiler Göğüs/ Kontrol	BBGK	Distile su	6.95
Bazık/ Broiler Göğüs/ Uygulama	BBGU	%2 STPP +%2 NaCl	8.97
Bazık/ Broiler But/ Kontrol	BBBK	Distile su	6.95
Bazık/ Broiler But/ Uygulama	BBBU	%2 STPP +%2 NaCl	8.97
Bazık/ Hindi Göğüs/ Kontrol	BHGK	Distile su	6.95
Bazık/ Hindi Göğüs/ Uygulama	BHGU	%2 STPP +%2 NaCl	8.97
Bazık/ Hindi But/ Kontrol	BHBK	Distile su	6.95
Bazık/ Hindi But/ Uygulama	BHBU	%2 STPP +%2 NaCl	8.97
Asidik/ Broiler Göğüs/ Kontrol	ABGK	Distile su	6.95
Asidik/ Broiler Göğüs Uygulama	ABGU	%1 laktik asit +%2 NaCl	2.25
Asidik/ Broiler But/ Kontrol	ABBK	Distile su	6.95
Asidik/ Broiler But/ Uygulama	ABBU	%1 laktik asit +%2 NaCl	2.25
Asidik/ Hindi Göğüs/ Kontrol	AHGK	Distile su	6.95
Asidik/ Hindi Göğüs/ Uygulama	AHGU	%1 laktik asit +%2 NaCl	2.25
Asidik/ Hindi But/ Kontrol	AHBK	Distile su	6.95
Asidik/ Hindi But/ Uygulama	AHBU	%1 laktik asit +%2 NaCl	2.25

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Marinasyon işlemi, marinatın bileşiminde fosfatlar, organik asitler ve tuzun da bulunması nedeniyle son ürünün mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkili olmaktadır. Bu sebeple çalışmada marinasyon işleminin son ürün mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkileri farklı mikroorganizmalar açısından incelenmiş ve sonuçları Çizelge 3.1. ve 3.2.'de verilmiştir. Bütün örneklerde Salmonella varlığı araştırılmış ancak analizler sonucunda Salmonella'ya rastlanılmamıştır.

Çizelge 3.1. incelendiğinde broiler göğüs ve but etlerinin kontrol gruplarında TAMB, psikrotrof bakteri, koliform bakteri ve maya-küf içeriği 1. günden 7. güne doğru hızlı bir ivme ile artış göstermiştir. Bu duruma paralel olarak broiler göğüs ve but etleri uygulama gruplarında da günler ilerledikçe mikroorganizma içeriği artmış, ancak bu artış kontrol grupları gibi hızlı olmamıştır. Gelişmenin yavaş olmasında kür bileşenleri etkili olmuştur. Göğüs ve but etlerinin uygulama grupları karşılaştırıldığında, but etinin başlangıç TAMB değeri ve koliform bakteri sayısı düşük olmasına karşın 7. gün sonunda but etinin mikrobiyolojik verileri göğüs etine nazaran daha yüksek bulunmuştur. Sadece psikrotrof bakteri sayısı göğüs etlerinde daha yüksek bulunmuştur.

Hindi etlerinde de kontrol gruplarında mikroorganizma sayısı marinasyon uygulama gruplarına göre daha hızlı bir artış göstermiştir. Ayrıca tüm mikroorganizma grupları göz önünde bulundurulduğunda göğüs etlerindeki gelişme, but etlerine göre daha hızlı gerçekleşmiştir. Bu durum, göğüs etlerinin nem ve protein içeriklerinin but etlerine göre daha yüksek olmasına ve ayrıca göğüs etlerinin daha gevşek dokulu olmasına bağlanabilir.

Genel olarak mikroorganizma grupları içerisinde en yüksek değerlerin TAMB sayımında alınması beklenirken, BBBU ve BHBU grubu hariç diğer gruplarda psikrotrof bakteri sayısı TAMB sayısından daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, tavuk etlerinin soğuk zincir altında muhafaza edilmesine bağlı olarak ortamda soğuğa dirençli mikroorganizmaların hakim florayı oluşturmalarına bağlanabilir. But etlerinde ise marinat bileşimindeki fosfatların etin bileşimine de bağlı olarak (daha fazla bağ doku protein içeriği) psikrotrof bakteri gelişimini baskıladığı düşünülmektedir.

Çizelge 3.1. Bazik Marinasyonun Mikrobiyolojik Değerlere Etkisi*

BBGK	1.gün	4.gün	7.gün	BHGK	1.gün	4.gün	7.gün
TAMB	6.58	7.75	9.53	TAMB	7.51	8.22	9.44
Psikrotrof	5.25	7.19	9.64	Psikrotrof	5.43	9.53	11.38
Maya-küf	3.12	4.01	4.49	Maya-küf	2.49	2.92	4.16
Koliform	3.60	4.52	6.67	Koliform	4.61	5.04	6.79
BBGU	1.gün	4.gün	7.gün	BHGU	1.gün	4.gün	7.gün
TAMB	6.34	6.99	7.80	TAMB	6.82	7.63	7.82
Psikrotrof	4.27	6.23	8.60	Psikrotrof	4.16	7.34	9.24
Maya-küf	2.33	3.27	3.93	Maya-küf	2.36	2.54	3.63
Koliform	3.06	4.98	6.18	Koliform	3.12	5.01	6.09
BBBK	1.gün	4.gün	7.gün	BHBK	1.gün	4.gün	7.gün
TAMB	5.89	7.62	8.41	TAMB	6.11	7.20	8.27
Psikrotrof	6.35	7.64	9.63	Psikrotrof	5.07	8.49	8.97
Maya-küf	3.39	4.74	4.87	Maya-küf	2.77	3.30	3.96
Koliform	3.39	5.49	7.72	Koliform	3.02	4.38	5.84
BBBU	1.gün	4.gün	7.gün	BHBU	1.gün	4.gün	7.gün
TAMB	5.55	7.03	8.30	TAMB	6.01	6.46	7.80
Psikrotrof	5.13	6.46	7.92	Psikrotrof	4.28	6.13	7.71
Maya-küf	3.57	3.65	4.13	Maya-küf	2.23	2.84	3.69
Koliform	3.00	4.82	6.56	Koliform	2.62	3.93	5.02

* Sonuçlar log₁₀ cfu/g cinsinden verilmiştir TAMB = Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı

Broiler ve hindi etlerinin uygulama grupları birbirleri ile kıyaslandığında 7. gün sonunda göğüs etlerinde TAMB ve psikrotrof bakteri sayısı hindi etlerinde daha yüksek bulunurken maya küf sayısı ile koliform bakteri sayısı ise broiler etlerinde daha yüksek bulunmuştur. Bulgularımızı destekleyen benzer sonuçlar Björkroth (3) tarafından da ortaya konmuştur. But etleri irdelendiğinde ise tüm mikroorganizma gruplarında broiler etlerinin hindi etlerine nazaran daha yüksek mikroorganizma içeriklerine sahip oldukları görülmüştür.

Çizelge 3.2. incelendiğinde broiler göğüs ve but etlerinin kontrol gruplarında mikroorganizma sayısı 1. günden 7. güne doğru hızlı bir artış göstermiştir. Uygulama gruplarında ise kontrol gruplarına göre artış maya-küf sayısı hariç oldukça düşük düzeyde kalmıştır. Asit uygulaması bakteriyel gelişimi limitlerken ortam pH değerinin düşmesi nedeniyle maya küf gelişimini teşvik etmiştir. Göğüs uygulama grubunda TAMB

sayısında 7. gün sonunda 1. güne göre $\log_{10}$ cfu/g 5.38'den 5.03'e bir gerileme gözlenmiş, psikrotrof bakteri sayısı ile maya-küf sayısında da yalnızca 1 logaritmik birimlik artış gözlenmiştir. Göğüs ve but etlerinin uygulama grupları kıyaslandığında ise TAMB, psikrotrof bakteri ve maya-küf sayısı but etlerinde yüksek bulunmuş, koliform grubu bakteri sayısı ise göğüs etlerinde yüksek bulunmuştur.

Hindi etlerinin uygulama gruplarında da mikroorganizma sayıları maya-küf sayısı hariç kontrol gruplarına nazaran daha düşük bulunmuştur. But uygulama grubunun TAMB ve psikrotrof bakteri sayısı göğüs uygulama grubuna göre daha yüksek bulunurken, maya-küf ve koliform grubu bakteri sayısı göğüs etlerinde daha yüksek bulunmuştur.

Broiler ve hindi etlerinin göğüs uygulama grupları kıyaslandığında 1. gün sonuçlarına göre tüm değerlerde hindi göğüs etleri daha iyi durumdayken ise 7. gün sonunda ise broiler göğüs etleri daha iyi durumda bulunmuştur. Bu durum hindi göğüs etlerine marinattan bir bulaşma olabileceğini düşündürmektedir.

Marinasyonun ürünün mikrobiyolojik kalitesi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada farklı sıcaklıklardaki (1.7, 10 ve 18°C) marinatlarda marine edilen broiler etlerinin TAMB içeriği belirlenmiş ve çalışma sonunda marinat sıcaklığının ve marinasyon sonrası bekleme süresinin artmasına bağlı olarak TAMB sayısının hızla arttığı belirlenmiştir (8).

Gerçekleştirilen diğer bir çalışmada asidik karakterli marinatlarla marine edilen broiler but etlerinin 2. gün sonundaki laktik asit bakterileri, TAMB ve koliform grubu bakteri sayısı sırasıyla 3.113 $\log_{10}$ cfu/g, 3.991 $\log_{10}$ cfu/g ve 2.414 $\log_{10}$ cfu/g olarak saptanırken aynı değerler 17. gün sonunda 9.146 $\log_{10}$ cfu/g, 9.041 $\log_{10}$ cfu/g ve 7.591 $\log_{10}$ cfu/g olarak tespit edilmiş ve ürün tamamen bozulmuştur (3). Belirtilen çalışmada elde edilen bulgular ile çalışmamızda elde edilen bulgular başlangıç mikroorganizma yükü açısından benzerlik göstermese de günler ilerledikçe mikroorganizma sayısındaki artışlar çalışmamız ile paralellik arzetmiştir. Başlangıç mikroorganizma yüklerinin farklılığı ülkemizdeki kesim salonlarının hijyenik yetersizliklerden kaynaklanmış olabilir.

Çizelge 3.2. Asidik Marinasyonun Mikrobiyolojik Değerlere Etkisi*

ABGK	1.gün	4.gün	7.gün	AHGK	1.gün	4.gün	7.gün
TAMB	6.85	7.46	8.57	TAMB	5.89	7.79	8.61
Psikrotrof	5.04	7.20	8.20	Psikrotrof	5.86	6.86	8.42
Maya küf	3.09	3.60	3.77	Maya küf	3.27	4.77	4.69
Koliform	4.10	5.15	7.37	Koliform	3.14	5.45	6.60
ABGU	1.gün	4.gün	7.gün	AHGU	1.gün	4.gün	7.gün
TAMB	5.38	4.85	5.03	TAMB	4.27	5.72	6.08
Psikrotrof	4.23	4.36	5.27	Psikrotrof	3.43	5.77	6.08
Maya küf	3.24	3.13	4.29	Maya küf	2.30	5.39	6.34
Koliform	2.67	2.81	4.22	Koliform	2.57	3.09	5.42
ABBK	1.gün	4.gün	7.gün	AHBK	1.gün	4.gün	7.gün
TAMB	6.01	6.78	8.61	TAMB	5.25	7.08	8.21
Psikrotrof	4.71	7.39	8.75	Psikrotrof	5.27	7.19	8.66
Maya küf	2.54	3.30	3.55	Maya küf	3.31	4.12	3.63
Koliform	2.63	5.71	6.13	Koliform	4.46	5.39	6.73
ABBU	1.gün	4.gün	7.gün	AHBU	1.gün	4.gün	7.gün
TAMB	5.39	5.30	6.23	TAMB	6.21	7.04	7.35
Psikrotrof	2.57	3.65	5.72	Psikrotrof	4.46	5.60	6.17
Maya küf	2.10	4.11	5.43	Maya küf	3.77	5.51	5.16
Koliform	1.07	1.47	2.81	Koliform	2.99	4.33	5.32

* Sonuçlar log₁₀ cfu/g cinsinden verilmiştir. TAMB = Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı

4. SONUÇ

Elde edilen sonuçlara göre bazik marinasyonda temel olarak uygulama gruplarının kontrol gruplarına göre daha düşük seviyede gelişme göstermesi fosfatların az da olsa antimikrobiyal etkilerine bağlanabilir. Ancak antimikrobiyal etki beklenen düzeyde gerçekleşmemiş ve ürünün raf ömrü üzerine olumlu önemli bir etkisi saptanamamıştır. Çalışma esnasında etler buzdolabında 4°C'de muhafaza edilmiş ve etlerdeki değişimler görsel olarak da takip edilmiştir. Buna göre 4. günün sonuna kadar uygulama gruplarında kokuda herhangi bir değişim gözlenmemişken yüzeyde hafif bir mukoz tabaka oluşmaya başlamıştır. Ancak 4. günden sonra etler kokuşmaya, viskoz tabaka kalınlaşmaya ve renk de grileşmeye başlamış, 7. gün sonunda ise ürün tamamen tüketilemez hale gelmiştir. Kontrol grupları ise 4. günün sonunda tamamen bozulmuştur.

Asidik marinasyon uygulaması maya-küf gelişimi hariç diğer mikroorganizma grupları üzerine oldukça etkili olmuştur. Bu uygulamadaki en büyük dezavantaj yumuşak dokulu göğüs etlerinin asitlerin tahriş edici etkileri sonucu doku bütünlüğünün kısmen bozulması ve renk ağarması olduğu belirlenmiştir.

Asidik ve bazik marinasyon uygulama gruplarının mikroorganizma içerikleri değerlendirildiğinde asidik marinasyon uygulaması bazik marinasyon uygulamasından daha etkili bulunmuştur. Laktik asit, özellikle koliformlar üzerine oldukça etkili olmuştur. Asidik marinasyon uygulaması mikrobiyal gelişimin limitlenmesi üzerine oldukça etkin bir yöntem olarak düşünülmesine rağmen bu konudaki en büyük sorun asit uygulamasının maya küf gelişimini teşvik etmesidir. Bazik marinasyon uygulaması ise tek başına mikrobiyal gelişimin limitlenmesi için yeterli olmamakta ve gelişimin engellenebilmesi için ilave tedbirlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmada kullanılan tamburlama yönteminin mekanik etkisi sonucu, et dokusunda mikrobiyal gelişimlere karşı doğal bir bariyer görevi gören perimisyum ve endomisyum zarlarının yapısı bozulduğundan son ürünler mikrobiyal bozulmalara karşı hassasiyet kazanmaktadır. Ancak marinat bileşimindeki mevcut katkı maddeleri nedeniyle ürünün mikrobiyolojik kalitesi üzerine olumsuz etkileri olduğu düşünülen tamburlamanın etkileri kısmen bertaraf edilmiştir. Bazik marinasyon uygulaması mikrobiyolojik gelişimi belirli ölçüde limitlemesine rağmen, asidik marinasyon uygulaması mikrobiyolojik kalitenin korunmasında daha etkin rol oynamıştır. Mikrobiyolojik kalitenin korunmasında hammadde başlangıç mikroorganizma konsantrasyonu, kullanılan marinatın steril olup olmadığı, çalışma ortamının hijyenik kalitesi ve sıcaklığı, kullanılan alet-ekipmanların temizliği de oldukça önemli parametreler olup, marine edilen ürünlerin mikrobiyolojik kalitesinin bu parametreler dahilinde hangi yönde değiştiği ayrı bir çalışma konusu olarak düşünülmelidir.

5. KAYNAKLAR

- American Public Health Association, Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods, APHA, Inc., Washington, DC., 1976.
- Bilgili, S. F., Poultry Products and Processing Worldwide, 54th. Annual Reciprocal Meat Conference, Indianapolis, 6pp, 2001.
- Björkroth, J., Microbiological Ecology of Marinated Meat Products, Meat Science, 70, 3, 477-480, 2005.
- Brandt, L. A., Marinades' Meat'Challenges, Prepared Foods, June, 28-32, 2001.
- Ergezer, H. ve Gökçe, R., Kanatlı Etlerinin Marinasyon Tekniği ile İşlenmesi, PAÜ Mühendislik Bilimleri Dergisi, 10(2), 227-233, 2004.
- Lemos, A. L. S. C., Nunes, D. R. M. and Viana, A. G., Optimization of Still Marinating Process of Chicken Parts, Meat Science, 52, 227-234, 1999.
- Parks, S. S., Reynolds, A. E. and Wicker, L., Aqueous Apple Flavoring in Breast Muscle Has Physical, Chemical and Sensory Properties Similar to Those Phosphate Marinated Controls, Poultry Science. 79., 1183-1188, 2000.
- Post, R. C. and Heath, J. L., Marinating Broiler Parts: The Use of a Viscous Type Marinade, Poultry Science. 62, 977-984, 1983.
- Smith, D. P., Marination; Tender to the Bottom Line, Broiler Industry. 62(6), 24-27, 1999.
- Smith, D. P. and Acton, J.C., Marination, Cooking and Curing of Poultry Products, Chapter 15 in Poultry Meat Processing, Sams, A. R. Ed. CRC Pres, Boca Raton F. L., 257-279, 2001.
- Tan, F. J., Microbiological, Physical and Sensory Characteristics of Marinated Chicken Drumsticks Treated With Nisin, Thermal Treatment, Tumbling and the Lactoperoxidase System, Dissertation, The Ohio State University, 261p., 2002.
- Xargayo, M., Lagares, J., Fernandez, E., Ruiz, D. and Borell, D., Marination of Fresh Meat by Means of Spray Effect: Influence of Spray Injection on the Quality of Marinated Products, Fleischwirtschaft. 81 (2), 93-98, 2001.

**SALMONELLA İLE KONTAMİNE EDİLMİŞ TAVUK KARKASLARINDA
LAKTİK ASİT, CETYLPYRİDİNİUM KLORİD, TRİSODYUM FOSFAT' IN
VE TWEEN 20 İLE KOMBİNASYONLARININ ANTİBAKTERİYEL
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

ALİ ARSLAN
PINAR ÖZDEMİR

HALİL YALÇIN *
IŞIL AYDIN

ABDULLAH DİKİCİ
MEHMET ÇALICIOĞLU

*Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Ababilim Dalı,
23119 ELAZIĞ-TÜRKİYE*

* yalcinhalil@gmail.com, halilyalcin@yahoo.com

Özet

Bu çalışmada, broiler karkaslarında laktik asit (%1 ve 2), cetyl pyridinium chlorid (% 0,5 ve 1), trisodium phosphate (% 8) ve bunların tween 20 (%0,5) ile kombinasyonlarının *Salmonella* üzerine etkisi incelendi. Toplam 110 broiler karkası kullanıldı. Broiler karkasları, yüzey sürme yöntemi ile yıkama suyu yaklaşık 7 log₁₀ kob/ml *Salmonella* içerecek şekilde kontamine edildi. Dekontaminasyon işlemi, 20 °C'deki dekontaminasyon solüsyonlarında karkasların 15 dakika bekletilmesiyle yapıldı. Kontrol grubu olarak su kullanıldı. Dekontaminasyon işleminden sonra karkas, 400 ml tamponlanmış peptonlu suda 2 dakika çalkalanıp, seri dilüsyonları hazırlandı ve XLD agara yayma plak yöntemi ile ekimi yapıldı ve 35 °C' de 24 saat inkube edilip sayıldı. Dekontaminasyon uygulamaları sonucunda %1 laktik asit(LA) hariç diğer gruplarda *Salmonella* önemli derecede ($p > 0.05$) azaldı. Sırasıyla, %1 ve 2 LA'da 1.02 ve 2.96, %0.5 ve 1 cetyl pyridinium chloridde (CPC) 3.83 ve 5.28, %8 trisodium phosphate (TSP) uygulamasında ise 5.02 log azalma görüldü. Tween 20 (%0.5) ile kombine edilen gruplarda ise %1 ve 2 LA' da 1.49 ve 2.28 , %0.5 ve 1 CPC' de 3.45, 5.03 ve % 8 TSP' de ise 4.98 log düşüş sağlandı.

Sonuç olarak, dekontaminasyon amacıyla kullanılan LA, CPC ve TSP'den *Salmonella* üzerine inhibitör etkisi en yüksek olanın % 1 CPC olduğu saptandı. Ayrıca tween 20'nin LA, CPC ve TSP ile kombinasyonlarının, sıcak karkaslarda *Salmonella* üzerine bu maddelerin etkinliğini arttırmadığı belirlendi.

Abstract

THE INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL EFFECTS OF LACTIC ACID, CETYLPYRIDINIUM CHLORID, TRISODIUM PHOSPHATE COMBINED WITH TWEEN 20 IN CHICKEN CARCASSES CONTAMINATED WITH *SALMONELLA*

The present study was undertaken to investigate the effects of lactic acid (1% or 2%) cetylpyridinium chlorid (0.5% or 1%), trisodium phosphate (8%) combined with tween 20 (0.5%) in chicken carcasses contaminated with *Salmonella* in broiler carcasses. A total of 110 broiler carcasses were used.

Broiler carcasses were inoculated with *Salmonella* by surface-smearing as the inoculation level would be $7.0 \log_{10}$ cfu/ml in the rinsing solution. Decontamination was carried out by immersing the carcasses into treatment solutions at 20°C for 15 min. Water was used as control group. Following the decontamination process, carcasses were shake-rinsed in 400 ml buffered peptone water for 2 min. Serial decimal dilutions of the rinsing fluid were made and surface-plated on to XLD agar prior to incubation at 35°C for 24 h. Results indicated that the numbers of *Salmonella* were significantly ($p < 0.05$) reduced in other treatment groups, except 1% lactic acid (LA). The log reductions were 1.02 and 2.96 for 1% and 2% LA, 3.83 and 5.28 for 0.5% and 1.0% cetylpyridinium chlorid (CPC), and 5.02 for 8% trisodium phosphate (TSP), respectively. The log reductions in groups combined with 0.5% tween 20 were 1.49 and 2.28 for 1% and 2% LA, 3.45 and 5.03 for 0.5% and 1.0% CPC, and 4.98 for 8% TSP, respectively.

As a result, among LA, CPC and TSP used for decontamination, highest inhibitor effect on salmonella was determined in 1% CPC. Also, combination with tween 20 of LA, CPC and TSP did not increase the effect of those antibacterial substances in hot carcasses.

GİRİŞ

Salmonella insan sağıını tehdit eden önemli gıda patojenlerinden biridir. Amerika'da 1.400.000 salmonellozis vakasından 16.000 hasta hastanelerde tedavi edildiğı, bu hastalardan 600 tanesinin öldüğü ve vakaların %95'inin gıda kaynaklı olduğı belirtilmiştir (15). Tavuklar kesim hattına alındıktan itibaren direk ve indirek yolla patojenlerle kontamine olabilmektedir. Tavuk karkası kesim, tüy ıslatma, tüy yolma, iç açma, iç organların çıkarılması, soğutma, parçalama ve ambalajlama işlemleri sırasında ayrıca personel, su, alet-ekipman ile de kontamine olabilmektedir (6,13,24). *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* ve *Bacillus cereus* kanatlı ürünleri ile bulaşan gıda patojenleridir (9,22). Kanatlı etinin derisi ile işlenmesi ve derinin mikrobiyal yükünün fazla olmasından dolayı gıda kaynaklı hastalıkların en muhtemel kaynağı olduğunu düşündürmektedir (12). Karkastaki patojen sayısını kabul edilebilir seviyelere düşürmek için birçok dekontaminasyon yöntemi ve maddesi kullanılmaktadır (7,19). Laktik asit (LA) kanatlı ve sığır karkaslarında mikrobiyolojik dekontaminasyon amacıyla kullanılan (%1-3 v/v), genel olarak Gram (-) patojenlerde 1-3 log₁₀ kob/cm² azalma sağılayan bir organik asittir (14,16). Kanatlı karkasının kesim hattının sonunda hemen % 1-2 laktik asit solüsyonuna daldırılması ile renk ve koku gibi duysal özelliklerinde herhangi bir değışiklik olmaksızın bakteri sayısının azaltılabileceğı belirtilmiştir (18,20). USDA-FSIS tarafından onaylanmış bir karkas dekontaminantı olan trisodyum fosfatın (TSP) % 8-12'lik (pH 11.5) konsantrasyonlarının kullanılması ile etkili bir karkas dekontaminasyonu sağılandığı belirtilmiştir (11). Capita ve ark. %8-12'lik trisodyum fosfatın kanatlı etinin duysal özelliklerinde herhangi bir değışime neden olmadığını belirtmişlerdir (17). USDA-FDA, Cetylpyridinium Chloridin (CPC) karkas dekontaminasyonunda kullanılmasını uygun bulmuştur (4). CPC mikroorganizmaların sitoplazmik zar işlevlerini bozar, proteinlerini denature eder ve enzim aktivitelerini bozar (3). Karkas dekontaminasyonunda antibakteriyel maddelerin etkinliğini arttırmak için bazı surfektan maddeler de kullanılabilir. Bu amaçla bir noniyonik sürfektan olan tween 20 de kullanılmaktadır (10). Bu çalışmada, karkas dekontaminasyonunda kullanılan CPC, LA ve TSP'nin ve

bunların noniyonik sürfektan olan tween 20 ile kombinasyonlarının 20 °C'de *Salmonella* zerine etkisi incelendi.

GEREÇ ve YÖNTEM

Gereç : Elazığ'da ticari bir tavuk kesimhanesinde kesilen, dekontaminasyon tankına girmemiş ve kesimi takiben 20 dakika içinde laboratuvara getirilen, yaklaşık 1-1.2 kg ağırlığında broiler karkasları kullanıldı. Karkaslar laboratuvara getirildikten en geç 10 dakika içerisinde işleme alındı. Her grupta 10 karkas olmak üzere toplam 110 karkas incelendi.

Yöntem

İnokulumun hazırlanması: Refik Saydam Hıfzı Sıhha Enstitüsü kültür koleksiyonundan elde edilen *Salmonella enteritidis* (RSKK 96046, RSKK 91, RSKK 92) ve *Salmonella* Typhimurium (RSKK 1017, ATCC 14028) kullanıldı. Stoktan alınan *Salmonella* suşları 10 ml'lik Tryptic Soy Brothda 35 °C de 24 saat inkübe edildi. Sonra santrifüjle (10000-12000 rpm) supernatant uzaklaştırılıp peletler steril fizyolojik su ile yıkanarak tekrar santrifüj edildi, daha sonra tüm peletler 0.1% peptonlu suda birleştirildi ve toplam 10 ml'ye tamamlandı. Kontaminasyon kabına boşaltıldıktan sonra üzerine 300 ml steril %0.1 peptonlu su eklenerek $10^7 - 10^8$ kob/ml yoğunluğu sağlandı.

Dekontaminasyon Solüsyonunun Hazırlanması: Dekontaminasyon solüsyonunun hazırlanmasında şebeke suyu kullanıldı. Serbest klor miktarı lavibond komperatr ile incelendikten sonra klor seviyesi 0,3 ppm' in altında olan sular kullanıldı. Tarım Bakanlığı kanatlı eti yönetmeliğinde önerilen (1 kg'a 1 lt) soğutma suyu miktarı göz önüne alınarak dekontaminasyon solüsyonunu hazırlandı (5) ve sıcaklığı 20 °C'ye ayarlandı. Dekontaminasyon amacıyla LA (%1 ve 2) (Carlo Erba, Fransa), CPC (% 0,5 ve 1) (Sigma, Almanya) , TSP (% 8) (Merck, Almanya) ve bunların %0.5 tween 20 (Merck, Almanya) ile karışımları kullanıldı. Solüsyonlar kullanılmadan önce pH' sı (EDT GP 353) lld. Her deneyden sonra dekontaminasyon sıvısındaki kalan patojen bakteri sayımı yapıldı.

Karkas Kontaminasyonu: Kontaminasyon solüsyonu steril fırça ile sıcak karkasların yüzeyine fırça ile sürülerek kontaminasyon sağlandı. Kontamine edilmiş karkası yıkamada kullanılan peptonlu suyun ml'sinde 10^{6-7} kob bakteri olacak şekilde karkas konaminasyonu hedeflendi. Karkasın tüm bölgeleri kontamine edildikten sonra 2 dakika beklenerek patojenin yüzeye tutunması sağlandı. Bu işleminden sonra karkaslar 20°C 'deki dekontaminasyon tankında (10 lt) 15 dakika bekletildi ve işlem sonunda karkaslar 1 dk. askıda bekletilerek suyu süzdürüldü. Karkas steril poşete konulup 400 ml peptonlu su eklenerek (21) 2 dk. manuel olarak çalkalandı. Çalkalama suyundan 1 ml alınarak, $1/10^{\circ}$ luk düzende $1/10^8$ 'e kadar seyreltilip, her dilüsyondan çift seri halinde XLD plaklarına 0.1 ml yüzey yayma yöntemi ile ekimler yapıldı ve 35°C de 24 saat inkübe edildi. Süre sonunda tipik kolonilerin (siyah renkli koloniler) sayımı yapıldı ve her petriden 5 tipik koloni alınarak *Salmonella* O antijenine spesifik latex aglütinasyon kitleri ile doğrulandı. Deneyde kullanılan tavuk karkaslarında yüksek seviyede inokulum kullanıldığından dolayı, deney öncesi *Salmonella* varlığı yönünden kontrol edilmedi.

İstatistiksel Analiz: Log_{10} kob/ml'ye çevrilen veriler "test grupları x her test grubundan alınan örnek sayısı" olacak şekilde faktöryel dizayna uygun olarak sabit etkiler ve değişkenler arası interaksiyonlar yönünden varians analizine (ANOVA) 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. İstatistiksel analizler için Statistical Analysis Sytem (SAS) programı kullanıldı.

BULGULAR

LA, CPC ve TSP'nin *Salmonella* üzerine tavuk karkaslarındaki etkisi Tablo 1'de, kontaminasyon solüsyonundaki patojen sayısı, dekontaminasyon tankındaki solüsyonun pH'sı ve dekontaminasyondan sonra solüsyondaki bakteri sayısı Tablo-2'de verildi.

Kontaminasyon ile sıcak karkaslar 7 log seviyesinde *Salmonella* ile kontamine edildi. Tüm gruplarda *Salmonella* sayısı tespit edilir seviyenin altına düşmedi. Dekontaminasyon uygulamaları sonucunda %1 LA ve kontrol grupları haricinde tüm gruplarda *Salmonella* önemli derecede ($p > 0.05$) azaldı. Sırasıyla %1 ve 2 LA uygulamasında 1.02 ve 2.96 , %0.5 ve 1 CPC uygulamasında 3.83 ve 5.28, %8 TSP uygulamasında ise 5.02 log azalma görüldü. Tween 20 (%0.5) ile kombine edilen gruplarda ise %1 ve 2 LA' da 1.49 ve 2.28 , %0.5 ve 1 CPC' de 3.45 ve 5.03, % 8 TSP' de ise 4.98 log azalma sağlandı (20 °C). Dekontaminasyonda en etkili olanlar, sırasıyla %1 CPC, %8 TSP, %0.5 CPC, %2 LA ve %1 LA bulundu. Dekontaminasyon işlemi sonrası tankta bulunan kirli sıvıdan alınan örneklerde LA, TSP'nin ve bunların tween 20'li grupları dahil olmak üzere *Salmonella* sayısı tespit edilebilir seviyenin altında saptandı (<0.9 log). Bu sonuç dekontaminasyon sıvılarının LA içeren gruplarda düşük (pH 1.89), TSP'li gruplarda ise yüksek pH (pH 12.9) ile açıklanabilir. Ancak CPC içeren gruplarda pH nötre yakın (pH 7.65) olduğundan dolayı dekontaminasyon sıvısında ortalama 2.28 log *Salmonella* tespit edildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sakhare ve ark.ları laktik asidin kanatlı kesiminin her aşamasında bakteri sayısını azaltmada suyun tek başına uygulanmasından daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (18). Organik asitlerin antimikrobiyel etkinliği bakterinin suşu ve uygulama ısısına bağlı olduğu belirtilmiştir (1,2) Bu çalışmada karkaslar laktik asidin %1 ve 2'lik konsantrasyonlarına 20 °C tabi tutularak yaklaşık 1.02-2.96 log azalma sağlandı. Whyte ve arkadaşları, kanatlı boyun derisini % 10 TSP (20°C) içerisinde 15 saniye bekletmişler ve *Salmonella* sayısını 1.04-1.92 log₁₀/g azaltmışlardır (23). Çalışmamızda ise 4.98-5.02 log azalma sağlandı. Farklılık dekontaminasyon solusyonundaki bekletme süresinde kaynaklanabilir. Breen ve arkadaşları, kanatlı derisinde *Salmonella* Typhimurium' da 4 mg/ml konsantrasyonunda kullandıkları CPC ile 3 dakikada 4.87 log, 8 mg/ml CPC ile 10 dakikada 4.9 log'luk azalma tespit etmişlerdir (24). Bu çalışmada % 0.5 ve 1 CPC'nin 15 dk uygulanması sonucu sırasıyla 3.83 ve 5.28 log azalma saptandı. Bu durumun süre, konsantrasyon ve materyal farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızda tween 20'nin sıcak karkaslarda

dekontaminasyon amacıyla kullanılan kimyasalların etkisini arttırmadığı saptandı. Ancak soğuk sığır karkaslarında yapılan bir çalışmada laktik asitle kombine kullanılan tween 20'nin laktik asidin antibakteriyel etkisini arttırdığı bildirilmiştir (10). Bunun sebebi olarak kullanılan karkasların farklı ısı derecesi olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, dekontaminasyon amacıyla kullanılan LA, CPC ve TSP' den *Salmonella* üzerine inhibitör etkisi en yüksek olanın % 1 CPC olduğu saptandı. Ayrıca tween 20'nin LA, CPC ve TSP ile kombinasyonlarının, sıcak karkaslarda *Salmonella* üzerine bu maddelerin etkinliğini arttırmadığı tespit edildi. Tavuk karkasları *Salmonella* açısından önemli bir risk teşkil etmektedir. Bu riski azaltmak için dekontaminasyon amacıyla kanatlı kesimhanelerinde LA, TSP ve CPC'nin soğutma suyunda dekontaminasyon amacıyla kullanılması önerilebilir.

Tablo 1: *Salmonella* ile kontamine edilmiş tavuk karkaslarına LA, CPC ve TSP'nin etkisi (log₁₀ kob/ml, n:10).

Tween 20	LA			CPC			TSP		Kontrol	
	DÖ	%1	%2	DÖ	%0.5	%1	DÖ	%8	DÖ	Su
Tween	7.60 ^{Az}	6.58 ^{Az}	4.64 ^{Bz}	7.53 ^{Az}	3.70 ^{Bz}	2.25 ^{Cz}	7.63 ^{Az}	2.61 ^{Bz}	7.20 ^A	7.03 ^A
Tween +	7.41 ^{Az}	5.92 ^{ABz}	5.13 ^{Bz}	7.77 ^{Az}	4.32 ^{Bz}	2.74 ^{Cz}	7.57 ^{Az}	2.59 ^{Bz}	TE	TE

ABCD: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05)

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

DÖ: Dekontaminasyon öncesi

TE: Test Edilmedi

Tablo 2. Kontaminasyon solüsyonu ve dekontaminasyon işlemi sonunda sıvıda bulunan *Salmonella* sayısı ($\log_{10}$ kob/ml) ve dekontaminasyon sıvısının pH'sı

Gruplar	Kontaminasyon solüsyonunun <i>Salmonella</i> sayısı ($\log_{10}$ kob/ml)	Dekontaminasyon solüsyonunun <i>Salmonella</i> sayısı ($\log_{10}$ kob/ml)	Dekontaminasyon solüsyonunun pH'sı
%1 LA	9.15	<0.9	2.15
%1 LA+%0.5 Tween 20	8.91	<0.9	1.95
%2 LA	8.78	<0.9	1.73
%2 LA+%0.5 Tween 20	8.74	<0.9	1.75
%0.5 CPC	9.18	2	7.7
%0.5 CPC + %0.5 Tween 20	9.12	3.41	7.65
%1 CPC	9.07	2.34	7.65
%1 CPC + %0.5 Tween 20	9.08	1.4	7.63
%8 TSP	9.07	<0.9	12.9
%8 TSP + %0.5 Tween 20	9.05	<0.9	12.9
Kontrol	9.04	6.68	7.01

KAYNAKLAR

- 1- Anderson, M. E., Marshall, R. T. (1989). Interaction of concentration and temperature of acetic acid solution on reduction of various species of microorganisms on beef samples. *Journal of Food Protection*, 52, 312-315.
- 2- Anderson, M. E., Marshall, R. T. (1990). Reducing microbial population on beef tissues: Concentration and Temperature of Lactic Acid. *Journal of Food Safety*, 10, 181-190.
- 3- Anonim (2006). Gastroenteroloji. Erişim: (<http://www.guncel.tgv.org.tr/text.php>) Erişim tarihi: 13.05.2006
- 4- Anonim (2006). Amerika Gıda Ve İlaç Dairesi. Erişim: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=173&showF> R=1. Erişim Tarihi: 22.05.2006
- 5- Anonim. (2006). T.C Tarım Bakanlığı. Erişim: www.tarim.gov.tr. Erişim Tarihi: 22.01.2006
- 6- Arslan, A. (2002). Et Muayenesi Ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres Matbaacılık, Malatya
- 7- Bolter, N.M. (1997). Decontamination of meat and poultry carcasses. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 221-227.
- 8- Breen, P.J., Salari, H., Compadre, C.M. (1997). Elimination of *Salmonella* contamination from poultry tissues by cetylpyridinium chloride solutions. *Journal of Food Protection*, 60(9), 1019-1021.
- 9- Bremner, A., Johnston (1996). Food poisoning associated with poultry meat. *Poultry meat hygiene and inspection*. Cambridge: Cambridge University Press.
- 10- Calicioglu, M., Kaspar, C.W., Buege, D.R., Luchansky, J.B. (2002). Effectiveness of spraying with tween 20 and lactic acid in decontaminating inoculated *Escherichia coli* O157:H7 and indigenous *Escherichia coli* biotype 1 on beef. *J Food Prot.* 65(1):26-32
- 11- Food Safety and Inspection Service (1992). FSIS permits trisodium phosphate in poultry plants. Food Safety and Inspection Service Background Document, October
- 12- James, W.O., Prucha, J.C., Brewer, R.L., Williams Jr., W.O., Christensen, W.A., Thaler, A.M., Hogue, A.T. (1992). Effects of countercurrent scalding and postscald spray on the bacteriologic profile of raw chicken carcasses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201, 705-708.
- 13- Kanatlı Et-Gie Yayınları (2001). Kanatlı Etleri Ve Gıda Güvenliği. Bey Ofset Ankara
- 14- Kolsarici, N., Candogan, K. (1995). The effects of potassium sorbate and lactic acid on the shelf-life of vacuum-packed chicken meats. *Poult. Sci.* 74, 1884-1893.
- 15- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., Mccarg, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M., Tauxe, R.V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 607-25.

- 16- Nassar, T.J., al-Mashhadi, A.S., Fawal, A.K., Shalhat, A.F., (1997). Decontamination of chicken carcasses artificially contaminated with *Salmonella*. Rev. Sci. Tech. 16, 891-897.
- 17- Rosa, C. Carlos A.-C., Marisa S., Benito M., Maria del Camino G.-F. (2000). Effect of trisodium phosphate solutions washing on the sensory evaluation of poultry meat. Meat Science 55, 471-474.
- 18- Sakhare, P.Z., Sachindra N.M., Yashoda, K.P., Narasimha Rao, D. (1999). Efficacy of intermittent decontamination treatment during processing in reducing the microbial load on broiler chicken carcass. Food Control 10, 189-194.
- 19- Sofos, J.N., Smith, G.C. (1998). Nonacid meat decontamination technologies: Model studies and commercial applications. Int. J. of Food Mic. 44, 171-188.
- 20- Terra, N.N. (1993). Organic acids in the conservation of refrigerated poultry carcasses in proceeding of the 39th Int. Conf. On Meat Science and Technology (Calgary, Canada).
- 21- United States Department of Agriculture-Food Safety and Inspection Service-Office of Public Health and Science. (2002). Isolation And Identification Of *Salmonella* From Meat, Poultry And Egg Products. Rev:02.
- 22- Waldroup, A. L. (1996). Contamination of raw poultry with pathogens. World Poult. Sci. J., 52, 7-25, 84, 87, 90, 93.
- 23- Whyte, P., Collins, J.D., McGill, K., Monahan, C., O'Mahony, H. (2001). Quantitative investigation of the effects of chemical decontamination procedures on the microbiological status of broiler carcasses during processing. J Food Prot. 64(2):179-83.
- 24- Whyte, P., McGill, K., Collins, J.D. (2002). An assesment of steam pasteuration and hot water immersion treatments for the microbiological decontamination of broiler carcasses. Food Mic. 20, 111-117.

THE PRESENCE OF BSE SPECIFIED RISK MATERIALS IN MEAT PRODUCTS SOLD IN ISTANBUL

Bülent NAZLI Hilal ÇOLAK Hamparsun HAMPIKYAN Enver Barış BİNGÖL

*İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Abd., Avcılar
Kampüsü, 34320, Avcılar, İstanbul*

Summary

Bovine spongiform encephalopathy (BSE) is a chronic, degenerative and deadly disease of cattle which effects the central nervous system (CNS) tissues. This study was conducted to determine the presence of some risky tissues and organs which are classified as specified risk materials (SRM) in meat and meat products which consumed frequently in our country. In this study, a total of 300 samples were analyzed and the risk materials were detected in 3 of 75 in minced meat samples (4%), 9 of 75 in meat ball samples (12%), 4 of 50 in fermented sausage (8%), 5 of 50 in salami (10%) and 7 of 50 in sausage (14%) samples. These results showed us that, the contamination of SRM to meat and meat products can occur during the production and processing steps. Due to this it is concluded that, for preventing the contamination of SRM to meat and meat products, more effective control measurements need to be developed and applied in slaughterhouses and in meat processing plants.

Özet

İSTANBUL'DA SATIŞA SUNULAN ET VE ET ÜRÜNLERİNDE BSE YÖNÜNDEN RİSK MATERYALLERİNİN VARLIĞI

Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) sığırlarda görülen ve merkezi sinir sistemini etkileyen, yavaş ilerleyen, dejeneratif, kronik ve ölümcül bir hastalıktır. Bu çalışma, ülkemizde yüksek tüketim oranına sahip et ve et ürünlerinde BSE açısından riskli materyal olarak adlandırılan organ ve dokuların mevcudiyetini araştırmak ve riskli ürünleri tespit etmek amacıyla yapıldı. Analiz edilen toplam 300 örnekten 75 adet kıyma örneğinin 3 adedi (%4), 75 adet köfte örneğinin 9 adedi (%12), 50'şer adet sucuk, salam ve sosis örneğinin ise sırasıyla 4 (%8), 5 (%10) ve 7 adedi (%14) riskli materyal içermesi bakımından pozitif bulundu. Elde edilen bulgular açısından riskli materyallerin et ve et ürünlerine, üretim basamaklarının herhangi bir aşamasında bulaştığı ve bu bulaşmalardan korunmak için mezbahalarımızda ve et üretim tesislerimizde gereken önlemlerin alınması gerektiği sonucuna varıldı.

GİRİŞ

Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) sığırlarda görülen ve merkezi sinir sistemini etkileyen, yavaş ilerleyen, dejeneratif, kronik, ölümcül bir hastalıktır (8, 12, 23). Hastalığın etkeni tam olarak bilinmemekle beraber, şu anda kabul edilen teoriye göre etken prion protein olarak bilinen modifiye olmuş normal hücre yüzeyi komponentidir (8, 23, 26). Hastalık yapan prionlar ilk kez "scrapie" hastalığına yakalanmış koyunların beyinlerinden elde edilmiş olup (21), normal prionlardan farklı olarak daha az çözünen ve çeşitli enzim aktivitelerine, ısıya, kimyasal maddelerin çoğuna karşı rezistans gösteren yapıdadır (3, 8). Prionun infektif gücü, 3 atmosfer basıncında 134-136°C'de ve 30 dakikada, sodyum hipoklorit ve sodyum hidroksit ile oda sıcaklığında 1 saatte kaybolmaktadır (8).

Yapılan deneysel çalışmalarda, hastalık etkenini taşıyan beyin dokusunun ağız yolu ile veya beyin içine enjekte edilerek buzağı, koyun, keçi, domuz, maymun, fare ve kobaylara verildiğinde hastalığın oluştuğu kanıtlanmıştır (7, 11, 17, 23). Hastalığın etkeni olan prionların organizmada yayılması sırasında lenf ve sinir sistemini kullanmaları nedeniyle hayvanların çeşitli organ ve dokularının BSE açısından riskli olduğu kararına varılmış ve aşağıda verildiği şekilde bir sınıflama yapılmıştır (12, 13, 14, 22, 24).

- Yüksek riskli : Beyin, gözler, spinal kord, kafatası, vertebral kolon ve akciğerler.
- Orta riskli : Duodenum'dan rectuma kadar tüm sindirim kanalı, tonsillalar, uterus, plasenta, lymphonodalar, cerebrospinal sıvı.
- Düşük riskli : Karaciğer, pankreas, timus, kemikler, nazal mukoza.
- Risksiz : İskelet kasları, kalp, böbrek, kolostrum-süt, adipiyöz dokular, tükürük, ovarium, testis, kıkırdak doku, deri, kıl, idrar, safra, dışkı.

Hastalığın sığırlar arasında yayılmasını ve insanlara bulaşmasını önlemek için hastalığın ilk çıktığı yer olan İngiltere'de ve hastalığın yayıldığı Avrupa Birliği ülkelerinde bir dizi önlemler alınmıştır. Hastalığın görüldüğü ülkelerde 12 aydan büyük sığırların omurgasının kullanımı ve etlerin mekanik olarak sıyrılması ile kemiksiz hale getirilmesi yasaklanmıştır (8).

İngiltere’de, BSE açısından en riskli materyallerden olan spinal kord karkasın parçalanması sırasında ete bulaşabildiğinden bu materyalin kesimde ayrılması ve kontrollü olarak atılması hususu kanunlaştırılmıştır (4, 12).

Ülkemizde deli dana hastalığının bulunmadığı ve şüpheli bir vakaya rastlanmadığı bildirilmektedir (23). BSE etkenini canlı sığırlarda teşhis etmek için geliştirilmiş bir yöntem henüz bulunamamıştır (5). Ölümünden sonra özellikle beyin ve omurilikten alınan örneklerde Western Blotting, ELISA gibi özel testlerle prion proteinin saptanması mümkündür (8, 16). Tüketime sunulan et ve et ürünlerinde ise etken direkt olarak teşhis edilemediğinden risk materyali olarak bilinen organ ve dokuların et ve et ürünlerine bulaşıp bulaşmadığı kontrol edilmektedir. Üretim sırasında kasıtlı yada kasıtsız olarak et ürünlerine özellikle beyin, spinal kord gibi risk materyallerinin katılması BSE etkeninin insanlara bulaşması bakımından çok büyük bir tehlike oluşturmaktadır (2, 22). Ülkemizde bu konu ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Bu çalışma, ülkemizde yüksek tüketim oranına sahip et ve et ürünlerinde BSE açısından risk materyali olarak adlandırılan organ ve dokuların mevcudiyetini araştırmak ve riskli ürünleri tespit etmek amacıyla planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, İstanbul’ da tüketim potansiyeli yüksek çeşitli satış noktalarından temin edilen 75 adet kıyma, 75 adet köfte, 50 adet sucuk, 50 adet salam, 50 adet sosis olmak üzere toplam 300 adet et ve et ürünü örneği analize alındı.

Ekstraksiyon prosedürü: Et ve et ürünü örneklerinde, BSE yönünden riskli materyallerin mevcudiyeti Ridascreeen Risk Materyal Kiti (R-Biopharm Kod no: R6701) aracılığıyla analiz edildi. 2 g homojenize edilmiş örnek, 10 ml ekstraksiyon solüsyonu ile karıştırıldı ve 15 dakika 100° C’de ısıtıldı. Soğutma işleminden sonra 10 dakika 3500 g’de 10°C’de santrifüj edildi. Üstteki yağ tabakası tamamen ayrıldı. Yağsız supernatant 1:20 örnek dilüsyon buffer’ında dilue edildi. Örnek ekstraktlar test gününe kadar -20°C’de saklandı (19).

ELISA test prosedürü: 50 µl ekstrakt ve standartların (%0, %0.1, %0.2 ve %0.4) GFAP antikorları ile kaplanmış kuyulara aktarıldı. 50 µl Enzim konjugatı ilavesinden sonra kuyular, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Bağlı olmayan antikorlar ve proteinler 3 kez yıkayarak uzaklaştırıldı. Her bir kuyuya 100 µl substrat/kromojen reaktifi ilave edilerek iyice karıştırıldı. Karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dak. bekletildi. 100 µl durdurma çözeltisi (1 N H₂SO₄) ilave edildikten sonra yavaşça karıştırıldı. Absorbans değerleri, ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçülerek pozitif örnekler belirlendi (19).

Geri kazanım (Recovery) testleri: Yöntemin duyarlılığı ve geçerliliği, BSE yönünden riskli sayılan bir materyalle (beyin), belirli konsantrasyonlarda kontamine edilen örnekler ile test edildi. Bu amaçla, önceden analiz edilerek BSE yönünden riskli materyal içermediği tespit edilen kıyma, köfte, sucuk, salam ve sosis örnekleri sırasıyla %0.2, 0.5, 1.0 ve 2.0 konsantrasyonlarında sığır beyni ile kontamine edilerek iyice karıştırıldı. Yukarıda bildirilen şekilde örnek ekstraksiyonu ve ELISA sistemine uygulama işlemleri yapıldı. Bu işlemler üçer kez tekrarlandı.

BULGULAR

Yöntemin geçerliliğini kontrol etmek için %0.2, %0.5, %1.0 ve %2.0 oranlarında sığır beyni ile kontamine edilen örneklerin tümü, risk materyal yönünden pozitif bulunmuştur.

Çalışma kapsamında analiz edilen örnekler ve BSE yönünden risk taşıyan pozitif örnek sayıları Tablo 1'de topluca gösterilmiştir.

Tablo 1. Analiz edilen örnekler ve pozitif örnek sayıları.

Örnek	Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	%
Kıyma	75	3	4
Köfte	75	9	12
Sucuk	50	4	8
Salam	50	5	10
Sosis	50	7	14
Toplam	300	28	9.3

Buna göre analize alınan 75 adet kıyma örneğinden 3 adedi (%4), 75 adet köfte örneğinden 9 adedi (%12), 50'şer adet sucuk, salam ve sosis örneklerinden ise sırasıyla 4 (%8), 5 (%10) ve 7 (%14) adedi, BSE yönünden riskli materyal içermesi bakımından pozitif bulunmuştur.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde BSE etkeni ile enfekte olmuş hayvanlarda, hayvan canlı iken etkeni tespit etmek mümkün değildir. Bu konu ile ilgili olarak bazı çalışmalar halen devam etmektedir. Bu nedenle tüketici sağlığını korumak amacıyla et ve et ürünlerinin BSE yönünden risk taşıyan materyallerle kontamine olup olmadığının kontrol edilmesi büyük önem taşımaktadır.

İstanbul'da satışa sunulan çeşitli et ve et ürünlerinde BSE yönünden risk materyallerinin varlığını araştırmayı amaçladığımız bu çalışmada öncelikle, kullanılan yöntemin geçerliliği kanıtlanmıştır. Ridascreen test kiti kullanım kılavuzuna göre %0.2'lik standart çözeltisine karşılık elde edilen absorbans değerine eşit veya daha büyük olan absorbans değerleri pozitif olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ilave edilen %0.2, %0.5, %1.0 ve %2.0 oranlarındaki sığır beynine karşılık olarak, %0.2 konsantrasyonunda dahi pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar yöntemin hassasiyetini belirlemektedir (n=3). Kullanılan analiz yönteminin, American Meat Institute Foundation (AMIF) ve Liebig University Institute for Veterinary Food Science tarafından da geçerliliği kanıtlanmıştır (1, 9).

Yöntemin esası, santral sinir sistemi (CNS) dokusunu belirlemek amacıyla marker olarak kullanılan glial fibriler asidik proteinin (GFAP) tespitine dayanmaktadır (10). Schmidt ve ark. (20) tarafından da GFAP' nin CNS dokuları için oldukça spesifik bir marker olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda kullanılan yöntem hassas, kolay ve hızlı olması nedeniyle tercih edilmiştir. Hajmeer ve ark. (10) tarafından, biri bu çalışmada kullanılan ticari kit olmak üzere iki kit karşılaştırılmıştır. Ridascreen test kitinin diğer kite göre, 10 kat daha hassas olduğu, daha kolay ve daha hızlı sonuç verdiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada, analiz edilen toplam 300 örnekten 75 adet kıyma örneğinin 3 adedinin (%4), 75 adet köfte örneğinden 9 adedinin (%12), 50'şer adet sucuk, salam ve sosis örneklerinden ise sırasıyla 4 (%8), 5 (%10) ve 7 (%14) adedinin, riskli materyal içermesi bakımından pozitif bulunması, kasıtlı veya kasıtsız olarak risk materyallerinin üretimin herhangi bir aşamasında ürüne kontamine

olduğunu göstermektedir. Halk sağlının korunması amacıyla Avrupa Birliği, risk materyali sayılan dokuların et ve et ürünlerine karıştırılmasını tamamen yasaklamıştır (6). Aynı şekilde ülkemizde de CNS içeren bu dokuların et ve et ürünlerinde bulunması yasaktır (25).

Çalışmamızda incelenen toplam 300 adet örnekten sadece 28 adedinin (%9.3) pozitif bulunması düşük sayılmakla beraber, bu konu ile ilgili yasalara rağmen yine de riskli materyallerin et ve et ürünlerine kontamine olduğunu göstermektedir. Ülkemizde bu konu ile ilgili olarak Yeşilbağ ve Kalkan (27) tarafından yapılan bir araştırmada, 179 adet et ürününü (49 adet salam, 34 adet sosis, 31 adet fermente sucuk, 22 adet hamburger ve 43 adet kıyma ve köfte) risk materyal varlığı yönünden incelenmiş ve incelenen bu örneklerden toplam 18 adedinin (%10.05) pozitif olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bizim sonuçlarımızla oldukça benzerlik göstermektedir. Pozitif toplam sayı bakımından benzerlik bulunmasına rağmen, çalışmamızın sonuçlarıyla karşılaştırıldığında farklılıklarda mevcuttur. Bu çalışmada en çok sosis örneklerinde (%14) ve ikinci sırada da, köfte örneklerinde (%12) pozitif sonuçlar bulunmuştur. Yeşilbağ ve Kalkan (27) ise en çok salam örneklerinde (%30.61) pozitif sonuç bulduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmamızda, incelenen 50 adet sucuk örneğinin 4 adedi (%8) pozitif bulunurken; Yeşilbağ ve Kalkan (27) tarafından hiçbir sucuk örneğinde pozitif sonuç tespit edilememiştir.

Bu farklılıklara rağmen; toplamda, pozitif bulunan örnek sayılarının benzer bulunması oldukça ilgi çekicidir. Prendergast ve ark. (18) spesifik risk materyaller ile kontamine ekipmanların, yüzeylerin kesim koşullarının ve uygulanan işlemlerin et ve et ürünlerinin risk materyaller ile kontamine olmasında önemli yollar olduğunu belirtmektedirler. Bu bakımından et ve et ürünleri üretiminde kontaminasyon kaynakları gözden geçirilmelidir.

Sonuç olarak, ülkemizde yüksek tüketim oranına sahip et ve et ürünlerinde BSE açısından risk materyali olarak adlandırılan organ ve dokuların mevcudiyetini araştırmak için planlanan çalışmamızda, incelenen toplam 300 adet et ve et ürünü örneğinden 28 adedi (%9.3) pozitif bulunmuştur. Bu durum, riskli materyallerin et ve et ürünlerine, kasıtlı veya kasıtsız olarak üretim basamaklarının herhangi bir aşamasında kontamine olduğunu göstermektedir. Halk sağlının korunması amacıyla, Avrupa Birliği ve ülkemizde, risk materyali sayılan dokuların et ve et ürünlerine karıştırılması tamamen yasaklanmış olduğundan, et ve et ürünleri üretiminde uygulanan işlemlerin yanı sıra; alet, ekipman, personel ve yüzeyler gibi risk arz

eden kontaminasyon kaynakları da gözden geçirilerek, gerekli önlemler alınmalı ve hijyen kurallarına harfiyen riayet edilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1) AMIF (American Meat Institute Foundation) News. AMIF validates in-plant test to detect central nervous system material. 2001 ; 3 (2) : 2
- 2) Anil MH, Love S, Williams S, Shand A, Mckinstry JL, Helps CR, Waterman- Pearson A, Seghatchian, Harbour DSA : Potential contamination of beef carcasses with brain tissue at slaughter. The Veterinary Record. 1999 ; 145 : 460-462
- 3) Brown P, Will RG, Bradley R, Asher DM, Detwiler L : Bovine Spongiform Encephalopathy and Variant Creutzfeldt-Jakob Disease : Background, Evolution and current concerns. Emerging Infectious Diseases. 2001 ; 7 (1) : 6-16
- 4) BSE risk material to be frozen due to backlog in scheme. www.fst.rdg.ac.uk (28.11.2001)
- 5) Cockcroft PD : Pattern-matching models for the differential diagnosis of bovine spongiform encephalopathy. The Veterinary Record. 1999 ; 144 : 607-610
- 6) Commission Decision 2000/418/EC (29 June 2000) regulating the use of material presenting risk as regards transmissible spongiform encephalopathies and amending Decision 94/747/EC. Official Journal L 158/76
- 7) Doherr MG, Heim D, Vandeveld M, Fatzer R : Modelling the except numbers of preclinical and clinical cases of bovine spongiform encephalopathy in Switzerland. The Veterinary Record. 1999 ; 145 : 155-160
- 8) Emre M, Gürvit H, Gözülmızı E, Erkol G, Nazlı B, Yılmaz H, Bostan K : Deli Dana Hastalığı ve Creutzfeldt-Jakob Hastalığı Hakkında Bilgilendirme Broşürü.
- 9) Final Report: Validation of RIDASCREEN Risk Material test as detection method for central nervous tissue in raw and heated meat products compared to the integrated detection method on the basis of Western Blot (INV). Institute of Veterinary Food Science , Justus-Liebig University, Germany. 07.12.2001
- 10) Hajmeer M, Cliver DO, Provost R: Spinal cord tissue detection in comminuted beef: comparison of two immunological methods. Meat Science. 2003; 65, 757-763.
- 11) Hakulin K : BSE Risk Material The EU Commission takes no chances. <http://europa.eu.int>
- 12) Helps CR, Hindell P, Hillman TJ, Fisher AV, Anil H, Knight AC, Whyte RT, O'Niell DH, Knowles TG, Harbour DA. Contamination of beef carcasses by spinal cord tissue during splitting. Food Control. 2002; 13:417-423
- 13) Hoinville LJ : Decline in the incidence of BSE in cattle born after the introduction of the "feed ban". Veterinary Record. 1994 ; 134:274-275
- 14) IFST : Current Hot Topics Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE). Institute of Food Science and Technology. www.ifst (14.02.2001)
- 15) Lucker ES, Horlacher S, Eigenbrodt E, Bülte M : Procedures for the detection of unwanted ingredients in meat products with regard to BSE. Fleischwirts. 2000; 5, 74-77.

- 16) MAFF (Ministry of Agriculture Fisheries and Food) BSE Information. www.europa.eu.int 4-2001
- 17) Maignien T, Lasmez C, Beringue V, Dormont D, Deslys JP : Pathogenesis of the oral route of infection of mice with scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents. *Journal of General Virology*. 1999 ; 80 : 3035-3042
- 18) Prendergast DM, Sheridan JJ, Daly DJ, McDowell DA, Blair IS: Dissemination of central nervous system tissue from the brain and spinal cord of cattle after captive bolt stunning and carcass splitting. *Meat Science*. 65: 1201-1209.
- 19) Ridascreen Risk Material Test Kit. Enzyme immuno assay for the quantitative analysis of risk material (CNS). Art No: R 6701. R- Biopharm. Germany.
- 20) Schmidt GR, Hossner KL, Yemm RS, Gould DH, O'Callaghan JP : An Enzyme Linked Immunosorbent Assay for glial fibrillary acidic Protein as an indicator of the presence of brain or spinal cord in meat. *J. Food Protect*. 1998; 62, 394-397.
- 21) Simmons MM, Ryder SJ, Chaplin MC, Spencer YI, Webb CR, Hoinville LJ, Ryan J, Stack MJ, Wells GAH, Wilesmith JW : Scrapie surveillance in Great Britain : results of an abattoir survey, 1997/98. *The Veterinary Record*. 2000 ; 146 : 391-395.
- 22) Specified Risk Material. <http://www.defra.gov.uk> (28.11.2001)
- 23) T.C. Tarım ve Köyşöleri Bakanlığı. Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Deli İnek Hastalığı Broşürü
- 24) The specified risk material (amendments) (wales) regulations 2000. <http://foodstandarts.gov.uk> (29.09.2000)
- 25) Turkish Food Codex, 2000/4 Regulation on meat products. Official Journal No: 23960, 10 Feb. 2000.
- 26) Wile Smith JW, Wells GAH, Granwell MP, Ryon JBM. Bovine spongiform encephalopathy : epidemiological studies *Veterinary Record* 1988 ; 123 :638-644
- 27) Yeşilbağ K, Kalkan A. Detection of central nervous system tissues as BSE specified risk material in meat products in Turkey. *Food Control*. 2005; 16:11-13.

SUCUKLARIN KİMYASAL KALİTESİ

Belgin SIRIKEN*

Çiğdem YENİSEY**

Mukadder SERTER**

Mehmet ÖZDEMİR***

Özgür ÇADIRCI*

* Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Kurupelit /Samsun, bsiriken@yahoo.com, ozgurcadirci@yahoo.com.

**Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, cyen2002@hotmail.com, smukadder02@yahoo.com.

***Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar, mozdemir@aku.edu.tr

Özet

Sucukların kimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, fermente, doğal bağırsaklara doldurulmuş ve ısıtma işlemi görmüş toplam 100 sucuk örneği pH, rutubet, yağ, NaCl (tuz), kollojen, hidroksiprolin, nitrat, nitrit ve nişasta içeriği yönünden analiz edildi. Türk Gıda Kodeksinde (2000) sucukların ihtiva etmesi gereken maksimum rutubet, yağ ve pH değerleri sırasıyla %40, %40 ve 5.8 olarak belirtilmiştir. Aynı yönetmeliğe göre sucukların nişasta (bitkisel protein) içermemesi gerekmektedir. Bu açılarından, sucukların %51.5'i rutubet, %32'si ise pH yönünden kodekse uygun olmadığı, yağ içeriği yönünden ise kodekste belirtilen limitler arasında olduğu tespit edildi. Ayrıca, örneklerin %65.3'ünde nişasta belirlendi. NaCl yönünden kodekste herhangi bir değer bildirilmemiş olmakla beraber, Türk Sucuk Standardında (1983) maksimum değer %5 (kuru maddede) olarak bildirilmiştir. Analiz edilen sucukların %25'i bu değer üzerinde bulundu. Sucukların ortalama, maksimum ve minimum kollojen düzeyleri sırasıyla 7.17, 3.20 ve 9.68 µg/mg (kuru maddede) olarak saptanırken, ortalama, minimum ve maksimum hidroksiprolin düzeyleri ise sırasıyla 0.89, 0.40 ve 1.21 µg/mg (kuru maddede) olarak belirlendi. Sucukların kollojen ve hidroksiprolin değerleri ile ilgili kodekste herhangi bir değer belirtilmemiştir. Sucukların içermesi gereken maksimum rezidüel sodyum nitrat, sodyum nitrit değerleri yine aynı kodekse göre sırasıyla 250 ppm ve 100 ppm olarak belirtilmiştir. Bu yönüyle, sucukların %18'i sodyum nitrat, %11'i de sodyum nitrit yönünden belirtilen limitlerin üzerinde olduğu saptandı.

Abstract

THE CHEMICAL QUALITY OF TURKISH SOUDJOUCK (SUCUK)

To determine the chemical characterization of the *Turkish soudjouck* (sucuk), a total of 100 fermented and heated natural gut casing *soudjouck* samples were analyzed for pH, moisture, fat, NaCl, collagen, hydroxyproline, nitrate, nitrite values and starch content. The maximum levels of moisture, fat and pH limited by Turkish Food Regulation (2000) are 40%, 40% and 5.8, respectively. In addition, *soudjouck* should not contain starch (vegetable protein) according to the regulation aforesaid. In these respects, while 51.5% and 32% of the samples was found high for moisture and pH values, respectively and, all of the samples were suitable for fat value. However, starch was detected in 65.3% of the samples. For NaCl, there is no value according to this regulation but the maximum level limited only Turkish *Soudjouck* Standard (1983) is 5% (dry matter). In this respect, 25% of the samples were high for NaCl. Average, maximum and minimum collagen levels were detected in 7.17, 3.20 and 9.68 µg/mg (dry matter), respectively. Average, minimum and maximum hydroxyproline levels were also 0.89, 0.40 and 1.21 µg/mg (dry matter), respectively. However, there has not existed an Official Standard of Quality which reflects the collagen and hydroxyproline content of *Turkish soudjouck*. Therefore, collagen and hydroxyproline information of the *soudjouck* will to serve as a basis for the preparation of a regulation. The maximum levels of residual sodium nitrate, sodium nitrite values limited by Turkish Food Regulations are 250 ppm and 100 ppm, respectively. In this respect, 18% of samples for sodium nitrate, 11% of samples for sodium nitrite were found high.

GİRİŞ

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 salgılamalarını kontrol etmede önemli rol oynar (16). Sucukların fermentasyon ve kuruma aşamalarında bir takım fiziksel, mikrobiyolojik ve biyokimyasal değişimler (doku enzimleri ile mikrobiyel enzimler tarafından şekillenen) oluşur. Üretimde

kullanılan ham materyal ve üretim koşulları sucukların lezzet, aroma tekstür gibi organoleptik özellikleri üzerine direk etkilidir (2, 3).

Proteinler, gıdaların fonksiyonel özelliklerinde önemli rol oynarlar. Proteinler, sistemde ağ oluşturmak suretiyle bileşimlerin ağ içinde birbirleriyle temas etmelerini sağlamak suretiyle gıdaların tektürel, sensorik ve besin kalitelerinde önemli rol oynarlar. Etin en önemli komponenti ise kas olup, kas proteinlerinin %60'ını ise myofibriller proteinler oluşturur (19). Myofibriller proteinler sucuklarda da jel (ağ) formasyonu oluşturmak suretiyle ürün içinde bulunan su ve yağın stabilizasyonunda büyük rol oynarlar. Kollojen ise derinin ana bileşimidir. Kollojen ve diğer bağ doku proteinlerinin sucuklarda jel şekillenmesinde çok az rol oynarlar. Ancak, kırmızı ve kanatlı eti sektöründe kollojen genelde proteini verimi arttırmak, tekstürel yapıyı geliştirmek, sinerjizimi azaltmak, organoleptik özellikleri geliştirmek ve ürün maliyetini azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Kollojen et sistemine ilave edildiği takdirde, etin yağ, su ve diğer komponentlerin bağlanma kapasitesi artırmaktadır (7, 12).

Bilindiği üzere bağ doku proteinlerinin içerdiği esansiyel amino asit miktarı çok az olup, et ve et ürünlerinde yüksek miktarda bulunması ürünün besleyici değerini düşürür. Sucukların nem, tuz, nişasta içeriği, kollojen içerikler gibi özellikleri ticari sucukların sınıflandırılmasında önemli rol oynar.

Dünyada çok çeşitli sucuk mevcut olup, sucuk ile yapılan çalışmalarda daha çok sucukların mikrobiyolojik özellikleri ile ilgilidir. Sucukların kimyasal özellikleri ile ilgili ise sınırlı sayıda bilimsel çalışmalar mevcuttur. Sucukların kalitesi değişken olup, Türkiye ve dünyanın değişik bölgelerinde üretilen sucuklarda üniformite hemen hemen yok gibidir. Bu nedenle bu çalışma, geniş bir halk kitlesi tarafından üretilen sucukların pH, nem, NaCl, kollojen, hidroksprolin miktarları ile nişasta varlığı gibi sucukların kimyasal özelliklerini ortaya koymak amacıyla yapıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Sucukların kimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada fermente, doğal bağırsaklara doldurulmuş ve ısıtılmış toplam 100 sucuk örneği satın alındı. Bu örnekler, pH, rutubet, yağ, NaCl, kollojen, hidroksiprolin, nitrat, nitrit ve nişasta içeriği yönünden analiz edildi.

pH değeri, kangal sucuklarının üç değişik noktasından pH metre (WTW, Inolab Level I, German) elektroduyla ölçümler yapılarak ve bu üç değerın ortalaması alınarak belirlendi. Sucukların nem miktarı infrared nem cihazıyla (Sartorius, MA 45 model), nişasta içeriği ise iyot solüsyonu ile varlığı/yokluğu şeklinde değerlendirildi. Sucukların yağ miktarı Soxhlet Henkel yöntemiyle saptandı. Kollojen ve Hidroksiprolin miktarı Keseve ve ark. (1999) tarafından bildirilen yöntemle göre saptanırken, nitrat ve nitrit miktarları kolorometrik yöntemle saptandı (15).

BULGULAR

Sucuk örneklerin kimyasal analiz bulguları sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Analiz edilen Sucuk Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları (n=100)

	Ortalama	Minimum	Maksimum
pH	5.49	4.8	6.5-7.2
Nem (g/100)	40.9	29.8	47.6
Yağ (% TM)	32.9 % 46.5 %	29 40.86	42 59.17
NaCl (% KM)	4.53	3.7	5.85
Kollojen (% KM)	7.17 %	3.20 %	9.68 %
Hidroxyprolin (% KM)	0.89 %	0.40 %	1.21 %
Nişasta	66 % positive	-	-

TM: Taze madde; KM: Kuru Madde

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, sucukların pH değerleri 4.8-6.5 aralığında ölçülürken, yalnız bir örnekte 7.2 olarak ölçüldü. Ortalama pH değeri ise 5.49 idi. Bu değerler İspanyol geleneksel ısıt işlemleri görmemiş-kürlenmiş sucuk örneklerinin sahip olduğu pH değerinden yüksektir (13, 6, 14, 11). Lorenzo et al. (2000) tarafından Androlla ve Batillo sucuklarının (İspanya'da ısıt işlemleri görmemiş-kürlenmiş sucuk çeşitleri) pH değerlerini 5.39-5.62 olarak bildirmişlerdir. Bu değerler bu çalışma bulguları ile paralellik göstermesine karşın, maksimum pH değerleri bu çalışmada daha yüksek bulunmuştur. Comi et al. (2005) İtalyan (doğal fermente) sucuklarının pH değerini 5.6-5.7 olarak bildirmişlerdir. Genel olarak İspanya ve İtalya'da imal edilen geleneksel sucuklar doğal fermente sucuklar olup, İspanyada 1-2 ay, İtalya'da ise 21 gün süreyle kurutma ve olgunlaşmaya bırakılmaktadır. Bu nedenle, son pH değerleri daha düşüktür. Houben ve Hoof (2005) deneysel yarı-kuru (semi-dry) fermente sucuklarla ilgili çalışmalarında, 18 günlük olgunlaşmayı takiben son ürünlerdeki pH değerini 4.51-4.56 olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında liyofilize starter kültür kullanmışlardır. Çalışmalarında üretilen sucukların pH ve tekstürel özellikleri starter kültür kullanmaları ve sucukları iklim odalarında olgunlaştırmaları nedeniyle etkilenmiştir. Bu çalışmada düşük pH değerine (>5) glucano delta lacton (GdL) kullanılarak üretimi yapılan sucuklarda saptanmıştır.

Yapılan literatür çalışmaları sonucu fermente sucukların içerdiği hidroksiprolin miktarı %0.4 ila %0.5 arasında değişmektedir (10, 6, 14). Bu çalışmada, örneklerin %19'u bu değerler arasında bulunurken, %79'u ise >%0.5 düzeyindedir. Salgado et al.(2006) çalışmalarında ev yapımı *Chorizo de cebolla* (İspanya'da kuru-kürlenmiş sucuk) sucuklarında hidroksiprolin düzeyini %0.195-%0.766, endüstriyel üretilen bu tür sucuklarda ise %0.264-1.99 (kuru madde) düzeylerinde saptamışlardır. Ortalama hidroksiprolin düzeyinin ise ev yapımı sucuklarda %0.516, endüstriyel sucuklarda ise % 0.264 (kuru madde) olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Lorenzo et al (2000) Androlla sucuklarda hidroksiprolin düzeyini %0.40-1.10 ve, Botillo sucuklarında ise %0.40-0.62 arasında ve ortalama olarak Androlla için %0.64, Botillo için ise %0.48 olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma sonuçlarına göre, ortalama ve maksimum hidroksiprolin değerlerini bu çalışma bulgularından daha düşüktür. Androlla ve Botillo sucukları İspanyol kuru-kürlenmiş sucuk çeşitleridir. Androlla imalatında diyafragm,

kaburgalararası kas, gerdan, deri ve nadiren akciğer gibi düşük kaliteli domuz et ile içorganları kıyma haline getirilerek üretimde kullanılmaktadır. Batillo sucukları ise keza kaburga, vertebra ve diğer domuz kemikleri etrafındaki kaslar ile deri ve domuz yağından imal edilmektedir (11). Chorizo de cebolla ise ikinci kalite domuz etleri ile organlardan (gerdan, kaburga ve sırt etleri, pişmiş deri-%4.5 ve %5.5 oranında da akciğerde) elde edilir. Türk Gıda Kodeksine göre (2000), sucuklar akciğer, bağırsak, kalp, karaciğer, deri ve diğer yenilebilir iç organ içermemelidir. Türk sucuğu imalatında genellikle %80-90 sığır ve %10-20 manda eti kullanılmaktadır. Bu açılardan, bu çalışmada analiz edilen sucukların imalatında birinci sınıf etler kullanılmasına rağmen, sucukların içerdiği hidroksiprolin miktarı İspanya'da üretilen ikinci sınıf sucuklardan daha yüksek bulunmuştur. Oysa hidroksiprolin düzeyinin daha düşük olması gerekirdi. Bu oranın yüksek olmasının muhtemel nedenleri sucuk imalatında kollojen, iç organlar, deri ve/veya fazla miktarda kırpıntı et kullanımından kaynaklanabilir. Diğer bir nedeni ise, sucuk yapımında yüksek oranda (≥ 50) manda eti kullanılmış olması olabilir. Bilindiği üzere manda etinin toplam kollojen içeriği (7.53 mg/g) sığır etine göre (5.75 mg/g) daha yüksektir.

Bu çalışmada sucukların nem içeriği %29.8 ile %47.6 arasında, ortalama ise %40.9 olarak ölçülmüştür. Nem içeriğinin yüksek olmasının nedenlerin biri olgunlaşma süresinin çok kısa oluşudur. Sucukların nem içeriği ile ilgili yapılan çalışmaların birinde Comi et al. (2005) doğal fermentasyona bırakılarak olgunlaştırılan sucuklarda bu değeri %40-46 olarak bildirmiştir. Diğer bir çalışmada, Salgado et al. (2006) *Chorizo de cebolla* tip sucuklarda %18.24-49.29 (ev yapımı) ve endüstriyel olarak üretilen bu çeşit sucuklarda ise bu değer %18.58-54.02 olarak saptamışlardır. Ortalama nem içeriğini ise sırasıyla %32.2 ile %29.76 olarak bulmuşlardır. Son iki çalışmada Lorenzo et al. (2000) keza Androlla ve Botillo tip sucuklarda ortalama nem içeriğini sırasıyla %44.6-%55.1 olarak belirlemişlerdir. Bu tip sucukların olgunlaşma süresi 1 ile 2 ay arasında değişmektedir. Sucukların nem içeriği üzerine etkili olan pek çok faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerden birisi sucuğun çapıdır. Salgado et al. (2006) ve Lorenzo (2000) çalışmalarında analiz ettikleri İtalyan ve İspanyon sucuklarının çaplarını sırasıyla 5 ile 6 cm olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, İspanyol sucuklarında domuz rektum ve sekumu da kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan sucuk kangallarının ortalama çapları ise 3-4 cm'dir. Nemi etkileyen faktörlerden bir diğeri de çevresel koşullar ve özellikle

olgunlaşma ortamındaki havanın kısmi nemdir. Bunların dışında sucuğun bileşimine giren kollojen, nişasta, alkali fosfat gibi bileşenler ile pH'da sucukların nemini etkileyen faktörler arasında yer almaktadır. Kollojen miktarı ile pH arasında pozitif korelasyon olduğu bilinmektedir. Bu durum Salgado et al. (2006)'un çalışmasında da görülmektedir. Ev yapımı sucukların maksimum hidroksiprolin içeriği endüstriyel bazda üretilenlere oranla daha düşük olup, maksimum nem içeriğinde ev yapımı sucuklarda endüstriyel bazda üretilenlere oranla daha düşüktür. Salgado et al. (2006)'un çalışmasına paralel olarak bu çalışmada da yüksek miktarda kollojen ve hidroksiprolin içeren sucukların nem içeriğinde yüksek bulunmuştur.

Pek çok yazar tarafından ısı işlemi görmemiş-kürlenmiş sucukların genel olarak tuz içeriği kuru maddede %5-8 olarak bildirilmiştir (1, 3, 4, 10, 11, 20). Bu çalışmada elde edilen tuz miktarı yukarıda bildirilen miktarlardan daha düşüktür. Ortalama tuz içeriği Salgado et al. (2006)'un bildirdiği (ev yapımı sucuklarda kuru maddedeki ortalama tuz miktarı %3.03 ve endüstriyel sucuklarda ise %2.84, maksimum tuz içeriği ev yapımı sucuklarda %12.25) değerlerden daha yüksek olmasına rağmen, maksimum tuz içeriği çok daha düşüktür. Ayrıca İspanya'dan bildirilen diğer çalışmalarda da sucukların bu çalışmada elde edilen tuz içeriğinden daha yüksek tuz içeriğini bildirmişlerdir (14). Bir başka çalışmada Dominguez et al. (1988) *Chorizo de Leon* adı verilen sucukta ev tipi olanlarında ortalama %3.37 ve endüstriyel sucuklarda ise %4.36 oranında tuz içerdiğini bildirmiştir. Bu değerler bu çalışma sonucundaki değerlerden daha düşüktür.

Türk Gıda Kodeksinde (2000) sucukların ihtiva etmesi gereken maksimum rutubet, yağ ve pH değerleri sırasıyla %40, %40 ve 5.8 olarak belirtilmiştir. Aynı yönetmeliğe göre sucukların nişasta (bitkisel protein) içermemesi gerekir. Bu açılardan, sucukların %51.5'i rutubet, %32'si ise pH yönünden kodekse uygun olmadığı, yağ yönünden ise kodekste belirtilen limitler arasında olduğu tespit edildi. Ayrıca, örneklerin %65.3'ünde nişasta belirlendi. NaCl için kodekste her hangi bir değer bildirilmemiş olmakla beraber, Türk Sucuk Standardında (1983) maksimum değer %5 olarak bildirilmiştir. Analiz edilen sucukların %25'i standartta belirtilen maksimum limitin üzerinde bulunmuştur. Sucukların ortalama, maksimum ve minimum kollojen düzeyleri sırasıyla 7.17, 3.20 ve 9.68 µg/mg (yaş ağırlıkta) olarak saptanırken, ortalama, minimum ve maksimum hidroksiprolin düzeyleri ise sırasıyla 0.89, 0.40 ve 1.21 µg/mg

(kuru maddede) olarak belirlendi. Sucukların kollojen ve hidroksiprolin değerleri ile ilgili kodekste her hangi bir değer belirtilmemiştir. Sucukların içermesi gereken maksimum kalıntı sodyum nitrat, sodyum nitrit değerleri yine aynı kodekse gre sırasıyla 250 ppm ve 100 ppm olarak belirtilmiştir. Bu ynyle, sucukların %18'i sodyum nitrat, %11'i de sodyum nitrit ynnden belirtilen limitlerin üzerinde olduğu saptandı.

KAYNAKLAR

1. Acton, J.C., and Dick, R.L. (1977). Ured color development during fermented sausages processing. *Journal of Food Science*, 42: 895-897.
2. Bacus, J. (1984). Update: meat fermentation. *Food Technology*, 38: 59-63.
3. Beriain, M.J., Pena, M.P., Bello, J. (1993). A study of the chemical components which characterize Spanish saucisson. *Food Chemistry*, 48: 31-37.
4. Casiraghi, E., Pompei, C., Dellaglio, S., Parolari, G., Virgili, R. (1996). Quality attributes of Milano salami, an Italian dry-cured sausage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44: 1248-1252.
5. Comi, G., Urso, R., Lacumin, L., Rantsiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., Coccolin, L. (2005). Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*: 69, 381-392.
6. Dominguez, M.C., Ferre, C., Zumalacarregui, J.M. (1988). Aportaciones a la caracterización del chorizo elaborado en la provincia de Leon: parametros quimicos y fisico-quimicos. *Alimentaria*, 198: 19-23.
7. Eilert, S.J., Blackmer, D.S., Mandigo, R.W., Calkins, C.R. (1993). Meat batters manufactured with modified beef connective tissues. *Journal of Food Science*, 58: 691-696.
8. Houben, J.H., van't Hooft, B.J. (2005). Variations in product-related parameters during the standardized manufacture of a semi-dry fermented sausages. *Meat Science*, 69: 283-287.
9. Keseva Reddy, G and Chukuka S. Enwemeka (1999). A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clinical Biochemistry*, 29:225-229
10. Leon Crespo, F., Millan, R., Serrano Moreno, A. (1978). Características del salchichon comercial tipo "casero". *Alimentaria*, 98: 29-34.

11. Lorenzo, J.M., Michinel, M., Lopez, M., Carballo, J. (2000). Biochemical characteristics of two Spanish traditional dry-cured sausage varieties: Androlla and Botillo. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13: 809-817.
12. Osburn, W.N., Mandigo, R.W., Eskridge, K.M. (1997). Pork skin connective tissue gel utilization in reduced-fat Bologna. *Journal of Food Science*, 62: 1176-1182.
13. Salgado, A., Fontan, M.C.G., Franco, I., Lopez, M., J. Carballo. (2006). Effect of the type of manufacture (homemade or industrial) on the biochemical characteristics of Chorizo de cebolla (a Spanish traditional sausage). *Food Control*, 17: 213-321.
14. Santamaria, I., Lizarraga, T., Astiasaran, I., Bello, J. (1992). Contribution to the Pamplona chorizo standardization Physicochemical and sensorial study. *Revista Espanola de Ciencia y Tecnologia de los Alimentos*, 32: 431-445.
15. Sen NP, Donaldson B (1978). Improved colorimetric method for determining nitrate and nitrite in foods. *JAOAC* 61: 1389-1394.
16. Tuitemwong, P., Osiriphun, S., Pangpoolponsak, A., Tuitemwong, K. (2002). Quantitative Risk Assessment of Salmonella spp. in Fermented Pork Sausage (Nham). <http://Plantpro.Doe.Go.Th.Worldfermentedfood/P13-Tuitemwong>. Erişim Tarihi: 22.11.2003.
17. Türk Gıda Kodeksi (2000). Et Ürünleri Tebliği. No. 2000/4
18. Türk Standardları (Turkish Standard) (1983). Türk Sucuğu (Turkish Soudjouck). TS 1070/Ekim 1983.
19. Xiong, Y.L. (1997). Structure-function relationships of muscle proteins. In: S. Damodaran & A. Paraf (Eds.), *Food proteins and their applications* (pp. 341-392). New York: Marcel Dekker.
20. Ziegler, G.R., Rizvi, S.S.H., Acton, J.C. (1987). Relationship of water content to textural characteristics, water activity, and thermal conductivity of some commercial sausages. *Journal of Food Science*, 52: 901-905, 915.

PASTIRMA ÜRETİMİNDE KRİTİK KONTROL NOKTALARININ BELİRLENMESİ VE İYİLEŞTİRME KOŞULLARININ ARAŞTIRILMASI

Gökhan İNAT*

Belgin SARİMEHMETOĞLU**

*Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı- SAMSUN
gkhaninat@yahoo.com.

**Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı- ANKARA
bsarimeh@veterinary.ankara.edu.tr

Özet

Bu çalışma, pastırma üretimi sırasında mikrobiyolojik kritik kontrol noktalarının saptanması amacıyla yapıldı. Farklı zamanlarda üretilen 40 adet pastırma, üretim prosesi boyunca (20 adet deneysel üretim ve özel bir şirkette ticari olarak 20 adet pastırma) mikrobiyolojik ve kimyasal olarak (pH ve a_w) analiz edildi. Bu amaçla, üretim prosesinin farklı aşamalarında (salamura sonrası, yıkama, baskılama, çemenleme ve kurutma işlemi), et, buy otu (*trigonella foenum graecum* L), kırmızı biber, salamurada kullanılan tuz, ekipmanlar (bıçaklar, parçalama kütükleri ve baskı makinesi) ve işçi ellerinden toplam 240 adet örnek alındı. Alınan bu örnekler aerob genel canlı (APC), laktobasil (LB), mikrokok/stafilokok (BP), koagulaz pozitif stafilokok, enterobakter (VG), koliform bakteri sayısı (CBC), *B.cereus*, enterokok (SB), *Pseudomonaceae* spp., maya/küf ve sülfid indirgeyen anaerob bakteriler yönünden analiz edildi. Analiz bulguları; yıkama, baskılama ve çemenleme işlemleri sonrasında APC sayısının, çemenleme işlemi sonrası LB, VG, SB, BP ve maya/küf sayılarının, baskılama işlemi sonrası ise CBC ve *Pseudomonaceae* spp. sayılarının yükseldiğini göstermiştir. Elde edilen veriler pastırma üretiminde baskılama ve çemenleme işlemlerinin önemli bir kontaminasyon kaynağı oluşturduğunu, işçi elleri ve parçalama kütüklerinin de diğer kontaminasyon kaynaklarını oluşturduğunu göstermektedir. Buy otu ve kırmızı biber örnekleri ise özellikle APC, BP, VG ve maya/küf açısından sekonder kontaminasyon kaynağını oluşturmaktadır. Alınan örneklerin pH ve a_w değerleri sırayla 5.37-5.91 ve 0.83-0.98 değerleri arasında olduğu saptanmıştır. Üretim presesi boyunca en düşük a_w değeri (0.83) ile APC sayısının (3.30 kob/g) kurutma işlemi sonrasında olduğu belirlenmiştir. Ticari pastırma örneklerinde a_w değerinin çemenleme işlemi sonrası 0.86'ya yükseldiği saptanmıştır. Sonuç olarak, pastırma üretimi sırasında kullanılan çiğ materyallerin (özellikle et, buy otu ve kırmızı biber) başlangıçtaki hijyenik kalitelerinin önemli olduğu ve işçi elleri ile ekipmanların da (özellikle parçalama kütüklerinin) önemli bir kontaminasyon kaynağı olduğu saptanmıştır. Özellikle çemenleme sonrası a_w değerinin istenen düzeye düşmesi için kurutma süresinin uzatılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Tüketicilere daha güvenli pastırma sunabilmek için, pastırma üretiminde saptanan bu kritik kontrol noktalarında daha sıkı hijyenik denetimlerinin yapılarak üretilmesi sağlanmalıdır.

Anahtar kelimeler : Pastırma, mikrobiyoloji, tehlike analizleri ve kritik kontrol noktaları, kontaminasyon

Abstract

DETERMINATION OF THE CRITICAL CONTROL POINTS AT THE PASTIRMA MANUFACTURING AND THE INVESTIGATION OF CURATIVE CONDITIONS

The aim of this study was to determine the microbiological critical control points (CCP) at different stages of pastirma (pastrami) manufacturing. For this purpose, 40 different pastirma manufacturing processes (20 experimental processes and 20 commercial pastirma manufacturing in one private factory) were investigated. A total of 240 samples were collected from meat, fenugreek (*trigonella foenum graecum* L), red pepper, salt used brine, at different pastirma manufacturing stages (after brined, washing, pressing, cemen, drying procedure), from equipment (knives, blocks, pressure-tool) and from hands of workers. Then, samples were analysed for aerobic plate count (APC), lactobacilli (LB), micrococci/staphylococci (BP), coagulase positive staphylococci, enterobacteriaceae (VG), coliform bacteria counts (CBC), *B. cereus*, enterococci (SB), *Pseudomonaceae* spp., mould/yeast and sulphite reducing anaerobe bacteria. At the same time, pH and a_w values were also measured at different stage of pastirma manufacturing. According to the analysed results, APC generally increased in after washing, pressing stages and cemen procedure. While LB VG, SB, BP and mould/yeast counts increased after the cemen procedure, CBC and *Pseudomonaceae* spp. counts increased after pressing stage. In addition, hands of workers and blocks were another source of contamination. Fenugreek and red pepper samples were determined as a secondary contamination source for especially APC, BP, VG and mould/yeast.

It was determined that pH and a_w values were between 5.37-5.91 and 0.83-0.98, respectively. The lowest a_w value and APC were measured as 0.83 and 3.30 cfu/g, respectively after drying procedure and then a_w value increased to 0.86 after cemen procedure for commercial pastirma samples.

In conclusion, the hygienic quality of the raw material used (especially meat, fenugreek and red pepper) and, hands of workers and the equipment (especially block) were demonstrated to be very important. Also, it should be prolonged the drying period for decreasing the a_w value to desirable level after cemen procedure. To ensure the safe pastirma product to the consumer, pastirma manufacturing must be maintained under very strict control, regarding to these critical points.

Key words : Pastirma, microbiology, critical control points, contamination

GİRİŞ

Türkiye’de üretilen et ürünleri içerisinde önemli bir yere sahip olan pastırma, kendine özgü hoş tat ve aroması nedeniyle halk arasında arzu edilerek tüketilen ulusal bir üründür.

Pastırma kelimesi “bastırmak-bastırma” kelimelerinden türetilmiş olup, Türk Standartları Enstitüsünün (1) pastırma standardında; sağlıklı kasaplık büyükbaş hayvan gövde etlerinden usulüne göre ayrılan parçaların teknolojik işlemlerden geçirilerek kurutulması ve

emenlenmesi ile elde edilen bir et ürünü şeklinde tanımlanmaktadır. Pastırmalar gerek üretim sırasında kullanılan tuzun etkisiyle, gerekse uygulanan kurutma işlemleri sonucunda, diğerk et ürünlerine oranla daha dk su aktivitesi (aw) değerklerine sahip olduğundan, orta dereceli rutubetli et ürünleri içerisinde yer alırlar (5, 9).

Değerik araştırmacılar (4, 5, 8, 11, 12) pastırmalarda üretim teknolojisi gereğeri kullanılan tuz ve kurutma işlemleri neticesinde dşen aw değerkleri sonucunda mikroorganizmaların gelişiminin baskılandığını, buna ilaveten üretimde kullanılan sarımsağın, konsantrasyonuna bağılı olarak enterobakterilerin, salmonellaların, *S. aureus*'un ve *C. perfringens* 'in gelişiminin baskılandığını bildirmektedirler.

Pastırma üretimini bugün Türkiye dışında Ermenistan, Yunanistan ve Mısır'da da yapılmaktadır. Bu ülkelerin dışında özellikle değerik Avrupa lkelerinde de üretilen, kürlenmiş ve kurutulmuş et ürünleri olarak bilinen, almanca 'da Rohschinken, İngilizce'de dry cured ham olarak adlandırılan et ürünleri de, emenleme işlemi dışında üretim teknolojisi yönünden pastırmaya benzerlik göstermektedir (9, 17)

Bu alışma, pastırma üretiminde hatalı üretim riskini minimal düzeye indirmek amacıyla üretim yapıldığı işletmedeki personel ve ekipmandan, üretimde kullanılan emen unu, kırmızı biber ve tuzdan, pastırma üretiminin değerik aşamalarında pastırmalık etten numuneler olarak mikrobiyolojik analizlerini yapmak ve pastırma üretimindeki muhtemel kritik kontrol noktalarını saptamak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

1.Pastırma Numunelerinin Alınması ve Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlanması:

Bu araştırmada Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Et nitesinde deneysel olarak üretilen 20 parti pastırmadan, üretim farklı dönemlerinde (et, salamura sonrası (48 saat), yıkama sonrası (24 saat), baskılama sonrası (48 saat), kurutma sonrası (96 saat), emenleme sonrası (72 saat) alınan 120 numune ve özel sektöre ait bir işletmede yapılan 20 parti pastırmadan, üretim farklı dönemlerinde alınan 120 numune olmak üzere toplam 240 adet numune incelendi. Bu amaçla pastırmalık etlerin uzunlamasına ve enine yapılan kesitlerinden temin edilen numuneler, aseptik koşullarda

laboratuara getirildikten sonra, steril plastik torbalara 20'şer g tartılarak üzerlerine 180 ml steril peptonlu su (0.1) ilave edilip, Stomacherde (Lab Blender 400) yaklaşık 3-5 dakika süreyle homojenize edildi.

2. Buy Otu, Kırmızı Biber ve Tuz Numuneleri:Bu çalışmada pastırma üretiminde kullanılan ve çemenin bileşimine giren buy otu, kırmızı biber ile salamura da kullanılan tuzların her birinden 10'ar adet olmak üzere toplam 30 numune alındı. Alınan numuneler aseptik koşullarda laboratuara getirildikten sonra, steril plastik torbalara 20'şer g tartılarak üzerlerine 180 ml steril peptonlu su (0.1) ilave edilip, Stomacherde (Lab Blender 400) yaklaşık 3-5 dakika süreyle homojenize edildi.

3. Alet ve Ekipmanlardan Alınan Numuneler:Bu çalışmada özel sektöre ait olan ve pastırma üretiminde kullanılan bıçak, kütük ve baskılama makinesinin her birinden 12'şer adet olmak üzere toplam 36 numune alındı. Bu amaçla bıçaklardan aseptik şartlar altında yaş swap tekniğine göre numune alınmasında 2.5 cm² lik alana sahip drigasliki çubukları kullanıldı. Parçalama kütükleri ile baskılama makinesi 25 cm² lik alanlara bölünerek aseptik şartlar altında kuru swap tekniğine göre numuneler alındı.

4. İşçi Elllerinden Alınan Numuneler:Aynı şekilde özel sektöre ait işletmenin pastırma üretiminde çalışan iki işçiden, üretimin farklı dönemlerinde olmak üzere toplam 24 numune alındı. Bu amaçla, işçilerin ellerine steril eldiven giydirilerek eldivenlerin içerisine 20 ml steril tween-80'li peptone saline solusyonu ilave edildi. Bunu takiben ovuşturularak iyice yıkandıktan sonra eldivenler dikkatlice çıkarıldı ve ağızları bağlanarak soğuk zincir altında laboratuara getirildi.

Mikrobiyolojik Analizler:Steril peptonlu su ile 10⁻⁸ 'e kadar desimal dilusyonları hazırlanan numunelerde, toplam mezofil aerob bakteri, laktobasil, milrokok/stafilokok, enterobakteri, koliform, pseodomanas ile maya ve küflerin sayımı Tablo 1'de gösterilen besiyerlerine damla plak, sülfid indigeyen anaeroblar dökme plak yöntemi ile yapıldı. Koagulaz (+) stafilokokların belirlenmesi için Baird-Parker agarda üreyen tipik ve atipik kolonilerden plazma koagulaz EDTA (DİFCO 0803-46-5) ile tüpte koagulaz test, Pseodomanasların belirlenmesi için oksidaz test (Oxidase paper, MERCK 13303) yapıldı.

Tablo 1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve İnkübasyon Koşulları

Mikroorganizma	Besiyeri	Sıcaklık	İnkübasyon Koşulları -Süre	Aerob-Anaerob
Top. Mez. Aerob bakteri	Plate Count Agar (DIFCO 0479-17-3)	30 °C	48-72 saat	Aerob
Laktobasil	MRS Agar (MERCK 10660)	30 °C	3-5 gün	Anaerob
Mikrokok/stafilokok	Baird-Parker Agar (OXOİD CM 275)	37 °C	24-48 saat	Aerob
Enterobakteri	Violet Red Bile Glukoz Agar (OXOİD CM 485)	37 °C	24-48 saat	Anaerob
Koliform	Violet Red Bile Agar (OXOİD CM 107)	37 °C	24-48 saat	Aerob
Enterokok	Slanetz-Bartley Medium (OXOİD CM377)	37 °C	24-48 saat	Aerob
Pseudomonas	Pseudomonas Agar Base (CFC Agar) (OXOİD CM 559)	30 °C	24-48 saat	Aerob
Maya-Küf	Rose Bengal Chloramphenicol Agar (OXOİD CM 549)	25 °C	4-5 gün	Aerob
Bacillus Cereus	Bacillus cereus Selective Agar base (OXOİD CM 617)	30 °C	48 saat	Aerob
Sülfid ind. Anaeroblar	Sülfite-Polymxin- Sulfadiazin Agar (DIFCO 0845-01-8)	37 °C	24-48 saat	Anaerob

Numunelerde pH ve a_w Değerlerinin Ölçülmesi:Pastırma numunelerinde pH değerleri elektronik pH metre (İngold-loT406-M6-DXX-S7-25) ile, a_w değerleri ise elektronik Novasina (Thermoconstanter, İsviçre) ile saptandı.

İstatiksel Analizler:Bu çalışmadan elde edilen mikrobiyolojik analiz bulguları logaritmik değerlere çevrildikten sonra SPSS istatiksel analiz paket programı kullanılarak istatiksel veriler elde edildi. İşlem ve yer faktörleri kullanılarak A3-A12 için iki yönlü varyans analizi (Two way anova) yapıldı. Önemlik belirlenen durumlarda her bir alt grup için tek yönlü

varyans analizi uygulanarak, Duncan testi (multiple Range test) ile farklılığı oluşturan grup yada gruplar belirlendi.

BULGULAR

Analiz bulguları çerçevesinde, Tablo 2’de görüldüğü gibi aerob genel canlı sayıları, laktobasil sayıları, enterobakteri grubu mikroorganizma sayıları, koliform grubu mikroorganizma sayıları, maya ve küf sayıları ile enterokok sayıları pastırma üretiminde kullanılan ette en yüksek değerde olduğu saptanmıştır. Stafilokok-mikrokok sayılarının çemenleme işlemi sonrası en yüksek değerde olduğu ve pseudomonas sayılarının ise baskılama işlemi sonrası sonunda en yüksek değere ulaştığı saptanmıştır. En düşük ve en yüksek pH değerleri 5.37 ve 5.91 ile pastırma üretiminde kullanılan ette saptanmıştır. İşletmede yapılan çalışmada ise Tablo 3’de görüldüğü gibi, aerob genel canlı sayıları, laktobasil sayıları, stafilokok-mikrokok sayılarının enterobakteri grubu mikroorganizma sayıları, maya ve küf sayıları ile enterokok sayıları çemenleme işlemi sonrası en yüksek değerlerde tespit edilmiştir. Koliform grubu mikroorganizmalar ile pseudomonasların sayıları baskılama işlemi sonunda en yüksek değerine ulaşmıştır. En düşük ve en yüksek pH değerleri 5.23 ve 5.97 ile yıkama işlemi sonrası ve pastırma üretiminde kullanılan ette saptanmıştır. Deneyisel çalışmada olduğu gibi en düşük a_w değeri 0.83 ile kurutma işlemi sonrası gözlenirken, en yüksek a_w değeri 0.98 ile pastırmalık ette saptanmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Pastırmalarda, dominant florayı genelde laktobasiller ile mikrokok/stafilokokların oluşturması, pastırma yapımında kullanılan tuzun diğer bakterilerin gelişimini etkilemesi ve özellikle sarımsağın Gram (-) bakteriler ile küflerin gelişimini baskılamasına karşın, laktobasiller ile mikrokok/stafilokokların yüksek tuz konsantrasyonunda gelişebilmeleri ile sarımsağın antimikrobiyal etkisini tolere edebilmelerine bağlanmaktadır (5, 7, 8).

Aerob genel canlı sayısında çemenleme sonrası çeşitli araştırmacılarında bildirdiği gibi artış görülmüş olup, bu durumu Özeren (14) pastırmanın a_w değerinde meydana gelen yükselmeye bağlarken Salama ve Khalafalla (15), kurutma sıcaklığına ve çemenin yapısına giren unsurların içerdiği mikroorganizmaların kontaminasyonuna bağlamıştır. Ayrıca üretim esnasında kullanılan alet ve ekipmanlardan; bıçak, parçalama kütükleri ve baskı makinesinden

Tablo 2. Deneysel üretim periyodu boyunca pH ve a_w değerleri ile mikroorganizmaların ($\log_{10}$ kob/g) minimum, maksimum ve ortalama sayıları

İŞLEM	NUMUNE		PCA	MRS	BP	VG	VL	CFC	RO	SB	pH	a_w
		Minimum	4.30	2.30	2.38	0*	0	2.28	3.36	2.30	5.37	0.96
Et	20	Maksimum	6.60	4.90	4.70	4.55	3.47	3.60	5.70	4.70	5.91	0.98
		Ortalama	5.41	3.46	3.59	2.86	1.89	2.81	4.50	3.48	5.69	0.97
		Minimum	3.47	2.34	2.17	0	0	0	3.25	2.00	5.46	0.95
Tuz	20	Maksimum	5.38	4.00	4.30	3.26	2.84	3.64	4.79	3.90	5.82	0.97
		Ortalama	4.46	3.03	3.09	2.04	1.67	2.25	3.71	2.59	5.65	0.96
		Minimum	4.30	2.34	2.65	0	0	2.24	3.30	2.30	5.41	0.95
Yıkama	20	Maksimum	5.84	3.90	4.53	3.46	2.47	3.60	4.84	3.55	5.88	0.96
		Ortalama	5.12	3.25	3.67	2.25	0.68	3.00	3.96	2.82	5.66	0.95
		Minimum	3.68	0	2.20	0	0	0	2.28	2.27	5.44	0.93
Baskılama	20	Maksimum	5.36	3.90	4.60	2.64	2.47	3.76	4.78	3.78	5.77	0.95
		Ortalama	4.60	3.07	3.30	1.79	0.96	2.56	3.48	2.87	5.59	0.94
		Minimum	2.47	1.80	2.16	0	0	0	1.55	0	5.41	0.83
Kurutma	20	Maksimum	4.30	3.78	3.64	2.62	0	0	3.60	2.78	5.84	0.86
		Ortalama	3.68	2.63	2.63	1.19	0	0	2.67	1.54	5.62	0.84
		Minimum	4.30	2.55	3.26	0	0	0	0	0	5.41	0.84
Çemenleme	20	Maksimum	5.84	4.70	4.78	2.79	2.60	2.38	0	3.47	5.68	0.89
		Ortalama	4.93	3.41	3.86	1.40	0.35	0.69	0	2.37	5.53	0.85

*: Saptama sınırının altında ($< \log_{10}$ 2.0 kob/g) bulunan değerler

Tablo 3. İşletmede üretim periyodu boyunca pH ve a_w değerleri ile mikroorganizmaların ($\log_{10}$ kob/g) minimum, maksimum ve ortalama sayıları

İŞLEM	NUMUNE		PCA	MRS	BP	VG	VL	CFC	RO	SB	pH	a_w
		Minimum	4.07	0*	0	0	0	0	3.25	0	5.34	0.92
Et	20	Maksimum	6.38	4.55	3.68	4.47	3.53	3.38	4.64	3.67	5.97	0.98
		Ortalama	4.99	2.56	2.42	2.36	1.42	1.46	3.85	1.81	5.73	0.96
		Minimum	3.38	0	0	0	0	0	2.34	2.41	5.37	0.93
Tuz	20	Maksimum	5.30	3.34	3.64	3.34	2.47	0	3.76	3.47	5.56	0.97
		Ortalama	4.21	1.52	2.44	1.66	0.93	0	3.21	2.83	5.45	0.96
		Minimum	4.30	2.17	2.64	0	0	0	2.98	1.70	5.23	0.94
Yıkama	20	Maksimum	5.30	3.60	3.84	3.93	2.70	2.78	3.87	2.90	5.52	0.97
		Ortalama	4.71	2.92	3.39	3.10	1.64	2.20	3.46	2.50	5.36	0.95
		Minimum	4.11	0	2.00	0	0	0	0	0	5.44	0.94
Baskılama	20	Maksimum	5.47	3.94	3.90	3.64	3.60	3.84	3.90	3.47	5.91	0.95
		Ortalama	4.80	2.85	3.15	2.76	1.80	2.22	3.08	2.47	5.78	0.94
		Minimum	3.30	2.38	2.30	0	0	0	2.34	0	5.55	0.83
Kurutma	20	Maksimum	4.78	3.90	3.30	2.47	0	0	3.80	2.78	5.96	0.86
		Ortalama	4.13	3.03	2.66	0.59	0	0	3.19	1.47	5.79	0.84
		Minimum	4.41	3.24	3.30	2.30	0	0	3.36	0	5.43	0.84
Çemenleme	20	Maksimum	6.47	4.93	4.83	4.70	2.78	2.47	4.89	3.83	5.78	0.90
		Ortalama	5.56	3.77	4.08	3.41	1.15	0.35	4.14	2.88	5.57	0.87

*: Saptama sınırının altında ($< \log_{10}$ 2.0 kob/g) bulunan değerler

alınan örneklerde $\log_{10}$ kob/cm² olarak 2,30 ile 5,30 arasında değişen düzeylerde genel canlı sayısı tespit edilmiş olup, bu durumun kontaminasyonda önemli rol üstlendiği düşünülmektedir.

Silla ve ark. (16), üretimin değişik aşamalarında yaptıkları mikrobiyolojik analizlerde, mikrokokların sayısında salamura öncesi ve sonrasında önemli derecede bir değişim olmadığını ve bunun da mikrokokların tuza dayanıklı olmalarından kaynaklandığını ve bu tip ürünlerde mikrokokların florada dominant karakter gösterdiğini bildirmektedirler. Silla ve ark. (16)'nın bulgularından farklı olarak, Katsaras ve ark. (7) salamura sonunda mikrokokların sayısında bir azalma meydana geldiğini, ancak kurutma işlemi sonunda mikrokokların sayısında tekrar yükselme olduğunu bildirmektedirler.

Yine değişik araştırmacılar (5, 16, 7, 13) yaptıkları çalışmalarda üretimin başlangıcında enterobakterilerin numunelerde bulunmasına karşın, son üründe saptama sınırlarının altında kaldığını, bunun da genelde a_w değerinin düşmesi ile sarımsağın antimikrobiyal etkisinden kaynaklandığını bildirmektedirler.

Koliform grubu mikroorganizmaların pastırma ve benzeri salamura ürünlerde üremediği birçok araştırmacı tarafından da bildirilmiş ve bu durum gerek tuzun gerekse nitritin Gram (-) bakteriler üzerine olan baskılayıcı etkisine bağlanmıştır (2, 3, 14, 15).

Marin ve ark.,(13) üretimin başlangıcında ette bulunan enterokokların, salamura işlemi sonunda dahi sayılarını muhafaza ettiklerini, ancak baskılama işleminin sonunda sayılarında azalma olduğunu, Kotzekidou ve Lazarides (8) ise, numunelerin 6 C°'de 15 hafta süreyle muhafazası sonunda dahi enterokok sayılarında bir azalma bulunmadığını bildirmekte olup, bu çalışma araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak, pastırma üretimi sırasında kullanılan çiğ materyallerin (özellikle et, buy otu ve kırmızı biber) başlangıçtaki hijyenik kalitelerinin önemli olduğu ve işçi elleri ile ekipmanların da (özellikle parçalama kütüklerinin) önemli bir kontaminasyon kaynağı olduğu saptanmıştır. Özellikle çemenleme sonrası a_w değerinin istenen düzeye düşmesi için kurutma süresinin uzatılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Tüketicilere daha güvenli pastırma sunabilmek için, pastırma üretiminde saptanan bu kritik kontrol noktalarında daha sıkı hijyenik denetimlerinin yapılarak üretilmesi sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. ANONYMOUS.: Türk Standardları Enstitüsü. Pastırma. 1983; TS 1071/Eyl.1 1983.
2. ANIL, N. (1984). Türk pastırması; Modern yapım tekniğinin geliştirilmesi ve vakumla paketlenerek saklanması. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg., 4 (1): 363-375
3. DOĞRUER, Y. (1992). Farklı tuzlama süreleri ve baskılama ağırlıklarının pastırma kalitesine etkileri üzerine araştırmalar. Doktora Tezi. Selçuk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
4. EL-KHATEIB, T., SCHMIDT, U., LEISTNER, L. (1984). Hemmung von Salmonellen und unerwünschten Schimmelpilzen durch Knoblauch bei ägyptischen Fleischerzeugnissen. Jahresbericht der BAFF, Kulmbach
5. EL-KHATEIB, T., SCHMIDT, U., LEISTNER, L. (1987). Mikrobiologische Stabilität von Türkischer pastırma. Fleischwirtsch. 67 (1): 101-105
6. EL-KHATEIB, T., SCHMIDT, U., LEISTNER, L. (1986). Inhibition of moulds on pastırma. Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung. Kulmbach. 94: 7205-7208
7. KATSARAS, K., LAUTENSCHLAGER, B.E., BOSCHKOVA, K. (1996). Das Verhalten von Mikroflora und Starterkulturen während der Pökellung, Trocknung und Lagerung von Pasterma. Fleischwirtsch. 76 (3): 308-314
8. KOTZEKIDOU, P., LAZARIDES, H. N. (1991). Mikrobial Stability and Survival of Pathogens in an Intermediate Moisture Meat Product. Lebensm. Wiss. Technol., 24: 419-423
9. LEISTNER, L. (1986). Allgemeines über Rohschinken. Fleischwirtsch. 66 (4): 496-510
10. LEISTNER, L. (1987). Shelf-stable product and intermediate moisture foods based on meat. In: Rockland, L.B. and Bouchat, L.R. (eds): "Water activity : Theory and Application to Food". Marcel Dekker, mc, New York, pp. 295-327
11. MANTİS, A.J., KARAIOANNOGLOU, P.G., SPANOS, G.P. and PANETSOS, A.G. (1978). The effect of garlic extract on food poisoning bacteria in culture media. 1. Staphylococcus aureus. Lebensm. Wiss. Technol. 11: 26-28
12. MANTİS, A.J., KARAIOANNOGLOU, P.G., SPANOS, G.P. and PANETSOS, A.G. (1979). The effect of garlic extract on food poisoning bacteria. Lebensm. Wiss. Technol. 12:330-332
13. MARİN, E.M., CARRASCOSA, V.A. UND CORNEJO, I. (1995). Risikoanalyse und Kritische Kontrollpunkte in einem der Herstellungsbetriebe für trocken gepökelte Rohschinken. Fleischwirtsch. 75 (10): 1239-1241

14. ÖZEREN, T. (1980). Pastırmanın olgunlaşması sırasında mikroflora ve bazı kimyasal niteliklerinde meydana gelen değişiklikler üzerine incelemeler. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
15. SALAMA, A.N. and KHALAFALLA, G.M. (1987). Microbiological and Chemical studies during basterma cured meats processing. Arch. Lebensmittelhyg. 38. (2): 57-61
16. SILLA, H., MOLINA, I., FLORES, J. und SILVESTRA, D. (1989). Studie über die Keimflora trocken gepökelter Schinken. I. Isolierung und Wachstum. Fleischwirtsch. 69 (7): 1177-1181
17. WIRTH, F. (1986). Zur Technologie bei rohen Pökelfleischerzeugnissen. Fleischwirtsch. 66 (4): 531-536.

VAN'DA TÜKETİME SUNULAN BALIKLARDA HAREKETLİ *AEROMONAS* TÜRLERİNİN VARLIĞI VE YAYGINLIĞI

Özgür İŞLEYİCİ¹

Yakup Can SANCAK¹

Bülent HALLAÇ²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
65080 Kampüs/VAN

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı 65080 Kampüs/VAN

e-posta: oisleyici@yyu.edu.tr, ycsancak@yyu.edu.tr, bhallac@yahoo.com

Özet

Bu araştırma, Van'da tüketime sunulan balıklarda hareketli *Aeromonas*'ların varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Bu çalışmada Van'da bulunan süpermarketlerde ve balıkçılarda satılan değişik türlere ait 50 adet balık örneğinin kas dokuları ve barsak içerikleri hareketli *Aeromonas*'ların varlığı yönünden incelenmiştir. Hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyonu Popoff (1984) tarafından verilen kriterlere göre yapılmıştır.

Çiğ balık eti örneklerinin 27 (%54.0) tanesi hareketli *Aeromonas*'lar yönünden pozitif bulunmuş, 19 (%38.0) örnekten *A. hydrophila*, 6 (%12.0) örnekten *A. cavia*, 2 (4.0%) örnekten de hem *A. hydrophila* hem de *A. caviae* birlikte izole edilmiş, hiçbir örnekte *A. sobria* tespit edilememiştir.

Çiğ balıkların barsak içeriklerinin 26 (%52.0) tanesi hareketli *Aeromonas* türleri yönünden pozitif bulunmuş, 23 (%46.0) örnekten *A. hydrophila*, 2 (%4.0) örnekten *A. cavia* ve 1 (2.0%) örnekten de *A. hydrophila* ve *A. sobria* birlikte izole edilmiştir.

Hareketli *Aeromonas* insidensi yönünden balık türleri arasında ve inci kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811), tatlı su balıkları ve deniz balıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır.

Araştırma sonucunda; Van İli'nde satılan çiğ balıkların içerdikleri hareketli *Aeromonas*'lar ile halk sağlığı yönünden potansiyel bir tehlike oluşturdukları, bu tehlikenin en az düzeye indirilebilmesi için balıkların hijyenik kontrollerinin titizlikle yapılması gerektiği, tüketicilerin de yeterli ısı işlemi uygulanması ve çapraz kontaminasyonlar gibi konularda bilgilendirilmelerinin gerekli olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Balık eti, hareketli *Aeromonas* türleri, *A. hydrophila*

Abstract
PRESENCE AND PREVALENCE OF MOTİL AEROMONAS SPECIES IN
FİSH CONSUMED IN VAN

This investigation was conducted to determine the presence and prevalence of motile *Aeromonas* species in fish consumed in Van city.

In this study; of 50 samples fish belonging to difficult species collected from supermarkets and fishmarkets in Van city and were investigated fillet and intestinal content for motile *Aeromonas* species. The isolation and identification of motile *Aeromonas* species according to criteris which was suggested by Popoff (1984) was carried out.

27 of 50 fillets (54.0%) were found to be positive in terms of motile *Aeromonas* species; 19 (38.0%) of them were *A. hydrophila*, 6 (12.0%) were *A. cavia* and was not found in any samples *A. sobria*. 2 of 50 fillet samples (4.0%) both *A. hydrophila* and *A. caviae* were determined.

26 of 50 intestinal content samples (52.0%) were found to be positive for motile *Aeromonas* species; 23 (46.0%) of them were *A. hydrophila*, 2 (4.0%) were *A. cavia*. 1 of 50 intestinal content samples (2.0%) both *A. hydrophila* and *A. sobria* were determined.

In term of motile *Aeromonas* incidence difference between fish species and Pearl Mulletts (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811), fresh water fish or sea fish was not significance statistically.

In conclusion, it constated that contaminated with motile *Aeromonas* species fish sold in Van city could be caused potential risk for public health. To minimize this risk; it must be strict control fish in respect of hygienic quality and even train consumers treatment with heat enough fish and cross contamination.

Key words : Fish meat, motile *Aeromonas* species., *A. hydrophila*

GİRİŞ

Hareketli *Aeromonas*'lar, özellikle de *A. hydrophila* son yıllarda gıda kaynaklı enteritlerin potansiyel bir sebebi olarak gittikçe daha fazla ön plana çıkmaya başlamıştır. Bu grup mikroorganizmalar; çevrede ve su kaynaklarında yaygın olarak bulunmaları, (19,25) bu ortamlardan gıdalara geçerek kontaminasyonlara neden olmaları (24,26), psikrofilik yapıları nedeniyle +4 °C'de muhafaza edilen gıdalarda çoğalabilmeleri ve bu gıdalarda rekabetçi olarak bulunan diğer psikrofilik mikroorganizmaların varlığında gelişebilme yeteneklerinden dolayı insan sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturmaktadırlar (11,32).

Hareketli *Aeromonas*'lar, midye (6) başta olmak üzere, balık (10,37,39), istiridye (1) ve karides (28) gibi deniz ürünleri ile üretimlerinin değişik aşamalarında su ile temas eden et ve et ürünleri (9,21,28,36,40), süt ve süt ürünleri (13,21) ve pastörize sıvı yumurtalar (38) gibi birçok hayvansal kökenli gıdada ve gıda işletmeleri ile kesimhane ekipmanında (14,40), bu işletmelerin temizlenmiş ve arıtılmış atık sularında (12) ve sebzelerde (26) tespit edilmişlerdir.

A. hydrophila yüksek proteolitik etkiye sahip sitotoksik ve hemolitik ekzoenzimleri ile daha çok çocuklarda ve yaşlılarda zehirlenmelere, gastroenteritis, sulu ishal, kusma, ateş ve epigastrik ağrılara neden olur (7,24). Gastroenteritis dışında, *A. hydrophila*, *A. sobria* ve *A. caviae*'nin deride oluşan yumuşak doku enfeksiyonları, septisemi, artrit, menenjit, endokardit, solunum yolları enfeksiyonları ve doğum ile ilgili jinekolojik enfeksiyonlara yol açtığı bildirilmiştir (8,15,16,27,30).

Aeromonas'lar önceleri balık patojeni olarak bilinmekteydi. Bu yüzden de *Aeromonas*'larla ilgili çalışmalar ilk olarak balıklar üzerinde yoğunlaşmıştır. *Aeromonas*'lar balıklarda furunculosis, ağız ve sırt bölgelerinde parlak-kırmızı büyük lekeler, iç organlarda hemorajiler ve böbreklerde erime tablosu gibi belirtilerle seyreden akut enfeksiyonlara ve yüksek ölümlere neden olurlar. Balıklardaki enfeksiyonlardan en fazla *A. hydrophila* türü izole edilmektedir. Çiğ balıklarda her zaman patojen mikroorganizmalar bulunabilir ve bu patojenlerin bir bölümü balıklarda normal mikrobiyolojik floranın bir kısmını oluştururken, diğer bir bölümü ise çiğ balık materyalinin işlenmesi sırasındaki kontaminasyonlardan köken alırlar. *Aeromonas*'lar, genellikle balıkların normal mikroflorasında bulunmaktadır (31,35,37,39).

Hareketli *Aeromonas* türlerinin Van ili'nde tüketilen gıdalarda bulunup bulunmadığına dair yapılan çalışmalarda; Van balığı diye bilinen inci kefalinde (5), gökkuşağı alabalıklarında (4,22) ve sığır ve koyun etlerinde (17) etkene rastlanmıştır. Bu çalışma ile son yıllarda önemli bir gıda patojeni olarak gösterilmeye başlanan hareketli *Aeromonas*'ların Van'da tüketime sunulan değişik türlere ait çiğ balık etlerinde ve barsak içeriklerinde varlığının ve yaygınlık düzeyinin ortaya konması ve halk sağlığı yönünden önemli bir risk oluşturup oluşturmadıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Van il merkezindeki balıkçı ve süpermarketlerde kış aylarında tüketime sunulan alabalık, inci kefali, istavrit, çupra, hamsi, levrek, kırlangıç, palamut, barbun ve çinekop olmak üzere 10 değişik balık türünden 5'er adet olmak üzere toplam 50 adet balık örneği toplanarak bunların kas dokuları ve barsak içerikleri hareketli *Aeromonas*'lar yönünden incelenmiştir. Aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiş ve aynı gün içinde analize alınmıştır (18).

METOT

Örneklerden hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda Popoff (33) tarafından verilen kriterler kullanılmıştır.

Zenginleştirme Aşaması

Örneklerin derileri bir bistüri ile aseptik koşullarda kesilip kaldırılarak alttaki kas dokusundan steril penslerle steril stomacher torbalarına 25'er gr alınmış ve 225 ml %0.1'lik APW (Alkali Pepton Water, pH=8.4-8.6) ilave edilerek stomacherde (IUL Masticator) 2 dakika homojenize edilmiştir. Aynı örneklerin barsak içeriğinden de steril aplikatörler kullanılarak swap alınmış ve bu swaplar içlerinde 10 ml %0.1'lik APW bulunan steril tüplere konulmuştur. Homojenizatlar ve tüpler 28 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İzolasyon Aşaması

Zenginleştirme homojenizatlarından *Aeromonas* Selective Agar'a (*Aeromonas* Agar Base (Oxoid CM833)+*Aeromonas* Selective Supplement (Oxoid SR136E)) bir öze dolusu alınarak çizme yöntemiyle ekimleri yapılmış ve petri plakları 28 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda plaklarda üreyen ortası koyu yeşil düğmeli yeşil renkli koloniler *Aeromonas* şüpheli koloniler olarak kabul edilmiştir. Bu petrilere seçilen şüpheli 5 koloni, biyokimyasal testleri yapılmak üzere Trypton Soy Agar'a (Oxoid CM131) geçilmiş ve burada 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Gram negatif, oksidaz pozitif, katalaz pozitif, SIM Medium'da (Oxoid CM435) 35 °C'de 18-24 saat inkübasyon sonunda hareketli, vibriostatik ajan 0/129'a (2,4-diamino-6,7-diisopropyl-pteridine) (Sigma D-0656) dirençli, NaCl

ıçermeyen Nutrient Broth'da üreyen, %6 NaCl içeren Nutrient Broth'da üremeyen ve Dnase Agar'da (Oxoid CM321) pozitif reaksiyon veren koloniler hareketli *Aeromonas*'lar olarak değerdendirilmiştir.

İdentifikasyon Aşaması

Hareketli *Aeromonas* olarak belirlenen költürlere Tablo 1.'de verilen testler uygulanarak tür identifikasyonu yapılmıştır.

Tablo 1 : Hareketli *Aeromonas* Türlerinin İdentifikasyonunda Uygulanan Biyokimyasal Testler (Popoff (33) ile Holt ve ark. (20)'dan modifiye edilmiştir).

Biyokimyasal Testler	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>	<i>A. caviae</i>
Eskulin hidrolizi	+	-	+
KCN buyonda üreme	+	-	+
Salisin fermentasyonu	+	-	+
Arabinoz fermentasyonu	+	-	+
İndol testi	+	+	+
D-Glukozdan gaz oluşumu	+	-	-
Sisteinden H ₂ S oluşumu	+	-	-

Referans Suşlar

Araştırmada kullanılan *A. hydrophila* ATCC 7512 referans suşu A.Ü. Veteriner Faköltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı költür koleksiyonundan temin edilmiştir.

İstatistiksel değerdendirme: Gruplar arası farkın öneminin belirlenmesinde korelasyon analizleri kullanılmıştır (2).

Bulgular

İncelenen 50 adet çiğ balık kas örneğinin 27 tanesi (%54.0) hareketli *Aeromonas* türleri yönünden pozitif bulunmuştur. Örneklerin 19 tanesinden (%38.0) *A. hydrophila*, 6 tanesinden (%12.0) *A. cavia* izole edilmiş, *A. sobria* saptanamamıştır. 2 örnekte hem *A. hydrophila* hemde *A. caviae* bulunmuştur (Tablo 2, Şekil 1).

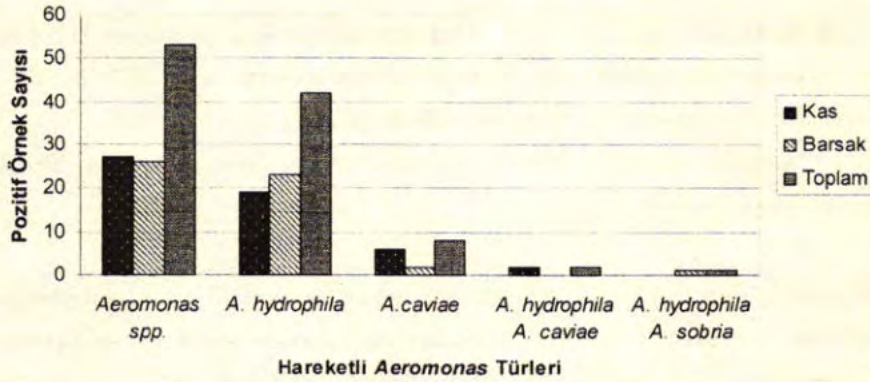
50 adet çiğ balık barsak içeriğinin 26 tanesi (%52.0) hareketli *Aeromonas* türleri yönünden pozitif bulunmuştur. Örneklerin 23 tanesinden (%46.0) *A. hydrophila* ve 2 tanesinde de

(%4.0) *A. caviae* (Tablo 2). 1 (2.0%) örnekte de *A. hydrophila* ve *A. sobria* birlikte izole edilmiştir (Tablo 2, Şekil 1).

Tablo 2. Balıklardan izole edilen hareketli *Aeromonas* türleri

Örnek Çeşidi	Örnek Sayısı	<i>Aeromonas</i> spp.	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. caviae</i>	<i>A. hydrophila A. caviae</i>	<i>A. hydrophila A. sobria</i>
	n	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Kas	50	27 (54.0)	19 (38.0)	6 (12.0)	2 (4.0)	0
Barsak	50	26 (52.0)	23 (46.0)	2 (4.0)	0	1 (2.0)
Toplam	100	53 (53.0)	42 (42.0)	8 (8.0)	2 (4.0)	1 (2.0)

Şekil 1. Balık kas ve barsak içeriğinde Hareketli *Aeromonas* türlerinin dağılımı



Yapılan istatistiksel analizlerde; *Aeromonas* türleri ve izolasyon oranları bakımından balık türleri arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Ayrıca deniz balıkları, balık çiftliklerinden sağlanan balıklar ve Van Gölü'nden elde edilen inci kefalı (*Chalcalburnus tarichii pallas* (1876) arasındaki farklar da istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma sonucunda çiğ balık kas örneklerinde tespit edilen hareketli *Aeromonas* izolasyon oranı (%54.0) Popovic ve ark. (34) tarafından tatlı su balıklarında (%7.67) elde edilen izolasyon oranından daha yüksek olmasına karşılık, Wang ve Silva (39) tarafından Kanal Kedi balıklarında bulunan orandan (%69.0) daha düşüktür.

Popović ve ark. (34) yapmış oldukları bir çalışmada, Hırvatistan'da tatlı su balıklarında, 339 örneğin 26(%7.67)'sından *A. hydrophila* izole etmişlerdir.

Wang ve Silva (39), üç balık işleme tesisinden aldıkları 238 adet Kanal Kedi Balığı örneğinde üzerinde yaptıkları bir çalışmada, %82.7 oranında hareketli *Aeromonas* izole etmişler, örneklerde %36.1 *A. hydrophila*, %35.7 *A. sobria* ve %10.9 *A. caviae* bulmuşlardır. Araştırmacılar kontaminasyon düzeyinin yaz aylarında diğer aylara göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Boulanger ve ark. (3) sağlıklı ve ölmek üzere olan balıklardan toplam 21 adet *Aeromonas* spp. izole ettiklerini, ölü balıklardan elde ettikleri 13 izolatu *A. hydrophila* olarak, sağlıklı balıklardan izole ettikleri 8 izolatu ise *A. sobria* olarak tanımladılar.

Balık etlerinde hareketli *Aeromonas*'ların varlığı üzerinde yapılan çalışmaların birçoğunda (3,34,39) bu çalışmanın bulgularıyla da uyumlu bir şekilde dominant tür olarak *A. hydrophila* izole edilmiştir ve araştırmacılar, çiğ balık etlerinin hareketli *Aeromonas* türleri açısından önemli bir bulaşma kaynağı olduğunu ve gıda enfeksiyonları yönünden bir risk oluşturabileceklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada çiğ balıkların barsak içeriklerinde tespit edilen hareketli *Aeromonas* izolasyon oranı (%52.0) Boynukara ve ark. (5) tarafından kış aylarında İnci kefalinde belirlenen izolasyon oranından (%12.0) ve Kırkocaeli (22) tarafından alabalıklardan elde edilen izolasyon oranından (%20.0) daha yüksek olmasına karşılık, yine Boynukara ve ark. (5) tarafından yaz aylarında İnci kefalinde belirlenen izolasyon oranından (%80) ve Boynukara ve ark. (4) tarafından Gökkuşağı alabalıklarında bulunan orandan (%78.0) daha düşüktür.

Boynukara ve ark. (5), Van Gölü'nde yaşayan lokal bir balık türü olan İnci kefalinde yapmış oldukları bir çalışmada piyasadan satın aldıkları 100 adet balığın bağırsak içeriğinde yaz ve kış mevsimlerinde hareketli *Aeromonas*'ların varlığını araştırmışlar, ocak ayında yaptıkları analizlerde %12 hareketli *Aeromonas* spp. izole etmişler ve bunların %16.6'sını *A. hydrophila*, %33.3'ünü *A. caviae*, %50.17'sini de *A. sobria* olarak tanımlamışlardır. Haziran ayında ise örneklerin %80'inden hareketli *Aeromonas* türlerini izole etmişler ve bunların %35'ini *A. hydrophila*, %40'ını *A. caviae*, %25'ini de *A. sobria* olarak tanımlamışlardır.

Yine bir başka çalışmada Boynukara ve ark., (4) Van'da bulunan balık üretme çiftliklerinden topladıkları 38 sağlıklı ve 12 hasta gökkuşağı alabalığından toplam 39 tane hareketli

Aeromonas suşu izole etmişler, bunların %89.7'sinin *A. sobria*, %7.7'sinin *A. caviae* ve %2.6'sinin da *A. hydrophila* olduğunu bildirmişlerdir. Hasta balıkların tümünde *A. sobria* izole edilmiştir.

Körkoca (22) piyasadan topladığı 50 adet alabalığın barsak içeriğinde 10 adet (%20.0) hareketli *Aeromonas* spp. tespit etmiş, örneklerin 14'ünde (%28.0) *A. sobria*, 5'inde (%10.0) *A. caviae*, 4'ünde de *A. hydrophila* bulmuştur.

Bu çalışmada; balık barsak içeriklerinden elde edilen izolatların büyük oranda Lallier ve Higgins (23) ile Noterdaeme ve ark. (29) gibi araştırmacıların bulgularıyla da uyumlu olarak *A. hydrophila*'dan oluştuğu belirlenmiştir. Ancak Boynukara ve ark. (4,5) ve Körkoca (22) çalıştıkları balık barsak içeriklerinde dominant tür olarak *A. sobria*'yı belirlemişlerdir. Hareketli *Aeromonas*'ların izolasyon oranlarındaki ve izole edilen türlerdeki farklılıklar, diğer bazı araştırmacıların aldıkları örneklerin sadece kültür balıkçılığı yapılan işletmelere ait olmasından ve hareketli *Aeromonas*'ların kültür balıklarında daha fazla yayılabilmesinden, örneklerin alındığı yerlerin, örnek tiplerinin ve seçilen örnekleme tekniğinin aynı olmamasından kaynaklanabilir.

Balık etlerinde hareketli *Aeromonas* kontaminasyonu kırmızı et yada diğer hayvansal kökenli gıdalardan daha fazladır. Bunun en büyük nedeni ise etkenin sularda fazla miktarda bulunması ve balık ve diğer deniz ürünlerine kolayca bulaşabilmesidir. Diğer taraftan balıklar tüketilmelerine kadar geçen süre içinde ve şoklanarak dondurulup muhafaza edilmeleri esnasında da hareketli *Aeromonas*'larla kontamine olabilirler. Bu mikroorganizmaların soğukta üreyebilme yeteneklerinden dolayı diğer birçok mikroorganizmaya göre ortamda daha fazla canlı kalabilmeleri, soğuk zincirde muhafazanın bozulduğu durumlarda hemen ortamda çoğalarak floraya hakim olmaları nedeniyle kontaminasyon daha da tehlikeli bir hal almaktadır (1,10,11, 21,23, 24,32).

Bu araştırma sonucunda balıkların kaslarında ve barsak içeriklerinde bulunan hareketli *Aeromonas* türlerinin oranları ve tür düzeyinde dağılımlarında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Hem kaslarda hemde barsak içeriklerinden elde edilen izolasyon oranları birbirine yakındır ve baskın tür *A. hydrophila*'dır. Örneklerde yüksek oranlarda hareketli *Aeromonas*'lara özellikle *A. hydrophila*'ya rastlanması piyasada satılan balıkların çiğ yada

tam pişirilmeden tüketilmesiyle veya çapraz kontaminasyon gibi nedenlerle insan sağlığı için tehlikeli olabileceğini göstermektedir.

Bu nedenle, hareketli *Aeromonas*'lardan kaynaklanabilecek potansiyel sağlık risklerini önlemek için; üretim ve satış sırasında gerekli hijyenik tedbirlerin alınması, gıda işletmelerinde kullanılan ve hareketli *Aeromonas*'ların potansiyel bir kaynağı olan suların güvenilir ve hijyenik olması, gıdaları tüketirken çapraz kontaminasyonların önlenmesi, tüketilecek gıdalara yeterli ısı işleminin uygulanması, üretilen ve satışa sunulan gıdaların kontrollerinin yeterli bir şekilde yapılması ve özellikle personel ve işletme hijyenine önem verilmesinin gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Abeyta CJR, Charles AK, Wekell MM, Sullivan JJ and Stelma GN (1986): Recovery of *Aeromonas hydrophila* From Oysters Implicated in an Outbreak of Foodborne Illness. *J. Food Prot.* 49, (8): 643-646.
2. Akgül A (1997): Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri, SPSS Uygulamaları. YÖK Matbaası, Ankara.
3. Boulanger Y, Lallier R, Cousineau G (1977): Isolation of Enterotoxigenic *Aeromonas* From Fish. *Can. J. Microbiol.* 23: 1161-1164.
4. Boynukara B, Bıyık H, Gülhan T, Gürtürk K, Ögün E ve Akan M (1998): The Prevalence and the Frequency of Motile *Aeromonads* in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Farming Stations in Van. *Bulletin of Pure and Applied Science.* 17, (1): 23-26.
5. Boynukara B, Gürtürk K, İlhan Z, Gülhan T, Ögün E, Ekin İH (1998): Van Gölü'nde Yaşayan *Chalacoburnus tarichi* Balıklarından İzole Edilen *Aeromonas*'ların Görülme Sıklığı. *Van Tıp Derg.* 5, (4): 239-242.
6. Çetinkaya B, Şeker E, Karahan M (2000): Midyelerde Mezofilik *Aeromonas* Türlerinin İzolasyonu ve Cytotoxic Enterotoxin Geninin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile Saptanması. *Vet. Mik. Kongresi*, 2000, Ankara.
7. Demerta A, Tonolla M, Caminada AP, Beretta M, Peduzzi R (2000): Epidemiological Relationships Between *Aeromonas* Strains Isolated From Symptomatic Children and Household Environments as Determined by Ribotyping. *European J. of Epidemiology.* 16: 447-453.
8. Dionisio D, Belli A, Dionisio A, Poggiali G, Corradini S, Pierotti P, Menci R, Favi P, and Mecocci L (1992): Appendicitis: Microbial Interactions and New Pathogens. *Recenti Prog. Med.* 83, (6): 330-336.
9. Encinas JP, Gonzalez CJ, Garcia-Lopez ML and Otero A (1999): Numbers and Species of Motile *Aeromonads* During the Manufacture of Naturally Contaminated Spanish Fermented Sausages (Longaniza and Chorizo). *J. Food Prot.* 62, (9):1045-1049.
10. Escarpulli GC, Figueras MJ, Arreola GA, Soler L, Rendon EF, Aparicio GO, Guarro J, Chacón MR (2002): Characterisation of *Aeromonas* spp. Isolated From Frozen Fish Intended for Human Consumption in Mexico. *Int. J. of Food Microbiol.* 2612 (In Published).
11. Falcao JP, Dias AMG, Correa EF, Falcao DP (2002): Microbiological Quality of Ice Used to Refrigerate Foods. *Food Microbiol.* 19: 269-276.
12. Fong KPY, Tan HM (2000): Isolation of a Microbial Consortium From Activated Sludge for the Biological Treatment of Food Waste. *World J. Microbiology&Biotechnology.* 16: 441-443.
13. Freitas AC, Nunes MP, Milhomen AM, Ricciardi ID (1993): Occurrence and Characterization of *Aeromonas* Species in Pasteurized Milk and White Cheese in Rio de Janeiro, Brasil. *J. Food Protec.* 56: 62-65.
14. Gill CO, Baker LP, Janes T (1999): Identification of Inadequately Cleaned Equipment Used in a Sheep Carcass Breaking Process. *J. Food Prot.* 62, (6): 637-643.
15. Goncalves JR, Brum G, Fernandes A, Biscia I, Correia MJ and Bastardo T (1992): *Aeromonas hydrophila* Fulminant Pneumonia in a Fit Young Man. *Thorax.* 47, (6): 482-483.

16. Grobusch MP, Göbels K, Teichmann D (2001): Cellulitis and Septicemia Caused by *Aeromonas hydrophila* Acquired at Home. *Infection*. 29, (2): 109-110.
17. Hallaç B (2004): Van'da Tüketime Sunulan Sığır ve Koyun Etlerinde Hareketli *Aeromonas* Türlerinin Varlığı ve Yaygınlığının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Ens. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, VAN.
18. Harrigan WF (1998): Other Pathogenic and Toxigenic Bacteria. *Laboratory Methods in Food Microbiology*. 3 rd ed. pp: 205-206. Academic Press Limited. London.
19. Hiriart MM, Vidal YL, Rojas GC, Leon SP, C., A (2001): *Helicobacter pylori* and Other Enteric Bacteria in Freshwater Environments in Mexico City. *Archives of Medical Research*. 32: 458-467.
20. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staly JT, Williams ST (1994): Genus *Aeromonas*. pp:190-191. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9 th ed. Williams and Wilkins., Baltimore.
21. İbrahim A, McRae IC (1991): Incidence of *Aeromonas* and *Listeria* spp. in Red Meat and Milk Samples in Brisbane, Australia. *Int. J. Food Microbiol.* 12, (2-3): 263-269.
22. Körkoca H (2001): Tavuk, Martı ve Gökkuşluğu (*Oncorhynchus mykiss*) Dışkılarından İzole Edilen Hareketli *Aeromonas* Türleri ve SDS-Page Yöntemi İle Protein Profillerinin Tespiti. Yüksek Lisans Tezi, Y.Y.Ü. Sağ. Bil. Ens. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, VAN.
23. Lallier R, Higgins R (1988): Biochemical and Toxigenic Characteristics of *Aeromonas* spp. Isolated From Diseased Mammals, Moribund and Healthy Fish. *Veterinary Microbiology*. 18: 63-71.
24. Martins LM, Marquez RF, Yano T (2002): Incidence of Toxic *Aeromonas* Isolated From Food and Human Infection. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 32: 237-242.
25. Massa S, Altieri D, D'Angela A (2001): The Occurrence of *Aeromonas* spp. in Natural Mineral Water and Well Water. *Int. J. Food Mic.* 63: 169-173.
26. McMahon MAS, Wilson IG (2001): The Occurrence of Enteric Pathogens and *Aeromonas* Species in Organic Vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 70: 155-162.
27. Moses AE, Leibergal M, Rahav G, Perouansky M, Or R, Shapiro M (1995): *Aeromonas hydrophila* Myonecrosis Accompanying Mucormycosis Five Years After Bone Marrow Transplantation. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 14, (3): 237-240.
28. Neyts K, Notebaert M, Uyttendaele M, Debevere J (2000): Modification of the bile salts-Irgasan-Brilliant Green Agar for Enumeration of *Aeromonas* Species From Food. *Int. J. Food Microbiology*. 57: 211-218.
29. Noterdaeme L, Bigawa S, Willems KA, Ollevier F (1991): Biochemical and Physiological Characteristics and Plasmid Profiles of *Aeromonas hydrophila* Strains, Isolated from Freshwater Fish and From Freshwater. *J. Fish Disease*. 14: 313-321.
30. Ong KR, Sordillo E, Frankel E (1991): Unusual Case of *Aeromonas hydrophila* endocarditis. *J. Clin. Microbiol.* 29: 1056-1057.
31. Palumbo S, Abeyta C, Stelma G (1992): *Aeromonas hydrophila* Group. Chapter 30, in: "Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods, 3rd Ed." Editörs. Carl Vanderzant PhD, Don F Splittstoesser PhD. American Public Health Association. America.
32. Papageorgiou DK, Melas DS, Abraham A, Koutsoumanis K (2003): Growth and Survival of *Aeromonas hydrophila* in Rice Pudding (Milk Rice) During its Storage at 4 °C and 12 °C. *Food Microbiology*. 20: 385-390.
33. Popoff M (1984). Genus III. *Aeromonas*. Kluyver and Van Niel 1936, 398, 545-548, in: N.R Krieg and J.G. Holt (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, I, Williams and Wilkins, Baltimore.
34. Popović NT, Teskeredžić E, Perović IS, Rakovac RČ (2000): *Aeromonas hydrophila* Isolated From Wild Freshwater Fish in Croatia. *Veterinary Research Communications*. 24: 371-377.
35. Roberts RJ, Shepherd CJ (1986): Bacterial Diseases. *Handbook of Trout and Salmon Diseases*. 2 nd Ed. pp. :116-119. Great Britain at the Alden Press, Oxford.
36. Sachan N, Agarwall RK (2000): Selective Enrichment Broth for the Isolation of *Aeromonas* spp. From Chicken Meat. *Int. J. Food Mic.* 60: 65-74.
37. Sharma DK, Barman NN, Sharma R, Rahman T, Boro BR (1990): Isolation of *Aeromonas hydrophila* from Fishes with Ulcerative Lesions. *Indian J. Anim. Science*. 60, (12): 1514-1516.
38. Schuman JD, Sheldon BW, Foegeding PM (1997): Thermal Resistance of *Aeromonas hydrophila* in Liquid Whole Egg. *J. Food Prot.* 60, (3): 231-236.
39. Wang Ç, Silva JL (1999): Prevalence and Characteristics of *Aeromonas* Species Isolated From Processed Channel Catfish. *J. Food Prot.* 62, (1): 30-34.
40. Yu S-L, Palumbo SA (2000): Enumeration of *Aeromonas* for Verification of the Hygienic Adequacy of Swine Carcass Dressing Processes. *J. Food Safety*. 20, (1): 43-52.

EUGENOL' ÜN 4 °C' DE MUHAFAZA EDİLEN SOSLU ÇİĞ BALIK FİLETOLARININ RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

Ö.Pelin BOZKURT, Ali ARSLAN, Pınar ÖZDEMİR, Işıl AYDIN

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilimdalı / ELAZIĞ

Özet

Bu çalışmada; sosa ilave edilen eugenolün çİğ balık filetolarının raf ömrü üzerindeki etkisi (mikrobiyal ve kimyasal) incelendi. Hazırlanan sos 4 gruba ayrıldı. Biri kontrol, diğer 3 gruptan birine % 0.5 (A), birine % 1.0 (B) ve birine de % 1.5 (C) eugenol ilave edildi. Filetolar 4 °C' de 6 saat bu soslarda bekletildikten sonra aseptik şartlar altında vakumla ambalajlandı. Muhafazanın 0.,7.,14.,28.,42.,56.,70.,84. ve 98. günlerinde filetoların mikrobiyolojik (mezofil aerob bakteri, mezofil anaerob bakteri, koliform grubu bakteri, maya ve küf sayısı) ve kimyasal (pH, aw ve TVB-N) analizleri yapıldı. Kontrol grubu muhafazanın 42. gününde, eugenollü grupların ise 98. günde bozulduğu tespit edildi. İstatistiksel olarak kontrol grubu ve eugenol içeren gruplar arasındaki fark önemli bulunurken ($p<0.05$), eugenol konsantrasyonları arasındaki fark önemli bulunmadı ($p>0.05$).

Abstract

THE EFFECT OF EUGENOLE ON THE SHELF LIFE OF RAW FISH FILLETS SAUCED STORED AT 4 °C

In the present study, the effect of different concentrations of eugenole added to a sauce containing different spices on the microbiological and chemical changes during the storage of raw *Cyprinus carpio* L. filets was investigated. 0.5 % (A), 1.0 % (B) and 1.5 % (C) eugenole were added to the prepared sauce, than filets were exposed to the sauce for 6 hours at 4 °C and were vacuum packaged under aseptic conditions. Microbiological (mesophilic aerobic bacteria, mesophilic anaerobic bacteria, coliform bacteria, yeast and mould counts) and chemical (pH, aw and TVB-N) analysis were carried out at the 0.,7.,14.,28.,42.,56.,70.,84. and 98. days of the storage. Spoilation was observed at 42th day in control group and at 98th day of the storage in eugenole added groups. The statistical analysis of the results showed that there was a significant difference between the control group and eugenole added group ($p < 0.05$), but there was not a significant difference among the eugenole concentrations ($p > 0.05$).

GİRİŞ

Dünya nüfusunun sürekli artmasına karşın, hayvansal protein kaynaklarının düzenli bir şekilde artmaması, kişi başına düşen hayvansal protein açığını büyük boyutlara ulaştırmaktadır. Günümüzde hayvansal protein açığının giderilmesinde denizler ve iç sular büyük önem taşımaktadır. Balık yetiştiriciliği diğer hayvan ürünlerine göre ekonomik yönden fazla sorun yaratmaz. Deniz, göl, gölet, baraj, nehir ve çay gibi yerlerde kendiliğinden çoğalır ve gelişir (1). Ülkemiz, coğrafi yapısı ve iklim koşulları dikkate alındığında, deniz ve iç sularımız çeşitli su ürünlerinin yetiştirilmesine ve geliştirilmesine imkan verecek kaynaklara sahiptir. Ancak bu kaynaklardan yeterli düzeyde faydalanıldığı söylenemez (5). Beslenme bilgisi yetersizliği, balık işleme, depolama, pazarlama ve taşıma sistemlerindeki eksiklikler nedeniyle ülkemizde yeterli miktarda balık tüketilmemektedir. Balığın, daha kolay taşınan ve muhafaza edilen, daha uzun süre dayanabilen, tüketici albenisini kazanmış ve tüketime hazır bir ürüne dönüştürülmesiyle tüketimi arttırılabilir.

İç sularımızda üretilen ve avlanan balık türlerinin en önemli ve yaygın olanlarından biri aynalı sazandır. İstatistiksel bilgilere göre dünyada iç su balık üretiminin yaklaşık olarak % 5' ini sazangiller (*Cyprinidae*) oluşturmaktadır. Aynalı saz balığı ülkemizin hemen hemen her yöresinde bulunur (8).

Eugenol esansiyel yağ olup, karanfilden ekstrakte edilmiştir. Ayrıca insan sağlığı üzerine olumsuz etki göstermediği ve Avrupa Birliği tarafından gıda katkı maddesi olarak kullanımına müsaade edildiği bilinmektedir(3). Doğal bir madde olan eugenol düşük konsantrasyonlarda aroma ve lezzet üzerine de etkili olabilmektedir. Gıda bileşenleri ve diğer katkı maddeleri ile sinerjistik etki gösterdiği bilinmektedir. Örneğin NaCl ile esansiyel yağların sinerjistik etki gösterdiği vurgulanmıştır(10). Sos içerisindeki doğal katkı maddeleri ile etkisinin artabileceği belirtilmektedir(3). Ayrıca vakumla paketlemenin de esansiyel yağların etkisini arttırdığı bilinmektedir(3).

GEREÇ VE YÖNTEM

Filetoların hazırlanması ve soslama işlemi

Bu araştırmada, ağırlıkları yaklaşık 10 kg olan aynalı sazan balıkları (*Cyprinus carpio* L.) kullanıldı. Balıklar, Elazığ'da satışa sunulan balık pazarından temin edildi. Taze balıklar laboratuara getirilerek hemen filetoları çıkarıldı. Elde edilen filetolar suyla yıkandı ve yaklaşık 10x10 cm ebatlarda parçalara bölünerek soslama işlemine hazır hale getirildi. Bu işlemler 3 kez tekrar edildi.

Aşağıdaki tabloda bileşimi verilen sos kullanıldı. Soslamada balık ağırlığının % 20'si oranında sos kullanıldı. Hazırlanan sos 4 gruba ayrıldı. Biri kontrol, diğer 3 gruptan birine % 0.5 (A), birine % 1.0 (B) ve birine de % 1.5 (C) eugenol ilave edildi. Filetolar 4 °C' de 6 saat bu soslarda bekletildikten sonra aseptik şartlar altında vakumla ambalajlandı.

Sosun bileşimi	Miktarı	Oranı(%)
Domates salçası	200 g	20
Limon suyu	200 ml	20
Ayçiçek yağı	200 ml	20
Sarımsak konsantresi	100 g	10
Kırmızı biber	10 g	1
Kekik	10 g	1
Kara biber	10 g	1
Tuz	30 g	3
Su	240 ml	24

Kimyasal Analizler

a.pH Tayini

Örneklerin pH değerleri, pH metre (EDT . GP 353) ile saptandı.

b.a_w Tayini

Örneklerin a_w değerleri, su aktivitesi tayin cihazı (TESTO – 400) ile ölçüldü.

c.Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB- N) Tayini

Örneklerdeki TVB-N miktarının belirlenmesinde, Varlık ve ark.'nın (11) bildirdiği yöntem uygulandı. Buna göre; homojenize edilmiş örneğe magnezyumoksit ilavesinden sonra su buharı destilasyonu ile uçucu bazların ayrımı yapıldı. Ayrılan bazlar Tashiro indikatörü eşliğinde 0.1 N HCl ile titre edilerek örneklerin TVB-N miktarları hesaplandı.

Mikrobiyolojik Analizler

a.Örneklerin Analizlere Hazırlanması

Aseptik şartlar altında, parçalayıcının (Stomacher 400) özel torbasında 10 g tartılarak ve üzerine 90 ml % 0,1' lik pepton water ilave edilerek homojenize edildi. Böylece 10^{-1} ' lik seyreltisi hazırlandı. Sonrada aynı seyrelticiyi kullanılarak diğer alt seyreltileri hazırlandı. Aşağıda verilen besi yerlerine ekim yapılarak, uygun ısı derecelerinde bekletilerek, 30 ile 300 arasında koloni içeren plaklar değerlendirildi.

b. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayımı

Bu amaçla plate count agar (Oxoid CM 325) besi yeri kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 35 ± 1 °C' de 48 saat inkübe edilerek koloniler sayıldı (6).

c.Maya Sayımı

Örneklerdeki maya sayımı için wort agar (Merck 1.10130) besi yeri kullanıldı. Plaklar 30 ± 1 °C' de 5 gün inkübe edilerek oluşan koloniler sayıldı.

d. Küf Sayımı

Örneklerdeki küf sayımı için sabouraud dextrose agar kullanıldı. Plaklar 30 ± 1 °C' de 5 gün inkübe edilerek oluşan koloniler sayıldı.

e. Toplam Mezofil Anaerob Bakteri Sayımı

Toplam mezofil anaerob mikroorganizma sayımı için brewer agar (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 30 ± 1 °C' de anaerob şartlarda 3 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler sayıldı (6).

f. Toplam Koliform Bakteri Sayımı

Toplam koliform grubu mikroorganizmaların sayımı violet red bile agar da yapıldı. Plaklar 30 ± 1 °C'de 24 saat inkübe edilip oluşan koloniler sayıldı.

İstatistiksel Analizler

SAS paket programı ile gruplar arası ve grup içi dönemler arasındaki farklılığın önem derecesi incelendi.

BULGULAR

Örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları tablo 1'de, kimyasal analiz sonuçları tablo 2'de verilmiştir. Mikroorganizma sayıları log10kob/g olarak verilmiştir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi mezofil aerob bakteri sayısı 0. günde 4,84 iken 7. günde ise 5,30 olarak saptanmıştır. Muhafazanın 42. gününe kadar sürekli artarak 8,58 değerine ulaşmıştır. A, B ve C grubunda 0. ve 7. günlerde mezofil aerob bakteri sayısı sırasıyla 4,62-4,61, 3,96,- 4,20 ve 3,84-4,10 olup 98. güne kadar sürekli artış göstererek 7,45, 5,92 ve 5,70 değerlerine ulaşmıştır. İstatistiksel olarak kontrol grubu ile A, B ve C grubu arasındaki fark önemli bulunurken, A, B ve C grupları arasındaki fark önemli bulunmamıştır (Tablo 1).

Koliform grubu bakteri sayısı kontrol grubunda 0. günde 3,89 olup, sürekli bir artış gösterip 42. günde 6,22 ye ulaşmıştır. A grubunda 0. günde 3,63 olan değer 84. günde 2,86' ye kadar düşüş göstermiş ve 98. günde 3,21 değerine yükselmiştir B grubunda ise 0. günde 3,46 olan

değer 70. günde 2,93 değerine düşmüş ve 98. günde 3,00 değerine yükselmiştir. C grubunda 2,88 olan 0. gün değeri, 98. günde 2,86 değerine kadar düşmüştür (Tablo 1).

Maya ve küf sayısı 0. günlerde sırası ile; kontrol grubunda 4,48 – 4,43, A grubunda 4,60 – 4,81, B grubunda 5,12 – 4,87 ve C grubunda da 3,88 – 3,83 olup, kontrol grubunda sürekli bir artış gözlenirken, A, B ve C gruplarında dalgalanma söz konusudur. Gruplar arasında istatistiksel bakımdan önemli bir fark gözlenmemiştir (Tablo 1).

Mezofil anaerob bakteri sayısı 0. günde kontrol grubunda 2,77 olan değer sürekli artış göstererek 42. günde 6,94 değerine yükselmiştir. 0. günde A grubunda 3,64, B grubunda 2,48 ve C grubunda 2,28 olan değerler 98. güne kadar sabit bir artış göstermemiştir. 42. günde kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur (Tablo 1).

pH değeri; tüm gruplarda dalgalanma göstermiştir. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında 42. güne kadar fark olup; bu değerler kontrol grubunda 6,40, A grubunda 4,91, B grubunda 4,65 ve C grubunda 4,82'dir. 42. günden sonra A, B ve C grubunda fark gözlenmemiştir. 98. günde A, B ve C gruplarındaki değerler sırasıyla 5,16, 5,02 ve 4,83'dür (Tablo2).

TVB-N miktarı; 42. günde kontrol grubunda 44,8 mg/100g iken, A grubunda 15,4 mg/100g, B grubunda 14 mg/100g ve C grubunda 18 mg/100g olarak saptanmıştır. A, B ve C gruplarında günler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir. 42. günde kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark önemli olup, A, B ve C grupları arasındaki fark 42. günden 98. güne kadar önemli değildir (Tablo 2).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Son zamanlarda; tüketicilerin mikrobiyel kalitesi iyi olan taze, katkısız ve doğal gıdalara talepleri artmıştır. Organik asitler ve aromatik bileşikler gibi doğal antimikrobiyel maddelerin gıda endüstrisinde kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Esansiyel yağların antibakteriyel etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır(2,4,7,11). Esansiyel yağlar mikroorganizmaların sitoplasmik membranın permeabilitesini artırarak hücrelerin ölümüne yol açmaktadır(9).

Yapılan bir çalışmada thymol, eugenol, menthol ve anathol' ün *S. Typhimurium*, *S. aureus* ve *V. parahaemolyticus* üzerine olan etkilerine bakılmış ve eugenolün diğerlerinden daha etkili olduğu bulunmuştur(4).

Yapılan taramalarda eugenolün balık etlerinin raf ömrü üzerine olan etkisiyle (duyusal, mikrobiyolojik vb.) ilgili olarak herhangi bir kaynağa rastlanmamıştır. Çalışmada kontrol grubunun 42. günde eugenollü grupların 98. günde bozulduğu, ancak raf ömrü bakımından eugenol konsantrasyonları arasında bir farkın olmadığı tespit edildi. Bu sonuçlar eugenolün antimikrobiyal etkisinin % 0.5 veya daha düşük konsantrasyonlarda olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak; eugenolün çiğ balık etlerinin raf ömrünü artırdığı tespit edildi.

Kaynaklar

- 1) Arslan A. (2002). Et muayenesi ve et ürünleri teknolojisi. Medipres Yayıncılık.
- 2) 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
- 3) Burt S.(2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology* 94 :223– 2
- 4) Farag R.S, Daw Z, Hewedi F.M, El-Baroty G.S.A.(1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection* 52 (9): 665– 667.
- 5) Gürel İnanlı A. (2003). Tuzlanmış ve potasyum Sorbat Uygulanmış Alabalık Filetolarının Raf Ömrü ile Sorbat kalıntılarının İncelenmesi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi
- 6) Harrigan W, McCance M. (1976). *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. Academic Press
- 7) Kalembe D, Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10: 813-829.
- 8) Korkmaz Ş. Sazan Yetiştiriciliği. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü
- 9) Mejhlholm O, Dalgaard P. (2002). Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology* 34, 27– 31
- 10) Ouattara B, Simard R.E, Holley R.A, Piette G.J.-P, Be'gin A.(1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils. *International Journal of Food Microbiology* 37, 155– 162.
- 11) Varlık C, Uğur M, Gökoğlu N ve Gün H. (1993). Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri. *Gıda Teknolojisi Dergisi* (17)

Tablo 1. +4 °C' de Muhafaza Edilen Soslu Balık Filetolarının Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

Mikroorganizma Türü (log10ob/g)	Örnek tipi	Muhafaza süresi (gün)									
		0	7	14	28	42	56	70	84	98	
Mezofil aerob genel canlı sayısı	Kontrol	4,84 ^{c,z}	5,30 ^{bc,z}	6,43 ^{b,z}	6,11 ^{b,z}	8,58 ^{a,z}					
	A	4,62 ^{b,z}	4,61 ^{b,z}	5,29 ^{b,z}	5,49 ^{b,z}	5,41 ^{b,y}	5,54 ^{b,z}	5,63 ^{b,z}	6,45 ^{a,z}	7,45 ^{a,z}	
	B	3,96 ^{b,z}	4,20 ^{b,z}	4,80 ^{ab,y}	5,02 ^{ab,z}	4,67 ^{ab,y}	5,10 ^{ab,z}	4,79 ^{ab,z}	5,74 ^{a,z}	5,92 ^{a,z}	
	C	3,84 ^{b,z}	4,10 ^{b,z}	4,71 ^{ab,y}	5,59 ^{a,z}	4,76 ^{a,y}	5,56 ^{a,z}	5,58 ^{a,z}	5,80 ^{a,z}	5,70 ^{a,z}	
Mezofil anaerob genel canlı sayısı	Kontrol	2,77 ^{c,z,y}	5,87 ^{bc,z}	5,84 ^{bc,z}	6,67 ^{abc,z}	6,94 ^{ac,z}					
	A	3,64 ^{c,z}	4,63 ^{bc,y}	4,85 ^{b,z}	4,77 ^{b,y}	5,46 ^{ab,y}	5,73 ^{ab,z}	5,70 ^{ab,z}	6,03 ^{a,z}	5,89 ^{a,z}	
	B	2,48 ^{c,y}	4,07 ^{b,y}	4,91 ^{ab,z}	5,92 ^{a,z,y}	5,43 ^{a,y}	5,75 ^{a,z}	5,90 ^{a,z}	5,60 ^{a,z}	5,79 ^{a,z}	
	C	2,28 ^{c,y}	3,84 ^{b,y}	3,61 ^{b,y}	4,92 ^{ab,y}	4,74 ^{a,y}	4,93 ^{a,z}	5,09 ^{a,z}	4,89 ^{a,y}	4,93 ^{a,z}	
Koliform sayısı	Kontrol	3,89 ^{b,z}	4,04 ^{b,z}	5,30 ^{a,z}	5,79 ^{a,z}	6,22 ^{a,z}					
	A	3,63 ^{a,z}	3,46 ^{a,z}	3,92 ^{a,y}	3,47 ^{a,y}	3,28 ^{a,y}	2,85 ^{b,z}	2,81 ^{b,z}	2,86 ^{b,z}	3,21 ^{a,z}	
	B	3,46 ^{a,z}	3,91 ^{a,z}	3,89 ^{a,y}	3,73 ^{a,y}	2,76 ^{b,y}	2,97 ^{b,z}	2,93 ^{b,z}	3,04 ^{a,z}	3,00 ^{a,z}	
	C	2,88 ^{b,z}	3,78 ^{a,z}	3,20 ^{a,y}	3,94 ^{a,y}	3,43 ^{a,y}	3,49 ^{a,z}	3,37 ^{a,z}	2,68 ^{b,z}	2,86 ^{b,z}	
Maya sayısı	Kontrol	4,48 ^{a,z}	4,46 ^{a,z}	4,98 ^{a,z}	5,00 ^{a,z}	5,18 ^{a,z}					
	A	4,60 ^{b,z}	4,84 ^{b,z}	4,94 ^{b,z}	5,39 ^{b,z}	4,79 ^{b,z}	5,34 ^{b,z}	5,81 ^{a,z}	6,84 ^{a,z}	5,99 ^{a,z}	
	B	5,12 ^{ab,z}	5,12 ^{ab,z}	4,90 ^{ab,z}	4,74 ^{ab,z}	4,79 ^{ab,z}	4,72 ^{b,z}	5,16 ^{ab,z}	5,67 ^{ab,z}	5,90 ^{a,z}	
	C	3,88 ^{b,y}	4,09 ^{b,z}	4,70 ^{ab,z}	4,72 ^{ab,z}	5,04 ^{ab,z}	4,90 ^{ab,z}	5,75 ^{a,z}	5,10 ^{ab,y}	5,03 ^{ab,z}	
Küf sayısı	Kontrol	4,43 ^{a,z}	4,78 ^{a,z}	4,80 ^{a,z}	5,12 ^{a,z}	5,37 ^{a,z}					
	A	4,81 ^{a,z}	4,90 ^{a,z}	5,62 ^{a,z}	4,99 ^{a,z}	5,15 ^{a,z}	4,86 ^{a,z}	4,68 ^{a,z}	4,62 ^{a,z}	4,59 ^{a,z}	
	B	4,87 ^{a,z}	4,91 ^{a,z}	4,83 ^{a,z}	4,97 ^{a,z}	4,85 ^{a,z}	4,89 ^{a,z}	4,81 ^{a,z}	4,73 ^{a,z}	4,79 ^{a,z}	
	C	3,83 ^{b,z}	4,07 ^{b,z}	3,73 ^{b,y}	5,46 ^{a,z}	4,61 ^{ab,z}	4,81 ^{ab,z}	4,73 ^{ab,z}	4,85 ^{ab,z}	4,89 ^{ab,z}	

A: % 0,5 eugenol B: % 1 eugenol C: % 1,5 eugenol
a, b, c :sıra Z, y : sütun

Tablo 2. +4 °C' de Muhafaza Edilen Soslu Balık Filetolarının Kimyasal Analiz Bulguları

Kimyasal analiz değerleri	Örnek tipi	Muhafaza süresi (gün)									
		0	7	14	28	42	56	70	84	98	
pH	Kontrol	6,23 ^{a,z}	6,45 ^{a,z}	6,32 ^{a,z}	6,41 ^{a,z}	6,40 ^{a,z}					
	A	5,33 ^{a,y}	5,54 ^{a,y}	5,28 ^{a,y}	5,12 ^{a,y}	4,91 ^{a,y}	5,18 ^{a,z}	5,22 ^{a,z}	5,46 ^{a,z}	5,16 ^{a,z}	
	B	5,31 ^{ab,y}	5,26 ^{ab,y}	5,68 ^{a,z}	5,03 ^{ab,y}	4,65 ^{b,y}	5,15 ^{ab,z}	4,86 ^{ab,z}	5,14 ^{ab,z}	5,02 ^{ab,z}	
	C	5,70 ^{ab,z}	5,33 ^{ab,y}	5,94 ^{a,z}	5,22 ^{ab,y}	4,82 ^{b,y}	4,87 ^{b,z}	5,06 ^{ab,z}	5,13 ^{ab,z}	4,83 ^{b,z}	
TVB-N	Kontrol	12,6 ^{b,z}	19,6 ^{ab,z}	25,2 ^{ab,z}	36,4 ^{ab,z}	44,8 ^{a,z}					
	A	8,4 ^{b,z}	15,4 ^{a,z}	15,4 ^{a,z}	15,4 ^{a,z}	15,4 ^{a,y}	18,2 ^{a,z}	19,2 ^{a,z}	25 ^{a,z}	37 ^{a,z}	
	B	7 ^{a,z}	8 ^{a,z}	9 ^{a,z}	15 ^{a,z}	14 ^{a,y}	15 ^{a,z}	21 ^{a,z}	19 ^{a,z}	30 ^{a,z}	
	C	8 ^{b,z}	16 ^{b,z}	18 ^{a,z}	23 ^{a,z}	18 ^{a,y}	16 ^{b,z}	20 ^{a,z}	20 ^{a,z}	42 ^{a,z}	

A: % 0,5 eugenol B: % 1 eugenol C: % 1,5 eugenol

a, b :sıra z, y : sütun

ERZURUM BÖLGESİNDE TÜKETİME SUNULAN SÜT VE ÜRÜNLERİNİN AFLATOKSİN M₁ YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Mustafa ATASEVER¹

Mustafa NİZAMLIOĞLU²

Korhan ÖZTURAN³

Yakup KARAKAYA¹

Cemal ÜNSAL³

¹ Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum

² Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya

³ 9 ncü Kor. "A" Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı, Erzurum.

Özet

Bu çalışmada Erzurum'daki muhtelif satış yerlerinde halka satışa sunulan süt ve süt ürünleri örnekleri AFM₁ yönünden incelenmiştir.

Çalışmada Erzurum yöresinden toplam 500 örnekte AFM₁ analizi yapılmıştır. Aflatoksin varlığının saptanmasında ELISA tekniği kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda incelenen toplam 500 süt ve süt ürünleri örneğinden, 388 (% 77.6) adedinde AFM₁ tespit edilmiş ve örneklerin 112 (% 22.4) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde AFM₁ tespit edilememiştir. Örneklerin 94 (% 18.8) adedinde ise AFM₁ miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır.

Süt ve süt ürünlerindeki AFM₁ miktarının minimum düzeylerde tutulabilmesi için, modern üretim teknikleri uygulanmalı, süt hayvanlarına verilen yemlerin depolanma koşulları uygun hale getirilmeli, gerekli kontroller yapılmalı ve süt üreticileri bu konuda bilinçlendirilmelidir. Gıda maddeleri her aşamada aflatoksin yönünden analiz edilmeli, tolerans limitleri ülkemiz için kabul edilen sınırların üzerinde olanların tüketimine izin verilmemelidir. Yem ve besinlerde küf bulaşmasını ve dolayısıyla aflatoksin oluşumunu önlemek için etkili, ekonomik ve uygulanabilir kimyasal maddelerin araştırılması ve bunların uygulanması gibi saha çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Aflatoksin M₁, Süt, Süt Ürünleri, ELISA

Abstract

IDENTIFICATION OF AFLATOXIN M₁ IN MILK AND MILK PRODUCTS CONSUMED IN ERZURUM

In this study, the milk and milk product samples, purchased from markets and shops in Erzurum were analyzed for the presence of AFM₁. The analysis for AFM₁ was conducted on a total 500 samples. ELISA method was utilized for the detection for aflatoxin.

As a result, it was found that AFM₁ was detected in 388 (77.6%) of the 500 samples. The amount of AFM₁ detected 94 samples (% 18.8) was higher than amount permitted by the Turkish Food Codex. The results were discussed in light of the literature.

To achieve minimum levels of AFM₁ in milk and milk products, modern production techniques should be employed. the animal feed storage conditions should be well-maintained and inspected, milk producers should be well-informed. Food items should be analyzed for the presence of aflatoxin at every level, the consumption of the ones that contain aflatoxin in amounts higher than the tolerable limits valid in our country should no be permitted. In order to prevent mould growth, and consequently, forming of aflatoxin on animal feed and food, effective, economical and applicable chemical materials should be researched and field investigations should be conducted for confirmation of the applications.

Keywords: Aflatoxin M₁, Milk, Milk Product, ELISA

GİRİŞ

Aflatoksinler, özellikle *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* olmak üzere, diğer bazı *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Rhizopus* türleri (Tablo 1.) tarafından uygun sıcaklık ve rutubet koşullarında sentezlenen ikincil fungal metabolitlerdir (8,11,21,39).

Mikotoksinlerden en yaygın olanı aflatoksindir. Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus paraciticus* ile bazı *Penicillium* ve *Rhizopus* türleri tarafından sentezlenebilmektedir. İnsan ve hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmelere neden olan aflatoksinler, aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ olmak üzere başlıca altı ana bileşikten oluşurlar. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, *Aspergillus nomius*'un aflatoksin üreten 3. suş olduğu ortaya konmuştur (11,25,37,39).

Tablo 1. Aflatoksinler ve Bunları Sentezleyen K f Türleri

Fungus Türleri	Aflatoksinler			
	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
A. flavus	+	+	+	+
A. flavus var. Columnaris		+		
A. oryzae	+	+		
A. parasiticus	+	+	+	+
A. parasiticus var. Globosus	+	+	+	+
A. niger	+			
A. ventii	+			
A. ruber	+			
A. ostianus	+	+		
A. ochraceus	+			
P. variable	+			
P. puberulum	+	+	+	+
P. citrinum	+			
P. frequentas	+			

Aflatoksinler; karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkileri yanında, ısı uygulamalarına karşı dirençli olmaları, insan ve hayvanlarda tehlike yaratmaları nedeniyle önem taşımaktadırlar (15,38,44).

Aflatoksin sentezleyen toksijenik *Aspergillus* k fleri, bütün dünya da yaygın olarak bulunurlar. Bu küfler  evre sıcaklığının 25  C civarında olduğu ortamlar ile a_w değeri 0.80 ve üzerinde olan bütün ürünlerde üreyebilirler. *Aspergillus* soyuna bağlı k f türleri Tablo 2'de gösterilen ortamlarda rahatlıkla gelişerek aflatoksin sentezleyebilirler (10,20).

Tablo 2. *Aspergillus* Soyuna Bağlı Küflerin Bazı Gelişme Değerleri

Sıcaklık	10-45 � C
a_w	0.80 ve üzeri
pH	1.6-9.3
Relatif rutubet	% 60 ve �zeri

Süt ve ürünlerinin aflatoksin ile kirlenmeleri coğrafi bölgelere, ülkelere ve mevsimlere göre farklılıklar göstermektedir. AFM₁ ile kontaminasyon oranları, sıcak veya soğuk mevsimlere göre de değişmektedir. Çünkü bahar ve yaz mevsiminde  ayır, mera, ot, kaba yem  e itleri ki  mevsimine göre daha bol miktarda bulunmaktadır. Buna bağlı olarak hayvanların toksinsiz yemlerle beslenmeleri sonucu, sütleri ile aflatoksin atmaları azalmakta ve tamamen kaybolmaktadır. Dolayısıyla bu sütle yapılan süt  r nlerinde AFM₁ seviyesi saptanmayacak düzeylere düşmektedir (9,29,30,47). Hindistan'da yapılan bir çalışmada köylerde ve şehirlerde beslenen hayvanların sütlerindeki AFM₁ miktarı analiz edilmiş ve AFM₁ konsantrasyonun en fazla şehirlerde beslenen hayvanlarda ortaya çıktığı bildirilmiştir (42). Tablo 3.'de bazı peynir örneklerinde tespit edilen AFM₁ miktarları gösterilmektedir.

Tablo 3. Bazı Peynir Örneklerinde Tespit Edilen AFM₁ Miktarları

Peynir Çeşidi	Ülke	Örnek sayısı	AFM ₁ 'in gözlenme oranı (%)	Miktar (ng/kg)	Referans
Peynir	İtalya	50	% 8	50-100	Finoli ve ark (12)
Teleme peynir	Yunanistan	94	-	-	Zerfiridis (48)
Peynir	ABD	118	% 6.8	100-1000	Truckness and Page (43)
Beyaz ve otlu peynir	Türkiye	50	-	-	Kıvanç (24)
Küflü peynir	Türkiye	140	-	-	Özkalp (28)
Peynir	Japonya	303	% 14.5	200-1200	Tabata ve ark (40)
Parmesan	İtalya	200	% 9	35-190	Barbieri ve ark (6)
Peynir	İspanya	35	% 44.7	20-200	Barrios ve ark (7)
İvriz peyniri	Türkiye	30	-	-	Gürbüz ve ark (18)
Tulum peyniri	Türkiye	45	-	-	Gürbüz ve ark (18)
Küflü tul. pey.	Türkiye	75	-	-	Gürbüz ve ark (18)
Beyaz peynir	Türkiye	50	-	-	Kardeş (23)
Kaşar	Türkiye	50	-	-	Kardeş (23)
Eritme peyniri	Türkiye	50	-	-	Kardeş (23)
Beyaz peynir	Türkiye	57	% 12.28	>250	Oruç ve Sonal (27)
Kaşar peyniri	Türkiye	125	% 32.55	10-740	Günşen ve Büyükyörük (16)
Beyaz peynir	Türkiye	110	% 91.8	10-2000	Seyrek (36)
Çeşitli peynir türleri	Türkiye	63	% 44	7-202	Gürses ve ark (19)
Çeşitli peynir türleri	Türkiye	300	% 2	>250	Yaroğlu (45)
Civil peyniri	Türkiye	50	% 6	50-332	Başkaya ve Atasever (8)
Beyaz peynir	Türkiye	100	% 27	>250	Sarımehmetoğlu ve ark (34)
Tulum peyniri	Türkiye	100	% 24	>250	Sarımehmetoğlu ve ark (34)
Kaşar peyniri	Türkiye	100	% 34	>250	Sarımehmetoğlu ve ark (34)
İşlenmiş peynir	Türkiye	100	% 25	>250	Sarımehmetoğlu ve ark (34)
Otlu peynir	Türkiye	60	% 86.7	16-726	Tekinşen ve Tekinşen (41)

- : Tespit edilemediği bildirilmiştir

Süt ve ürünlerinde, aflatoksinlerin tespit edilmesi amacıyla çeşitli yöntemler (örn, TLC, HPLC ve ELISA) kullanılmaktadır. Analizlerde farklı yöntemlerin kullanılması, yöntemlerin duyarlılık derecelerinin farklı olması da aflatoksinlerin saptanma seviyelerinde farklı sonuçlar elde edilmesine neden olabilmektedir (35).

MATERYAL VE METOD

Materyal

Bu çalışmada Eylül 2004-Nisan 2006 tarihleri arasında Erzurum'da muhtelif satış yerlerinde halka satışa sunulan 70 adet beyaz peynir, 60 adet kaşar peyniri, 63 adet eritme peyniri, 127 adet çiğ süt, 60 adet yoğurt, 60 adet ayran ve 60 adet tereyağı olmak üzere toplam 500 süt ve süt ürünleri örneği numune olarak kullanılmıştır.

Metod

Numunelerden yaklaşık 200'er g örnekler, numaralandırılarak steril stomacher poşetlerinde, ortalama 4 °C'lik ısıda muhafaza edilerek toplanmıştır.

Bu çalışmada aflatoksin M₁ analizi için ELISA yöntemi kullanılmıştır (2) (r- biofarm RIDASCREEN Aflatoksin M₁ test kitleri ile çalışılmıştır). Peynir çeşitleri, süt, yoğurt, ayran ve tereyağı için kullanılan yöntemler aşağıdaki gibidir.

Örneklerin Hazırlanması

Peynirler

Kullanılacak örnek likit ilavesi yapmadan, çok küçük parçalara ayrılarak homojenize edildi. 2 g iyice parçalanmış ve ezilmiş peynir tartıldı. Stomacher torbasına veya cam bir kaba alınarak üzerine 40 ml diklorometan ilave edildi. Stomacherde 2 d veya cam bir kapta 15 d çalkalamak suretiyle karıştırıldı. Oluşan süspansiyon filtre edilerek zayıf azot gazı altında 60 °C'de 10 ml ekstrakt elde edilinceye kadar evapore edildi. Takiben yağlı kalıntı 0.5 ml metanol, 0.5 ml PBS buffer ve 1 ml heptane ilavesiyle karıştırılıp çözüldü. Çözüntü 2700 devirde 15 °C'de 15 d soğutmalı santrifüj ile santrifüj edilip, üstteki heptan tabakası tamamen atılarak, pastör pipeti yardımıyla metanol-sulu faz kısmı dikkatlice alındı ve bu fazdan 100 µl çekilerek, 400 µl buffer ilave edilerek içerik % 10'a getirildi. Bu sıvıdan her göz için 100 µl kullanıldı.

Süt

Süt örneklerinin yağını almak için santrifüj edildi (3500 devir /10 d / 10 °C). Santrifüjden sonra, üstteki krema tabakası pastör pipeti ile çekilerek alındı. Ayrılmış süt (= yağsız supernatant) testte direkt olarak kullanıldı (her kuyucuğa 100 µl).

Yoğurt ve Ayran

1 kısım numune alınarak, 9 kısım PBS buffer ile karıştırılarak homojenize edildi. Numunelerin yağını almak için santrifüj edildi (3500 devir /10 d / 10 °C). Santrifüjden sonra, üstteki yağ tabakası pastör pipeti ile çekilerek alındı. Numunenin nötr olması için pH kontrol edildi. Ayrılmış numune (= yağsız supernatant) testte direkt olarak kullanıldı (her kuyucuğa 100 µl).

Tereyağı

5 g tereyağı alınarak 37 °C'de eritildi ve üzerine 25 ml % 70'lik metanol katıldı. Karışım yağın erime noktasına kadar ısıtıldı. Bu karışım 10 d çalkalandı ve -10 °C'de 10 d 3000 devirde santrifüj edildi (Soğutmalı santrifüj yoksa, numune buzdolabında bir süre bekletildikten sonra 15-20 d santrifüj edilir). Karışımın üst kısmı berrak olmadığı zaman, 110-125 nolu Whatman kağıdı ile filtre edildi. Bu basamaktan sonra diğer ürünlerden farklı olarak kolondan geçirme işlemine geçildi. Yukarıdaki şekilde hazırlanan ekstraktan 5 ml alındı, üzerine 15 ml distile su ile 2 ml PBS buffer ilave edildi. Kullanılan kolon 2 ml distile su ile yıkanarak kalibre edildi. Kolon yaklaşık 1 ml numune ekstraktı ile dolduruldu. Uygun adaptör kolonun üstüne takılarak, şırınga numune haznesi olarak kullanıldı. Şırınga, kalan numune ekstraktı ile dolduruldu. Numune ekstraktı, kolondan saniyede 1 damla akış hızı ile geçirildi ve geçen solüsyon dışarı atıldı. Kolon 10 ml distile su ile yıkandı. Geriye kalan bütün bufferin kolondan uzaklaştırılması için birkaç ml hava geçirildi ve şırınga ile hafif vakum sağlanarak 10 saniye kadar emilime tabi tutuldu. Şırınga çıkarılarak, kolonun altına direkt olarak ağız kapanabilir tüp yerleştirildi. Bundan sonra aflatoksinin tamamen elde edilebilmesi için 0.5 ml metanol, kolondan saniyede 1 damla akış hızı olacak şekilde yavaşça geçirildi. Kolonda hiçbir şey kalmaması için tekrar hava geçirilerek 30 saniye kadar vakum yapıldı. Teste geçmeden önce elüent 1+9 oranında dilüe edildi. Yani 100 µl elüent + 900 µl buffer 1 ile karıştırıldı ve testte 100 µl kullanıldı.

Test Prosedürü

Standartlar ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter kuyucuk pleyte yerleştirildi. Standart ve örnek pozisyonları bir kenara not edildi. Standart solüsyonlardan ve hazırlanmış örnekten 100 µl alınıp kuyucuklara ilave edildi. Oda ısısında, karanlık ortamda 60 d inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklardaki sıvı dışarı boşaltıldı. Kuyucuklar 250 µl distile su ile yıkanarak tekrar boşaltıldı ve aynı işlem 1 kez daha tekrar edildi. Kuyucuklara 100 µl dilüe edilmiş enzim konjugat ilave edildi ve oda ısısında tekrar 60 d inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra kuyucuklardaki sıvı boşatılarak tekrar 2 kez yıkama işlemi yapıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen ilave edilerek iyice karıştırıldı ve 30 d oda ısısında karanlıkta inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda, her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu koyularak iyice karıştırıldı ve absorbansı 450 nm'de ELISA okuyucu ile okundu.

Sonuçlar hesaplanırken kalibrasyon eğrisi üzerinden elde edilen konsantrasyonlar dilusyon faktörleri ile çarpıldı.

Dilasyon Faktörleri

Süt :	1
Peynir:	10
Yoğurt:	10
Ayran:	10
Tereyağı:	5

BULGULAR VE TARTIŞMA

Tablo 4.'de numunelerde tespit edilen AFM₁ miktarları gösterilmektedir.

Tablo 4. Numunelerdeki Aflatoksin M₁ miktarları *

Numune	Numune sayısı	ELISA cihazında tespit edilebilir limitlerin** altındaki numune sayısı ve oranı	Aflatoksin belirlenen numune sayısı ve oranı	Türk Gıda Kodeksine göre limitleri aşan numune sayısı ve oranı
Beyaz Peynir	70	12 (% 17.14)	58 (% 82.86)	19 (% 27.14)
Kaşar Peyniri	60	11 (% 18.33)	49 (% 81.67)	20 (% 33.33)
Eritme Peyniri	63	11 (% 17.46)	52 (% 82.54)	12 (% 19.04)
Süt	127	54 (% 42.51)	73 (% 57.49)	14 (% 11.02)
Yoğurt	60	7 (% 11.66)	53 (% 88.34)	12 (% 20)
Ayran	60	8 (% 13.33)	52 (% 86.67)	9 (% 15)
Tereyağı	60	9 (% 15)	51 (% 85)	8 (% 13.33)
Toplam	500	112 (%22.4)	388 (% 77.6)	94 (% 18.8)

*: ng/ kg

**.:ELISA yöntemi ve cihazında: peynir çeşitleri için 50 ng/ kg (ppt) ve altı. süt ve diğer süt ürünleri için ise 5 ng/ kg ve altı değerler minimum tespit edilebilir limitler olarak kabul edilmektedir.

Çalışmada Erzurum yöresinden toplam 500 süt ve süt ürünleri numunesi toplanarak, AFM₁ yönünden analiz edilmiştir. Numunelerin 388 (% 77.60) adedinde AFM₁ tespit edilmiş, 112 (% 22.60) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde AFM₁ tespit edilememiştir. Numunelerin 94 (% 18.80) adedinde ise AFM₁ miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların (bu değer süt, yoğurt, ayran ve tereyağında 50 ng/kg iken, peynir ve çeşitlerinde 250 ng/kg' dır) üzerinde olduğu saptanmıştır.

Türkiye’de ve dünyanın çeşitli ülkelerinde ELISA yöntemi kullanılarak, süt ve süt ürünlerinde AFM₁ tespiti için birçok çalışma yapılmış (3,14,17,26) ve bu çalışmada olduğu gibi AFM₁ mevcudiyeti yönünde benzer sonuçlar alınmıştır.

Çalışmada 70 beyaz peynir, 60 kaşar peyniri, 63 eritme peyniri, 127 süt, 60 yoğurt, 60 ayran ve 60 tereyağı numunesi AFM₁ varlığı yönünden incelenmiştir. Numunelerde Türk Gıda Kodeksi’nde belirtilen limitleri aşan numune yüzdesi beyaz peynir, kaşar peyniri, eritme peyniri, süt, yoğurt, ayran ve tereyağı sırasıyla; % 27.14, % 33.33, % 19.04, % 11.02, % 20, % 15 ve % 13.33’tür. Bütün numunelerde limiti aşan yüzde ise % 18.80 dir. Bu değerler dikkate alındığında çalışma; Ayçiçek ve ark (3), Günşen ve Büyükyörük (17), Garrido ve ark (14),’ın yaptıkları araştırmalara benzerlik göstermektedir. Çalışma sonuçları; Galvano ve ark (13), Oruç ve Sonal (27), Roussi ve ark (32), Yaroğlu (45), Martins ve Martins (26), Yaroğlu ve ark (46), Ayçiçeği ve ark (4), Başkaya ve Atasever (8)’in yaptıkları araştırmalara göre daha yüksektir. Sonuçlar; Sarımeahmetoğlu (33), Günşen ve Büyükyörük (16), Bakırcı (5), Rastogi ve ark (31), Kamkar (22), Akdemir ve Altıntaş (1), Sarımeahmetoğlu ve ark (34), Tekinşen ve Tekinşen (41)’in yaptıkları araştırmalara göre ise daha düşüktür. Çalışmada tespit edilen AFM₁ miktarının, yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Belirlenen AFM₁ miktarının yüksek seviyelerde olması, sağlık açısından endişe vericidir. Süt ve süt ürünlerinin hijyenik olmayan ortamlarda hazırlanması ve üretilen ürünlerin uygun koşullarda muhafaza edilmemesi, AFM₁ miktarının yüksek seviyelerde çıkmasına sebep olabilir.

SONUÇ

Halk sağlığının korunması açısından yemlerde aflatoksin oluşumunun önlenmesi çok önemlidir. Çünkü kontamine olmuş yemlerin süt hayvanları tarafından tüketilmesinden sonraki çabalarla (örn, kontamine olmuş ürünün içerdiği aflatoksinin bisülfidlerle muamele, ultraviyole ışığına maruz bırakma, bazı yöntemlerle parçalama) etkili olumlu sonuçlar almak zordur. Ayrıca bu tip işlemler hem pahalı ve hem de tüketime sunulacak ürünler üzerinde bir takım olumsuz etkilere sahiptir. Dolayısıyla, sütlerde oluşan AFM₁ miktarının minumuma indirilmesinin en kolay ve kestirme yolu, yemlerde AFB₁ oluşumunu engellemekten geçmektedir. Bunun için de, birçok ülkede olduğu gibi, süt hayvanlarına verilen yemlerin iyi

kontrol edilmesi ve yemlerde bulunmasına izin verilen AFB₁ miktarının daha aşağılara düşürülmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Akdemir Ç, Altıntaş A (2004) Ankara'da işlenen sütlerde Aflatoxin M₁ varlığının ve Düzeylerinin HPLC ile araştırılması. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 51, 175-179
2. Anon (2002) Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M₁ in milk and milk products. Immunolab GmbH, darmstadt, 1-6, Germany
3. Ayçiçek H, Yarsan E, Sarımehtemioğlu B, Çakmak Ö (2002) Aflatoxin M₁ in white cheese and butter consumed in İstanbul, Turkey. Vet Hum Toxicol, 44 (5), 295-296
4. Ayçiçek H, Aksoy A, Saygı S (2005) Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. Food Control, 16, 263-266
5. Bakırcı İ (2001) A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and milk products produced in Van province of Turkey. Food Control, 12, 47-51
6. Barbieri G, Bergamini C, Ori E, Reska P (1994) Aflatoxin M₁ in parmesan cheese: HPLC determination, Journal of Food Science, 56 (6), 1313-1331
7. Barrios MJ, Gualda MJ, Cabanas JM, Medina LM, Jordano R (1996) Occurrence of aflatoxin M₁ in cheeses from the South Spain, Journal of Food Protection, 59, 898-900
8. Başkaya R, Atasever M (2005) Erzurum bölgesindeki civil peynirlerinde AFM₁ düzeylerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, İTÜ, 23-24 Mayıs 2005, İstanbul
9. Blanco JL, Dominguez L, Gomez-Lucia E, Arayzabal JFF, Garcia JA, Suarez G (1988) Presence of Aflatoxin M₁ in commercial Ultra-High-Temperature-Treated milk, Applied and Environmental Microbiology, 54 (6), 1622-1623
10. Concon JM (1998) Contaminants and additives In" Food Toxicology", 667-743
11. D'Mello JPF, Macdonald AMC (1997) Mycotoxins, Animal Feed Science Technology, 69, 155-166
12. Finoli CA, Bellavita VM, Cerruti G (1996) Sula presenza di aflatoxina M₁ in latte a derivati, Latte Latticini Conserve Anim, 8 (9), 611-625
13. Galvano F, Galofaro V, Ritieni A, Bognanno M, De Angelis A and Galvano G (2001) Survey of the occurrence of aflatoxin M₁ in dairy products marketed in Italy: second year of observation. Food Additives and Contaminants, 18 (7), 644-646
14. Garrido NS, Iha MH, Santos Ortolani MR and Duarte Favaro RM (2003) Occurrence of aflatoxins M₁ and M₂ in milk commercialized in Ribeirao Preto-SP, Brazil, Food Additives and Contaminants, 20 (1), 70-73
15. Govaris A, Roussi V, Koidis PA, Botsoglou NA (2001) Distribution and stability of aflatoxin M₁ during processing, ripening and storage of Telemes cheese, Food Additives and Contaminants, 5, 437-443
16. Günşen U, Büyükyörük İ (2001) Piyasadan temin edilen taze kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ile Aflatoxin M₁ Düzeylerinin Belirlenmesi, Türk J Vet Anim Sci, 27, 821-825
17. Günşen U, Büyükyörük İ (2002) Aflatoxins in Retail Food Products in Bursa, Turkey. Vet Hum Toxicol, 44 (5), 289-290
18. Gürbüz Ü, Nizamhoğlu M, Nizamhoğlu F, Dinç İ, Doğruer Y (1999) Bazı Et, Süt Ürünleri ile Baharatlarda Aflatoxin B₁ ve M₁ Aranması, Veterinarium, 10, 34-41
19. Gürses M, Erdoğan A, Çetin B (2004) Erzurum ilinde satılan bazı peynir çeşitlerinde Aflatoxin M₁ varlığı, Türk J Vet Anim Sci, 28, 527-530
20. Jay JM (1992) Other proved and suspected foodborne agents: Mycotoxins. "Modern Food Microbiology, 4th edition", published by Van Nostrand Reinhold, 641-651, New York
21. Jecfa (1998) Forty-ninth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Safety evaluation of certain Food Additives and Contaminants, Food Additives Series 40, Geneva
22. Kamkar A (2004) A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk produced in Sarab city of Iran, Food Control, xxx (2004)xxx-xxx
23. Kardeş E (2000) Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklere alınan peynirlerde aflatoxin B₁ ve M₁ varlığının ve seviyelerinin saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara

24. Kıvanç M (1990) *Mold growth and presence of aflatoxin in some Turkish cheeses*. Journal of Food Safety, 10, 287-294
25. Marth EH (1979) *Aflatoxin in milk, cheese and other dairy products*. Marschall Italian & Specialty cheese seminars
26. Martins ML and Martins HM (2004) *Aflatoxin M₁ in yoghurts in Portugal*. International Journal of Food Microbiology, 91, 315-317
27. Oruç HH and Sonal S (2001) *Determination of aflatoxin M₁ levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey*. Veterinary and Human Toxicology, 43 (5), 292-293
28. Özkalp B (1992) *Konya ve çevresinde üretilen küflü peynirlerde küf florası ve mikotoksinlerin araştırılması*. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya
29. Özkaya Ş, Başaran A, Kaymak T, Dikmen O, Kocabey M, Demirkazık G, Altındiş G, Ramiz R (2002) *Gıda ve yemlerde mikotoksin düzeylerinin tespiti. Bölüm 2: Türkiye'de üretilen süt ve peynirlerde Aflatoksin M₁ aranması. Gıdalarda katkı, kalıntı ve bulaşanların izlenmesi II*. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Koruma-Kontrol Genel Müdürlüğü Tebliği, 80-92, Bursa
30. Pittet A (1998) *Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an updated review*. Rev Med Vet, 149 (6), 479-492
31. Rastogi S, Dwivedi PD, Khanna SK, Das M (2003) *Detection of Aflatoxin M₁ contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA*. Food Control xxx (2003)xxx-xxx
32. Roussi v, Govaris, A, Varagoulis A and Botsoglou NA (2002) *Occurrence of aflatoxin M₁ in raw and market milk commercialized in Greece*. Food Additives and Contaminants, 19 (9), 863-868
33. Sarımehtemetoğlu B, Çelik TH, Özdemir H (2000) *Pastörize sütlerde ELISA yöntemiyle Aflatoksin M₁ varlığının ve düzeylerinin saptanması*. IV Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 26-28 EYLÜL 2000, Kongre Kitapçığı, 16-17, Ankara
34. Sarımehtemetoğlu B, Kupulu Ö, Çelik TH (2004) *Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA*. Food Control, 45-49.
35. Scott PM (1993) *Recent developments in methods of analysis farmycotoxins foodstuffs*. Trends in Anal Chem, 12 (9), 373-380
36. Seyrek K (2001) *Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklerde tüketilen beyaz peynirlerdeki aflatoxin M₁ seviyesinin ELISA metodu ile saptanması*. Veteriner Hekimler Demeği Dergisi, 72, 55-58
37. Sibanda L, De Saeger S, Van Peteghem C (1999) *Development of portable field immunoassay for the detection of aflatoxin M₁ in milk*. International Journal of Food Microbiology, 48, 203-209
38. Srivastava VP, Bu-Abbas A, Alaa-Basuny, Al-Johar W, Al-Mufti S and Siddiqui MKJ (2001) *Aflatoxin M₁ contamination in commercial samples of milk and dairy products in Kuwait*. Food Additives and Contaminants, 11, 993-997
39. Steyn PS (1995) *Mycotoxins, general view, chemistry and structure*. Toxicology Letters, 82 / 83, 843-851
40. Tabata S, Kamimura H- Ibe A, Hashimoto H Ç, Idia M, Tamura Y, Nishima T (1993) *Aflatoxin contamination in foods and foodstuffs in Tokyo, 1986-1990*. Journal of Association Official Analytical Chemistry International, 76, 32
41. Tekinşen KK, Tekinşen OC (2005) *Aflatoxin M₁ in white pickle and Van otlı (herb) cheeses consumed in southeastern Turkey*. Food Control, 16, 565-568
42. Thirumala K, Mayo MA, Hall AJ, Craufurd PQ, Wheeler TR, Waliyar F, Subrahmanyam A and Reddy DVR (2002) *Development and application of an competitive Enzyme-Linked Immunoassay for Aflatoxin M₁ in milk and milk-based confectionery*. J Agric Food Chem, 50, 933-937
43. Truckness MV, Page SV (1986) *Examination of imported cheese for aflatoxin M₁*. Journal of Food Protection, 49, 632-633.
44. Veldman a, Meijst JAC, Borggreve GJ, Heeres-van der Tol JJ (1992) *Carry-over of aflatoxin from cow's food to milk*. Animal Production, 55, 163-168
45. Yaroğlu T (2002) *Türk Silahlı Kuvvetlerine bağlı askeri birliklerde tüketime sunulan Peynirlerde Aflatoksin M₁ düzeylerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002, Bursa
46. Yaroğlu T, Oruç HH, Tayar M (2004) *Aflatoxin M₁ levels in cheese samples from some provinces of Turkey*. Food Control, xxx (2004) xxx-xxx
47. Yaygın H, Demiryol E (1980) *Süt ve mamüllerinde aflatoksin*. Ege Üniv Zir Fak Derg, 18, 99-111
48. Zerfiridis GK (1985) *Potential aflatoxin hazards to human health from direct mold growth on teleme cheese*. Journal of Dairy Science, 68, 2184-2188

AFYON İLİNDE TÜKETİME SUNULAN KAYMAKLARIN MİKROBİYOLOJİK VE KİMYASAL KALİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Belgin SIRIKEN *, Özgür ÇADIRCI*

*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
Kurupelit / Samsun, bsiriken@yahoo.com, ozgurcadirci@yahoo.com

Özet

Afyon ilinde tüketime sunulan manda kaymaklarının mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerini belirlemek amacıyla planlanan bu çalışmada, 30 manda kaymağı örneği orijinal ambalajında satın alınarak analiz edildi. Bu amaçla, kaymak örnekleri aerob mezofil genel canlı sayısı, mikrokok/stafilokok, koagulaz pozitif stafilokok, enterobakter, koliform, *E. coli*, *Pseudomonase* spp., enterokok, maya-küf, *B. cereus* ve sülfite indirgeyen anaerob bakteri düzeyleri ile yağ oranları ve margarin varlığı yönünden incelendi. Analiz bulguları çerçevesinde, örneklerin %70'inde $\geq 10^4$ kob/g, %10'unda ise $\geq 10^8$ kob/g düzeylerinde aerob mezofil genel canlı sayısı, %20'sinde $\geq 10^4$ kob/g mikrokok/stafilokok ile koliform, %10'unda $\geq 10^4$ kob/g düzeyinde enterobakter, %20'sinde $\geq 10^3$ kob/g enterokok, %10'unda $\geq 10^4$ kob/g *Pseudomonase* spp. ve %10'unda da $\geq 10^3$ kob/g düzeyinde maya/küf izole edildi. Koagulaz pozitif stafilokok, *E. coli*, *B. cereus* ile sülfite indirgeyen anaerob bakteriler ise izole edilemedi. Kimyasal analiz bulguları çerçevesinde, örneklerin %20'sinde yağ oranı %60'ın altında olduğu, örneklerin %90'nında da margarin katıldığı belirlendi..

Anahtar Kelimeler: Manda kaymağı, mikrobiyoloji, kimyasal, margarin

Abstract

MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL QUALITY OF AFYON CLOTTING CREAM (AFYON KAYMAĞI) CONSUMED IN AFYON PROVINCE

To determine the microbiological and chemical quality of clotting cream (*Afyon kaymağı*), a total of 30 clotting cream samples were purchased and analysed. For this purpose, total aerobic plate count, micrococci/staphylococci, coagulase positive staphylococci, enterobacteriaceae, coliform, *E. coli*, *Pseudomonase* spp., enterococci, mould/yeast, *B. cereus*, sulphite reducing anaerobe bacteria, fat ratio and margarine

contained were determined. According to analysis results, the number of total aerobic plate count was found to be $\geq 10^4$ and $\geq 10^8$ cfu/g in 70 % and 10%, respectively. 20% of the samples contained $\geq 10^4$ cfu/g micrococci/staphylococci and coliform bacteria, 10% $\geq 10^4$ cfu/g enterobacteriaceae, 20% $\geq 10^3$ cfu/g enterococci, 10% $\geq 10^4$ cfu/g *Pseudomonas* spp., and 10% $\geq 10^3$ cfu/g mould/yeast. Coagulase positive staphylococci, *E. coli*, *B. cereus* and sulphite reducing anaerobe bacteria were not detected in any of the samples. Fat ratio and margarine contained of clotting cream were detected in <60 % in 20 % of samples and 90% of samples, respectively.

Key words: Clotting Cream, microbiologic quality, chemical quality, margarine

GİRİŞ

Ülkemizde 500.000 civarında olduğu düşünülen mandalardan yaklaşık olarak yılda 250.000 ton manda sütü elde edilmekte ve elde edilen bu sütlerin hemen tamamı üretildiği yerde tüketilmektedir (4). Ülkemizde üretilen manda sütlerinin içerdiği ortalama yağ miktarı %7.9 civarındadır (16). Azerbeycan, Bulgaristan, Mısır, Hindistan ve İtalya'da yetiştirilen mandalardan elde edilen manda sütü yağ oranları ise %5.70-9.25 olarak bildirmiştir (11). Manda sütleri içerdiği yağ oranının yüksek olması nedeniyle genellikle kaymak imalatı için tercih edilmektedir. Normalde porselen beyazı görünümünde olan manda kaymakları, inek sütü katılmış kaymaklarda değişmekte ve renk sarı tonlarında olmaktadır.

Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği'nde (18) Afyon Kaymağı; manda sütünün tekniğine uygun kaynatılarak 92 °C' de en az 2 dakika tutulması ve tekniğine uygun olarak soğutulması ile elde edilen bir ürün olarak tanımlanmıştır. Genelde kaymak üretimi, sütlerin devamlı karıştırılarak 85-90°C ve 75-80°C' lerde iki aşamalı ısıtma tekniğinin (1, 10, 9) uygulanmasıyla elde edilir. Afyon'da üretilen geleneksel manda kaymağı imalatı kısaca şu şekilde özetlenebilir: akşam sütleri sağılır sağılmaz 30 dakika süreyle kısık ateşte 95 °C 'ye kadar ısıtılarak ön ısıtma işlemine tabii tutulur ve soğutulur. Daha sonra sabah sağılan sütler, önceden pişirilmiş tavalarda içinde bir gece bekletilmiş sütlerin kaymak tabakasının merkezden delinerek ilave edilir ve oldukça

kısıp ateşte 45 dakika süreyle ikinci ısıp işlemleri uygulanır ve sütler çok yavaş olarak soğumaya terk edilir. Soğumuş ve kaymak bağlamış sütler buzdolabında bir gece bekletildikten sonra kaymak tabakası kesilerek ayrılır ve ters çevrilerek satışı sunulur (6).

Geleneksel kaymak imalatı sırasında, sütteki yağın ortalama %80.4'ü (%73.3-87.3) kaymağı intikal etmekte ve 2.5 litreden ortalama 350-450 gram kaymak elde edilmektedir. Ortalama kaymak randımanı (sütün yağ oranına, uygulanan prosedüre ve hava sıcaklığındaki değışimelere bağlı olarak) ise %14-18 arasındadır (6).

Afyon bölgesinde kaymak ve diğer süt ürünleri genel olarak açıkta ve geleneksel yöntemlerle üretilmekte ve pazarlarda satılmaktadır. Standart ve kaliteli ürün üretimi, üretimde kullanılan çiğ sütün kalitesine, üretim teknolojilerine, üretimde uygulanan hijyenik koşullara, tekniğine uygun paketlenme ve muhafaza şartlarına bağlıdır. Hayvancılık sektörünün köylerde küçük aile işletmeciliği düzeyinde kalması, üretim ve ahır hijyeninde gelişme sağlanamaması nedeniyle süt daha sağım anında kirlenmektedir. Bu nedenlerle, kaymakların genel hijyenik kalitesi yetersizdir. Kaymakların hijyenik kalitesinin yanında, kimyasal kalitesi de tüketiciler açısından önemlidir. Tereyağında olduğu gibi manda kaymaklarına da kıvamını artırmak veya diğer amaçlarla margarin veya nişasta katılarak kaymaklar taşış edilebilmektedir. İşte bu nedenlerle, bu çalışma Afyon'da satışa sunulan ve sevilerek tüketilen kaymakların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerini ortaya koyabilmek amacıyla planlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Afyon ilinde tüketime sunulan 30 manda kaymağı örneği materyal olarak kullanıldı. Kaymak örnekleri satışa sunulan özel orijinal ambalajında satın alındı ve soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuara getirilerek mikrobiyolojik ve kimyasal yönden analiz edildi.

Mikrobiyolojik Analizler: Her bir kaymak örneğinden 10'ar g alınarak 90'ar ml %0.1'lik steril peptonlu su ile homojenizatörde (Bag mixer Interscience-400) 1 dakika süre ile homojenize edildi. Homojenizasyon sonrası her bir örnekten 10⁻⁶'ya kadar hazırlanan

desimal dilüsyonlardan aerob mezofil genel canlı, mikrokok/stafilokok, koagulaz pozitif stafilokok, enterobakter, koliform, *E. coli*, *Pseudomonase* spp., enterokok, maya-küf, *B. cereus* ve sülfite indirgeyen anaerob bakteri varlığı yönünden analiz edildi. Mikroorganizmaların izolasyonu amacıyla yayma plak yöntemi uygulandı. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besi yerleri ve inkübasyon koşulları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Mikrobiyolojik Analizlerde Kullanılan Besiyerleri ve İnkübasyon Koşulları

Mikroorganizma	Besiyeri	İnkübasyon Sıcaklık	Koşulları Süre	Koşullar Anaerob / Aerob
Aerob Genel Canlı	Plate Count Agar (Oxoid CM 509)	30°C	48-72 saat	Aerob
Mikrokok ve Stafilokok	Baird-Parker Agar (Oxoid CM 275)	37°C	24-48 saat	Aerob
Enterobakteriler	Violet Red Bile Glucose Agar (Oxoid CM 485)	37°C	24-48 saat	Anaerob
Koliform	Violet Red Bile Agar (Oxoid CM107)	37°C	24-48 saat	Anaerob
<i>E. coli</i>	Endo Agar Base (Oxoid CM479)	37°C	24-48 saat	Aerob
Enterokok	Slanetz and Bartley Medium (Oxoid CM377)	37°C	24-48 saat	Aerob
<i>Pseudomonase</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> Agar Base (CFC Oxoid CM 559, SR 103)	30 °C	24-48 saat	Aerob
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i> selective agar base (Oxoid CM617)	30 °C	24-48 saat	Aerob
Maya ve Küf	Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Oxoid CM 549)	25 °C	3-5 gün	Aerob

Baird-Parker besi yerinde üreyen tipik ve atipik kolonilerden Coagulase Plasma EDTA (Difco 0803-46-5) ile tüpte koagulaz testi yapılarak koagulaz pozitif stafilokoklar tespit edildi. Ayrıca CFC Agarda üreyen kolonilerden oksidaz testi (Oxidase paper, Oxoid BR 64) pozitif verenler *Pseudomonase* spp. olarak değerlendirildi.

E. coli İzolasyonu: Violet Red Bile Agar'da üreyen koliform bakteri kolonilerinden öze ile Endo Agar'a ekim yapıldı ve plaklar inkübasyona bırakıldı. Plaklarda metalik parlaklık veren *E. coli* şüpheli kolonilerden Indol, Metil Red, Voges Proskauer ve Sitrat (IMViC) testleri yapıldı ve sonuçlar *E. coli* yönünden değerlendirildi..

Kimyasal analizler: Manda kaymaklarının yağ oranları Gerber yöntemiyle belirlenirken, margarin varlığı Baudouin deneyi ile yapıldı (17).

BULGULAR

Analiz edilen kaymak örneklerine ait mikrobiyolojik ve kimyasal analiz sonuçları Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir. Mikrobiyolojik analiz bulguları çerçevesinde, örneklerin %70'inde $\geq 10^4$ kob/g ve %10'unda $\geq 10^8$ kob/g düzeyinde aerob mezofil genel canlı, %20'sinde $\geq 10^4$ kob/g düzeyinde mikrokok/stafilokok ve koliform, %10'unda $\geq 10^4$ kob/g düzeyinde enterobakter, %20'sinde $\geq 10^3$ kob/g düzeyinde enterokok, %10'unda $\geq 10^4$ kob/g düzeyinde *Pseudomonase* spp. ve %10'unda ise $\geq 10^3$ kob/g düzeyinde maya/küf izole edildi. Örneklerinin hiçbirisinden koagulaz pozitif stafilokok, *E. coli*, *B. cereus* ve sülfid indirgeyen anaerob bakteri izole edilemedi. Kimyasal analiz bulguları çerçevesinde, örneklerin %20'sinde yağ oranı < 60 olduğu saptanırken, kaymak örneklerinin %90'nın margarin katılarak tağşiş edildiği belirlendi (Tablo 3).

Tablo 3.Manda Kaymakları Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları

% Yağ Oranı	Yağ Oranı n (%)	Margarin n (%)
55-59	6 (20.0)	-
60-64	9 (30.0)	-
65-69	3 (10.0)	-
70-74	9 (30.0)	-
75	3 (10.0)	-
Pozitif	-	27 (90.0)
Negatif	-	3 (10.0)

Tablo 2. Manda Kaymakları Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Mikroorganizma Düzeyi koby/g	Aerob Mezofil Genel Çarlı n (%)	Mikrokok ve Stafilokok n (%)	Koagülaz pozitif Stafilokok n (%)	Enterobakteriler n (%)	Koliform n (%)	<i>E. coli</i> n (%)	Enterokok n (%)	<i>Pseudomona</i> s n (%)	<i>Mays-Kuf</i> n (%)	<i>B. cereus</i> n (%)	Sulfit İndirgeyen Anaerob bakter n (%)	<i>Salmonella</i> spp. n (%)
Pozitif	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0)
Negatif	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30
$<1.0 \times 10^1$	3 (10.0)	9 (30.0)	30 (100.0)	18 (60.0)	15 (50.0)	0	18	27	21	30	30	-
$10^1 - 10^2$	3 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (10.0)	0	3 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
$10^2 - 10^3$	0 (0.0)	3 (10.0)	0 (0.0)	6 (20.0)	6 (20.0)	0 (0.0)	3 (10.0)	0 (0.0)	6 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
$10^3 - 10^4$	3 (10.0)	12 (40.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (20.0)	0 (0.0)	3 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
$10^4 - 10^5$	12 (40.0)	6 (20.0)	0 (0.0)	6 (20.0)	6 (20.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
$10^5 - 10^6$	3 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
$10^6 - 10^7$	3 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
$10^7 - 10^8$	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-
$10^8 - 10^9$	3 (10.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-

TARTIŞMA VE SONUÇ

Manda kaymağı örneklerinin mikrobiyolojik (hijyenik ve bazı patojen mikroorganizmaların varlığı yönünden) ve kimyasal (yağ oranı ve margarin varlığı) kalitelerini ortaya koyabilmek amacıyla yapılan bu çalışmada, analiz edilen kaymak örneklerinin genel olarak hijyenik ve kimyasal kalitelerinin düşük olduğu görülmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği (18)'ne göre kaymakların mikrobiyolojik analiz sonuçları; koliform bakteri sayısı $<3-9$ EMS/g, *S. aureus* 10^1-10^2 kob/g, maya/küf ise 10^1-10^2 kob/g, *L. monocytogenes*, *E. coli* ve *Salmonella* spp.'nin de 25 g'da bulunmaması şeklindedir. Bu hükümler doğrultusunda, analiz edilen kaymak örneklerinin % 50'sinin koliform bakteri, % 30'unun ise maya/küf yönünden bu tebliğ kriterlerine uygun olmadığı ancak, *S. aureus* ve *E. coli* yönünden uygun olduğu görülmektedir. Yine *B. cereus* ve sülfid indirgeyen anaerobe bakterilerin de izole edilememesi, kaymakların bu bakılan parametreler yönünden halk sağlığı açısından bir risk oluşturmadığını göstermektedir. Yine bu çalışma bulguları çerçevesinde, diğer mikrobiyolojik parametrelerle beraber kaymakların %10'unun $\geq 10^4$ kob/g düzeyinde *Pseudomonas* spp. içermesi ise kaymakların muhafaza sırasında raf ömrünün de kısılmasına neden olabilir.

Yapılan literatür taramaları sonucunda, Türkiye'de ve dünyada manda kaymağı ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışmalara rastlanılmıştır. Bu çalışmaların birinde, Hamzaçebi (6) Afyon ilinde analiz ettiği manda kaymağı örneklerinde 10^3-10^{11} kob/g düzeylerinde aerob mezofil genel canlı sayısını saptarken, örneklerin %95.2'sin de ise bu parametrenin $>10^6$ kob/g düzeyinde olduğunu bildirmiştir. Yine aynı çalışmada, örneklerin %49.2'sinde 10^3-10^6 kob/g ve %6'sında ise $>10^6$ kob/g düzeyinde koliform bakteri, ortalama 10^4 kob/g düzeyinde maya/küf, 10^7 kob/g düzeyinde de proteolitik bakteriler izole edilmiştir. Nikodemusz (14)'de analiz ettikleri 120 kremada genel canlı bakteri sayısını örneklerin %76.7'sinde 10^6 kob/g düzeyinde, mayayı %39.2'sinde ve küfü ise %18.4'ünden izole ettiğini bildirmiştir. Venezuela'da yapılan başka bir çalışmada ise, Swarzcboort and Garcia (15) 11 farklı süt işletmesinden 100 pastörize kremayı mikrobiyolojik yönden analiz ettiklerini ve sonuçta örneklerin %75'inin aerob mezofil bakteri, %95'inin *S. aureus*, %91'inin koliform ve %58'inin ise maya ve küf yönünden uluslar arası standartlara uygun olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca, pastörize kremalardan *Salmonella* Typhimurium, *Shigella sonnei* ve

enteropathogenic *Escherichia coli* gibi patojen bakteriler de izole edilmiştir. Pastörize edilmemiş krema ile ilgili yapılan başka bir çalışmada ise, 30 krema örneğinden *E. coli* O157'yi izole edilemediği ancak, 7 (%23.3) krema örneğinden 1.00 – 5.99 log 10 /g düzeylerinde *E. coli* izole edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada ayrıca, kaymak örneklerinin %70'inin aerob mezofil genel canlı sayısı $\geq 10^4$ kob/g ve %10'unda $\geq 10^8$ kob/g düzeyinde saptanırken, örneklerin %20'sinde ise $\geq 10^3$ kob/g düzeylerinde enterokok belirlenmiştir (13).

Bu çalışmada kaymak örneklerinin %20'sinde mikrokok/stafilokok ile kontaminasyon düzeyi 10^4 kob/g olarak belirlenirken, *S. aureus* ise izole edilememiştir. Ancak, Amer et al., (2) 50 krema örneğinde koagülaz pozitif stafilokok'u % 14 oranında izole ettiklerini bildirirken, Lukasova and Jarchovska (12)'da kremadan toplam 30 *S. aureus* suşu izole ettiklerini bildirmişlerdir. *S. aureus* etkeni uygulanan ısı işlemine karşı dayanaksız olmakla beraber, oluşturduğu enterotoksin ısıya karşı dayanıklıdır (8). Bu çalışmada ise kaymaklar stafilokokal enterotoksin varlığı yönünden analiz edilmemiştir. Yapılan çalışmalarda krema, peynir gibi süt ürünleri ile pişmiş etler *S. aureus* intoksikasyonundan sorumlu gıdaların başında yer almaktadır (19). Gerçekte, stafilokokal gıda zehirlenmelerinden sorumlu gıdalar analiz edildikleri zaman, gıdalarda mevcut stafilokok sayısı ile belirlenen enterotoksin seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon her zaman olmayabilir. Bunun nedenleri; (i) gıda tüketimi ve gıda analizi arasında geçen süre uzun olduğu zaman, bu süre zarfında etkenin ölebileceği ve saptanabilir seviyenin altına inebileceği; (ii) mikroorganizmaların enterotoksin ürettikten sonra gıdaların işlenmesi sırasında ölebileceği; (iii) enterotoksijenik stafilokoklar enterotoksin üretimi sonrasında nonenterotoksijenik türler tarafından baskılanabileceği ve (iv) etkenin ürün içinde homojen dağılmamasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (5,7). Bu sonuçlar çerçevesinde, kaymak numunelerinin stafilokokal enterotoksin varlığı yönünden bir risk oluşturabilir.

Bu çalışma bulguları ile yukarıda bahsedilen diğer çalışma bulguları karşılaştırıldığında, Hamzaçebi (6)'nin çalıştığı yıllardan günümüze kadar kaymakların hijyenik kalitelerinin biraz iyileştiği ama yetersiz kaldığını söyleyebiliriz. Yine bu çalışma ve yukarıda belirtilen çalışma bulgularına dayanak, kaymak ve kremaya uygulanan ısıl işlemin ürünlerin hijyenik kalitesini belirleyen mikroorganizmalar ile patojen mikroorganizmaların yıkımlanmasında yetersiz kalabileceği gibi, bu durum yetersiz ısıl işlemi uygulanmasının bir sonucu da olabilir. Nitekim Hamzaçebi (6)'nin yaptığı kaymakların pastörizasyon kontrol çalışmasında, 250 kaymak örneğinin 57'sinde (%22.8) peroksidaz enzimi ve 185 örnekte (%74.0) ise fosfataz

enzimi pozitif bulunmuş ve bu sonuçlara dayanarak kaymak imalatı sırasında yetersiz ısı işlemi uygulandığı belirlenmiştir. Kaymakların hijyenik kalitesinin kötü oluşunun bir diğer nedeni ise, ürünlerin imalatı sırasında ısı işlemi sonrası çapraz kontaminasyona maruz kalmış olabilir. Yapılan incelemelerde, genelde kaymak imalatının çok küçük bir payının küçük işletmelerde, büyük çoğunluğunun ise ahır ortamında veya hijyenik olmayan ortamlarda üretildiği görülmüştür.

Bu çalışmada kaymaklar kimyasal yönden de analiz edilmişlerdir. Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği (18)'ne göre kaymağın içermesi gereken yağ oranının en az %60 olması gerekir. Bu çalışmada ise, analiz edilen örneklerin % 20'sinde belirtilen bu limitin altında ve dolayısıyla tebliğe uygun olmadığı saptanmıştır. Manda kaymağının içerdiği yağ oranıyla ilgili başka araştırmalar da yapılmıştır. Bu araştırmaların birinde Adam (1), 23 kaymak örneğinin ortalama yağ oranını % 65 olarak saptamıştır. Bir başka araştırmada ise İzmen ve Eralp (10), 5 kaymak örneğinde ortalama yağ oranını %61 olarak bildirmişlerdir. Hamzaçebi (6)'de çalışmasında 250 kaymak örneğindeki ortalama yağ miktarını % 62.7 (% 39.0-76.0) ve 33(% 13.2) örnekte ise yağ miktarını %60'ın altında saptamıştır. Aynı tebliğe göre, kaymaklarda süt yağı dışında yağ bulunmaması ve kıvam kazandırmak amacıyla katkı maddeleri katılmaması gerekmektedir. Hamzaçebi (6)'nin yaptığı çalışmada, 250 kaymak örneğinin 1'inde nişasta varlığını saptanmıştır. Tereyağında olduğu gibi manda kaymaklarına da kıvam artırmak ve içerdiği yağ oranını yükseltmek amacıyla margarin katılabilmektedir. Bu çalışmada, analiz edilen kaymakların %90'ında margarin katıldığı saptanmıştır. Kaymakların margarin ihtiva ettiği margarin arama testi dışında, yapılan organoleptik muayeneler sırasında ve kaymakların eritilmeleri sırasında da kaymak örneklerinden margarin tadı ve kokusu bariz bir şekilde hissedilmiştir. Bu çalışmada analiz edilen kaymak örnekleri manda kaymağı adı altında satılmaktadır. Normalde porselen beyazı görünümünde olan kaymağın rengi, inek sütü katılmış kaymaklarda değişmekte ve renk sarı tonlarında olmaktadır (6). Bu çalışmada analiz edilen kaymak örneklerine ayrıca inek sütünün de katıldığı kaymağın sahip olduğu sarı rengine dayanarak söyleyebiliriz.

Kaymak ve krema ile ilgili yapılan diğer çalışmalar ve bu çalışma bulguları sonucunda, Afyon ilinde tüketime sunulan kaymak örneklerinin hijyenik kalitelerin oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bu çalışmada izole edilmemiş olmakla beraber, pastörize krema örneklerinden bazı patojen mikroorganizmaların izole edilmesi, kaymakların da olası patojen

mikroorganizmalar yönünden bir risk oluşturabilir. Ayrıca, yine bu çalışma bulgularına dayanarak kaymakların kimyasal kalitelerinin de kötü olduğu görülmektedir. Ayrıca, kaymakların margarin içermesi, yağ oranlarının düşük olması, inek sütü katılması gibi nedenlere dayanarak tartışılabilir ve kimyasal kalitelerinin düşük olduğunu söyleyebiliriz. Bu nedenlerle, kaymak imalatı sırasında yeteri kadar ısıtma işlemi uygulanmalı ve kaymak imalatının bireysel işletmelerden daha ziyade pastörizasyon kontrolünün de izlenebileceği modern işletmelerde imalatın sağlanması gerekmektedir. Yine kaymak üretimi sırasında kimyasal standardizasyon da sağlamalıdır. Tüketicilerin aldatılmasının önüne geçilebilmesi için kaymakların yasal düzenlemeler doğrultusunda gerekli denetimlerinin daha sık yapılması gerekir.

KAYNAKLAR

1. Adam, R.C. (1955). Lüle Kaymağı. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yıllığı, 5: 226-230.
2. Amer, I.H., Shelaiah, M.A., El-Syed, M.S. (1986). Staphylococci in milk and some dairy products. Assiut Veterinary Medical Journal., 17 (34): 139-142.
3. Baumgart, J. (1986). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln. B. Behr's Verlag, GmbH&Co., Berlin und Hamburg.
4. Devlet Planlama Teşkilatı (2001). Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, Gıda Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Süt ve Süt Ürünleri Sanayi Alt Komisyon Raporu. Ankara. 2636 OİK:644.
5. Gilmour, A. and Harvey, J. (1990). Staphylococci in milk and milk products. J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl. 69: 147S-166S.
6. Hamzaçebi, Y. (1973). Afyon ve Çevresinde satışa arz edilen kaynakların hijyenik kaliteleri üzerinde araştırmalar. Uzmanlık Tezi, Ogun Kardeşler Matbaası, Ankara.
7. Holmberg, S.D., and Blake, P.A. (1984). Staphylococcal food poisoning in the United States. J. Am. Med. Assoc., 251: 487-489.
8. International Commission on Microbiological Specifications (ICMS) for Foods (1986). *Staphylococcus aureus*, p. 299-333. In: T.A. Roberts, A.C. Baird-Parker, and R.B. Tompkin (ed.). Microorganisms in foods 5: characteristics of microbial pathogens. Blackie Academic&Professional, London.
9. İzmen, E.R. (1959). Süt ve Mamülleri Teknolojisi. A.Ü. Basımevi, Ankara. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 155/51.
10. İzmen, E.R., ve Eralp, M. (1957). Lüle kaymağı üzerine araştırmalar, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 291/180, A.Ü. Basımevi, Ankara.
11. Laxminarayana, H., Dastur, N.N. (1968). Buffaloes, Milk and Milk Products, Part-1, Dairy Science, Abstract, 30: 177-186.
12. Lukasova, J., Jarchovska, H. (1979). Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. Veterinarni Medicina., 24(6): 363-368.

13. MAFF (1997). Microbiological Survey Of Unpasteurised Cream.
<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/unpasteurisedcream.pdf> 2.09.2005
14. Nikodemusz, I (1984). Microflora of pasteurized milk, pasteurized cream and cream pastries. *Elelmezesi-lpar.*, 38(5): 197-200.
15. Sewarcbort, T. L. and Garcia, C.E. (1999). Microbiological quality of pasteurized milk creams manufactured in Venezuela. *Arch. Latinoam Nutr.*, 49:76-80.
16. Tekinşen, C. O., (2000). Süt Ürünleri Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
17. Türk Standardı (T.S.) 894 (1970). Yemeklik Bitkisel Yağlar. ICS 62.200.10.
18. Türk Gıda Kodeksi Krema ve Kaymak Tebliği (Tebliğ No: 2003/34). Sayı: 25242 (Asıl) Son Güncelleme: 29.09.2003.
19. Wieneke, A.A., Roberts, D. and Gilbert, R.J. (1993) Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969-90. *Epidemiol. Infect.* 110, 519-531.

KONYA PİYASASINDA TÜKETİME SUNULAN BEYAZ SALAMURA, KAŞAR VE TULUM PEYNİRLERİNDE *LISTERIA MONOCYTOGENES* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI*

Abdullah KELEŞ^{1@}

Ahmet GÜNER¹

Gürkan UÇAR¹

¹ : Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 42075. Kampüs Konya
@ : akeles@selcuk.edu.tr

Özet

Araştırmada Konya piyasasından temin edilen 40 adet beyaz peynir, 30 adet tulum peyniri ve 30 adet kaşar peyniri numuneleri *Listeria monocytogenes* varlığı yönünden incelendi. *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda FDA (Food and Drug Administration) tarafından önerilen metot kullanıldı. Beyaz peynir numunelerinin 3 (%7.5) tanesinden izole edilirken *Listeria* 'ların, 2 tanesi (%5) *Listeria monocytogenes*, 1 tanesi *L. ivanovii* (%2.5) olarak identifiye edildi. İncelenen 30 adet tulum peyniri ve 30 adet kaşar peyniri örneklerinde *Listeria* türü tespit edilemedi.

Anahtar kelimeler: Beyaz peynir, kaşar, tulum, *Listeria monocytogenes*

Abstract

Investigations on the presence of *Listeria monocytogenes* in white brined, Kaşar and tulum cheeses obtained from Konya retail markets

In this study, 40 white pickled, 30 kaşar and 30 tulum cheese samples obtained from Konya retail markets were investigated for presence of *Listeria monocytogenes*. For isolation and identification of *Listeria spp.*, the method recommended by FDA was used. *Listeria spp.* were isolated from 3 samples (7.5%) of white pickled cheese, while 2 (5.0%) of them were identified as *L. monocytogenes* and 1 sample (2.5%) as *L. ivanovii*. *Listeria spp.* were not found in kaşar and tulum cheese samples.

Keywords: White pickled cheese, kaşar, tulum, *Listeria monocytogenes*

*: Araştırma Selçuk Üniversitesi Bilişsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2003 / 103 no'lu proje olarak desteklenmiştir

GİRİŞ

Peynirden kaynaklanan gıda zehirlenmelerinde en sık rastlanılan bakteriler *Salmonella* ve *Staphylococcus* ssp.'dir. Bunları *L. monocytogenes* ve enteropatojenik *E. coli* takip eder. *L. monocytogenes* özellikle yumuşak olgun peynirlerde halk sağlığı açısından önemli risk oluşturur. *L. monocytogenes*'in son yıllarda dikkat çekmesinin nedeni bu mikroorganizmanın buzdolabı sıcaklığında üremesinin yanı sıra izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan metotların geliştirilmesinden kaynaklanmaktadır (20). Sütte *L. monocytogenes*'in varlığı starter kültürler tarafından yavaşlatılabilir fakat kesin olarak durdurulamaz (10). Amerika ve Avrupa'da geçmişte görülen bir çok peynir zehirlenmesi vakalarında identifiye edilen mikroorganizmaların yanı sıra *L. monocytogenes*'in de sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (20). *Listeria* türleri doğada yaygın (bitkilerde, toprakta, hayvan dışkısında ve suda) olarak bulunurlar. Genel bir kaide olarak laktik asit bakterileri, *Brochotrix* ve *Coryneform* bakterilerin bulunduğu her yerde bulunurlar. Sayıları genellikle *Salmonella*'lardan fazladır. *Salmonella*'ların bulunmadığı ortamlarda dahi *Listeria*'ya rastlanabilir. (4). Nisin oluşturan starter kültürlerin *L. monocytogenes* üremesini büyük oranda engellediği bildirilmektedir (10).

Listeria soyuna bağlı 6 tür vardır. Bunlar; *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshmeri*, *L. seeligeri* ve *L. grayi*'dir. *L. grayi* hariç bütün *Listeria* türleri değişik tipte 4 farklı flagella antijenine(A, B, C, D) sahiptirler. B antijeni bütün türlerde ortak olarak bulunur (18).

L. monocytogenes Gram (+), fakültatif anaerobik, psikrofilik, hareketli, küçük çubuk şekilli bir bakteridir ve 1-44 °C'ler arasında gelişme gösterir. Bakterinin soğuğa ve dondurmaya karşı dirençli, fakat pH=5'in altında tahrip olduğu bildirilmektedir (9). *L. monocytogenes*'in insan ve hayvanlar için patojen olduğu yaklaşık 50 yıldan bu yana bilinmektedir. Gıda kaynaklı önemli bir patojen olduğu 1980'li yıllarda ortaya konulmuştur (5). Diğer spor oluşturmayan patojenlere (örn. *Salmonella*, *Campylobacter*) göre ısıtma işlemlerine daha dayanıklıdır. Son yıllarda Amerika ve Avrupa'da et ve süt ürünlerinden kaynaklanan

listeriosis vakalarının bildirilmesinden sonra üzerinde en fazla çalışma yapılan besin kaynaklı patojen olarak dikkat çekmektedir (2).

Listeria monocytogenes sepsisemi ve menenjitte sebep olmakta özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde ve yeni doğanlarda ölümle sonuçlanabilir ciddi besin zehirlenmeleri oluşturmakta ve hamilelerde düşüklere neden olmaktadır. Ölüm oranı %30 düzeyindedir (6,12). Araştırmacılar, 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde *Listeria* içeren besinlerin Listeriosis'e sebep olduğunu bildirmişlerdir (1,13).

Bakterinin Cheddar peynirinde 1 yıl (12), Colby peynirinde 140 gün (5), salamura beyaz peynirde de 90 gün canlı kalabildiği bildirilmiştir (1,17). Deneysel olarak kontamine edilen Camembert peynirlerinde 70. güne kadar (13), Cottage peynirlerinde de 8. haftaya kadar tespit edilebildikleri bildirilmiştir (15). Deneysel olarak kontamine edilen Meksika peynirlerinde 6. haftada, inokule edilen bakteri sayısında azalma olmadığı tespit edilmiştir (5). *Listeria monocytogenes* inokule edilen Salamura beyaz peynir üretiminde kullanılacak süte uygulanan ısı işlemlerinin bakterinin canlılığına etkisi üzerine yapılan bir araştırmada (17), düşük sıcaklıkta pastörizasyon uygulanan grupta, çiğ süttten üretilen peynirlerden daha yüksek düzeyde bakteri üremesi tespit edilmiş ve bu durumun olgunlaşmanın 90. gününe kadar devam ettiği vurgulanmıştır. Van çevresi süt ve otlu peynirlerinde yapılan bir araştırmada (16), 250 adet süt örneğinden 6'sında (%2.40) ve 254 adet peynir örneğinden 13'ünde (%5,11) *Listeria* türlerinin varlığı tespit edildiği bildirilmiştir. Isıl işlem uygulanmadan üretilen Şavak salamura peynirlerinde üretim sırasında çiğ koyun sütüne inoküle edilen *L. monocytogenes* suşlarının 120 gün boyunca canlılıklarını muhafaza ettikleri belirlenmiştir (8). Rudolf ve Scherer (11), farklı ülkelerden topladıkları 329 adet krem peyniri numunesinden 21 tanesinde *L. monocytogenes* (%6.4), 39 tanesinde de (%11.8) diğer *Listeria* türlerini izole

ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar pastörize süttten üretilen peynirlerde tespit edilen oranın (%8.0), çiğ süttten üretilen peynirlerden (%4.8) yüksek olduğunu vurgulamışlardır. *Listeria* türleri süt ve ürünlerinde bulunan doğal mikroflora ile yarışma yeteneği düşük olmasına karşın, yüksek kontaminasyon durumlarında pastörizasyonda canlılığını koruyabilmekte ve bundan dolayı, pastörize edilmiş süt ürünlerinde daha çok risk oluşturabilmektedirler (6,10,12,13,14). Şireli ve ark. (19) 90 kremalı pastanın 3'ünde (%3.3) elde ettikleri *Listeria* izolatlarından 2'sinin (%2.2) *L.monocytogenes*, olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırma Konya piyasasında tüketime sunulan salamura beyaz, kaşar ve tulum peynirlerinde *Listeria monocytogenes* varlığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada Konya piyasasından temin edilen 40 adet salamura beyaz peynir, 30 adet tulum peyniri ve 30 adet kaşar peyniri numuneleri *Listeria* kontaminasyonu yönünden incelendi. *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonunda Food Drug Adminastration (FDA) (3) tarafından önerilen metot kullanıldı.

Zenginleştirmede, 25 g numune 225 ml *Listeria* Enrichment Broth (LEB) (Oxoid CM 862)' e ilave edilerek homojenize edildikten sonra 30 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında zenginleştirme broth'undan 1 öze dolusu alınarak *Listeria* Selective Agar'a (Oxoid CM 856) çizme yöntemiyle ekim yapıldı ve plaklar 35 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra 1-3 mm çapında etrafı siyah haleli tipik koloniler şüpheli koloniler olarak değerlendirildi ve izolasyonları yapıldı.

İzolasyonda, her petriden şüpheli 5 koloni alınarak Tryptic Soy Agar (TSA)'a geçildi ve 30°C'de 24 saat inkübe edildi. Üreyen kolonilerden Gram boyama, katalaz, oksidaz ve SIM mediumda (Oxoid CM 435) hareketlilik testleri yapıldı. Gram (+), katalaz pozitif, oksidaz negatif ve SIM mediumda hareketli koloniler *Listeria* olarak değerlendirildi.

Listeria olarak izole edilen kolonilere koyun kanlı agarda B-Hemoliz, CAMP test, Metil Red Voges-Proskauer (MR/VP), karbohidrat fermentasyon ve nitrat redüksiyon testleri uygulanarak tür tayini yapıldı.

Numunelerin pH değerleri APHA tarafından önerilen standart metoda göre belirlendi (7).

BULGULAR

Araştırmada incelenen 40 adet beyaz salamura peynir, 30 adet kaşar ve 30 adet tulum peyniri numunelerinde belirlenen *Listeria* türleri Tablo 1' de gösterilmektedir.

Tablo 1. Beyaz Salamura Peynir Numlerinde Tespit Edilen *Listeria* Türleri

N	<i>Listeria</i> spp.		<i>L. monocytogenes</i>		<i>L.ivanovii</i>	
	n	%	n	%	n	%
40	3	7,7	2	5	1	2,5

İncelenen 40 adet beyaz peynir, 30 adet kaşar ve 30 adet tulum peyniri numunelerinden sadece salamura beyaz peynirde *Listeria* spp. izole edilmiş, kaşar ve tulum peyniri numunelerinde *Listeria* türlerine rastlanılmamıştır. 40 adet beyaz peynir numunesinden 3 tanesinden (%7,5) elde edilen *Listeria* izolatlarından 2 tanesinin (%5) *L.monocytogenes*, 1 (%2,5) tanesinin de *L. ivanovii* olduğu belirlenmiştir. Numunelerin pH değerleri ortalama olarak beyaz peynir numunelerinde 5.32 ± 0.11 , kaşar peyniri numunelerinde 5.89 ± 0.06 ve tulum peyniri numunelerinde de 5.28 ± 0.08 olarak tespit edilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

İncelenen peynir numunelerinden kaşar ve tulum peynirlerinde *Listeria* soyu mikroorganizma tespit edilemezken, salamura beyaz peynir numunelerinden 3 tanesinde (%7,5) *Listeria* izole edilmiş, bunların 2 tanesi (%5.0) *L. monocytogenes*, 1 tanesi (%2,5) de *L. ivanovii* olarak tanımlanmıştır. Sağun ve ark (16), Van otlu peynirinde *L. monocytogenes*'i %3,93, *L. ivanovii*'de %0.39 düzeyinde tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar yılın farklı dönemlerinde topladıkları numunelerden, ilkbahar ve kış dönemine ait olanlarda *Listeria* soyuna rastlanılmadığını vurgulamışlardır. Bu çalışmada incelenen numunelerin tamamı yaz döneminde toplanmıştır. Rudolf ve Scherer (11), farklı ülkelerden topladıkları 329 adet krem peyniri numunesinden 21 tanesinde *L. monocytogenes* (%6.4), 39 tanesinde de (%11.8) diğer *Listeria* türlerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar pastörize süttten üretilen peynirlerde tespit edilen oranın (%8.0), çiğ süttten üretilen peynirlerden (%4.8) yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Benzer şekilde *Listeria monocytogenes* inokule edilen süttten salamura beyaz peynir üretilerek bakterinin pastörizasyona dayanıklılığı üzerine yapılan deneysel bir çalışmada (17), düşük ısıda pastörizasyon uygulanan grupta çiğ süttten üretilen peynirlerden daha yüksek düzeyde bakteri üremesi tespit edilmiş ve bu durumun olgunlaşmanın 90. gününe kadar devam ettiği vurgulanmıştır.

Listeria monocytogenes'in genellikle pH= 5'in altındaki değerlerde gelişemediği bildirilmektedir (9). Çalışmada, beyaz peynir numunelerinde tespit edilen pH değerlerinin (ortalama 5.32± 0.11) *Listeria monocytogenes* gelişimi için uygun olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak incelenen beyaz peynirlerde düşük düzeylerde de olsa *Listeria monocytogenes* varlığının tespit edilmiş olması, gerek süttten kaynaklanabilecek gerekse de pastörizasyon sonrası oluşabilecek kontaminasyonların önlenmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Düşük sıcaklık uygulanan veya yetersiz pastörizasyon uygulamasının bakterinin gelişimini arttırdığı (17), ısıtıl işlem sırasında canlılığını koruyabilen bakterinin, diğer birçok mikroorganizmanın ortadan kalkmış olduğu böyle bir ortamda çok rahat gelişebildiği ve daha çok da pastörize edilmiş süt ürünlerinde risk oluşturduğu bildirilmektedir (6,10,12, 13, 14). Bu bulgular, pastörizasyonun mutlaka yeterli ısı-zaman normlarına uyularak yapılmasının şart olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca pastörize süttten peynir üretiminde kullanılan kültür kombinasyonu içerisinde, nisin oluşturan starter kültürlerin mutlaka bulundurulması, önemli bir halk sağlığı riski oluşturan Listeriosis'den korunmada oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Erkmen, O. (2000). Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* in Turkish white cheese during ripening period. J.Food Engineering, 46, 127-131.
2. Farber, J.M. and Peterkin, P.I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. Microbiol. Rev., 55, 476-511.
3. Hitckins, A.D. (2002). *Listeria monocytogenes*. Chapter 10. In: FDA Bacteriological Analytical Manual Online. <http://www.cfsan.fda.gov>
4. Jay J.M. (1992). Foodborne Listeriosis. Chapter 21. In: Modern Food Microbiology. Fourth ed., Van Nostrand Reinhold 115 Fifth Avenue, New York, pp. 510-552.
5. Lopez, C.S. and Sanchez, H.H. (2000). Behaviour of *Listeria monocytogenes* during manufacture and ripening of Manchego and Chihuahua Mexican cheeses. Int. J. Food Microbiol., 62, 149-153.
6. Lovett, J., Francis, D.W. and Hunt, J.M. (1987). *Listeria monocytogenes* in Raw milk: Detection, incidence and pathogenicity. J. Food Prot., 50 (3), 188-192.
7. Marshall, R.T. (1992). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed., (Ed. by Marshall, R.T.) APHA, 1015, Washington.
8. Patir, B. ve Güven, A.M. (1999). Şavak salamura beyaz peynirin olgunlaşması sırasında *Listeria monocytogenes*'in yaşam süreleri üzerine araştırmalar. Tr. J. Vet. Anim. Sci., 23 (Ek Sayı 2), 317-327.
9. Ray, B. (1996). Foodborne Infections. Chapter 24. In : Fundamental Food Microbiology. CRC Press, Washington D.C., pp. 293-321.
10. Rodriguez, E., Gaya, P., Nunez, M. and Medina, M.(1998). Inhibitory activity of nisin-producing starter culture on *Listeria monocytogenes* in raw ewes milk Manchego cheese. Int. J. of Food Microbiol., 39 (1998), 129-132.
11. Rudolf, M. and Scherer, S. (2001). High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. Int. J. of Food Microbiol., 63 (2001), 91-98.
12. Ryser, E.T. and Marth, E.H. (1987a). Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. J. Food Prot., 50 (1), 7-13.
13. Ryser, E.T. and Marth, E.H. (1987b). Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Camembert cheese. J. Food Prot., 50 (5), 372-378.
14. Ryser, E.T. and Marth, E.H. (1988). Survival of *Listeria monocytogenes* in cold-pack cheese food during the refrigerated storage. J.Food Prot., 51(8), 615-621.
15. Ryser, E.T., Marth, E.H. and Doyle, M.P. (1985). Survival of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and storage of Cottage cheese. J. Food Prot., 48 (9), 746-750.
16. Sağun, E., Sancak, Y.C. İşleyici, Ö. ve Ekici, K. (2001). Van ve çevresi süt ve Otlı peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve aygınlığı üzerine bir araştırma. Tr. J. Vet. Anim. Sci., 25 (1), 15-19.
17. Sarımeçmetoğlu, B. (1994). Türk salamura beyaz peynirinde yapım ve olgunlaşma aşamalarının *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 41 (2), 234-242.

18. Seeliger, H.P.R. and Jones, D. (1986). Genus *Listeria* in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Ed: Sneath, P.H.A., Mair, N.S. and Sharpe, M.E. Vol:2 Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 1235-1245.
19. Şireli, U.T., Erol, İ. ve Pehlivanlar, S. (2000). Kremalı pastalardan *Listeria*'ların saptanması. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 47, 17-21
20. Zottola, E.A. and Smith, L.B. (1991). Pathogens in cheese. Food Microbil., 8, 171-182.

A STUDY ON THE PREVALENCE OF *L.MONOCYTOGENES* AND *SALMONELLA* SPP. IN TULUM CHEESE

Hilal Colak

Hamparsun Hampikyan

Enver Baris Bingol

Bevza Ulusoy*

Istanbul University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology 34320 Avcilar, Istanbul, TURKEY.

E-mail: ulusoy@istanbul.edu.tr

Abstract

Tulum cheese, which is produced from raw milk, is one of the most popular semi-hard cheeses in Turkey. The growth of some food pathogens such as *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in cheese and other dairy products may cause serious health problems for consumers. The aim of this study was to assess the presence of *L.monocytogenes* and *Salmonella* spp. in Tulum cheese sold in Istanbul. During the period of March 2004- March 2005, a total of 250 Tulum cheese samples were obtained from various markets located in Istanbul and the presence of *L.monocytogenes* and *Salmonella* spp. was analyzed according to "Food and Drug Administration" (FDA) methods. The results were positive for *L.monocytogenes* and *Salmonella* spp. in 12 (4.8%) and 6 (2.4%) samples respectively.

Keywords: *L.monocytogenes*, *Salmonella* spp., Tulum cheese

Özet

Tulum peynirlerinde *L.monocytogenes* ve *Salmonella* spp. mevcudiyeti

üzerine bir çalışma

Tulum peyniri ülkemizde en popüler yarı-sert peynirlerden biridir. Peynir ve diğer süt ürünlerinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. gibi patojenlerin varlığı tüketici sağlığı açısından oldukça önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı İstanbul'da satışa sunulan Tulum peynirlerinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. mevcudiyetini araştırmaktır. Bu amaçla Mart 2004- Mart 2005 dönemi içinde İstanbul'daki çeşitli satış yerinden toplanan toplam 250 Tulum peyniri örneği *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. yönünden

analize tabi tutulmuştur. Analizler FDA (Food and Drug Administration) tarafından bildirilen metodlara göre yapılmıştır. Sonuç olarak, incelenen örneklerin 12'sinin (%4.8) *L.monocytogenes*, 6'sının (%2.4) *Salmonella* spp. yönünden pozitif olduğu tespit edilmiştir.

INTRODUCTION

Tulum cheese is one of the most popular semi-hard cheeses in Turkey, and is produced from raw milk. Despite its popularity, unfortunately there are no standard techniques in Tulum cheese production. In many regions of Turkey, Tulum cheese is produced with traditional methods and marketed in public bazaars by village people. On the other hand, modern production procedures are carried out by a few dairy plants (6, 17).

Traditionally, Tulum cheese is manufactured from skimmed sheep, goat or cow milk. After curd formation by the addition of rennet, the curd is salted and packed in goat skin (Tulum) for ripening at 6-10°C, in 85% relative humidity for 3-6 months (Figure 1). During the ripening, the goat skin gives the characteristic taste and sharp aroma to Tulum cheese. In dairy plants, for ripening, hygienic plastic containers have been used instead of goat skin, in order to prevent the contamination by hazardous microorganisms (10).

The microbiological characteristics of this cheese depend on the quality of raw milk, the procedures and the conditions of production, the personnel and the storage conditions. During the ripening period, some hazardous food pathogens such as *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. may still cause serious food safety problems for consumers, in spite of added salt, the antimicrobial metabolites, the presence of low pH and moisture levels (17).

Consumption of cheese contaminated with the mentioned pathogens can lead to serious health problems which can occasionally be fatal for consumers. In the last few years, several outbreaks of disease due to consumption of contaminated dairy product have been reported. Outbreaks implicating various cheese types in different countries can be seen in Table 1 (9).

Among dairy products, traditional production and consumption of Tulum cheese is widespread in Turkey. For this reason, this study was planned to detect the presence of

L. monocytogenes and *Salmonella* spp. in Tulum cheese sold in Istanbul and to evaluate the results according to Turkish Food Codex.

Figure 1: The production steps of Tulum Cheese

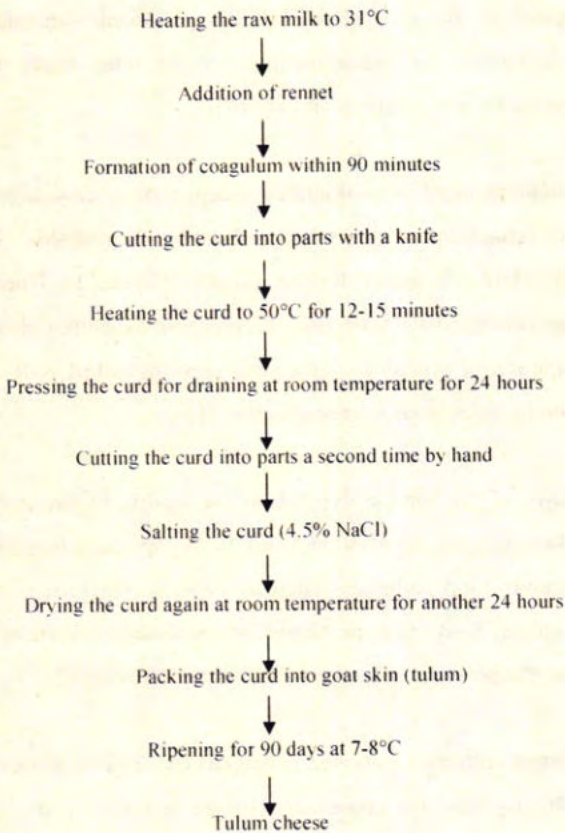


Table 1. *Salmonella* spp. and *L.monocytogenes* outbreaks implicating various cheese types in different countries.

Country	Year	Microorganism	Cheese Type	Cases/Deaths
Italy	1981	<i>Salmonella</i> spp.	Mozzarella	>100
USA	1981	<i>Salmonella</i> spp.	Mozzarella	321/2
Switzerland	1983-87	<i>L.monocytogenes</i>	Vacherin Mont D'or	122/33
Canada	1984	<i>Salmonella</i> spp.	Cheddar	>1700
Finland	1985	<i>Salmonella</i> spp.	Farm cheese	35
USA	1985	<i>L.monocytogenes</i>	Mexican soft cheese	142/48
England	1989	<i>Salmonella</i> spp.	Soft Cheese	42
Luxembourg	1989	<i>L.monocytogenes</i>	Camembert	2
Denmark	1989-90	<i>L.monocytogenes</i>	Hard & Blue Cheese	26/6
France	1993	<i>Salmonella</i> spp.	Goat milk cheese	273/1
Canada	1994	<i>Salmonella</i> spp.	Farm soft cheese	35
France	1995	<i>Salmonella</i> spp.	Mont D'or Cheese	25/5
France	1995	<i>L.monocytogenes</i>	Brie de Meaux Cheese	36/11
France	1996	<i>Salmonella</i> spp.	Mont D'or Cheese	14/1

MATERIALS AND METHODS

Samples

During the period of March 2004 - March 2005, a total of 250 Tulum cheese samples were randomly collected from various markets located in Istanbul. Samples were transported under cold conditions from their place of collection to the laboratory.

Microbiological Analysis

Food and Drug Administration (FDA) methods were used for the detection of *L.monocytogenes* (12) and *Salmonella* spp. (1).

Detection of L.monocytogenes:

Enrichment: 225 ml Listeria Enrichment Broth (LEB) (Oxoid, CM862) without selective supplement was added to 25 g Tulum cheese, and incubated at 30°C for 4 hours. Then,

Listeria Enrichment Broth Selective Supplement (Oxoid, SR0141E) was added and incubated for another 44 hours, for a total of 48 hours, at 30°C.

Isolation: At 24 and 48 hours, the test culture (from LEB) was streaked onto both OXFORD (Oxoid, CM856) and PALCAM Agar (Oxoid, CM877), and incubated for 24-48 hours at 35°C. After incubation, 5 typical colonies from these media were transferred to Tryptic Soy Agar with Yeast Extract (TSAYE) (Oxoid, CM0131) and incubated for 24-48 hours at 30°C.

Identification: The purified isolates were identified by classic tests such as examination of TSAYE plates with oblique Henry illumination, Gram staining, examination of catalase activity, rotating or tumbling motility, haemolysis zone on blood agar, motility in Semisolid Indol Motility (SIM) medium (Oxoid, CM0435) for typical umbrella shape, and carbohydrate fermentation tests in Purple Carbohydrate Broth, and the CAMP test

Detection of *Salmonella* spp.:

Enrichment: 225 ml Lactose Broth (LB) (Oxoid, CM0137) was added to 25 g Tulum cheese, and incubated at 35°C for 24 hours. Then, 0.1 ml of mixture transferred to 10 ml Rappaport Vassiliadis (RV) medium (Oxoid, CM0669) and another 0.1 ml mixture to 10 ml Tetrathionate (TT) Broth (Oxoid, CM0671). RV medium was incubated for 24 hours, at 42°C, and TT broth for 24 hours, at 43°C.

Isolation: The test cultures from RV and TT separately were streaked onto Bismuth Sulfite (BS) Agar (Oxoid, CM0201), Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) Agar (Oxoid, CM0469) and Hectoen Enteric (HE) Agar (Oxoid, CM0419), and incubated for 24 hours at 35°C.

Identification: The typical colonies were identified by Triple Sugar Iron (TSI) agar (Oxoid, CM0277), Lysine Iron Agar (LIA) (Oxoid, CM0381) fermentation tests, urease test (Urea Broth, Oxoid, CM0071) and serological tests such as polyvalent flagellar (H) and polyvalent somatic (O) tests (Murex Salmonella Polyvalent Agglutinating Sera).

RESULTS AND DISCUSSION

L. monocytogenes and *Salmonella* spp. were detected in 12 (4.8%) and 6 (2.4%) samples, respectively. The results are given in Table 2. According to Turkish Food Codex, the presence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in 25 g of cheese is not acceptable. In this study, 4.8% and 2.4% of the analyzed samples showed impropriety with Turkish Legal Limits (3).

Table 2. The distribution of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in Tulum cheeses.

Sample number	<i>L. monocytogenes</i> positive samples	<i>L. monocytogenes</i> positive (%)	<i>Salmonella</i> spp. positive samples	<i>Salmonella</i> spp. positive (%)
250	12	4.8	6	2.4

In our country, the incidence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in different types of traditional cheeses has been reported in various studies by a number of researchers. Sagun *et al.* (2001) collected 254 Otlu (herby) cheese samples from Van city and neighborhood villages. Of the analyzed samples, 10 (3.93 %) were found to be positive for *L. monocytogenes* (21). Their results correlate well with another study conducted by Tumbay *et al.* (1988), where 11 (3.4%) out of 323 White cheese samples contained *L. monocytogenes* (25). Similar results in 3 out of 105 White cheese samples and in 1 out of 40 Cecil cheese samples were reported by Ciftcioglu and Ugur (1991) and Guven (2001), respectively (8, 11). Our findings showed similarity with these results. On the other hand, in a study performed by Cetinkaya *et al.* (1999), it was reported that *L. monocytogenes* could not be detected in 52 Tulum cheese samples (7).

Salmonella spp., were detected by Tekinsen and Ozdemir (2005) in 50 unripened Van otlı (herby) cheese samples obtained in Van and Hakkari markets. Three (6%) of the 50 samples were found to be positive for *Salmonella* spp. These results are higher than ours (23). Contrary to this, it was reported that *Salmonella* spp. were not found in 26 Tulum cheese samples by Ozalp *et al.* (1978), in 20 Tulum cheese samples by Kivanc (1989), in 38 White cheese samples by Turantas *et al.* (1989), in 80 White cheese and 40 Cecil cheese samples by and Guven (2001) and in 50 Carra cheese samples by Aslantas and Oner (2005) (6, 11, 13, 19, 26).

In countries other than Turkey, various results were established on the presence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in different types of traditional cheeses. In Brazil, Silva *et al.* (2003) found *L. monocytogenes* in 16.7% of analyzed Minas Frescal Cheese samples

(22). Rudolf and Scherer (2001) reported that 6.4% of European red-smear cheese samples were contaminated with *L.monocytogenes* (20). In a study that was conducted by Makino et al. (2005) in Japan, *L.monocytogenes* was detected in 15 out of 123 traditional cheese samples (15). On the other hand, Ashenafi (1990), stated that *L.monocytogenes* was not isolated from 100 Ayib cheese samples in Ethiopia (4). Menéndez *et al.* (2001), studied Tetilla, which is produced from raw cow's-milk cheese in Galicia, Spain. In 24 cheese samples, *L.monocytogenes* was detected in 2 (8.3%) whereas *Salmonella* spp. were not isolated in any samples (16). These findings are similar to the results of Olarte *et al.*(1999) who found *L.monocytogenes* in 1 out of 18 (5.6%) Spain Cameros cheese and could not isolate *Salmonella* spp. in any samples (18). In another study conducted by Angelidis et al. (2006) *L.monocytogenes* and *Salmonella* spp. were not detected in 14 semi hard traditional cheeses in Greece (2). Total survey results which are stated in this study can be seen in Table 3.

Table 3. Incidence of *L.monocytogenes* and *Salmonella* spp. in various traditional cheese types in Turkey and other countries

Cheese Type	No. of samples	Microorganism	Incidence	Country	Reference
Otlu Cheese	254	<i>L.monocytogenes</i>	10 (3.93%)	Turkey	Sagun et al (2001)
White Cheese	323	<i>L.monocytogenes</i>	11 (3.4%)	Turkey	Tumbay et al (1988)
White Cheese	105	<i>L.monocytogenes</i>	3 (2.8%)	Turkey	Cificioglu and Ugur (1991)
Cecil Cheese	40	<i>L.monocytogenes</i>	1 (2.5 %)	Turkey	Gulmez and Guven (2001)
Tulum Cheese	52	<i>L.monocytogenes</i>	0	Turkey	Cetinkaya et al (1999)
Otlu Cheese	50	<i>Salmonella</i> spp.	3 (6%)	Turkey	Tekinşen and Özdemir (2005)
Tulum Cheese	20	<i>Salmonella</i> spp.	0	Turkey	Kivanc et al (1989)
White Cheese	38	<i>Salmonella</i> spp.	0	Turkey	Turantas et al (1989)
Carra Cheese	50	<i>Salmonella</i> spp.	0	Turkey	Aygun et al. (2005)
White Cheese	80	<i>Salmonella</i> spp.	0	Turkey	Gulmez and Guven (2001)
Cecil Cheese	40	<i>Salmonella</i> spp.	0		
Traditional Cheese	14	<i>L.monocytogenes</i>	0	Greece	Angelidis et al. (2006)
		<i>Salmonella</i> spp.	0		
Red Smear Cheese	329	<i>L.monocytogenes</i>	21 (6.4%)	Germany	Rudolf and Scherer (2001)
Domestic Cheese	123	<i>L.monocytogenes</i>	15 (12.1%)	Japan	Makino et al. (2005)
Ayib Cheese	100	<i>L.monocytogenes</i>	0	Ethiopia	Ashenafi (1990)
Tetilla Cheese	24	<i>L.monocytogenes</i>	2 (8.3%)	Spain	Menendez et al. (2001)
		<i>Salmonella</i> spp.	0		
Cameros Cheese	18	<i>L.monocytogenes</i>	1 (5.6%)	Spain	Olarte et al. (1999)
		<i>Salmonella</i> spp.	0		

In this study, the presence of *Listeria* and *Salmonella* species in analysed Tulum cheeses seems to be related with the use of raw milk and non-hygienic production processes and storage conditions. Furthermore, it was reported by various researchers that Tulum cheese had a low microbiological quality, because of the poor hygienic conditions in small primitive productions which are widespread in our country (5; 14, 24).

In conclusion, since cheese is a ready-to-eat product, even a low incidence of contamination may pose a risk to consumer health. Therefore, it is essential to ensure high safety standards such as raw milk quality, effective pasteurization process, hygienic production and storage conditions, proper cleaning and sanitation processes in production places.

REFERENCES

1. Andrews, W. H., June, G. A., Sherrod, P. S., Hammack, T. S., & Amaguana, R. M. (1995). *Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition* (pp. 5.01-5.20). Gaithersburg, USA: AOAC International.
2. Angelidis, A. S., Chronis, E. N., Papageorgiou, D. K., Kazakis, I. I., Arsenoglou, K. C., & Stathopoulos, G. A. (2006). Non-lactic acid, contaminating microbial flora in ready-to-eat foods: A potential food-quality index. *Food Microbiology*, 23(1), 95-100.
3. Anonymous. (2001). Türk Gıda Kodeksi. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Tebliğ No: 2001/19. Resmi Gazete, Tarih 02.09.2001, Sayı:24511.
4. Ashenafi, M. (1990). Microbiological quality of ayib, a traditional Ethiopian cottage cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 10(3-4), 263-268.
5. Aygun, O., Aslantas, O., & Oner, S. (2005). A survey on the microbiological quality of Carra, a traditional Turkish cheese. *Journal of Food Engineering* 66, 401-404.
6. Bostan, K., Ugur, M., & Aksu, H. (1992). Deri ve plastik bidonlar içinde satışa sunulan tulum peynirlerinin duysal kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Pendik Hayvan Hastanesi Merkezi Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 23(1), 78-83.
7. Cetinkaya, B., Ertas, H. B., & Muz, A. (1999). Süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin izolasyonu. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 21-25.
8. Ciftcioglu, G., & Ugur, M. (1991). Ülkemizde tüketilen salamura beyaz peynirlerde *Listeriaların* varlığı üzerine bir araştırma. *Bildiriler, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü*, 179-190.
9. De Buyser, M. L., Dufour, B., Maire, M., & Lafarge, V. (2001). Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology*, 67, 1-17.
10. Erdogan, A., Gurses, M., & Sert, S. (2003). Isolation of moulds capable of producing mycotoxins from blue mouldy Tulum cheeses produced in Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 83-85.
11. Gulmez, M., & Guven, A. (2001). Beyaz ve Çeçil peynirlerinde *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria* türlerinin araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(2), 155-161.
12. Hitchins, A. D. (1995). *Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition* (pp. 10.01-10.13). Gaithersburg, USA: AOAC International.
13. Kivanc, M. (1989). The microbiological quality of Erzincan (Savak) Tulum cheese from Turkish retail markets. *Nahrung*, 33, 895-900.
14. Kurt, A., & Oztek, I. (1984). Şavak tulum peynirinin yapım tekniği üzerine araştırmalar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Dergisi*, 15(3-4), 65-67.

15. Makino, S. I., Kawamoto, K., Takeshi, K., Okada, Y., Yamasaki, M., Yamamoto, S., & Igimi S. (2005). An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan, during 2001. *International Journal of Food Microbiology*, 104, 189-196.
16. Menéndez, S., Godínez, R., Centeno, J. A., & Rodríguez-Otero, J. L. (2001). Microbiological, chemical and biochemical characteristics of 'Tetilla' raw cows-milk cheese. *Food Microbiology*, 18(2), 151-158.
17. Oksuztepe, G., Patir, B., & Calicioglu, M. (2005). Identification and distribution of Lactic Acid Bacteria during the ripening of Savak Tulum cheese. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 29, 873-879.
18. Olarte, C., Sanz, S., Fandos, E. G., & Torre, P. (1999). Microbiological and physicochemical characterisation of Cameros cheese. *Food Microbiology*, 16, 615-621.
19. Ozalp, E., Kaymaz, S., & Aksehirli, E. (1978). Erzincan tulum peynirlerinde enterotoksijenik stafilokoklar ve salmonellalar yönünden bir araştırma. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(1), 55-61.
20. Rudolf, M., & Scherer, S. (2001). High incidence of *L. monocytogenes* in European red smear cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 63, 91-98.
21. Sagun, E., Sancak, Y. C., Isleyici, Ö., & Ekici, K. (2001). Van ve çevresi süt ve otlu peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 25, 15-19.
22. Silva, I. M. M., Almeida, R. C. C., Alves, M. A. O., & Almeida, P. F. (2003). Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. *International Journal of Food Microbiology*, 81(3), 241-248.
23. Tekinsen, K. K., & Ozdemir, Z. (2005). Prevalence of foodborne pathogens in Turkish Van Otlı (Herb) cheese. *Food Control*. Article in press.
24. Tekinsen, O. C., Patir, B., & Alkan, M. (1993). Şavak peynirinde koliform grubu mikroorganizmalar üzerine araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(2), 8-12.
25. Tumbay, E., Seeliger, H. P. R., İnci, R., Cosar, G., & Langer, B. (1988). Isolation of *Listeria* from cheese in Turkey. *İnfeksiyon Dergisi*, 2(4), 593-595.
26. Turantas, F., Unluturk, A., & Goktan, D. (1989). Microbiological and compositional status of Turkish white cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 8(1), 19-24.
27. Yilmaz, G., Ayar, A., & Akin, N. (2005). The effect of microbial lipase on the lipolysis during the ripening of Tulum cheese. *Journal of Food Engineering*, 69, 269-274.

GELENEKSEL YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN BEYAZ PEYNİRLERDEN *LACTOCOCCUS LACTIS* LERİN İZOLASYONU, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER İDANTİFİKASYONU VE SUŞLAR ARASI BİYOÇEŞİTLİLİĞİN PCR-RAPD TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Recep ÇİBİK

Figen ÇETİNKAYA

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
16059 Bursa
e-mail: recep_cibik@yahoo.com

Özet

Geleneksel tekniklere göre üretilmiş olan Beyaz peynirlerden laktokokkus familyasına ait mikroorganizmalar izole edilerek, biyokimyasal ve moleküler teknikler yardımıyla idantifikasyon işlemi yapıldı. Test edilen tipik koloniler üzerine uygulanan biyokimyasal testler yardımıyla 33 adet izolatin tipik laktokokkus profili gösterdiği saptandı. Daha sonra, her bir izolat *lactis* ve *cremoris* alttürleri için ayırıcı PCR primerleri kullanılarak moleküler onaylama işlemine tabi tutuldu. 16S rDNA genine spesifik olarak tasarlanmış bu primerler vasıtasıyla, test edilen izolatlardan 19 tanesinin *Lc. lactis* alttür *lactis*, 5 tanesinin de *Lc. lactis* alttür *cremoris* alttürlerine ait olduğu saptandı. Diğer 9 suşa ait DNA, uygulanan primerlerden hiçbirisiyle yanıt vermedi. Bunun ardından, moleküler tekniklerle idantifikasyonu onaylanmış suşlar, 10 bazlı kısa zincirli oligonükleotid primerleri vasıtasıyla "Randomly Amplified Genomic DNA" tekniğini kullanarak, suş seviyesinde genomik çeşitlilik işlemine tabi tutuldu. Özellikle *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşları arasında genomik çeşitliliğin daha yaygın olduğu gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Beyaz peynir, laktokokkus, idantifikasyon, PCR, RAPD

Abstract

ISOLATION, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF *LACTOCOCCUS LACTIS* STRAINS FROM TRADITIONAL WHITE PICKLED CHEESE AND DETERMINATION OF BIODIVERSITY BY PCR-RAPD

Lactococcal strains that were isolated from traditionally made White Pickled Cheese were identified by both classic biochemical tests and specific PCR primers. Among the tested colonies, 33 gave *Lactococcus* profile by biochemical tests. Each of isolates was tested by

PCR using a couple of primers specific to *lactis* and *cremoris* subspecies. 16S rDNA directed primers revealed that 19 of the isolates were belonged to *Lc. lactis* ssp. *lactis* while only five isolates gave positive results with *cremoris* specific primers. Genomic DNA of remained nine isolates gave result neither with *lactis* nor *cremoris* subspecies specific primers. The genomic diversity among the strains was analysed by randomly amplified polymorphic DNA technique (RAPD) by using ten bases long oligonucleotid primers. Two different primers were employed for this purpose and quite large heterogeneity was observed particularly for *Lc. lactis* ssp. *lactis* strains.

Key words : White Pickled cheese, *Lactococcus*, identification, PCR, RAPD

GİRİŞ

Fermente gıdaların fermentasyon süreci esnasında istenen nitelikleri kazanmalarında ve daha dayanıklı bir yapıya dönüşmelerinde laktik asit bakterileri etkin role sahiptirler. Bu grup mikroorganizmalar içersinde başlıca laktobasil, laktokok, streptokok, leukonostok, pediokok gibi bakterilerle birlikte bazı maya ve küf çeşitleri de yer almaktadır (Cogan ve ark. 1997, Corroler ve ark. 1998).

Laktokoklar süt ürünlerinin fermentasyonunda özellikle de birçok peynir çeşidinin yapımında ve olgunlaşmasında yer alan mikroorganizmalardır (Tailliez ve ark. 1998). Peynir teknolojisi açısından bu familyanın içersinde yer alan *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Lc. lactis* ssp. *cremoris* teknolojik öneme haiz olan mikroorganizmalar olarak tanımlanmışlardır. Mezofilik özelliğe sahip bu mikroorganizmaların peynirlerin olgunlaşmasındaki birincil rolleri laktik asit üreterek asidifikasyonu sağlamaktır (Aubert ve ark. 2002, Beal ve ark. 1994). Sütteki laktozu kullanarak başlıca L(+) laktik asit ve ayrıca kullanılan suşun niteliğine göre sitratın parçalanması sonucu asetaldehit, diasetil ve asetoin gibi aromatik ürünler açığa çıkaran bu mikroorganizmalar, sağladıkları asit ortam dolayısıyla istenmeyen mikroorganizmaların üremesini engellerler ve güvenilir ürün üretimine katkıda bulunurlar (Chamba ve ark. 1989, Fonseca ve ark. 2000). Sahip oldukları proteaz ve aminopeptidazlar sayesinde, süt proteinlerini birinci aşamada oligopeptitlere, ardından di-tri peptitlere daha sonraki basamaklarda ise amino asitlere ve daha alt birimlere parçalayarak ürünün

olgunlaşmasını ve istenen aromanın şekillenmesini sağlarlar (Boutrou ve ark. 1998, Cogan ve ark. 1997). Lezzet oluşumunda önemli bileşiklerden olan dallı zincirli aldehit bileşiklerinin oluşumu, alfa-keto asit dekarboksilaz olarak bilinen ve ancak sadece bazı *Lc. lactis* suşlarında tespit edilen bir transaminaz tarafından sağlanmaktadır (Lynch ve ark. 1997, Tanous ve ark. 2006).

Mevcut taksonomik verilere göre *Lactococcus lactis* türünün altında *lactis*, *cremoris* ve *hordniae* alttürleri olmak üzere üç adet alttür bulunmaktadır. Bunlardan ilk ikisi özellikle süt endüstrisi açısından önem arz etmekteyken sonuncu türün insektlerde bulunduğu rapor edilmiştir (Cogan ve Hill 1993, Lattore-Guzmann ve ark. 1977). Klasik biyokimyasal testler uzun yıllar boyunca laktokokların idantifikasyonunda kullanıldı. Ancak bu testler laktokokların diğer yakın cinslerden ayırımında yeterince etkin olamadı, özellikle enterokoklar bu türlerle karışabilmektedir. Bu türün diğerlerinde kesin ve ayırıcı tanısında kullanılan moleküler teknikler rapor edilmiştir (Pot ve ark.1996, Klijn ve ark.1991). Bununla birlikte 16S rDNA zincirine ilişkin spesifik problemlerin geliştirilmesiyle *cremoris* ile *lactis* alttürlerinin de moleküler olarak ayırımı mümkün olmuştur (Pu ve ark. 2002). Son yıllarda genetik tekniklerdeki gelişmelerle birlikte suşlar arasında çeşitliliğin ve akrabalık derecesinin ortaya konulmasına ilişkin birçok moleküler teknikler geliştirilmiştir. "Randomly Amplified Polimorphic DNA", bu teknikler arasında kolay uygulanabilirliği, daha az zamanda sonuç vermesi ve daha ucuz olması dolayısıyla tercih edilen bir tekniktir (Cibik ve ark. 2000).

Bu çalışma ile beyaz peynir florasında yer alan *Lactococcus lactis* ssp *lactis* ve *cremoris* alttürlerinin izolasyonu, biyokimyasal testler ve ardından moleküler olarak idantifikasyonu ve elde edilen suşlar arasındaki genetik çeşitliliğin ve yakınlığın RAPD-PCR tekniği ile ortaya konulması amaçlandı. İzole edilen suşların saklanıp değerlendirilmek üzere korunması da yerel peynir çeşitlerimize özgü mikrobiyal zenginliğin korunması açısından önem arz etmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mikroorganizmaların izolasyonu ve mikrobiyolojik testler

Kültür kullanılmaksızın üretilmiş olan beyaz peynir numuneleri Bursa ili ve çevresindeki mandıra ve pazarlardan toplandı ve analiz için laboratuara sevk edildi. Numuneler, ondalık sulandırılmaların ve homojenizasyon işleminin ardından içersinde 40 mg/lt oranında nalidiksit asit içeren (Sigma N4382) M17 agar üzerine dökme plak tekniğine göre ekildi ve 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda üreyen tipik kolonilerden koloni formuna göre laktokok olması şüpheli koloniler M17 laktoz sıvı besiyerine transfer edildi ve katalaz aktivitesi, mikroskopik görünüm, Gram boyama, 10 °C'de ve 45 °C'de üreme, % 2, 4 ve 6.5 NaCl içeren sıvı besiyerinde üreme testlerine tabi tutuldu. Katalaz negatif, Gram pozitif, kok formunda, 10 °C'de üreyen ancak 45 °C'de üremeyen ayrıca % 6.5 NaCl içeren besi ortamında üremeyen koloniler laktokok olarak kabul edildi.

DNA ekstraksiyonu

Mikroorganizmalar gece boyunca 30C de sıvı M17 laktoz besi yerinde üretildi ve genomik DNA, Tailliez ve ark. (1998) tarafından belirtildiği gibi fenol- kloroform ekstraksiyon metoduna göre izole edildi.

Oligonükleotitler, Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), ve RAPD-PCR

Çalışmada kullanılan oligonükleotit primerleri Tablo 1 de verilmiştir. PCR ve RAPD reaksiyonları içersinde: 1.5 mmol/l MgCl₂ , 20-100 µg DNA, 0.5 µmol/l primer, 2.5 IU Taq polimeraz, 200 µmol/l dNTP ve 100 mmol/l Tris HCl bulunan 50 µl son hacimde gerçekleştirildi. Çoğaltım işlemi için Perkin Emler termocycler (model 3600) kullanıldı. PCR için; her bir siklusu 94 C'de 30 s denaturasyon, 45 C'de 30 s hibridizasyon ve 72 C'de 2 d tamamlama işlemi 35 siklus olarak uygulanırken, RAPD-PCR için 30 siklusluk bir program uygulandı. Her bir siklus, 94 C'de 1 d denaturasyon, 36 C'de 2 d hibridizasyon ve 72 C'de 2 d tamamlama olarak gerçekleştirildi. Bunun ardından PCR ve RAPD-PCR ürünleri % 1 lik agaroz jelleri üzerinde göç ettirildi ve etidyum bromür ile boyanarak görüntülendi.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primerler ve hedef mikroorganizmalarla hedef bölgeleri

Primer (Ref.)	Hedef mikroorgani zma	Baz sayısı	Hedef Bölge (rDNA)*	Oligonükleotit
LacR (Pu ve ark. 2002)	<i>Lc. lactis</i>	19	779-815	GGGATCATCTTTGAGTGAT
Lac F (Pu ve ark. 2002)	<i>Lc. ssp. lactis</i>	19	217-341	GTACTTGTACCGACTGGAT
Cref (Pu ve ark. 2002)	<i>Lc. ssp. cremoris</i>	19	217-341	GTGCTTGACCGATTGAA
B6 Tailliez ve ark. 1998)		10	RAPD	TGCTCTGCCC
B10 (Tailliez ve ark. 1998)		10	RAPD	CTGCTGGGAC

* DNA zincir pozisyonu "Ribosomal Database Project" e göre *E. coli* baz alınarak belirlenmiştir.

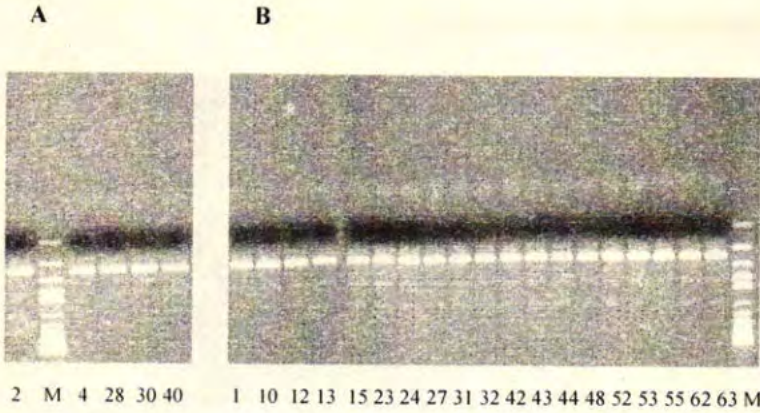
BULGULAR

Toplanan peynir numunelerinin nalidiksik asit içeren M17 agar besiyeri ortamına ekilmesi sonucunda tüm numunelerde üreme şekillendiği tespit edildi. Üreyen mikroorganizma sayısının 1×10^4 ile 4.2×10^8 değerleri arasında değiştiği gözlemlendi. Her bir peynir numunesine ait üreyen kolonilerden tipik koloni özelliklerine sahip bir koloni seçilerek ileri identifikasyon işlemleri için sıvı besiyerinde üretildi ve gliserollü ortamda donduruldu. Test edilen tipik koloniler üzerine uygulanan fenotipik testler yardımıyla 33 adet izolatin tipik laktokokkus profili gösterdiği saptandı. Daha sonra, her bir izolat *lactis* ve *cremoris* alttürleri için ayrıncı PCR primerleri kullanılarak moleküler onaylama işlemine tabi tutuldu. 16S rDNA genine spesifik olarak tasarlanmış bu primerler vasıtasıyla, test edilen izolatlardan 19 tanesinin *Lc. lactis* alttür *lactis*, 5 tanesinin de *Lc. lactis* alttür *cremoris* alttürleri ile 161 bp boyutlarında bir bant verdiği gözlemlendi. Diğer 9 suşa ait DNA, uygulanan primerlerden hiçbirisiyle yanıt vermedi (Tablo 2). Yanıt vermeyen bu türler *Lactococcus* cinsine ait diğer türlere ve alttürlerine ait olabilir. PCR sonuçlarına ilişkin şekiller şekil 1'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Fenotipik değerlendirme, tre zg PCR ve RAPD-PCR grupları

Suş	Fenotipik değerlendirme	<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> spesifik	<i>Lc. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	RAPD-PCR grubu	
		PCR	spesifik PCR	B06	B10
1	<i>Lc.</i>	+	-	A1	B1
10	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B2
12	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B1
13	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B2
15	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B3
23	<i>Lc.</i>	+	-	A3	B2
24	<i>Lc.</i>	+	-	A4	B4
27	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B3
31	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B5
32	<i>Lc.</i>	+	-	A5	B6
42	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B3
43	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B3
44	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B3
48	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B3
52	<i>Lc.</i>	+	-	A4	B4
53	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B7
55	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B7
62	<i>Lc.</i>	+	-	A2	B8
63	<i>Lc.</i>	+	-	A5	B8
2	<i>Lc.</i>	-	+	A6	B9
4	<i>Lc.</i>	-	+	A6	B9
28	<i>Lc.</i>	-	+	A7	B10
30	<i>Lc.</i>	-	+	A7	B10
40	<i>Lc.</i>	-	+	A7	B9
5	<i>Lc.</i>	-	-		
7	<i>Lc.</i>	-	-		
8	<i>Lc.</i>	-	-		
11	<i>Lc.</i>	-	-		
18	<i>Lc.</i>	-	-		
22	<i>Lc.</i>	-	-		
33	<i>Lc.</i>	-	-		
16	<i>Lc.</i>	-	-		
19	<i>Lc.</i>	-	-		

Şekil 1. A. kremoris primerleri ile reaksiyon veren isolatlar. B. laktis primerleri ile reaksiyon veren isolatlar



Suşlar arasındaki biyolojik çeşitlilik ve farklılıklar RAPD-PCR tekniği ile iki farklı primer kullanılarak belirlendi. Suşların oluşturdukları gruplar Tablo 2’de verilmiştir. Kullanılan B10 primerinin B06’ya nazaran daha ayırıcı olduğu ve ortaya çıkan profiller itibariyle daha zengin olduğu görülmüştür (Şekil 2).

TARTIŞMA VE SONUÇ

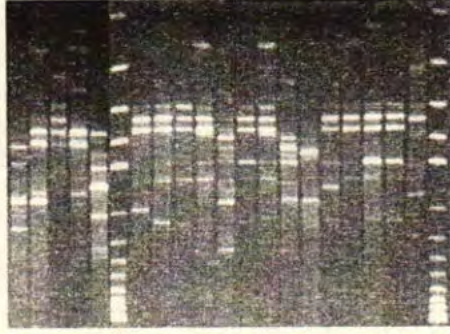
Bu çalışmada ülkemizde üretim ve tüketim miktarları açısından birinci sırada yer alan beyaz peynire özgü laktokok florasının karakterizasyonu, suşlar arası benzerlik ve biyoçeşitliliğin genetik olarak belirlenmesi ve daha sonraki çalışmalara temel oluşturacak olan yerel kültürlerimizin korunması amaçlanmıştır. Uygulanan fenotipik testlerle seçilmiş olan bütün koloniler tipik *Lactococcus lactis* profili göstermelerine rağmen bu isolatlardan 9 adedi genetik testlerde negatif yanıt vermiştir. Çalışmamızda uygulanan fenotipik testlerin sadece laktokok cinsi için ayırıcı olması ve tür seviyesinde ayırım için diğer ilave testlerin gerekli olması bu durum açısından açıklayıcı olabilir. Bununla birlikte, fenotipik testler, kesin tanı açısından her zaman ayırıcı olmayabilir. Bu cinse ait mikroorganizmaların diğer bazı mikroorganizma gruplarıyla kolaylıkla karışabileceği belirtilmiştir (Teixeira ve ark. 1996, Deasy ve ark. 2000).

Şekil 2. B06 (A) ve B10 primerleri ile *Lc. lactis* ssp. *cremoris* ve *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşlarının RAPD-PCR profilleri.

A *Lc. lactis* ssp. *cremoris* *Lc. lactis* ssp. *lactis*



40 M 30 28 4 2

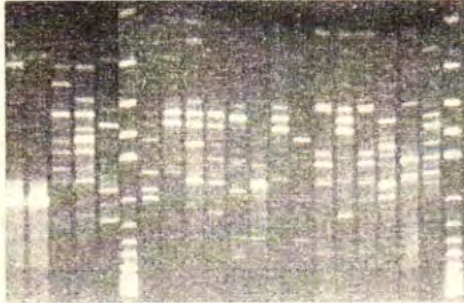


63 62 55 53 52 M 48 44 43 42 32 31 27 24 23 15 13 12 10 1 M

B *Lc. lactis* ssp. *cremoris* *Lc. lactis* ssp. *lactis*



40 M 30 28 4 2



63 62 55 53 52 M 48 44 43 42 32 31 27 24 23 15 13 12 10 1 M

Lc. lactis alttür *cremoris* genel olarak peynir çeşitlerinden daha nadir olarak izole edilen bir türdür (Corroler ve ark 1998). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde 19 adet laktis suşuna nazaran 5 adet kremoris suşu izole edildi. Kremoris alttürü özellikle Cheddar peynirlerinde istenen aromanın oluşmasında yer alan bir mikroorganizmadır (Heap 1998). Uzun yıllar boyunca kremoris ve laktis alttürlerinin birbirinden ayrımında biyokimyasal olarak arjininden amonyak üretim testi kullanılmıştır. Ancak bu test her zaman için güvenilir sonuçlar vermiyordu (Gadre ve ark. 1999). Çalışmamızda kullandığımız primerler sadece kendi türlerine özgü DNA ile reaksiyon vermiştir. Bu sonuçlar bu iki alttürün ayrımında moleküler testlerin etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

RAPD-PCR analizi değişik suşlar arasındaki akrabalıkları ve farklılıkları ortaya koymaya ve gruplar oluşturmaya olanak sağladı. Kullanılan B06 primeri ile oluşturulan grup sayısı daha az iken B10 primeri daha fazla sayıda grup oluşturuldu. Bu durum kullanılan B10 primerinin daha zengin profil vermesiyle açıklanabilir. Çalışmamızda oluşturulan profiller görsel olarak hazırlanmıştır. Spesifik programlar yardımıyla her iki gel profilinin birleştirilmesi sonucu elde edilecek dendogramlar daha kesin ve net sonuçlar verecektir.

KAYNAKLAR

1. Aubert C., Capelle N., Jeanson S., Eckert H., Diviès C., Cachon R., Le potentiel d'oxydoréduction et sa prise en compte dans les procédés d'utilisation des bactéries lactiques, *Sci. Aliments* 22: 177-187, 2002.
2. Béal C., Corrieu G., Viability and acidification activity of pure and mixed starters of *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* 404 and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 398 at the different steps of their production, *Lebensm. Wiss. Technol.* 27: 86-92, 1994.
3. Boutrou R., Sepulchre A., Pitel G., Durier C., Vassal L., Gripon J.C., Monnet V., Lactococcal lysis and curd proteolysis: two predictable events important for the development of cheese flavour, *Int. Dairy J.* 8: 609-616, 1998.
4. Chamba J. F., Prost F., Mesure de l'activité acidifiante des bactéries lactiques thermophiles utilisées pour la fabrication des fromages à pâte cuite, *Lait* 69: 417-431, 1989.
5. Cogan M.T., Barbosa M., Beuvier E., Bianchi-Salvadori B., Cocconcelli P.S., Fernandes I., Gomez J., Gomez R., Kalantzopoulos G., Ledda A., Medina M., Rea M.C., Rodriguez E., Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products, *J. Dairy Res.* 64: 409-421, 1997.
6. Corroler D., Mangin I., Desmasures N., Guéguen M., An ecological study of lactococci isolated from raw milk in the Camembert cheese registered designation of origin area, *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 4729-4735, 1998.
7. Fonseca F., Béal C., Corrieu G., Method for quantifying the loss of acidification activity of lactic acid starters during freezing and frozen storage, *J. Dairy Res.* 67: 63-80, 2000.
8. Lynch C. M., McSweeney P. L. H., Fox P. F., Cogan T. M., Drinan F. D., Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese with a controlled microflora, *Lait* 77: 441-459, 1997.
9. Tailliez P., Tremblay J., Ehrlich S. D., Chopin A., Molecular diversity and relationship within *Lactococcus lactis*, as revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD), *Syst. Appl. Microbiol.* 21: 530-538, 1998.
10. Tanous C., Chambellon E., Le Bars D., Delespaul G., Yvon M., Glutamate Dehydrogenase Activity Can Be Transmitted Naturally to *Lactococcus lactis* Strains To Stimulate Amino Acid Conversion to Aroma Compounds *Appl. and Environ. Microbiol.* 72: 1402-1409, 2006.
11. Cogan T. M., Ve Hill C., Cheese starter cultures, In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. 12, ed Fox, P.F. Pp 193-255. Londra, Chapman and Hall, 1993.

12. Lattore-Guzmann, B.A., Kado, C.I. and Kunkee, R.E., *Lactobacillus hordniae*: a new species from the leaf hopper (*Hordnia circellata*). Inter. J. of Syst. Bacteriol. 27, 362-370, 1977.
13. Pot, B., Devriese, L.A., Ursi, D., Vandamme, P., Haesebrouck, F. and Kersters, K., Phenotypic identification and differentiation of *Lactococcus* strains isolated from animals. Syst. and Appl. Microbiol. 19, 213-222, 1996.
14. Klijn, N., Weerkamp, A.H. and de Vos, W.M. (1995) Detection and characterization of lactose-utilizing *Lactococcus* spp. in natural ecosystems. Appl. and Environ. Microbiol. 61, 788-792
15. Pu, Z.Y., Dobos M., Limsowtin G. K. Y., Powell I. B., Integrated polymerase chain reaction-based procedures for the detection and identification of species and subspecies of the Gram-positive bacterial genus *Lactococcus*. J. Appl. Microbiol. 93, 353-361, 2002.
16. Cibik R., Lepage E., Tailliez P., Molecular diversity of *Leuconostoc mesenteroides* and *Leuconostoc citreum* isolated from traditional french cheeses as revealed by RAPD, 16S rDNA sequencing and 16S rDNA fragment amplification. Syst. Appl. Microbiol. 23, 267-278, 2000.
17. Teixeira, L.M., Merquior, V.L.C., Vianni, M.C.E., Carvalho, M.G.S., Fracalanza, S.E.L., Steigerwalt, A.G., Brenner, D.J. and Facklam, R.R., Phenotypic and genotypic characterization of atypical *Lactococcus garvieae* strains isolated from water buffalos with subclinical mastitis and confirmation of *L. garvieae* as a senior subjective synonym of *Enterococcus seriolicida*. Inter. J. System. Bacteriol. 46, 664-668, 1996.
18. Deasy, B.M., Rea, M.C., Fitzgerald, G.F., Cogan, T.M. and Beresford, T.P., A rapid PCR based method to distinguish between *Lactococcus* and *Enterococcus*. Syst. and Appl. Microbiol. 23, 510-522, 2000.
19. Heap, H.A., Optimising starter culture performance in NZ cheese plants. Aust. J. of Dairy Technol. 53, 74-78, 1998.
20. Garde, S., Babin, M., Gaya, P., Nunez, M. and Medina, M., PCR amplification of the gene *acmA* differentiates *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *L. lactis* subsp. *cremoris*. Appl. and Environ. Microbiol. 65, 5151-5153, 1999.

GELENEKSEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN SÜRKTE *TYROPHAGUS PUTRESCENTIAE* (ACARI: ACARIDAE)'NİN VARLIĞI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Osman Aygün¹

Mehmet Yaman²

Hisamettin Durmaz³

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknol. AD, Hatay, E-posta: osmanaygun32@hotmail.com

²Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji AD, Hatay, E-posta: myaman@mku.edu.tr

³Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknol. AD, Şanlıurfa, E-posta: hisamettindurmaz@yahoo.com

Özet

Bu çalışmada, Hatay ilinde geleneksel olarak çökelekten üretilen ve piyasadan ve kırsal kesimlerdeki evlerden toplanan toplam 450 adet küflendirilmiş Sürk örneği depo akarları yönünden incelendi. Çalışma sonunda örneklerin 38'inde (%8.44) *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) tespit edildi. Depo akarlarının Sürk'lerde üremesini önlemek için Sürk üretiminin ve muhafazasının hijyenik ortamlarda yapılması ve taze olarak tüketilmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

Abstract

A SURVEY ON OCCURRENCE OF *TYROPHAGUS PUTRESCENTIAE* (ACARI: ACARIDAE) IN SURK, A TRADITIONAL TURKISH DAIRY PRODUCT

Abstract: Four hundred-fifty samples of mouldy Surk, a Turkish traditional skim milk cheese, were collected at retail markets and private houses in Hatay, Turkey, and were examined for the presence of storage mites. Only one species of storage mite, *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) was found in 38 of 450 samples (8.44%). In conclusion, in order to avoid storage mites, the production and storage stages of Surk cheese should be carried out under hygienic and right environmental conditions and it should be consumed freshly.

GİRİŞ

Depo akarlarına genellikle depolanmış gıda maddelerinde ve yoğun olarak çeşitli iş çevrelerinde (örn. depo, değirmen, çiftlik vb.) rastlanmaktadır (3, 8, 11, 19). Gıdalarda yaygın olarak rastlanan akarlar arasında Acaridae familyasından *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), *T. longior* (Gervais), *Thyreophagus entomophagus* (Laboulbene) ve *Acarus siro* L.; Suidasiidae familyasından *Suidasia pontifica* Oudemans; Pyroglyphidae familyasından *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart), *Dermatophagoides farinae* (Hughes) ve *Euroglyphus maynei* (Cooreman); Glycyphagidae familyasından *Glycyphagus domesticus* (De Geer), *Lepidoglyphus destructor* (Schrank) ve *Gohieria fusca* (Oudemans) türleri bildirilmektedir (16, 19).

Küf akarı olarak da bilinen *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), kozmopolit bir depo akarı olup, genellikle yüksek oranda yağ ve protein içeren depolanmış gıda maddelerinde (örn. peynir, bacon, yer fıstığı, un, bazı bitkisel ürünler vb.) kontaminasyona neden olmaktadır (7, 8). Akarların gelişme süresi ortalama 10 gün olup, erişkinleri yaklaşık 2-5 ay yaşamaktadır. Küf akarlarının gelişip büyümeleri için gerekli olan optimum ısının 25 °C (8.5 - 36 °C), gıdaların depolandığı ortamın nispi nem oranının ise %80-90 civarında olduğu bildirilmektedir (7).

Gıdalarda bulunan akarların, gıdaların yüzey kısmında toplanma eğiliminde oldukları ifade edilmektedir (16). Akarlarla kontamine gıdalar yenildiğinde, temas edildiğinde veya solunduğunda, bunların akut enteritise, ishale, idrar yolları rahatsızlıklarına ve sistemik anafilaksi de dahil olmak üzere değişik alerjik reaksiyonlara neden olabildikleri belirtilmektedir (2, 8, 12, 13, 14).

Hatay'da yaygın olarak tüketilen ve geleneksel bir süt ürünü olan Sürk (baharatlı çökelek) küçük süt işletmelerinde ve kırsal kesimlerdeki evlerde üretilmektedir. Ayranın kaynatılmasıyla elde edilen çökelek bir beze konarak yaklaşık 5-6 saat süreyle suyunun süzülmesi için baskıda tutulur. Daha sonra çökeleğin içerisine her birinden yaklaşık %0,1-0,3 miktarlarında olmak üzere nane, kekik, kimyon, karabiber, tarçın ve zencefil gibi çeşitli baharatlar ile %2 oranında kırmızı biber ve yaklaşık %5 oranında tuz eklenir. İstenildiğinde ayrıca %1 oranında sarımsak da katılabilir. Bu karışım daha sonra yoğrulur ve armut benzeri

şekil verilerek taze olarak tüketime sunulmakta veya bir tepsiye aralıklı olarak dizilip gölge bir yerde yaklaşık 20-25 gün bekletilip küflendirildikten sonra tüketilmektedir (6). Şu ana kadar Sürkün standardize edilmiş bir üretim metodu bulunmamaktadır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarla alerjen akarların gıdalarda varlığı, gıda güvenliği açısından sorun olarak görülmeye başlanmıştır. Türkiye’de bu akarlarla kontamine gıdaların yenmesi sonucu ortaya çıkmış alerji vakalarıyla ilgili bir bilgiye ulaşılamamıştır. Aynı şekilde, Sürk’lerde depo akarlarının varlığı üzerinde de şu ana kadar bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile Sürk’lerde, tüketici sağlığı bakımından önem taşıyan depo akarlarının varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan 450 adet küflü Sürk örneği, her birinden yaklaşık 200 g olmak üzere 2004 yılının Haziran ve Kasım ayları arasında Hatay piyasasından ve köy evlerinden toplanmıştır.

Akarların tespiti ve identifikasyonu

Toplanan Sürk örneklerinin yüzeyinden bir petri kutusuna 5 g kadar kazıntı alındı. Bunun üzerine %10’luk KOH çözeltisinden 8–10 ml kadar ilave edildi ve akarları açığa çıkarabilmek amacıyla karışım kaynatılmadan biraz ısıtıldı. Daha sonra soğutulup bir santrifüj tüpüne alınarak üzerine doymuş şeker solüsyonu ilave edildi ve 200 G’de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Tüplerin yüzeyinde toplanan materyal lam lamel arasına alınarak mikroskopla incelendi (17). Akar türlerinin identifikasyonu Hughes (8) ve Lee ve Choi (9)’nin teşhis anahtarlarına göre yapıldı.

Kimyasal analizler

Çalışmada kullanılan örneklerden rastgele seçilen 50 Sürk örneğinin rutubet ve tuz miktarlarına ile pH değerlerine bakıldı. Örneklerin pH değerleri elektronik pH-metre (Orion, 420A – USA) ile ölçüldü; rutubet miktarı 105 °C’ye kadar ısıtılarak, tuz miktarı ise TSE Standardı’na (1) göre belirlendi.

İstatistiksel analizler

Çalışma kapsamında elde edilen sayısal sonuçların minimum, maksimum, ortalama ve standard sapma (SD) değerleri SPSS bilgisayar yazılım programı yardımıyla (SPSS for Windows, 9.05 program) değerlendirildi.

BULGULAR

Bu çalışma kapsamında incelenen toplam 450 Sürk örneğinde çeşitli gelişim safhalarına ait olmak üzere toplam 1208 adet *T. putrescentiae* (Schränk) tespit edildi. İncelenen 450 örneğin 38'inde (%8.44) ergin akarların varlığı saptandı. Ayrıca bu numunelerde (ergin akar pozitif, EAP) *T. putrescentiae*'nin yumurta, larva ve nimflerine de rastlandı (Tablo 1). Yumurta hariç, farklı gelişim dönemlerindeki akarların EAP-örneklerdeki ortalama sayısı, 5 g Sürk için 23.73 olarak bulunmuştur. EAP-örneklerin 36'sında 20'den az ergin akar saptanırken, larva, nimf ve ergin dönemlerine ait olmak üzere en fazla akar (29 adet) sadece bir numunede tespit edildi.

Akar varlığı yönünden incelenen numuneler arasından rastgele seçilen 50 Sürk örneği rutubet ve tuz oranları ile pH değerleri bakımından analize tabi tutulmuş ve elde edilen sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1
Sürk örneklerinde farklı gelişim safhalarında bulunan *T. putrescentiae* sayıları

	Toplam	Ortalama* $\pm$ SD	Min. ^a	Mak. ^b	%
Yumurta	306	15.04 $\pm$ 12.44	2	42	4.66 (21/450)
Larva	186	14.30 $\pm$ 7.07	1	24	2.88 (13/450)
Nimf	247	19.00 $\pm$ 7.17	2	26	2.88 (13/450)
Ergin akar	469 (♀365, ♂104)	12.34 $\pm$ 6.12	1	29	8.44 (38/450)

*Akar pozitif örnekler arasında, ^aMinimum, ^bMaksimum

Tablo 2
Sürk'ün kimyasal özellikleri (n= 50)

	Ortalama $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
pH	5.31 $\pm$ 0.74	4.24	6.42
Tuz (%)	5.88 $\pm$ 1.74	3.43	8.60
Rutubet (%)	44.59 $\pm$ 7.34	31.76	56.93

TARTIŞMA VE SONUÇ

Peynirlerde bulunan akarlarla ilgili çok az sayıda çalışma yapılmıştır (20, 21, 23). Tiğın ve Özer (20) tarafından kaşar peynirlerinde *A. siro* ve *Caloglyphus rhizoglyphoides* olmak üzere iki tür akar bulunduğu tespit edilmiş, ancak tespit edilen akarların yayılış oranları hakkında herhangi bir bilgi verilmemiştir. Umur (21) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, eskimiş kaşar peynirlerinde %73.3 oranında *A. siro*'ya rastlandığı bildirilmiştir. Yaman ve ark. (23), Konya yöresinde tüketilen küflü peynir ve Tulum peyniri numunelerinde *A. siro* prevalansını sırasıyla %10.34 ve %3.27 olarak tespit etmişlerdir. Analiz edilen küflü Sürk numunelerinde saptanan *T. putrescentiae*'nin yayılış oranının (%8.44), eskimiş kaşarlarda elde edilen değerdan düşük (21), Tulum peynirleri için bulunan değerdan ise yüksek olduğu, buna karşılık küflü peynirler için elde edilen prevalans değeriyle (23) paralellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Akarların ve üzerlerinde beslendikleri maya ve mantarların gelişebilmeleri için rutubetli bir ortama (> %13,5) ihtiyaç duydukları bildirilmiştir (7, 10). Bu çalışmada, Sürk örneklerinde tespit edilen ortalama rutubet oranının (%44.59, Tablo 2), akarların gelişmeleri açısından uygun ortam sağladığı ifade edilebilir. Aynı zamanda, pH değeri 4 olan besi ortamlarında küf akarlarının 9-10 haftada kolaylıkla üreyebildikleri bildirilmiştir (22). Sürk örneklerinde tespit edilen pH değerinin de (5.3, Tablo 2) belirtilen pH değeriine yakın olması nedeniyle küf akarlarının üremesine elverişli ortam oluşturduğu söylenebilir. Gıdalarda bulunan tuz oranlarının, depo akarlarının büyümeleri üzerine olan etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Akarların, sıcak ve rutubetli ortamlarda depolanan tahıllarda toksin üreten mantarların dağıtıcısı ve taşıyıcısı oldukları bilinmektedir (3, 5). Depo ortamında gelişen mantarların mikotoksin ürettikleri ve bunlarla kontamine gıdaların yenmesi halinde tüketici sağlığı bakımından tehlike oluşturabilecekleri vurgulanmıştır (15). Uygun olmayan depolama koşulları, gıdaların akarlarla kontaminasyonuna yol açabileceğinden, bundan korunmak amacıyla, depo ortamındaki nispi rutubet oranının en fazla %60 olması, depolanan gıdalardaki rutubet oranının ise %13,4'ten düşük tutulması, ayrıca radyasyon uygulaması, hermetik ambalajlama veya modifiye atmosfer depolama gibi çeşitli metotların kullanılması tavsiye

edilmiştir (7). Gıdaların buzdolabında muhafaza edilmesinin de, depo akarlarının gelişmelerini baskılayabilecek bir tedbir olduğu ifade edilmiştir (14).

Günümüzde gıdalarda bulunan akarların neden olduğu alerjik reaksiyonlardan veya duyarlılıktan korunmak amacıyla bir güvenlik sınırı bilinmemektedir. Yüz gram mantar konservesinde veya 15 g kurutulmuş mantarda bulunan 75 adet akarın, akar alerjisine duyarlı olmayan insanlar açısından zararsız olduğu bildirilmektedir (16). Bu çalışmada, 5 g küflü Sürk'te ortalama 23.73 adet küf akarı tespit edilmiştir. Elde edilen bu sayının, yukarıda bildirilen değerle paralellik gösterdiği anlaşılmaktadır. Türkiye'de, gıdalarda bulunabilecek akar sayısı ile ilgili olarak yasal bir limit de bulunmamaktadır. Ancak, *T. putrescentiae*'nin insanlarda IgE bağlantılı reaksiyonlara yol açtığı düşünüldüğünde, akar alerjisine hassas olan insanların, akarlarla kontamine gıdaları tüketmeleri halinde risk altına girebilecekleri bildirilmektedir (16, 18).

Sonuç olarak, akarların kolaylıkla gelişebileceği bir ürün olması dolayısıyla, Sürk'ün üretim, ambalajlama, pazarlama ve özellikle de muhafaza aşamalarında hijyenik kurallara uyulması ve taze olarak tüketilmesi gerektiği kanısına varılmıştır. Ayrıca, Sürk'ün küf içeriği ile depo akarları arasındaki ilişkinin ve küflü Sürk'te bulunan akarların tüketici sağlığı üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla başka araştırmaların da yapılmasına gerek duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Anonim (1978). Peynirde Klorür Miktarı Tayini TS 3043, Türk Standardları Enstitüsü, Ankara.
2. Armentia, A., Fernandez, A., Perez-Santos, C., de la Fuente, R., Sanchez, D., Sanchis, F., Mendez, J., Stolle, R. (1994). Occupational allergy to mites in salty ham, chorizo and cheese. *Allergologia et Immunopathologia*, 22 (4), 152-154.
3. Armitage, D.M., George, C.L. (1986). The effect of three species of mites upon fungal growth on wheat. *Experimental and Applied Acarology*, 2, 111-124.
4. Durmaz, H., Tarakçı, Z., Sağun, E., Aygün, O. (2004). Sürk'ün Kimyasal ve Duyusal Nitelikleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2004, 18 (2), 91-95.
5. Franzolin, M. R., Gambale, W., Cuero, R. G., Correa, B. (1999). Interaction between toxigenic *Aspergillus flavus* link and mites (*Tyrophagus putrescentiae* Schrank) on maize grains: effects on fungal growth and aflatoxin production. *Journal of Stored Products Research*, 35, 215-224.
6. Güler, M. B. (2000). Sürk Üretiminde Kullanılan Katkı Maddeleri. İçinde: Demirci, M., (Ed.), *Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri*, Rebel Yayıncılık, İstanbul, pp. 443-449.
7. Hill, D. S. (2002). *Pests of Stored Foodstuffs and Their Control*. Kluwer Academic Publishers, New York.
8. Hughes, A. M. (1976). The mites of stored food and houses. *Technical Bulletin of the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food*, No. 9, Her Majesty's Stationery Office, London.
9. Lee, W. K., Choi, W. Y. (1980). Studies on the mites (Order Acarina) in Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 18 (2), 119-144.
10. Leitao, M. F. (1988). Microbiologia de alimentos. In: Roitman, I., Travassos, L.R., Azevedo, J. L. (Eds.), *Tratado de Microbiologia*, pp. 3-81, Sao Paulo: Manole.
11. Li, C. P., Cui, Y. B., Wang, J., Yang, Q. G., Tian, Y. (2003a). Acaroid mite, intestinal and urinary acariasis. *World Journal of Gastroenterology*, 9 (4), 874-877.

12. Li, C. P., Cui, Y. B., Wang, J., Yang, Q. G., Tian, Y. (2003b). Diarrhea and acaroid mites: A clinical study. *World Journal of Gastroenterology*, 9 (7), 1621-1624.
13. Matsumoto, T., Hisano, T., Hamaguchi, M., Miike, T. (1996). Systemic anaphylaxis after eating storage-mite-contaminated food. *International Archives of Allergy and Immunology*, 109, 197-200.
14. Matsumoto, T., Satoh, A. 2004. The occurrence of mite-containing wheat flour. *Pediatric Allergy and Immunology*, 15, 469-471.
15. Miller, J.D. (1995). Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. *Journal of Stored Products Research*, 31, 1-16.
16. Olsen, A. R. (1998). Regulatory action criteria for filth and other extraneous materials. II. Alergenic Mites: An emerging food safety issue. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 28, 190-198.
17. Sloss, M.W., Kemp, R.L., Zajac A.M. (1994). *Veterinary Clinical Parasitology*. 6. edition. Iowa State University Press, Ames.
18. Tee, R.D. (1994). Allergy to storage mites. *Clinical and Experimental Allergy*, 24, 636-640.
19. Thind, B. B., Clarke, P. G. (2001). The occurrence of mites in cereal-based foods destined for human consumption and possible consequences of infestation. *Experimental and Applied Acarology*, 25 (3), 203-215.
20. Tiğin, Y., Özer, İ. (1971). Kaşar peynirlerinde bulunduğumuz acar'lar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 18 (3-4), 418-431.
21. Umur, Ş. (1995). Kars ili Kaşar peynirlerinde *Acarus siro*'nun yaygınlığı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 19 (4), 576-582.
22. Woertz, J. R., Kinney, K. A., Kraakman, N. J. R., Van Heiningen, W. N. M., Van Eekert, M. H. A., Van Groenestijn, J. W. (2002). Mite growth on fungus under various environmental conditions and its potential application to biofilters. *Experimental and Applied Acarology*, 27, 265-276.
23. Yaman, M., Sevinç, F., Altınöz, F., Uslu, U. (2000). Küflü peynirlerde ve Tulum peynirlerinde *Acarus siro* varlığının araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 24 (3), 313-316.

VAKUMLANMIŞ BEYAZ PEYNİRLERE DEĞİŞİK ISI İŞLEMLERİ UYGULAYARAK RAF ÖMÜRLERİNİN UZATILMASI

Muammer GÖNCÜOĞLU

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, 06110,
Dışkapı-Ankara
E-mail: mgoncuoglu@hotmail.com

Özet

Bu çalışmada ticari starter kültür (Chr. Hensen R707 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) ilave edilerek salamurada olgunlaştırılmadan poliamid torbalarda vakum ambalajlanarak paketlenen ve olgunlaşmaları sırasında belli zaman aralıkları ile su banyosunda merkez sıcaklıkları 65°C, 70°C ve 72°C'lerde sırası ile 15, 10 ve 5 dakika süre ile ısı uygulanarak 90 gün olgunlaştırılan beyaz peynir örneklerinin olgunlaşma periyodu içerisinde kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik nitelikleri incelenerek, uygulanan ısı işleminin peynirlerin raf ömürleri üzerine olan etkileri incelendi. Olgunlaşma süresince kontrol grubunda kuru madde değerlerinin değişmediği, peynir örneklerinde kuru madde değerlerinin % 40.00 - 42.09 (ortalama % 40.87) olduğu saptandı. Olgunlaşma periyodunda, titre edilebilir asitlik, protein (%), suda çözünebilen azotlu madde, olgunlaşma indeksi, tirozin amino asidi, uçucu yağ asidi değerlerinin 1. günden 90. güne kadar artış gösterdiği saptandı. Isı işlemi uygulanan gruplar incelendiğinde, olgunlaşma periyodu süresince, kuru madde değerlerinin farklılıklar göstermediği, titre edilebilir asitlik, total azot, suda çözünebilen azotlu madde, olgunlaşma indeksi, tirozin amino asidi, uçucu yağ asidi değerlerinin kontrol grubuna kıyasla çok daha az artış ve değişiklikler gösterdiği belirlendi.

Anahtar kelimeler: Peynir olgunlaşması, vakum paket, raf ömrü, ısı işlemi uygulanmış peynir, proteolizis.

Abstract

THE INVESTIGATIONS ON VACUUM PACKED WHITE CHEESE BY HEATING AT DIFFERENT TEMPERATURES FOR PROLONGED THE SHELF LIFE

The aim of this study was to determine the effects of heating applications on the shelf life of vacuum packed white cheese that are examined by the chemical, microbiological and organoleptic properties during the ripening period of 90 days. For this purpose, pickled white cheeses made with commercial starter cultures (Chr. Hensen R707 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) were put in polyamide bags for vacuum packaging. During the ripening period water bath used for the heating applications at 65°C, 70°C and 72°C for 15, 10 and 5 minutes respectively. In the ripening period, there were no changes in the values of dry matter in the control group. Dry matter values in control cheese were % 40.02-42.09 (average value % 40.87). Total acidity, protein (%), soluble nitrogen, ripening index, tyrosine content, volatile fatty acid values were all showed significant increases between the first and 90th days of the ripening period. However in the heated cheese groups, dry matter showed no changes, but comparing with the control group cheese total acidity, protein (%), soluble nitrogen, ripening index, tyrosine content and volatile fatty acid values showed increase but not as much as the control group.

Key words: Cheese ripening, vacuum packed cheese, shelf life, heat treated cheese, proteolysis.

GİRİŞ

Beyaz peynir; yarı sert ve salamurada olgunlaştırılan peynirlere örnek olup, çiğ veya pastörize sütlerin peynir mayası ilave edilmesi sonucu elde edilen pıhtının süzülmesi, tuzlanması ve olgunlaştırılmasıyla gelişen biyokimyasal reaksiyonlar nedeniyle visko-plasto-elastik bir nitelik kazanan bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır. (1,5). Olgunlaşmanın ilk birkaç haftası ile 2 ay arasında geçen sürede beyaz peynirlere özgü karakteristik değişikliklerin gerçekleştiği bildirilmektedir. Beyaz peynir olgunlaşmasında gerçekleşen biyo-kimyasal olayları 3 ana başlıkta toplamak mümkündür; glikolizis, proteolizis ve lipolizis. Peynirin kompozisyonunun,

yapısının ve aroma özelliklerinin olgunlaşma esnasında tamamlandığı, starter kültürleri oluşturan laktik asit bakterilerinin laktozdan laktik asit oluşturmaları ile de fermentasyonun şekillendiği bildirilmektedir. Kullanılan mikroorganizmalar karbonhidratları, proteinleri ve yağları parçalayarak ve/veya metabolize ederek olgunlaşma süresi içerisinde ürünün tekstür ve aromasını oluşturmaktadır. Ancak bu reaksiyonlar içerisinde en kompleks olanının proteolizis olduğu açıklanmaktadır (8,18).

Özellikle uzun ömürlü ve ucuz peynir üretimi için son yıllarda önemli gelişmeler olmaktadır. Starter ve non-starter kültürlerin hidrolitik enzimleri ve bunların etkisi sonucu peynirlerde olgunlaşma seyri ile aroma maddelerinin oluşumu en önemli araştırma konularından birini oluşturmaktadır. Peynirlerde olgunlaşma derecelerinin yüksek olması ile çabuk olgunlaşma şekillenebilmektedir fakat aşırı reaksiyonlar sonucunda peynirin kalite özellikleri bozulmakta ve ekonomik kayıplar şekillenebilmektedir. Bütün bu sebeplerde dolayı, teknolojik olarak peynirlerin normalden daha kısa sürede olgunlaşmaları ve olgunlaşma indekslerinin sabitlenmesi günümüz süt endüstrisinin belli başlı konularından biri haline gelmiştir. Geleneksel yöntemle üretilen ve salamura olgunlaştırılan beyaz peynirlere kıyasla vakum ambalajlanmış beyaz peynirlerde tuz ve kuru madde miktarının değişmediği, tuz tadının hissedilmediği, organoleptik ve fiziksel kalitede önemli iyileşme sağlandığı ve olgunlaşma süresinin 90 günden 30 güne kısaldığı bildirilmiştir (2,3,12). Ayrıca vakum ile ambalajlamanın tüketim anına kadar peynirin rekontaminasyonunu önlediği bildirilmiştir (3). Fakat vakum ambalajlanarak + 4⁰ C'de olgunlaştırılan beyaz peynirlerin yüklenmesi ve taşınması sırasında sıcaklıkları yükselmekte, marketlerde satış anına kadar açık buzdolabı satış raflarında + 10⁰ C'de muhafaza edilmektedir. Süt endüstrisinde özellikle son yıllarda satışa sunulan vakum paketlenmiş beyaz peynirlerde proteolizis kuvvetli bir şekilde gelişmekte ve peynir kısa sürede olgunlaşmaktadır. Bu durum özellikle üretici için bir avantaj teşkil etmektedir, ancak marketlerde +10⁰ C ve daha üzerindeki sıcaklıklarda uzun süre bekletilmeleri sonucu peynirin kuvvetli proteolizisi ve olgunlaşmasının devamı sebebiyle vakum ambalajların içerisinde peynirlerde erimeler dolayısıyla şekil bozuklukları gözlenebilmektedir. Beyaz peynir yapım teknolojisi, mikrobiyolojik kalitesi, beyaz peynirin olgunlaşması, olgunlaşma indeksi ve saklama koşulları ile ilgili birçok çalışma yapılmış olmakla birlikte pastörize süttten yapılan taze beyaz peynirlerin vakum ambalajlar içerisinde olgunlaşma sırasında belirli ısı-zaman parametreleri altında tutularak beyaz peynirin pastörize edilmesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Son yıllardaki teknolojik ilerlemeler doğrultusunda peynirlerin pastörize süttten yapıldığı dikkat çekmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda, sütün pastörizasyonu sonrası starter-olmayan laktik asit bakteri sayısının (NSLAB) <50 kob/g olarak kalabildiği bunun yanında sonradan oluşabilecek kontaminasyonlar ile peynirlere bulaşabildiği, olgunlaşma periyodu boyunca 2 ay gibi bir süre zarfında 10^7 kob/g düzeylerine çıkabildikleri belirtilmektedir. Bu süre zarfında başlangıçta 10^9 kob/g düzeylerinde bulunan starter kültürlerin ise 10^7 kob/g düzeylerine geriledikleri, olgunlaşma periyodu boyunca NSLAB dominant hale geldikleri ve olgunlaşma esnasında dengesiz ve istenmeyen özelliklerin şekillenebileceği açıklanmaktadır (7,17,18). Genel anlamda NSLAB hem proteolitik hem de lipolitik enzim sistemleri ile faydalı olabileceği gibi kontrolsüz durumlarda peynirde arzu edilmeyen aroma, tekstür ve olgunluk özellikleri kazanabilmektedir (14).

Bu kapsamda, bu sorunları çözümlmek amacıyla ele alınan bu çalışmada, salamura da olgunlaştırmadan doğrudan doğruya poliamid torbalarda vakum ambalajlanarak paketlenen beyaz peynirlere olgunlaşmaları sırasında belli zaman aralıkları ile su banyosunda değişik sıcaklık derecelerinde değişik sürelerde ısı uygulanarak, kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik özellikleri incelenerek raf ömürlerinin uzatılması araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Gereç

Peynir tip ve grupları: Asitlikleri % 1.80 LA'ya ulaşan bütün peynir kalıpları (toplam 272 adet) poliamid bileşimli torbalarda vakumlanarak gruplara ayrıldı ve analize alındığı günlere göre sınıflandırıldı (G_{K1} , G_{K15} , G_{K30} , G_{K60} , G_{K90}) (Çizelge 1).

Kontrol Grubu: Peynire herhangi bir işlem uygulanmadan kontrol grubu olarak $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 90 gün olgunlaştırıldı.

Isı işlemi uygulanan peynirler "Grup" olarak değerlendirildi ve ısının uygulandığı gün rakam olarak gösterildi (G_1 , G_{15} , G_{30} , G_{60} , G_{90}). Günlerin yanında ise uygulanan ısı derecesi

belirtilirdi. Örneğin olgunlaşmanın 60. günü 72°C ısı uygulanan peynir "G₆₀72" olarak kısaltıldı.

Her peynir grubu ısı işlemi uygulandığı gün ilk gün kabul edilerek 90 gün süre ile +4°C'de bekletildi. Örneklerin kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik analizleri yapıldı (Çizelge 1.).

Kontrol Grubu ve Olgunlaşma Süresi	Isı işlemi Görmüş Grup ve Olgunlaşma Süresi			
	Peynir Grupları	Merkez Sıcaklık	Süre	Raf Ömrü 1. - 15. - 30. - 60. ve 90.Günler
1. GÜN (G _{K1})	1. GRUP (G ₁ 65,G ₁ 70,G ₁ 72)	65 ⁰ C	15 dak.	Kimyasal, Mikrobiyolojik Organoleptik Analizler
		70 ⁰ C	10 dak.	
		72 ⁰ C	5 dak.	
15. GÜN (G _{K15})	2. GRUP (G ₁₅ 65,G ₁₅ 70,G ₁₅ 72)	65 ⁰ C	15 dak.	Kimyasal, Mikrobiyolojik Organoleptik Analizler
		70 ⁰ C	10 dak.	
		72 ⁰ C	5 dak.	
30. GÜN (G _{K30})	3. GRUP (G ₃₀ 65,G ₃₀ 70,G ₃₀ 72)	65 ⁰ C	15 dak.	Kimyasal, Mikrobiyolojik Organoleptik Analizler
		70 ⁰ C	10 dak.	
		72 ⁰ C	5 dak.	
60. GÜN (G _{K60})	4. GRUP (G ₆₀ 65,G ₆₀ 70,G ₆₀ 72)	65 ⁰ C	15 dak.	Kimyasal, Mikrobiyolojik Organoleptik Analizler
		70 ⁰ C	10 dak.	
		72 ⁰ C	5 dak.	
90. GÜN (G _{K90})	5. GRUP (G ₉₀ 65,G ₉₀ 70,G ₉₀ 72)	65 ⁰ C	15 dak.	Kimyasal, Mikrobiyolojik Organoleptik Analizler
		70 ⁰ C	10 dak.	
		72 ⁰ C	5 dak.	

Yöntem

Peynir üretimi için asitlik derecesi % 0.17±0.01 LA olan %3.4±0.1 yağlı, yağsız kuru maddesi (YKM) %9±0.2 olan ve 1.030-1.031 dansitede, inhibitör madde ve antibiyotik kalıntısı olmayan inek sütü kullanıldı. Beyaz peynir yapımı için holderli pastörizatörde 75°C'de 5 dakika süre ile pastörize edildikten sonra, 32°C'ye soğutulan süt peynir odasındaki teknelere mayalama derecesinde boşaltıldı. 1200 litrelik teknelere boşaltıldıktan sonra 100 kg süte 20g kalsiyum klorür (CaCl₂) ilave edildi. Süte %2 oranında ticari starter kültür (Chr. Hensen No: R-707 *Lactococcus lactis subsp. lactis* ve *Lactococcus lactis subsp. cremoris*) katıldı. Daha sonra sütler 20 ml/100kg oranında 1/15000 kuvvetinde peynir mayası (kimozin) ile mayalanarak pıhtılaşması sağlandı. Mayalanan sütlerde spatülle flokül oluşumu gözlenerek pıhtılaşma zamanı saptandı. Pıhtılaşma zamanı 4 ile çarpılarak pıhtı kesme zamanı saptandı. Bu süre sonunda oluşan pıhtı 2x2x2 cm boyutlarında kesilerek peynir altı suyundan ayrılması için 15 dakika kendi haline bırakıldıktan sonra baskıda (20kg/100kg) 2 saat cendere bezinde

süzülmeye bırakıldı. Süzülme sonunda teleme kitlesi 7x7x7 cm boyutlarında kesildi. Kalıplar pastörize edilmiş 16 Baumé'lik salamurada ve üzerlerine tuz serpilme sureti ile 12 ± 0.5 saat bekletildi. Salamuradan çıkarılan kalıplar asitlikleri %1.80 LA'ya ulaşana kadar bekletildi ve peynir kalıpları poliamid bileşimli torbalarda vakumla ambalajlandı.

Kimyasal Analizler

Kuru madde tayini, pH tayini, titre edilebilir asitlik tayini (%LA), protein (%) ve suda çözünen azotlu madde (sn) miktarının tayini, olgunlaşma indeksinin saptanması, tuz tayini (mohr metodu), yağ ve kuru maddede yağ tayini (gerber yöntemi), tirozin amino asidi tayini, peynirde uçucu yağ asitleri tayini (direkt distilasyon metodu) yapıldı (4,5,6,11,13).

Mikrobiyolojik Analizler

Peynir örneklerinden steril poşetlere 10'ar gram tartılarak üzerlerine 90'ar ml %0.1'lik steril peptonlu su ilave edildikten sonra, elde edilen 10^{-1} 'lik dilusyondan gerekli sayıdaki dilasyonları hazırlanarak yayma plak metodu ile ekimleri yapıldı. Bu amaçla, aerob mezofil genel canlı, maya-küf, enterobakteriler, koliform bakteriler, enterokoklar, mikrokok – stafilokok sayıları saptandı. (9,10,15,16,19).

Organoleptik Muayene

Peynir numunelerinin organoleptik muayeneleri 5 kişilik panelist grup tarafından değerlendirilmeye alındı (5).

BULGULAR

Olgunlaşmanın ilk günü kontrol grubundan alınarak ısı işlemi uygulanan ve de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 90 gün saklanan peynir örneklerinde (1.Grup) (G_{165} , G_{170} , G_{172}) ve 15. günü kontrol grubundan alınarak ısı işlemi uygulanarak $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 90 gün saklanan peynir örneklerinde (2.Grup) (G_{1565} , G_{1570} , G_{1572}) pH, titre edilebilir asitlik, suda çözünebilen azotlu madde, olgunlaşma indeksi, trozin amino asidi, uçucu yağ asidi değerlerinin 90 günlük saklama süresi boyunca kontrol grubuna kıyasla oldukça düşük miktarlarda artışlar gösterdiği saptanmıştır. Bu duruma ısı işlemine bağlı olarak starter kültür aktivitesinde azalmanın neden olduğu kanaatine varılmıştır. Kontrol grubunda starter kültürler yanında 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde mikrokok, maya ve küf bulunduğu saptanmış olup, ısı işlemini takiben bütün gruplarda saklama süresi

boyunca $<1.0 \times 10^2$ kob/g seviyesinde saptama sınırının altında saptanmıştır. Organoleptik açıdan ise 1. ve 2. grup peynir örnekleri bu çalışmada en beğenilen gruplar olarak belirlenmiştir.

Olgunlaşmanın 30., 60. ve 90. günlerinde kontrol grubundan alınarak ısı işlemi uygulanan beyaz peynir örneklerinde (3., 4. ve 5. Gruplar), kimyasal analiz bulgularının olgunlaşmanın ilk 15 gününde ısıtılan örnekler (1. ve 2. Gruplar) ile benzerlikler gösterdiği belirlenmiştir. Mikrobiyolojik açıdan sadece $G_{30}65$ grubu örneklerde 1. ve 15. günlerde aerob mezofil genel canlı sayısı 4.0×10^2 kob/g olup mikrokok, stafilokok, maya, küf, enterobakteri, koliform grubu ve enterokok düzeyleri $<1.0 \times 10^2$ kob/g olarak saptama sınırının altında bulunmuştur. Kimyasal ve mikrobiyolojik bulgular açısından ısı işlemi uygulanan gruplarda büyük farklar oluşmamasına rağmen organoleptik açıdan 1. ve 2. grup örnekleri 3., 4. ve 5. grup peynirlere üstünlük sağlamışlardır. Olgunlaşmanın 30. gününden sonra ısıtılan bütün gruplar organoleptik açıdan panelistler tarafından beğenilmemişlerdir.

SONUÇ

Sonuç olarak organoleptik niteliklerin kontrol grubundan 1. ve 15. gün alınarak ısı işlemi uygulanan peynir örneklerinde (1. ve 2. Grup) en üst seviyede bulunduğu belirlenmiştir. Kimyasal bulgularımızda göz önüne alındığında yukarıda belirtilen değerlerin ısı işlemi uygulanan 1. ve 2. grup peynir örneklerinde kontrole oranla daha yavaş seyrettiği peynirlerin acılaşmadığı ve olgunlaşma düzeylerini daha uzun süre koruyabildikleri saptanmıştır. Ayrıca kontrol grubunda 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde mikrokok, maya ve küf saptanmasına rağmen ısı işlemi uygulanan gruplarda $<1.0 \times 10^2$ kob/g düzeyinde bulunması önem arz etmektedir. Ülkemizde hijyenik şartların noksanlığı göz önüne alındığında muhtemel kontaminasyonlar sonucu, özellikle koliform grubu, piyasada satılan peynirlerde aşırı mikrobiyolojik aktivite sonucu vakum paket ve/veya tenekelerde şişmelere neden olmaktadır. Ayrıca mikrobiyolojik etki sonucu şişmeler yanında rastlanılan peynir erimelerinin de ısı işlemi uygulanarak önlenilebileceği sonucuna varılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda olgunlaşmanın 1. ve 15. günü ısı işlemi uygulamalarının peynirlere kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik olarak katkı sağladığı bunun yanında uygulanan ısı derecelerinin (65°C , 70°C , 72°C) ve sürelerinin peynir örneklerinde önemli

farklar yaratmadığı belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, peynirlere ısı işlemi uygulamalarının ekonomik ve en önemlisi insan sağlığı korunması açısından büyük katkılar sağlayacağı ve bu tip peynirlerin raf ömürlerinin uzatılabildiği görüşüne varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. AKGÜN, S. (1982). Yoğurt kültürü kullanarak, inek sütü ile kaşar peyniri yapım tekniğinin geliştirilmesi üzerine araştırmalar. Doçentlik Tezi. Ankara Üniversitesi Vet. Fak., Ankara.
2. AKGÜN, S., ANAR, S. (1991). Vakum paketlenmiş beyaz peynirlerde tuzun difüzyonu üzerine araştırmalar. *Gıda Yem Bilimi ve Teknol. Derg.*, 1: 14-19.
3. AKGÜN, S., MUTLUER, B. (1993). Beyaz peynirlerde vakum ambalajlamanın olgunlaşma süresi üzerine etkileri. *A. Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 40(3): 346-360.
4. ANON. (1978). Peynirde Yağ Miktarı Tayini. Türk Standartları Enstitüsü T.S. 3046. Ankara.
5. ANON. (1995). Beyaz Peynir. Türk Standartları Enstitüsü, T.S. 591. Ankara.
6. FIL/IDF (Federation Internationale de Laiterie - International Dairy Federation) (1972). Fromage. Determination de la Teneur en Chlorures. Norme 17A.
7. FOX, P.F., WALLACE, J.M., MORGAN, S., LYNCH, C.M., NILAND, E.J., TOBIN, J. (1996). Acceleration of cheese ripening. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 70(2-4): 271-297.
8. HAQUE, Z.U., KUCUKONER, E., ARYANA, K.J. (1997). Aging-induced changes in populations of Lactococci, Lactobacilli and Aerobic Microorganisms in low-fat and full-fat cheddar cheese. *J. Food Prot.*, 60(9):1095-1098.
9. HARTMAN, P.A., DEIBEL, R.H., SIEVERDING, L.M. (1992). Enterococci. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Ed.: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. Washington DC.: American Public Health Association, Chapter 32.
10. HITCHINS, A.D., HARTMAN, P.A., TODD, E.C.D. (1992). Coliforms-Escherichia coli and its toxins. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Ed.: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. Washington DC.: American Public Health Association, Chapter 24.
11. HULL, M.E. (1947). Studies on milk proteins. II. Colorimetric determination of the partial hydrolysis of the proteins in milk. *J. Dairy Sci.*, 30: 881-884.
12. KARAMAN, T. (1996). Farklı Koşullarda Olgunlaştırılan Beyaz Peynirlerin Olgunlaşma İndekslerinin Saptanması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
13. KOSIKOWSKI, F. (1978). Determination of volatile fatty acids in cheese. Cheese and Fermented Milk Foods. Second Edition. Ithaca, New York.
14. KUNJI, E.R.S., MIERAU, L., HAGTING, A., POOLMAN, B., KONINGS, W.N. (1996). The proteolytic system of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 70:187-221.
15. LANCETTE, G.A., TATINI, S.R. (1992). Staphylococcus aureus. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Ed.: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. Washington DC.: American Public Health Association, Chapter 33.
16. MISLIVEC, P.B., BEUCHAT, L.R., COUSIN, M.A. (1992). Yeasts and moulds. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Ed.: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. Washington DC.: American Public Health Association, Chapter 16.
17. MUEHLENKAMP-ULATE, M.R., WARTHESEN, J.J. (1999). Evaluation of several non-starter lactobacilli for their influence on Cheddar cheese slurry. *J. Dairy Sci.* 82:1370-1378.
18. SOUSA, M.J., ARDÖ, Y., MCSWEENEY, P.L.H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *Int. Dairy J.*, 11:327-345.
19. SWANSON, K.M.J., BUSTA, F.F., PETERSON, E.H., JOHNSON, M.G. (1992). Colony count methods. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Ed.: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. Washington DC.: American Public Health Association, Chapter 32.

POTASYUM SORBATIN ÇÖKELEĞİN RAF ÖMRÜNE ETKİSİ

Gülsüm ÖKSÜZTEPE¹ Bahri PATIR¹ Abdullah DİKİCİ¹ Pınar ŞEKER¹ Mehmet ÇALICIOĞLU¹

¹ Fırat Üniv., Veteriner Fak., Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 23119 - ELAZIĞ

E-posta: goksuztepe@firat.edu.tr

Özet

Bu araştırmada, deneysel olarak yapılan çökeleğin raf ömrü üzerine potasyum sorbatın etkisi ile üründeki sorbik asit kalıntı miktarları incelendi. Bu amaçla, kontrol grubuyla birlikte % 0,01, % 0,05 ve % 0,1 oranlarında potasyum sorbat ilave edilerek hazırlanan çökelek örnekleri farklı sıcaklıklarda ($+4 \pm 1$ °C ve $+22 \pm 1$ °C) muhafaza edildi. Örnekler üretim aşamasında (yoğurt, ham çökelek, 0.gün) ve muhafazanın 5., 10., 15., 20., 25., 30., 35., 40., 45., 50., 55., 60., 65. ve 70. günlerinde mikrobiyolojik ve kimyasal yönden incelendi. Ayrıca, örnekler 5 kişilik panelist grup tarafından belirtilen muhafaza günlerinde duyuusal açıdan analiz edildi.

Yapılan mikrobiyolojik analiz sonucunda toplam mezofilik aerob sayısı ham çökelekte ortalama olarak $6,90 \log_{10}$ kob/g değerinde saptandı. Bu sayı muhafazanın başlangıcında tüm örneklerde artarak $+4 \pm 1$ °C 'de muhafaza edilen serilerde 5. günde $7,99 - 8,53 \log_{10}$ kob/g, $+22 \pm 1$ °C 'de muhafaza edilen serilerde $8,04 - 8,66 \log_{10}$ kob/g düzeyine çıktı. Sonraki muhafaza günlerinde ise birbirlerinden farklı değişimler gösterdi.

Deneysel çökelek örneklerinde sorbik asit kalıntı miktarlarının başlangıçta (0. gün) 2650 - 5340 ppm düzeyinde olduğu belirlendi. Bu miktar % 0,1 oranında potasyum sorbat uygulanmış serilerde 70 günlük muhafaza süresince 4440 - 5150 ppm miktarları arasında seyretti. % 0,01 - % 0,05 oranlarında potasyum sorbat uygulanan örneklerde ise sorbik asit miktarlarının birbirlerine yakın değerlerde (2560 - 2820 ppm) kaldığı belirlendi. Potasyum sorbat miktarları bakımından gruplar arasındaki farklılığın önemli olduğu ($p < 0,05$), ancak muhafaza sıcaklığı ve süresine bağlı olarak elde edilen farklılıkların önemsiz olduğu ($p > 0,05$) saptandı.

Duyuusal analiz sonunda çökelek örneklerinin muhafazanın başlangıcında daha fazla beğeni kazandığı belirlendi. $+4$ °C'de muhafaza edilen örneklerde kontrol grubu, % 0,01, % 0,05 ve % 0,1 potasyum sorbat uygulanmış serilerde sırasıyla 40., 50., 60. ve 75. günlerde ürünün tamamen bozulduğu belirlendi. Aynı şekilde $+22$ °C'de muhafazaya alınan grupta ise aynı oranlarda potasyum sorbat uygulanmış serilerde yine sırasıyla 10., 10., 15. ve 30. günlerde bozulma meydana geldi.

Sonuç olarak, çökeleğin muhafaza süresinin kullanılan potasyum sorbat miktarına ve muhafaza sıcaklığına bağlı olduğu, kullanılan % 0,1 oranındaki potasyum sorbat uygulamasının ürünün muhafaza süresini 70. güne kadar uzattığı, buna karşılık ürünün duyuusal niteliklerinde olumsuz bir durum yaratmadığı gözlemlendi.

Anahtar kelimeler : Çökelek, Potasyum sorbat, Raf ömrü, Kalite, Sorbik asit

Abstract

EFFECT of POTASSIUM SORBATE on SHELF LIFE of ÇÖKELEK

In the current study, effect of added potassium sorbate on the shelf-life of çökelek and sorbic acid residues were investigated. For this purpose, çökelek samples were prepared as control or by adding potassium sorbate at 0.01%, 0.05% or 0.1% and the samples were stored at different temperatures ($+4 \pm 1$ °C and $+22 \pm 1$ °C). The samples were analyzed for chemical and microbiological parameters during production (yogurt, raw çökelek, and day 0) and on days 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, and 70 during the storage. In addition, çökelek was evaluated by a 5-person panelist group for sensory attributes on sampling days.

The average number of total mesophilic aerobic bacteria in çökelek was $6.90 \log_{10}$ cfu/g. This number increased in all groups and reached to $7.99 - 8.53 \log_{10}$ cfu/g in samples stored at $+4 \pm 1$ °C on day 5 and reached to $8.04 - 8.66 \log_{10}$ cfu/g in those stored at $+22 \pm 1$ °C. Total mesophilic aerobic bacteria showed various changes during the remaining period of storage.

Residual sorbic acid level was 2650 - 5340 ppm at the beginning (day 0). This level remained between 4440 - 5150 ppm in samples containing 0.1% sorbic acid. Residue levels in both 0.01% or 0.05% potassium sorbate added groups remained close to each other (2560 - 2820 ppm). The differences in residue levels were significant between the groups ($p < 0.05$). The residue level was not affected by storage temperature and storage period ($p > 0.05$).

Results of the sensory analysis indicated that general acceptance of the samples was higher at the beginning of the storage. The samples stored at $+4$ °C containing 0% (control), 0.01%, 0.05% and 0.1% potassium sorbate were completely spoiled on days 40, 50, 60 and 75, respectively. Corresponding days for spoilage of samples stored at $+22$ °C for the groups were 10, 10, 15, and 30, respectively.

As a result, shelf life of çökelek varied depending on the level of potassium sorbate added and storage temperature. Addition of potassium sorbate at 0.1% to çökelek increased the shelf life up to 70 days while keeping the sensory characteristics of the product acceptable.

Key Words : Çökelek, Potassium sorbate, Shelf life, Quality, Sorbic acid.

GİRİŞ

Ülkemizde standart yoğurt tipleri dışında kış, torba, tulum yoğurdu ve çökelek gibi ürünler de bulunmaktadır. Bu ürünler genellikle ilkel şartlarda basit yöntemlerle yapılmakta ve muhafaza süreleri de oldukça kısa olmaktadır. Ayrandan yapılan çökelek ise daha ziyade maya ve küflerin etkisiyle bozulmaktadır. Süt ürünlerinde özellikle küflenmeye karşı farklı koruyucu maddeler kullanılmaktadır. En fazla kullanılan koruyucu madde ise sorbik asit ve tuzlarıdır. Gıdalarda antimikrobiyel olarak kullanılmasına izin verilen tek doymamış organik asit sorbik asittir. Bu madde hafif asidik tatta, kokusuz, saf halde beyaz kristal bir tozdur. Saf ve seyreltilmiş halde ışığa ve sıcaklığa hassastır. Serbest asit olarak veya sodyum, potasyum, kalsiyum tuzları halinde granül, toz ve çözelti gibi çeşitli formlarda bulunmaktadır. Sorbik asidin suda çözünürlüğü çok düşüktür. Bu nedenle özellikle potasyum tuzları uygulamada tercih sebebi olmuştur (18,20,30). Potasyum sorbat metabolize edilebilir bir yağ asidi olması nedeniyle GRAS (genel olarak güvenilir olduğu kabul edilen)'dir (20,26). Potasyum sorbat sodyum klorür ile birlikte kullanıldığında etkili bir inhibitör maddedir. Yalnız kullanıldığında ise üremeyi biraz geciktirir ve 25 °C' de lag faz 1-2 gün uzar. Potasyum sorbatın etkisi sıcaklık düştükçe yükselir (14,29,30).

Sorbatların antimikrobiyel etkisi: uygulanan gıda maddesinin pH'sına, su aktivitesine (a_w), sıcaklığa, atmosfere, başlangıçtaki mikrobiyel florasına, sorbatın konsantrasyonuna ve birlikte kullanılan diğer katkı maddeleri gibi bir çok faktöre bağlı olarak değişir (8,20,30). Potasyum sorbat, besin maddesinin içerisine ilave edilerek, sudaki solüsyonlarına daldırılarak, gıda maddesinin üzerine püskürtülerek uygulanabilmesinin yanı sıra ambalaj materyallerine de tatbik edilebilen bir maddedir (30,37).

Bir gıda koruyucusu olarak kullanılan sorbatların uygulama alanları içerisinde peynir ve peynir ürünleri, yoğurt, ekşi krema gibi süt ürünleri; kek ve kek karışımları, pastalar, şekerli çörek, yumuşak şekerlemeler, şekerli krema, fırıncılıkta kullanılan soslar, şarap, meşrubat, meyve suları, reçeller, jeller, kuru meyveler, meyve şekerlemeleri, salatalar, fermente ve salamura sebzeler gibi meyve ve sebze ürünleri ile et, balık ve bunların ürünleri, mayonez, margarin, salata sosları gibi diğer gıda maddeleri yer almaktadırlar (9,20,28,30). Potasyum sorbatın Türk Gıda Mevzuatı'na (35) göre çökelek, lor, süzme ve yoğurtta kullanım oranı en fazla 1000 mg/kg'dır.

Peynir yapımında sorbik asit ve potasyum tuzunun % 0,05 - 0,1 arasında değişen oranlarda kullanılmasının, peynirin kimyasal bileşimi ve tüketici beğenisi üzerinde çok az değişiklik meydana getirdiği bir çok araştırmacı (6,25) tarafından bildirilmektedir. Doğruer ve ark. (12)

deneyisel olarak peynir yapımında kullandıkları süte ve salamura suyuna % 0,15 ve % 0,30 oranlarında potasyum sorbat ilave ederek olgunlaşma periyodunda ürünün kimyasal ve mikrobiyolojik niteliklerini araştırmışlardır. Potasyum sorbatın kimyasal yönden peynirlerin pH değerini yükseltip asidite derecesini azaltarak olgunlaşmayı geciktirdiği, mikrobiyolojik açıdan ise toplam mezofilik aerob, *Lactobacillus* ve *Staphylococcus - Micrococcus* 'lar üzerinde etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir. Yine, Nizamlioğlu ve ark. (22) deneyisel olarak yaptıkları kaşar peynirlerini %1, %2 ve %3 oranlarında potasyum sorbat solüsyonlarda 5 dakika beklettikten sonra olgunlaşma periyodunun 1., 15., 30. ve 60.günlerinde kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan incelemişlerdir. Potasyum sorbatın kimyasal yönden peynirlerin pH değerini yükseltici, asitlik değerini azaltıcı etki yaptığını ve mikrobiyolojik olarak da *Staphylococcus - Micrococcus* bakterileri ile maya ve küf üzerinde etkili olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, sorbik asit ve tuzlarının aynı zamanda genel canlı mikroorganizma, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı etkili olduğu çeşitli araştırmacılar (1,6,11,17,21,30) tarafından ortaya konmuştur. Hamdan ve ark. (15) ise, % 0,1 ve % 0,05 oranında potasyum sorbat uygulanan ve 45 °C'de inkübe edilen *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* kültürlerinde gelişmenin geciktiğini ve asit üretiminin azaldığını tespit etmişlerdir.

Bu çalışma, halkın beslenmesinde önemli bir yere sahip olan çökeleğin raf ömrü üzerine potasyum sorbatın etkisini incelemek amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deneyisel çökelek örneklerinin yapımında, nitelikleri Tablo 1 ve Tablo 2'de belirtilen yoğurtlar kullanıldı. Yoğurtlar 1/1 oranında sulandırıldı ve 90°C'ye kadar ısıtıldı. Daha sonra kendi halinde soğumaya bırakıldı ve oluşan pıhtı süzek bezlerine alındı. Bezler askıya alınarak suyunun süzülmesi sağlandı. Böylece ham çökelek elde edildi. Ham çökelek 4 eşit kısma (A, B, C, D) ayrıldı. A grubuna yalnızca % 2 oranında tuz (kontrol), B grubuna % 2 tuz + % 0,01 potasyum sorbat, C grubuna % 2 tuz + % 0,05 potasyum sorbat, D grubuna ise % 2 tuz + % 0,1 potasyum sorbat ilave edildi. Çökelek örnekleri 65-70g ağırlığında olacak şekilde strafor tabaklara kondu ve streç filmle kaplandıktan sonra $+4 \pm 1$ °C ile $+22 \pm 1$ °C'de muhafazaya alındı. Deneyisel çökelek örneklerinin yapımı 3 kez tekrar edildi. Örnekler üretim aşamasında (yoğurt, ham çökelek, 0.gün) ve muhafazanın 5., 10., 15., 20., 25., 30., 35., 40., 45., 50., 55., 60., 65. ve 70. günlerinde mikrobiyolojik ve kimyasal yönden analiz edildi. Ayrıca, örnekler 5 kişilik panelist grup tarafından belirtilen muhafaza günlerinde duyuusal açıdan incelendi. Belirlenen

analiz günlerinde her defasında farklı bir paket alınarak aseptik şartlar altında açıldı ve analizler için kullanıldı.

Mikrobiyolojik analizler için, çökelek örnekleri aseptik şartlar altında bir parçalayıcının (Stomacher 400) özel torbasında 5 g tartıldı ve üzerine steril ¼ Ringer çözeltisinden 45 ml ilave edilerek parçalayıcıda homojen hale getirildi. Böylece 10^{-1} 'lik (1/10) dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle 10^{-6} 'ya kadar diğer seyreltileri yapıldı. Örneklerin, her seyreltisinden 1'er ml kullanılarak iki seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri yapıldı ve inkübasyon süresi sonunda 30 -300 koloni içeren plaklar değerlendirildi (2, 16). Örneklerdeki toplam mezofilik aerob mikroorganizmaların sayımı için Plate Count Agar (PCA) ($30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat) (16), koliform grubu bakterilerin sayımı için Violet Red Bile Agar (VRBA) ($30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat) (7), *Lactobacillus* - *Leuconostoc* - *Pediococcus* bakteri sayımı için ise Ragosa'nın acetate agar'ı (AcA) ($30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 5gün) (16,27) kullanıldı. *Lactococcus* sayımları M17 agarda ($30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 48-72 saat) (34), *Staphylococcus-Micrococcus* mikroorganizmaların sayımları ise Mannitol Salt Agar (MSA) ($37\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 36-48 saat) (7, 32) besi yerinde yapıldı. *Enterococcus* sayısının belirlenmesinde Barnes'in Thallous Acetate Tetrazolium Glucose Agar'ı (TİTA) ($45\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat) (5,16), maya ve küf sayımı için ise %10'luk tartarik asit kullanılarak pH'sı 3,5'e düşürülmüş Potato Dextrose Agar (PDA) ($21\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün) besi yeri kullanıldı (23).

Örneklerin pH değerleri pH metrede (EDT, GP 353) $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de saptandı (2). a_w değerleri, su aktivitesi tayin cihazı (TESTO-400) ile ölçüldü (19). Örneklerdeki asitlik değeri (% laktik asit cinsinden), yağ, kuru madde, protein ve kül miktarları TS 1330 yoğurt standardındaki yöntemle belirlendi (36). Tuz miktarları Mohr metoduna göre yapıldı (3). Sorbik asit kalıntısının tespitinde ise spektrofotometrik yöntem kullanıldı (4).

İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen veriler arasındaki korelasyon hesaplamaları, SAS hazır paket programı kullanılarak yapıldı (31).

BULGULAR

Çökelek örneklerinin mikrobiyolojik analiz bulguları Tablo 1 ve 2'de, kimyasal analiz bulguları Tablo 3 ve 4'de, duyuusal analiz bulguları ise Tablo 5 ve 6'da gösterilmiştir.

Tablo 1. -4 °C'de Muhafaza Edilen Çökecek Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Bulguları ($\log_{10}$ kob/g)

Mikroorganizma	Yogurt	Ham Çökecek	Örnek Tipi	Muhafaza Süresi (Gün)														
				0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
Toplam Mezofilik Aerob	7,64	6,90	A	7,89 ^{az}	8,53 ^{az}	7,10 ^{az}	6,98 ^{az}	7,94 ^{az}	8,05 ^{az}	7,36 ^{az}	7,98 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
			B	7,27 ^{az}	7,99 ^{az}	6,86 ^{az}	6,50 ^{az}	8,24 ^{az}	6,48 ^{az}	6,75 ^{az}	7,14 ^{az}	8,91 ^{az}	7,49 ^{az}	AY	-	-	-	-
			C	7,72 ^{az}	8,02 ^{az}	6,88 ^{az}	6,50 ^{az}	7,88 ^{az}	6,29 ^{az}	6,64 ^{az}	6,23 ^{az}	8,65 ^{az}	6,66 ^{az}	6,65 ^{az}	6,16 ^{az}	AY	-	-
			D	7,77 ^{az}	8,33 ^{az}	6,54 ^{az}	6,11 ^{az}	8,05 ^{az}	6,32 ^{az}	6,33 ^{az}	6,57 ^{az}	7,48 ^{az}	7,71 ^{az}	7,23 ^{az}	6,28 ^{az}	5,69 ^{az}	6,51 ^{az}	7,76 ^{az}
			A	1,67 ^{az}	2,84 ^{az}	1,49 ^{az}	1,75 ^{az}	1,67 ^{az}	1,47 ^{az}	1,33 ^{az}	1,00 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
Kolliform	1,00	B	2,09 ^{az}	2,81 ^{az}	1,36 ^{az}	1,69 ^{az}	1,63 ^{az}	1,56 ^{az}	1,38 ^{az}	1,12 ^{az}	<1,00 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	
		C	1,00 ^{az}	2,65 ^{az}	1,23 ^{az}	1,72 ^{az}	1,45 ^{az}	1,30 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	AY	-	-	
		D	1,00 ^{az}	2,18 ^{az}	1,00 ^{az}	1,51 ^{az}	1,33 ^{az}	1,20 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	
		A	7,98 ^{az}	7,28 ^{az}	6,62 ^{az}	6,86 ^{az}	6,68 ^{az}	7,03 ^{az}	6,49 ^{az}	7,04 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-	
		B	6,06 ^{az}	7,54 ^{az}	6,92 ^{az}	6,43 ^{az}	6,24 ^{az}	6,15 ^{az}	6,19 ^{az}	6,60 ^{az}	6,94 ^{az}	6,15 ^{az}	AY	-	-	-	-	
<i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Proteus</i>	7,41	5,99	C	6,89 ^{az}	7,18 ^{az}	6,40 ^{az}	5,48 ^{az}	5,63 ^{az}	5,28 ^{az}	5,40 ^{az}	6,04 ^{az}	6,47 ^{az}	5,91 ^{az}	6,55 ^{az}	6,85 ^{az}	AY	-	-
			D	7,06 ^{az}	7,04 ^{az}	6,05 ^{az}	6,30 ^{az}	5,59 ^{az}	5,61 ^{az}	5,57 ^{az}	5,64 ^{az}	7,16 ^{az}	5,90 ^{az}	6,81 ^{az}	6,33 ^{az}	5,47 ^{az}	6,11 ^{az}	7,03 ^{az}
			A	6,73 ^{az}	8,27 ^{az}	6,86 ^{az}	6,69 ^{az}	6,39 ^{az}	6,96 ^{az}	6,82 ^{az}	7,18 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
			B	6,23 ^{az}	7,79 ^{az}	7,53 ^{az}	6,32 ^{az}	6,93 ^{az}	6,23 ^{az}	6,79 ^{az}	6,91 ^{az}	7,47 ^{az}	6,73 ^{az}	AY	-	-	-	-
			C	6,47 ^{az}	7,50 ^{az}	5,74 ^{az}	5,50 ^{az}	6,46 ^{az}	6,31 ^{az}	5,40 ^{az}	5,97 ^{az}	7,72 ^{az}	6,55 ^{az}	6,68 ^{az}	6,82 ^{az}	AY	-	-
<i>Streptococcus</i> <i>Micrococcus</i>	2,24	1,83	D	6,49 ^{az}	8,56 ^{az}	6,26 ^{az}	5,69 ^{az}	6,72 ^{az}	5,85 ^{az}	5,68 ^{az}	5,91 ^{az}	7,07 ^{az}	6,77 ^{az}	6,67 ^{az}	6,43 ^{az}	5,98 ^{az}	6,88 ^{az}	8,28 ^{az}
			A	2,83 ^{az}	2,33 ^{az}	2,31 ^{az}	2,02 ^{az}	1,77 ^{az}	1,92 ^{az}	1,87 ^{az}	2,38 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
			B	2,10 ^{az}	2,03 ^{az}	2,35 ^{az}	1,59 ^{az}	1,99 ^{az}	2,10 ^{az}	2,10 ^{az}	2,32 ^{az}	2,23 ^{az}	2,13 ^{az}	AY	-	-	-	-
			C	3,06 ^{az}	1,99 ^{az}	2,04 ^{az}	1,62 ^{az}	1,87 ^{az}	1,69 ^{az}	1,84 ^{az}	2,30 ^{az}	1,62 ^{az}	2,02 ^{az}	2,05 ^{az}	1,82 ^{az}	AY	-	-
			D	2,66 ^{az}	2,02 ^{az}	2,18 ^{az}	1,65 ^{az}	1,73 ^{az}	1,64 ^{az}	1,56 ^{az}	2,01 ^{az}	1,33 ^{az}	1,49 ^{az}	1,89 ^{az}	1,68 ^{az}	1,74 ^{az}	1,10 ^{az}	1,16 ^{az}
<i>Enterococcus</i>	1,00	A	1,85 ^{az}	1,51 ^{az}	2,32 ^{az}	2,00 ^{az}	2,12 ^{az}	2,03 ^{az}	1,81 ^{az}	1,32 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-	
		B	2,19 ^{az}	1,00 ^{az}	2,77 ^{az}	2,21 ^{az}	1,46 ^{az}	1,36 ^{az}	1,19 ^{az}	1,01 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	AY	-	-	-	-	
		C	1,77 ^{az}	1,00 ^{az}	2,50 ^{az}	1,53 ^{az}	1,77 ^{az}	1,70 ^{az}	1,54 ^{az}	1,43 ^{az}	1,30 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	AY	-	-	
		D	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	<1,00 ^{az}	
		A	5,77 ^{az}	6,86 ^{az}	6,80 ^{az}	6,61 ^{az}	6,25 ^{az}	7,01 ^{az}	6,59 ^{az}	6,89 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-	
Maya ve Kif	2,24	B	6,24 ^{az}	6,25 ^{az}	6,31 ^{az}	6,25 ^{az}	6,02 ^{az}	6,07 ^{az}	5,77 ^{az}	5,64 ^{az}	5,92 ^{az}	5,73 ^{az}	AY	-	-	-	-	
		C	5,79 ^{az}	5,97 ^{az}	6,03 ^{az}	5,68 ^{az}	5,13 ^{az}	5,39 ^{az}	4,60 ^{az}	5,20 ^{az}	5,07 ^{az}	4,81 ^{az}	4,96 ^{az}	AY	-	-	-	
		D	5,38 ^{az}	5,49 ^{az}	5,29 ^{az}	5,10 ^{az}	4,54 ^{az}	4,81 ^{az}	4,35 ^{az}	4,74 ^{az}	4,97 ^{az}	4,19 ^{az}	4,80 ^{az}	4,83 ^{az}	5,31 ^{az}	4,64 ^{az}	5,85 ^{az}	

AY : Bozulma nedeniyle analiz yapılmadı

a,b : Aynı satırdaki verilerden farklı harfler taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

z : Aynı sütundaki verilerden farklı harfler taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05)

Tablo 2 +22 °C' de Muhafaza Edilen Çökelek Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Bulguları (log₁₀ kob/g)

Mikroorganizma	Yoğurt	Ham Çökelek	Örnek Tipi	Muhafaza Süresi (Gün)					
				0.	5.	10.	15.	20.	25.
Toplam Mezofilik Aerob	7,64	6,90	A	7.89 ^{az}	8.62 ^{az}	AY	-	-	-
			B	7.27 ^{az}	8.04 ^{az}	AY	-	-	-
			C	7.72 ^{az}	8.26 ^{az}	8.50 ^{az}	AY	-	-
			D	7.77 ^{az}	8.66 ^{az}	5.99 ^{az}	5.67 ^a	6.69 ^a	8.11 ^a
Koliform	1,00	1,00	A	1.67 ^{az}	2.32 ^{az}	AY	-	-	-
			B	2.09 ^{az}	2.24 ^{az}	AY	-	-	-
			C	1.00 ^{az}	2.41 ^{az}	1.57 ^{az}	AY	-	-
			D	1.00 ^{az}	2.40 ^{az}	1.30 ^{az}	1.62 ^a	1.47 ^a	1.42 ^a
<i>Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus</i>	7,41	5,99	A	7.98 ^{az}	7.52 ^{az}	AY	-	-	-
			B	6.06 ^{az}	7.00 ^{az}	AY	-	-	-
			C	6.89 ^{az}	6.91 ^{az}	6.80 ^{az}	AY	-	-
			D	7.06 ^{az}	6.34 ^{az}	5.41 ^{az}	5.25 ^a	5.05 ^a	4.94 ^a
<i>Lactococcus</i>	7,24	5,43	A	6.73 ^{az}	7.25 ^{az}	AY	-	-	-
			B	6.23 ^{az}	7.42 ^{az}	AY	-	-	-
			C	6.47 ^{az}	7.57 ^{az}	6.71 ^{az}	AY	-	-
			D	6.49 ^{az}	8.25 ^{az}	5.67 ^{az}	5.22 ^a	6.13 ^a	6.34 ^a
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	2,24	1,83	A	2.83 ^{az}	2.34 ^{az}	AY	-	-	-
			B	2.10 ^{az}	2.01 ^{az}	AY	-	-	-
			C	3.06 ^{az}	1.83 ^{az}	2.02 ^{az}	AY	-	-
			D	2.66 ^{az}	2.40 ^{az}	2.01 ^{az}	1.87 ^a	1.23 ^a	1.47 ^a
<i>Enterococcus</i>	1,00	1,85	A	1.85 ^{az}	1.73 ^{az}	AY	-	-	-
			B	1.79 ^{az}	1.62 ^{az}	AY	-	-	-
			C	1.67 ^{az}	1.48 ^{az}	1.35 ^{az}	AY	-	-
			D	<1.00 ^{az}	<1.00 ^{az}	<1.00 ^{az}	<1.00 ^a	<1.00 ^a	<1.00 ^a
Maya ve Küf	2,24	5,07	A	5.77 ^{az}	7.46 ^{az}	AY	-	-	-
			B	6.24 ^{az}	6.78 ^{az}	AY	-	-	-
			C	5.79 ^{az}	6.67 ^{az}	6.53 ^{az}	AY	-	-
			D	5.38 ^{az}	6.50 ^{az}	6.09 ^{az}	4.68 ^a	4.54 ^a	5.36 ^a

AY : Bozulma nedeniyle analiz yapılmadı.

a,b : Aynı satırdaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

z : Aynı sütundaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

Tablo 3. -4 °C'de Muhafaza Edilen Çökelek Örneklerinin Kimyasal Analiz Bulguları

Değer	Yoğunluk	Ham Çökelek	Örnek Tipi	Muhafaza Süresi (Gün)																
				0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70		
pH	3,36	3,88	A	3,92 ^{az}	3,98 ^{az}	3,74 ^{az}	3,71 ^{az}	3,80 ^{az}	3,83 ^{az}	3,75 ^{az}	3,63 ^{az}	AY	-	-	-	-	-			
			B	4,09 ^{az}	4,15 ^{az}	3,97 ^{az}	3,98 ^{az}	3,97 ^{az}	3,90 ^{az}	3,94 ^{az}	3,96 ^{az}	3,82 ^{az}	4,25 ^{az}	AY	-	-	-			
			C	3,99 ^{az}	4,01 ^{az}	3,79 ^{az}	3,77 ^{az}	3,84 ^{az}	3,84 ^{az}	3,79 ^{az}	3,83 ^{az}	3,95 ^{az}	4,17 ^{az}	4,05 ^{az}	4,30 ^{az}	AY	-	-		
			D	4,01 ^{az}	4,08 ^{az}	3,83 ^{az}	3,77 ^{az}	3,88 ^{az}	3,85 ^{az}	3,80 ^{az}	3,85 ^{az}	3,78 ^{az}	4,29 ^{az}	4,25 ^{az}	4,14 ^{az}	4,17 ^{az}	4,40 ^{az}	4,31 ^{az}		
Asidite (%1a)	1,66	1,43	A	1,78 ^{az}	1,86 ^{az}	1,69 ^{az}	1,67 ^{az}	1,66 ^{az}	1,54 ^{az}	1,48 ^{az}	1,76 ^{az}	AY	-	-	-	-	-			
			B	1,71 ^{az}	1,89 ^{az}	1,68 ^{az}	1,89 ^{az}	1,87 ^{az}	1,86 ^{az}	1,70 ^{az}	1,71 ^{az}	1,93 ^{az}	2,03 ^{az}	AY	-	-	-			
			C	1,68 ^{az}	1,74 ^{az}	1,69 ^{az}	1,59 ^{az}	1,68 ^{az}	1,52 ^{az}	1,61 ^{az}	1,84 ^{az}	1,88 ^{az}	2,03 ^{az}	1,93 ^{az}	1,79 ^{az}	AY	-	-		
			D	1,85 ^{az}	1,84 ^{az}	1,53 ^{az}	1,70 ^{az}	1,77 ^{az}	1,77 ^{az}	1,69 ^{az}	1,90 ^{az}	1,86 ^{az}	2,05 ^{az}	2,00 ^{az}	1,90 ^{az}	1,86 ^{az}	1,93 ^{az}	2,05 ^{az}		
B _u	0,97	0,97	A	0,96 ^{az}	0,95 ^{az}	0,94 ^{az}	0,93 ^{az}	0,94 ^{az}	0,95 ^{az}	0,94 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-			
			B	0,96 ^{az}	0,94 ^{az}	0,93 ^{az}	0,92 ^{az}	0,92 ^{az}	0,93 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,95 ^{az}	0,95 ^{az}	AY	-	-		
			C	0,95 ^{az}	0,96 ^{az}	0,94 ^{az}	0,95 ^{az}	0,96 ^{az}	0,94 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,95 ^{az}	0,95 ^{az}	AY	-	-		
			D	0,95 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,94 ^{az}	0,96 ^{az}	0,95 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,96 ^{az}	0,94 ^{az}	0,94 ^{az}	0,92 ^{az}	0,93 ^{az}	0,94 ^{az}	0,93 ^{az}	0,92 ^{az}	
Yağ (%)	3,40	10,67	A	10,07 ^{az}	11,87 ^{az}	12,27 ^{az}	12,13 ^{az}	12,27 ^{az}	12,33 ^{az}	12,27 ^{az}	12,33 ^{az}	AY	-	-	-	-	-			
			B	12,23 ^{az}	12,87 ^{az}	13,00 ^{az}	13,20 ^{az}	13,07 ^{az}	13,07 ^{az}	14,13 ^{az}	14,60 ^{az}	14,53 ^{az}	14,00 ^{az}	AY	-	-	-	-		
			C	11,73 ^{az}	13,20 ^{az}	13,27 ^{az}	13,13 ^{az}	13,27 ^{az}	13,93 ^{az}	12,40 ^{az}	12,07 ^{az}	12,20 ^{az}	13,07 ^{az}	13,13 ^{az}	13,07 ^{az}	AY	-	-		
			D	9,83 ^{az}	11,87 ^{az}	12,40 ^{az}	12,33 ^{az}	12,27 ^{az}	12,73 ^{az}	12,53 ^{az}	13,13 ^{az}	14,33 ^{az}	13,80 ^{az}	14,33 ^{az}	14,33 ^{az}	13,33 ^{az}	13,00 ^{az}	14,07 ^{az}		
Kuru madde (%)	13,21	23,94	A	32,59 ^{az}	33,08 ^{az}	34,75 ^{az}	36,09 ^{az}	36,23 ^{az}	36,48 ^{az}	35,82 ^{az}	37,54 ^{az}	AY	-	-	-	-	-			
			B	33,19 ^{az}	34,55 ^{az}	37,77 ^{az}	35,45 ^{az}	35,26 ^{az}	40,16 ^{az}	41,32 ^{az}	38,18 ^{az}	38,30 ^{az}	39,03 ^{az}	AY	-	-	-	-		
			C	30,71 ^{az}	34,34 ^{az}	38,14 ^{az}	37,64 ^{az}	38,80 ^{az}	35,77 ^{az}	38,58 ^{az}	34,05 ^{az}	37,84 ^{az}	36,37 ^{az}	39,45 ^{az}	40,17 ^{az}	AY	-	-		
			D	34,74 ^{az}	35,39 ^{az}	36,82 ^{az}	36,28 ^{az}	35,18 ^{az}	38,82 ^{az}	38,34 ^{az}	35,47 ^{az}	37,01 ^{az}	37,49 ^{az}	44,72 ^{az}	44,83 ^{az}	47,03 ^{az}	48,81 ^{az}	49,60 ^{az}		
Tuz (%)	1,75	0,44	A	2,46 ^{az}	2,38 ^{az}	2,28 ^{az}	2,47 ^{az}	2,46 ^{az}	2,22 ^{az}	2,25 ^{az}	2,30 ^{az}	AY	-	-	-	-	-			
			B	2,46 ^{az}	2,44 ^{az}	2,53 ^{az}	2,36 ^{az}	2,40 ^{az}	2,25 ^{az}	2,35 ^{az}	2,34 ^{az}	2,49 ^{az}	2,46 ^{az}	AY	-	-	-	-		
			C	2,46 ^{az}	2,44 ^{az}	2,50 ^{az}	2,20 ^{az}	2,45 ^{az}	2,16 ^{az}	2,25 ^{az}	2,35 ^{az}	2,36 ^{az}	2,39 ^{az}	2,30 ^{az}	2,23 ^{az}	AY	-	-		
			D	2,46 ^{az}	2,29 ^{az}	2,45 ^{az}	2,20 ^{az}	2,46 ^{az}	2,42 ^{az}	2,22 ^{az}	2,33 ^{az}	2,50 ^{az}	2,44 ^{az}	2,36 ^{az}	2,35 ^{az}	2,38 ^{az}	2,39 ^{az}	2,40 ^{az}		
Protein (%)	15,81	14,49	A	14,94 ^{az}	17,03 ^{az}	15,99 ^{az}	16,52 ^{az}	15,41 ^{az}	15,07 ^{az}	16,07 ^{az}	16,15 ^{az}	AY	-	-	-	-	-			
			B	14,52 ^{az}	16,24 ^{az}	16,12 ^{az}	17,29 ^{az}	17,76 ^{az}	14,65 ^{az}	17,21 ^{az}	16,40 ^{az}	16,14 ^{az}	17,74 ^{az}	AY	-	-	-	-		
			C	14,13 ^{az}	14,28 ^{az}	14,86 ^{az}	15,63 ^{az}	15,30 ^{az}	15,35 ^{az}	17,10 ^{az}	17,88 ^{az}	15,55 ^{az}	15,80 ^{az}	15,82 ^{az}	17,14 ^{az}	AY	-	-		
			D	15,35 ^{az}	16,30 ^{az}	16,42 ^{az}	16,48 ^{az}	16,18 ^{az}	15,63 ^{az}	16,93 ^{az}	17,00 ^{az}	15,75 ^{az}	16,57 ^{az}	17,12 ^{az}	17,81 ^{az}	18,20 ^{az}	21,38 ^{az}	21,47 ^{az}		
Kül (%)	6,22	2,97	A	3,16 ^{az}	3,48 ^{az}	3,66 ^{az}	3,65 ^{az}	3,53 ^{az}	3,33 ^{az}	3,26 ^{az}	3,39 ^{az}	AY	-	-	-	-	-			
			B	3,15 ^{az}	3,35 ^{az}	3,22 ^{az}	3,41 ^{az}	3,88 ^{az}	3,80 ^{az}	3,79 ^{az}	3,68 ^{az}	3,83 ^{az}	3,65 ^{az}	AY	-	-	-	-		
			C	3,05 ^{az}	3,82 ^{az}	3,72 ^{az}	3,33 ^{az}	3,98 ^{az}	3,37 ^{az}	3,69 ^{az}	3,19 ^{az}	3,65 ^{az}	3,10 ^{az}	3,32 ^{az}	3,87 ^{az}	AY	-	-		
			D	2,97 ^{az}	3,06 ^{az}	3,23 ^{az}	3,46 ^{az}	3,59 ^{az}	3,60 ^{az}	3,31 ^{az}	3,79 ^{az}	3,77 ^{az}	3,72 ^{az}	3,76 ^{az}	3,22 ^{az}	3,40 ^{az}	3,32 ^{az}	3,73 ^{az}		
Sorbik asit (ppm)	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
			B	2,65 ^{az}	2,60 ^{az}	2,82 ^{az}	2,77 ^{az}	2,91 ^{az}	2,84 ^{az}	2,70 ^{az}	2,20 ^{az}	2,86 ^{az}	2,53 ^{az}	AY	-	-	-	-		
			C	3,67 ^{az}	2,76 ^{az}	2,46 ^{az}	2,79 ^{az}	2,40 ^{az}	2,32 ^{az}	2,46 ^{az}	3,33 ^{az}	3,42 ^{az}	3,13 ^{az}	3,14 ^{az}	3,60 ^{az}	AY	-	-		
			D	5,34 ^{az}	4,52 ^{az}	3,84 ^{az}	4,51 ^{az}	4,76 ^{az}	5,01 ^{az}	5,49 ^{az}	5,13 ^{az}	4,67 ^{az}	4,06 ^{az}	4,79 ^{az}	5,64 ^{az}	5,64 ^{az}	5,61 ^{az}	6,30 ^{az}		

AY : Bozulma nedeniyle analiz yapılmadı

a : Aynı satırdaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

z, y : Aynı sütundaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

Tablo 4. +22 °C'de Muhafaza Edilen Çökelek Örneklerinin Kimyasal Analiz Bulguları.

Değer	Yoğurt	Ham Çökelek	Örnek Tipi	Muhafaza Süresi (Gün)					
				0.	5.	10.	15.	20.	25.
pH	3,36	3,88	A	3,92 ^{az}	4,28 ^{az}	AY	-	-	-
			B	4,09 ^{az}	4,15 ^{az}	AY	-	-	-
			C	3,99 ^{az}	4,33 ^{az}	3,76 ^{az}	AY	-	-
			D	4,01 ^{az}	4,34 ^{az}	3,81 ^{az}	3,80 ^a	3,84 ^a	3,77 ^a
Asidite (% l.a)	1,66	1,43	A	1,78 ^{az}	1,30 ^{az}	AY	-	-	-
			B	1,71 ^{az}	1,80 ^{az}	AY	-	-	-
			C	1,68 ^{az}	1,75 ^{az}	1,80 ^{az}	AY	-	-
			D	1,85 ^{az}	1,67 ^{az}	1,62 ^{az}	2,14 ^a	2,02 ^a	2,12 ^a
a ₉₀	0,97	0,97	A	0,96 ^{az}	0,94 ^{az}	AY	-	-	-
			B	0,96 ^{az}	0,94 ^{az}	AY	-	-	-
			C	0,95 ^{az}	0,95 ^{az}	0,95 ^{az}	AY	-	-
			D	0,95 ^{az}	0,95 ^{az}	0,95 ^{az}	0,92 ^a	0,94 ^a	0,92 ^a
Yağ (%)	3,40	10,67	A	10,07 ^{az}	12,80 ^{az}	AY	-	-	-
			B	12,23 ^{az}	13,13 ^{az}	AY	-	-	-
			C	11,73 ^{az}	13,40 ^{az}	12,93 ^{az}	AY	-	-
			D	9,83 ^{az}	12,93 ^{az}	12,73 ^{az}	12,83 ^a	13,67 ^a	13,36 ^a
Kuru madde (%)	13,21	23,94	A	32,59 ^{az}	35,11 ^{az}	AY	-	-	-
			B	33,19 ^{az}	40,38 ^{az}	AY	-	-	-
			C	30,71 ^{az}	33,44 ^{az}	37,78 ^{az}	AY	-	-
			D	34,74 ^{az}	37,16 ^{az}	41,55 ^{az}	41,14 ^a	43,65 ^a	46,89 ^a
Tuz (%)	1,75	0,44	A	2,46 ^{az}	2,12 ^{az}	AY	-	-	-
			B	2,46 ^{az}	2,02 ^{az}	AY	-	-	-
			C	2,46 ^{az}	2,12 ^{az}	2,15 ^{az}	AY	-	-
			D	2,46 ^{az}	2,12 ^{az}	2,26 ^{az}	2,49 ^a	2,46 ^a	2,56 ^a
Protein (%)	15,81	14,49	A	14,94 ^{az}	16,02 ^{az}	AY	-	-	-
			B	14,75 ^{az}	17,18 ^{az}	AY	-	-	-
			C	14,13 ^{az}	14,63 ^{az}	16,65 ^{az}	AY	-	-
			D	15,35 ^{az}	15,80 ^{az}	17,19 ^{az}	17,40 ^a	17,60 ^a	18,34 ^a
Kül (%)	6,22	2,97	A	3,16 ^{az}	3,53 ^{az}	AY	-	-	-
			B	3,15 ^{az}	3,80 ^{az}	AY	-	-	-
			C	3,05 ^{az}	3,92 ^{az}	4,21 ^{az}	AY	-	-
			D	2,97 ^{az}	3,86 ^{az}	3,83 ^{az}	3,94 ^a	3,86 ^a	3,73 ^a
Sorbik asit (ppm)	-	-	A	-	-	-	-	-	-
			B	2,65 ^{az}	2,56 ^{az}	AY	-	-	-
			C	3,67 ^{az}	2,82 ^{az}	2,53 ^{az}	AY	-	-
			D	5,34 ^{abz}	4,47 ^{abz}	4,78 ^{abz}	4,71 ^a	4,52 ^a	5,15 ^a

AY - Bozulma nedeniyle analiz yapılmadı.

a,b - Aynı satırdaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

z, y - Aynı sütundaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

Tablo 5 +4 °C'de Muhafaza Edilen Çökelek Örneklerinin Duyusal Analiz Bulguları.

Özellik	Örnek Tipi	Muhafaza Süresi (Gün)														
		0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
Renk	A	28,66 ^{az}	29,33 ^{az}	28,00 ^{az}	28,66 ^{az}	29,33 ^{az}	28,66 ^{az}	25,33 ^{az}	28,66 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
	B	27,00 ^{az}	30,00 ^{az}	27,00 ^{az}	28,00 ^{az}	28,00 ^{az}	28,00 ^{az}	29,00 ^{az}	29,00 ^{az}	28,00 ^{az}	27,00 ^{az}	AY	-	-	-	-
	C	28,00 ^{az}	30,00 ^{az}	27,00 ^{az}	29,33 ^{az}	28,66 ^{az}	28,00 ^{az}	29,33 ^{az}	29,33 ^{az}	28,00 ^{az}	28,00 ^{az}	27,00 ^{az}	28,00 ^{az}	AY	-	-
	D	28,00 ^{az}	30,00 ^{az}	28,00 ^{az}	28,66 ^{az}	28,66 ^{az}	28,66 ^{az}	29,33 ^{az}	29,33 ^{az}	27,66 ^{az}	28,00 ^{az}	26,00 ^{az}	25,00 ^{az}	25,00 ^{az}	26,00 ^{az}	24,66 ^a
Yapı	A	15,33 ^{az}	16,00 ^{az}	16,00 ^{az}	16,00 ^{az}	16,00 ^{az}	15,33 ^{az}	15,33 ^{az}	13,00 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
	B	16,33 ^{az}	14,00 ^{az}	13,00 ^{az}	15,00 ^{az}	14,00 ^{az}	15,00 ^{az}	14,00 ^{az}	16,00 ^{az}	15,00 ^{az}	15,00 ^{az}	13,66 ^{az}	16,00 ^{az}	AY	-	-
	C	16,66 ^{az}	16,66 ^{az}	14,00 ^{az}	14,00 ^{az}	16,00 ^{az}	16,00 ^{az}	14,00 ^{az}	16,66 ^{az}	15,00 ^{az}	15,00 ^{az}	12,00 ^{az}	15,00 ^{az}	16,00 ^{az}	16,00 ^{az}	10,66 ^a
	D	16,66 ^{az}	16,66 ^{az}	16,00 ^{az}	16,66 ^{az}	17,33 ^{az}	16,00 ^{az}	15,33 ^{az}	15,33 ^{az}	15,00 ^{az}	14,00 ^{az}	-	-	-	-	-
Koku	A	10,00 ^{az}	9,33 ^{az}	9,50 ^{az}	8,00 ^{az}	9,60 ^{az}	8,66 ^{az}	7,33 ^{az}	6,00 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
	B	10,00 ^{az}	10,00 ^{az}	10,00 ^{az}	10,00 ^{az}	9,50 ^{az}	8,00 ^{az}	9,00 ^{az}	8,00 ^{az}	9,50 ^{az}	8,00 ^{az}	AY	-	-	-	-
	C	10,00 ^{az}	10,00 ^{az}	10,00 ^{az}	10,00 ^{az}	9,33 ^{az}	9,00 ^{az}	9,66 ^{az}	9,00 ^{az}	8,50 ^{az}	8,50 ^{az}	7,50 ^{az}	7,50 ^{az}	AY	-	-
	D	10,00 ^{az}	9,66 ^{az}	10,00 ^{az}	9,66 ^{az}	9,33 ^{az}	9,66 ^{az}	9,00 ^{az}	8,33 ^{az}	8,63 ^{az}	8,00 ^{az}	8,00 ^{az}	8,50 ^{az}	8,50 ^{az}	7,00 ^{az}	8,33 ^a
Tat	A	38,66 ^{az}	37,66 ^{az}	37,00 ^{az}	35,33 ^{az}	33,00 ^{az}	33,00 ^{az}	32,66 ^{az}	30,00 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
	B	37,00 ^{az}	36,00 ^{az}	34,50 ^{az}	36,00 ^{az}	36,00 ^{az}	34,00 ^{az}	36,00 ^{az}	33,50 ^{az}	32,50 ^{az}	32,00 ^{az}	AY	-	-	-	-
	C	39,00 ^{az}	38,00 ^{az}	36,50 ^{az}	37,33 ^{az}	35,66 ^{az}	36,00 ^{az}	35,00 ^{az}	35,00 ^{az}	32,50 ^{az}	33,00 ^{az}	35,50 ^{az}	34,50 ^{az}	AY	-	-
	D	37,33 ^{az}	38,66 ^{az}	36,00 ^{az}	38,00 ^{az}	36,00 ^{az}	36,66 ^{az}	33,00 ^{az}	25,10 ^{az}	36,00 ^{az}	35,50 ^{az}	35,00 ^{az}	31,00 ^{az}	32,00 ^{az}	31,50 ^{az}	33,00 ^a
Genel Beğeni	A	92,66 ^{az}	92,33 ^{az}	89,50 ^{az}	89,33 ^{az}	88,66 ^{az}	82,33 ^{az}	83,33 ^{az}	78,00 ^{az}	AY	-	-	-	-	-	-
	B	91,33 ^{az}	91,00 ^{az}	84,50 ^{az}	91,00 ^{az}	84,50 ^{az}	87,90 ^{az}	85,00 ^{az}	86,50 ^{az}	84,00 ^{az}	87,00 ^{az}	AY	-	-	-	-
	C	93,66 ^{az}	95,00 ^{az}	86,50 ^{az}	94,00 ^{az}	87,66 ^{az}	87,66 ^{az}	88,66 ^{az}	91,33 ^{az}	83,00 ^{az}	85,33 ^{az}	83,00 ^{az}	86,50 ^{az}	AY	-	-
	D	92,66 ^{az}	95,00 ^{az}	89,00 ^{az}	93,66 ^{az}	91,33 ^{az}	89,00 ^{az}	86,33 ^{az}	88,33 ^{az}	86,50 ^{az}	85,50 ^{az}	81,00 ^{az}	80,50 ^{az}	81,50 ^{az}	80,50 ^{az}	78,66 ^a

AY : Bozulma nedeniyle analiz yapılmadı

a, b : Aynı satırdaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

z : Aynı sütundaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

Tablo 6. +22 °C'de Muhafaza Edilen Çökelek Örneklerinin Duyusal Analiz Bulguları

Özellik	Örnek Tipi	Muhafaza Süresi (Gün)					
		0.	5.	10.	15.	20.	25.
Renk	A	28,66 ^{az}	19,33 ^y	AY	-	-	-
	B	27,00 ^{az}	24,00 ^{bz}	AY	-	-	-
	C	28,00 ^{az}	29,33 ^{az}	26,00 ^{abz}	AY	-	-
	D	28,00 ^{az}	29,33 ^{az}	24,75 ^{az}	24,00 ^{ab}	20,00 ^a	18,66 ^a
Yapı	A	15,33 ^{az}	12,66 ^z	AY	-	-	-
	B	16,33 ^{az}	10,50 ^{az}	AY	-	-	-
	C	16,66 ^{az}	14,00 ^{az}	15,00 ^{az}	AY	-	-
	D	16,66 ^{az}	15,00 ^z	15,50 ^{az}	12,66 ^a	16,00 ^a	10,66 ^a
Koku	A	10,00 ^{az}	4,66 ^y	AY	-	-	-
	B	10,00 ^{az}	6,00 ^{az}	AY	-	-	-
	C	10,00 ^{az}	8,66 ^{az}	8,00 ^{az}	AY	-	-
	D	10,00 ^{az}	8,33 ^z	7,37 ^{az}	6,66 ^a	6,66 ^a	6,00 ^a
Tat	A	38,66 ^{az}	29,66 ^z	AY	-	-	-
	B	37,00 ^{az}	29,00 ^{bz}	AY	-	-	-
	C	39,00 ^{az}	36,33 ^{az}	30,50 ^{abz}	AY	-	-
	D	37,33 ^{az}	34,33 ^z	30,50 ^{az}	29,00 ^{ab}	30,00 ^{ab}	26,33 ^a
Genel Beğeni	A	92,66 ^{az}	69,00 ^y	AY	-	-	-
	B	91,33 ^{az}	70,50 ^{az}	AY	-	-	-
	C	93,66 ^{az}	88,33 ^{az}	79,00 ^{az}	AY	-	-
	D	92,66 ^{az}	87,66 ^y	78,12 ^{az}	72,33 ^{ab}	71,33 ^{ab}	61,66 ^b

AY : Bozulma nedeniyle analiz yapılmadı

a,b : Aynı satırdaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

z, y : Aynı sütundaki verilerden farklı harfleri taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan mikrobiyolojik analiz sonucunda, toplam mezofilik aerob bakteri sayısı ham çökelekte ortalama olarak 6,90 log₁₀ kob/g değerinde saptandı. Bu sayı tüm örneklerde artarak 5. günde +4 ± 1 °C 'de muhafaza edilen serilerde 5. günde 7,99 - 8,53 log₁₀ kob/g, +22 ± 1 °C 'de muhafaza edilen serilerde ise 8,04 - 8,66 log₁₀ kob/g düzeyine çıktı. Muhafazanın 15.gününe kadar tüm örneklerde toplam mezofilik aerob sayısında bir azalma görüldü. Sonraki muhafaza günlerinde ise birbirlerinden farklı değişimler gösterdi (Tablo1.2). Toplam mezofilik aerob sayısı bakımından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında fark görülmemesi (p>0,05) potasyum sorbat uygulanmasının toplam aerob mikroorganizma üzerine etkisinin olmadığını göstermektedir. Elde ettiğimiz bulgular, bazı araştırmacıların (12, 22) bulgularıyla benzerlik arz etmesine karşılık, potasyum sorbatın toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı üzerinde etkili olduğunu bildiren araştırmacıların (6, 30) bulgularından farklıdır.

Koliform bakteriler ham çökelekte 1,00 log₁₀ kob/g olarak tespit edildi. Bu sayı tüm örneklerde muhafazanın 5.gününe kadar arttı ve yine tüm örneklerde en yüksek seviyeye ulaştı.

Koliformların, hava ile üretimde kullanılan alet ve ekipmanlarla kolaylıkla ürüne bulaşabileceği bir çok araştırmacı (33,38) tarafından da vurgulanmaktadır. Koliform bakteri sayısı muhafazanın 10.gününde tüm örneklerde bir azalma gösterdikten sonra 15.günde tekrar arttı. Daha sonra yine tüm örneklerde muhafazanın sonuna kadar sürekli azalarak $+4 \pm 1$ °C 'de muhafaza edilen serilerde A grubunda 35.günde, B grubunda 40.günde, C ve D gruplarında ise 30. günde tespit edilebilir seviyenin altına düştü (Tablo 1). Koliform sayısı, $+22 \pm 1$ °C 'de muhafaza edilen serilerde ise 15.günden itibaren muhafazanın sonuna kadar giderek azaldı (Tablo 2). Bu durum, koliform grubu bakterileri sayılarında muhafaza süresince azalma olduğunu belirten bazı araştırmacıların (10,13) bulgularıyla benzerlik arz etmektedir. Genel olarak değerlendirildiğinde, potasyum sorbat miktarının artmasına bağlı olarak $+4 \pm 1$ °C muhafaza sıcaklığında koliform grubu bakterilerin muhafazanın daha erken günlerinde ortamdan yok oldukları görüldü. Koliform bakteri sayısı bakımından muhafaza süresine bağlı olarak elde edilen farklılıkların önemli olduğu ($p<0,05$) saptandı.

Ham çökelekte $5,99 \log_{10}$ kob/g olarak tespit edilen *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* sayısı, muhafaza süresince $+4 \pm 1$ °C 'deki serilerde $5,28-7,28 \log_{10}$ kob/g, $+22 \pm 1$ °C 'deki serilerde ise $4,94-7,52 \log_{10}$ kob/g seviyesinde bulundu (Tablo 1.2). Elde edilen bu sonuçlar, potasyum sorbatın bu grup mikroorganizmalar üzerindeki inhibitör etkisinin çok düşük düzeylerde olduğunu ($p>0,05$) belirten araştırmacıların (12, 15) bulgularıyla uyum içerisindedir.

Lactococcus sayısı ham çökelekte $5,43 \log_{10}$ kob/g olarak tespit edildi. Bu sayı tüm çökelek örneklerinde muhafazanın 5.gününe kadar artış gösterdikten sonra muhafazanın 15.gününde azaldı. *Lactococcus* sayısının muhafaza süresince $+4 \pm 1$ °C 'deki serilerde $5,40-8,56 \log_{10}$ kob/g, $+22 \pm 1$ °C 'deki serilerde ise $5,22-8,25 \log_{10}$ kob/g arasında olduğu görüldü (Tablo 1.2). Elde edilen veriler irdelendiğinde, potasyum sorbatın *Lactococcus* üzerinde inhibitör etkisinin olmadığını göstermektedir ($p>0,05$). Bu sonuç, bazı araştırmacıların (15, 30) bulgularıyla uyum içerisindedir.

Staphylococcus - Micrococcus sayısı ham çökelekte $1,83 \log_{10}$ kob/g seviyesinde bulundu. Bu sayı muhafazanın 5.gününe kadar tüm örneklerde azaldı. Muhafazanın ilerleyen günlerinde ise tüm serilerde birbirlerinden farklı değişimler gösterdi. Genel olarak değerlendirildiğinde, potasyum sorbatın yüksek konsantrasyonda kullanıldığı gruplarda *Staphylococcus - Micrococcus* sayısının muhafaza süresince daha az seviyelerde olduğu tespit edildi. İstatistiksel analiz sonucunda, *Staphylococcus - Micrococcus* sayısı bakımından muhafaza süresine bağlı olarak

elde edilen farklılıkların önemli olduğu ($p<0,05$) saptandı. Ancak, gruplara bağlı olarak muhafaza süresince *Staphylococcus* – *Micrococcus* sayısında meydana farklılıkların potasyum sorbatın bu grup mikroorganizmalar üzerinde etkili olmadığını veya çok az etkisi olduğunu göstermektedir ($p>0,05$). Bu durum bazı araştırmacıların (12,24) bulgularıyla paralellik göstermesine rağmen, Nizamıoğlu ve ark. (22) 'nın bulgularından farklıdır. Bu farklılık, muhtemelen araştırmacıların çalışmalarında daha yoğun (% 1, % 2 % 3) potasyum sorbat kullanmalarına bağlanabilir.

Enterococcus sayısı muhafaza süresinin 5.gününe kadar tüm serilerde bir azalma gösterdi. $+4 \pm 1$ °C 'de muhafaza edilen örneklerde 10.günde artış gösterdikten sonra muhafazanın sonuna kadar tekrar azaldı. C ve B gruplarında ise muhafazanın 45.gününden itibaren tespit edilebilir seviyenin altına düştü. Potasyum sorbatın yüksek oranda kullanıldığı D grubunda ise 0.günden itibaren muhafazanın son gününe kadar *Enterococcus* bakterilerine rastlanılmadı. $+22 \pm 1$ °C 'de muhafaza edilen örneklerde ise muhafaza süresince sürekli bir azalma gösterdi. Yine D grubunda 0.günden itibaren muhafazanın son gününe kadar *Enterococcus* tespit edilemedi. Muhafazanın başlangıcından muhafazanın sonuna kadar potasyum sorbat ihtiva eden örneklerde kontrol grubuna göre daha az sayıda *Enterococcus* bulunması muhtemelen potasyum sorbatın bu grup mikroorganizmalar üzerine etkili olabileceğini ortaya koymaktadır ($p<0,05$). Elde edilen bu sonuç, Doğruer ve ark. (12)' nin bulgularıyla uyum içerisinde.

Maya ve küf sayısı ham çökelekte $5,07 \log_{10}$ kob/g iken, bu sayı tüm serilerde muhafazanın 5.gününde yükseldi. Tiplere bağlı olmak üzere muhafazanın 15-20.günlerinde azalan maya ve küf sayısı, 25.günde tüm serilerde tekrar arttı. Maya ve küf sayısı muhafaza süresince $+4 \pm 1$ °C 'deki serilerde $4,19-7,01 \log_{10}$ kob/g, $+22 \pm 1$ °C 'deki serilerde ise $4,54-7,46 \log_{10}$ kob/g düzeyinde bulundu (Tablo 1,2). Maya ve küf sayısının muhafazanın başlangıcından sonuna kadar kontrol grubuna göre diğer gruplarda daha az seviyelerde seyretmesi muhtemelen bu mikroorganizma grubunun potasyum sorbattan etkilendiğini göstermektedir. Potasyum sorbatın genellikle gıda maddelerinde özellikle peynir üretiminde maya ve küf üremesine karşı en çok kullanılan inhibitör madde olduğu bildirilmektedir (11, 12, 22, 30). Potasyum sorbat miktarları bakımından gruplar arasındaki farklılıkların ve muhafaza süresine bağlı olarak elde edilen farklılıkların önemli olduğu saptandı ($p<0,05$).

Yapılan kimyasal analiz neticesinde, $+4 \pm 1$ °C 'de muhafaza edilen örneklerde muhafaza süresince pH 3,63 – 4,31; asitlik (l.a.cinsinden) % 1,48 – 2,05; su aktivitesi 0,92 – 0,96; yağ %

11,87 – 14,33; kuru madde % 33,08 – 49,60; tuz % 2,16 – 2,53; kül % 3,06 – 5,82 ve protein % 14,28 – 21,48 değerleri arasında saptandı. 22 ± 1 °C 'de muhafaza edilen serilerde ise pH, asitlik, su aktivitesi, yağ, kuru madde, tuz, kül ve protein değerleri sırasıyla 3,76 – 4,34; % 1,30 – 2,14; 0,92 – 0,95; % 12,73 – 13,67; % 33,44 – 46,89; % 2,02 – 2,56; % 3,23 – 4,21 ve % 14,63 – 18,34 olarak tespit edildi. Yukarıda belirtilen kimyasal analizler sonucunda kontrol grubuyla potasyum sorbat uygulanan gruplarda muhafaza sıcaklığı ve süresine bağlı olarak elde edilen farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı bulundu ($p>0,05$).

Deneyisel çökelek örneklerinde sorbik asit kalıntı miktarlarının başlangıçta (0. gün) 2650 - 5340 ppm düzeyinde olduğu belirlendi. Bu değer, tüm serilerde muhafazanın 5.gününde azalarak $+4 \pm 1$ °C 'deki örneklerde 2600-4520 ppm, $+22 \pm 1$ °C 'deki örneklerde ise 2560-4470 ppm seviyesine düştü. Bu miktar % 0,1 oranında potasyum sorbat uygulanmış serilerde 70 günlük muhafaza süresince 4440 - 5150 ppm miktarları arasında seyretti. % 0,01 - % 0,05 oranlarında potasyum sorbat uygulanan örneklerde ise sorbik asit miktarlarının birbirlerine yakın değerlerde (2560 - 2820 ppm) kaldığı belirlendi. Potasyum sorbat miktarları bakımından gruplar arasındaki farklılığın önemli olduğu ($p<0,05$), ancak muhafaza sıcaklığı ve süresine bağlı olarak elde edilen farklılıkların önemsiz olduğu saptandı ($p>0,05$).

Duyusal analiz sonucunda çökelek örneklerinin muhafazanın başlangıcında daha fazla beğeni kazandığı belirlendi. $+4 \pm 1$ °C 'de muhafaza edilen örneklerde kontrol grubu, % 0,01, % 0,05 ve % 0,1 potasyum sorbat uygulanmış serilerde sırasıyla 40., 50., 60., ve 75.günlerde ürünün tamamen bozulduğu belirlendi. Aynı şekilde $+22 \pm 1$ °C 'de muhafazaya alınan grupta ise aynı oranlarda potasyum sorbat uygulanmış serilerde yine sırasıyla 10.,10.,15. ve 30.günlerde bozulma meydana geldi. Ürünün muhafaza süresinin potasyum sorbat uygulamasıyla arttığı gözlemlendi. Bu durum, peynir yapımında sorbik asit ve potasyum sorbat tuzunun % 0,05-0,1 arasında değişen oranlarda kullanılmasının peynirin tüketici beğenisi üzerinde çok az değişiklik meydana getirdiğini tespit eden bazı araştırmacıların (6,25) bulgularıyla uyum içerisindedir.

Sonuç olarak, elde edilen veriler potasyum sorbat uygulanmasının çökeleğin kimyasal nitelikleri ile toplam mezofilik aerob, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*, laktik streptokok, *Staphylococcus* – *Micrococcus* sayıları üzerine etkili olmadığını, ancak koliform, *Enterococcus* ve maya ve küf sayıları üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, çökeleğin muhafaza süresinin kullanılan potasyum sorbat miktarına ve muhafaza sıcaklığına bağlı olduğu, kullanılan % 0,1 oranındaki potasyum sorbat uygulamasının ürünün muhafaza süresini $+4 \pm 1$ °C'de 70.

güne kadar uzattığı, buna karşılık ürünün duyuusal niteliklerinde olumsuz bir durum yaratmadığı gözlemlendi.

KAYNAKLAR

1. Abdalla, O.M., Davidson, P.M. and Christen, G.L. (1993) Survival of selected pathogenic bacteria in white pickled cheese made lactic acid bacteria or antimicrobials. *Journal of Food Protection*, 56 (11), 972-976.
2. American Public Health Association. (1974). *Standarts Methods for the Examination of Dairy Products*. 13 th. Ed. American Public Health Association, New York.
3. Association of Official Analytical Chemists. (1984). *Official Methods of Analysis*. 14 th ed. Association of Analytical Chemists, Washington, DC.
4. Association of Official Analytical Chemists. (1990). *Official Methods of Analysis*. 15 th ed. Association of Analytical Chemists, Washington, DC.
5. Barnes, E.M. (1959). Differential and selective media for the faecal streptococci. *Journal of Science Food Agri.*, 10: 656-662.
6. Bradley, R.L., Harmon, L.G. and Stine, C.M. (1962). Effect of potassium sorbate on some organisms associated with cottage cheese spoilage. *J. Milk Food Technol.*, 25, 318-323.
7. British Standards Institution. (1968). *Methods of Microbiological Examination of for Dairy Purposes*. British Standard 4285, British Standards Institution, London.
8. Campos, C.A. and Gerchenson, L.N. (1996) Effect of certain additives on sorbate stability. *Food Research International*, 29, 2, 147-154.
9. Çakmakçı, S. ve Çelik, İ. (1995) Gıda Katkı Maddeleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak. Ders Notu, No: 164. Erzurum.
10. Çelik, C. (1982). Çeşitli Starter Kültürleri Kullanarak Salamura Beyaz Peynirin Standardizasyonu Üzerine Çalışmalar. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, VHAG Proje No: 488, TÜBİTAK, Elazığ.
11. Doell, W. (1962) The antimicrobial action of potassium sorbate. *ARC. Lebensmittelhyg.* 13, 4-10.
12. Doğruer, Y., Gürbüz, Ü. Ve Nizamlioğlu, M. (1996) Potasyum sorbatın beyaz peynirin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesine etkisi. *Veteriner Bilimler Dergisi*, 12 (1), 109-116.
13. Ergüllü, E. ve Üçüncü, M. (1987) Peynir teknolojisinde koliform grubu bakterilerin oluşturduğu sorunlar ve önlemler. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 2, 141-157.
14. Gram, L. (1991) Inhibition of mesophilic spoilage *Aeromonas* spp. on fish by salt, potassium sorbate, liquid smoke and chilling. *Journal of Food Protection*, 54, 6, 436-442.
15. Hamdan, I.Y., deane, D.D. and Kunsmann, J.E. (1971) Effect of potassium sorbate on yoghurt cultures. *J. Milk Food Technol.*, 34, 307-311.
16. Harrigan, W.F. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*, 3rd ed. Academic Press, London.
17. Kasrazadeh, M. and Geniorgis, C. (1994) Potential growth and control of *Salmonella* in Hispanic thepe soft cheese. *Int. Journal of Food Microbiol.*, 22 (2/3), 127-140.
18. Kıvanç, M. (1989) Gıda koruyucusu olarak sorbik asit ve tuzları: I. Genel özellikleri. *Gıda*, 14 (5), 315-320.
19. Lang, K.W. and Sternberg, M.P. (1980) Calculation of moisture content of a formulated food system to any given water aktivty. *Journal Food Science*, 45, 1228-1230.
20. Liewen, M.B. and Marth, E.H. (1985) Growth and inhibition of microorganisms in the presence of sorbic acid: A review. *Journal of Food Protection*, 48(4), 364-375.
21. Moustafa, H.H. and Collins, E.B. (1969) Effects of selected food additives on growth of *Pseudomonas fragi*. *Journal of Dairy Science*, 52, 335-340.
22. Nizamlioğlu, M., Gürbüz, Ü. Ve Doğruer, Y. (1996) Potasyum sorbatın kaşar peynirin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesine etkisi. *Vet. Bil. Derg.* 12 (2): 23-29.
23. Oxoid (1982) *The Oxoid Manual*. 50 th Ed. Published by Oxoid Limited, Hampshire.
24. Parada, J.L., Cherife, J. and Magrini, R.J. (1982). Effect of BHA, BHT and potassium sorbate on growth of *Staphylococcus aureus* in a model system and process cheese. *J. Food Prot.*, 45, 1030-1037.
25. Perry, G.A., Lawrence, L.R. and Melnick, D. (1964) Extension of poultry shelf life by processing with sorbic acid. *Food Technol.*, 18, 891-897.
26. Robach, M.C. and Sofos, J.N. (1982). Use of sorbates in meat products, fresh poultry and poultry products - A review¹. *Journal of Food Protection*, 45 (4), 374-383.
27. Rogosa, M., Mitchell, J.A., Wiseman, R.F. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and faecal *Lactobacilli*. *Journal Bacteriol.* 1951, 62 (1), 132-133.
28. Saldamlı, İ. (1985) Gıda Katkı Maddeleri ve İçeriyenler. Hacettepe Üniversitesi Müh.Fak. Gıda Müh. Böl., Ankara.
29. Shaw, S.J., Bligh, E.G. and Woyewoda, A.D. (1983). Effect of potassium sorbate application on shelf life of atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Institute Journal of Food Science Technology*, 16, 4, 237-241.

30. Sofos, J.N. and Busta, F.F. (1981). Antimicrobial activity of sorbate. *Journal of Food Protection*, 44 (8), 614-622.
31. Statistical Analyses System (1999). SAS. Inst. Inc. Cary. 8. Versiyon, North Caroline, US.
32. Stiles, M.E. (1977) Reability of selective media for recovery of Staphylococci from cheese. *Journal of Food Protection*, 40, 11-16.
33. Tekingen, O.C., Patır, B. ve Alkan, M. (1993). Şavak peynirinde koliform grubu mikroorganizmalar üzerine araştırmalar. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 9 (2), 8-12.
34. Terzaghi, B.E.; Sandine, W.E. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl Microbiol.* 1975, 29, 807-813.
35. Türk Gıda Mevzuatı. (2000). Gıda Katkı Maddeleri Sıralı EC Numaraları Kullanım Dozu ve Özel Şartları, Ek 1-13. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara.
36. Türk Standardları Enstitüsü. (1984). Yoğurt. TS 1330, TSE. Ankara.
37. Üçüncü, M. (1980). Peynircilikte sorbik asit ve kullanım olanakları. *Gıda*, 5,4, 79-87.
38. Yanai, Y., rasen, B. and Pinsky, A. (1977). The microbiology of pickled cheese during manufacture and maturation. *Journal of Dairy Research* 44,149-153.

FARKLI SICAKLIKLARDA DEPOLAMANIN KOYUN YOĞURTLARINDA STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN (SEA 10652 FDA 196E) GELİŞİMİ VE ENTEROTOKSİN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Levent AKKAYA¹, Mustafa ALIŞARLI², Beytullah KENAR³, Hasan Hüseyin KARA⁴

1. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

2. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van

3. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Anabilim Dalı, Afyonkarahisar

4. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Afyonkarahisar

leventakkaya@aku.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, A (SEA 10652 FDA 196E) enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşunun koyun yoğurtunda gelişimi ve toksin oluşturma yeteneği incelenmiştir. Bu amaçla yoğurt yapılacak koyun sütü pastörizasyon işlemi (90 °C'de 5 d) sonrası *S. aureus* suşu ile 10^4 kob/ml ve 10^6 kob/ml düzeyinde kontamine edilmiş ve bu kontamine süt ile yoğurt deneysel olarak üretilmiştir. Yoğurtlar 4 °C, 18 °C, 25 °C ve 30 °C'de 21 gün süre ile depolanmıştır. Deneme yoğurtları depolamanın 1., 3., 7., 15. ve 21. günlerinde mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal ve serolojik yönden incelenmiştir.

Bu çalışmada koyun sütlerinden yapılan ve *S. aureus* ile 10^4 kob/ml kontamine edilen yoğurtlarda *S. aureus* sayısı fermentasyon periyodu sonunda en yüksek değeri olan 3.0×10^5 sayısına ulaşmış ancak hem fermentasyon periyodu hem de depolama süresince enterotoksin üretimi saptanmamıştır. Buna karşın 10^6 kob/ml *S. aureus* ile kontamine edilen koyun yoğurtlarında ise *S. aureus* sayısı en yüksek değeri olan 7.6×10^7 sayısına fermentasyon periyodu sonunda ulaşmış ve enterotoksin oluşumu fermentasyon periyodunun ilk saatlerinde belirlenmiştir.

Sonuç olarak, süte pastörizasyon işlemi takiben 10^6 kob/ml düzeyinde *S. aureus* bulaşması halinde, bir kaç saat (1-3 saat) içinde *S. aureus*'un toksin üretebileceği ve halk sağlığı açısından bir risk meydana getirebileceği belirlenmiştir. *S. aureus* bulaşmasının başlangıçta 10^4 kob/ml düzeyini aştığı durumlarda fermentasyon (asidite) periyodunun veya starter kültürlerle ait bakteriosinlerin *S. aureus* toksin üretimi üzerine kısıtlayıcı bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Anahtar Sözcükler: Koyun yoğurdu, *S. aureus*, enterotoksin.

Summary

THE EFFECT OF DIFFERENT STORAGE TEMPERATURES ON THE GROWTH OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (SEA 10652 FDA 196 E) AND ENTEROTOXIN IN SHEEP YOGHURTS

The aim of this study was to investigate the development and toxination ability of *S. aureus* strain forming A (SEA 10652 FDA 196E) enterotoxin in sheep's milk yoghurt. For this purpose after pasteurizing the sheep's milk (at 90 °C for 5 min) intended for use in yoghurt production it was contaminated with 10^4 kob/ml and 10^6 kob/ml level *S. aureus* strain after which this contaminated milk was used to experimentally produce yoghurt. The yoghurts were stored at temperatures 4 °C, 18 °C, 25 °C ve 30 °C for a period of 21 days. The trial yoghurts were examined microbiologically, physico-chemically and serologically on the 1., 3., 7., 15. and 21. days of the trial.

Although *S. aureus* amount reached the maximum level of 3.0×10^5 at the end of fermentation period in the yoghurts produced with 10^4 kob/ml contaminated sheep's milk no enterotoxin production was observed during fermentation stage or storage period. On the other hand sheep yoghurt which had been contaminated with 10^6 kob/ml *S. aureus* maximum value 7.6×10^7 of *S. aureus* was reached at the end of fermentation period and enterotoxin formation was observed in the first hours of fermentation period.

As a result, it has been determined that if pasteurized milk is contaminated by 10^6 kob/ml level *S. aureus* this can lead to toxin production within a few hours (1-3 hours) and pose a public health risk. In the beginning of *S. aureus* contamination where the level exceeds 10^4 kob/ml, fermentation (acidity) period or bacteriocines apparently have no restraining effects on *S. aureus* toxin production.

Key Words: Sheep yoghurt, *S. aureus*, enterotoxin.

GİRİŞ

Türk Standartları Enstitü (45) "sütlerin tekniğine uygun şekilde, *Str. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus*'un etkisiyle laktik asit fermantasyonu sonucunda elde edilen ve yoğurt kültürlerini canlı olarak içeren fermente bir süt ürünüdür" şeklinde tanımlamaktadır.

Avrupa'da 20. yüzyılın başında tanınmaya başlanan yoğurdun besleyici, tedavi edici ve koruyucu özellikleri bilim adamları tarafından keşfedilmiş ve toplumun her kesiminin tüketebileceği değişik ürünler geliştirilmiştir (9). Türkiye'de üretilen sütün yaklaşık % 23'ü yoğurda işlenmekte ve yılda kişi başına 18 kg yoğurt tüketilmektedir. Ülkemizde en çok sade yoğurt, Silivri tipi yoğurt ve dayanıklı yoğurt (torba kış yoğurdu ve kurut) üretilmekte ve tüketilmektedir.

Süt ve süt ürünleri gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilmektedir. Sadece Fransa'da süt ürünleri kaynaklı hastalıkların tek başına % 85'i *S. aureus* 'tan kaynaklanmaktadır (13). ABD'de 1973-1987 yılları arasında 237.545 kişiyi etkileyen 7.458 besin zehirlenmesi görülmüş, bakteriyel kökenli zehirlenmelerin de %14'ünün *S. aureus* tarafından oluşturulan toksinlerle meydana geldiği saptanmıştır (11). *S. aureus*, genellikle sığır memelerinde ve süt kanallarında bulunmakta ve memelerde mastitise neden olabilmektedir. Bu yollarla süte kolayca geçebilmektedir. Süt ve ürünleri kolayca çiftliklerdeki ve süt ürünü işletmelerindeki çalışanların hem elleriyle hem de burun yoluyla geçebilmektedir (14).

Yoğurtlar üzerinde birçok ülkede (1, 3, 6, 35, 40, 41, 46, 47) ve Türkiye'de yapılan araştırmalarda (15, 17, 20, 22, 24) yoğurtların sağlığa uygun olmayan hijyen indeksi mikroorganizmaları içerdiği tespit edilmiştir. *S. aureus*'un çiğ sütlerde nispeten yüksek sayılarda bulunması ve bu bakterinin insan sağlığına olan etkisi ve dünyada yaygınlığı nedeniyle bakteriosin oluşturan starterle fermente edilmiş yoğurtlarda da bu bakterinin gelişimi incelemeye alınmıştır (12). Bir çok araştırmacı (12, 18, 26, 33, 36) inek sütlerinden yoğurt yapımı prosesinde deneysel olarak *S. aureus* inokule ederek çalışma

yapmış ve yapılan literatür taramalarında koyun yoğurtlarında *S. aureus* ile ilgili deneysel bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Ülkemizde koyun sütlerinden yapılmış yoğurtlar yöresel olarak satışa sunulmakta ve beğenilerek tüketilmektedir. Bu çalışmanın amacı; enterotoksin A (SEA) oluşturan *S. aureus* suşu (SEA 10652 FDA 196E) ile kontamine edilmiş koyun yoğurtlarında fermentasyon ve farklı sıcaklıklarda depolama periyodunda *S. aureus*'un gelişimini, enterotoksin oluşturma yeteneğini ve stafilokoklara bağlı gıda zehirlenmeleri yönünden halk sağlığı için bir risk oluşup oluşmadığını belirlemektir.

MATERYAL VE METOT

***S. aureus* suşu**

Bu çalışmada sütlerin deneysel inokulasyonunda Dr. B. Holmes NCTC (National Collection of Type Cultures Public Health Laboratory Service, Londra)'den temin edilen A tipi toksin oluşturan *S. aureus* referans suşu (SEA 10652 FDA 196E) kullanılmıştır. *S. aureus* suşunu sütlere inokulasyonda kullanmadan önce yeterli miktarda enterotoksin oluşturdıklarını kesinleştirmek için enterotoksin oluşturma yeteneği yönünden Reversed Passive Latex Agglutination ticari test kiti (OXOID, SET RPLA, TD900) ile test edilmiştir.

İnokulasyonların hazırlanması

İnokulasyonların hazırlanmasında Nolte (31) ve Alishanlı'nın (4) metotları kullanılmıştır. Pastörizasyon işlemi sonrası sütler A tipi toksin oluşturan *S. aureus* referans suşu (SEA 10652 FDA 196E) ile 10^4 ve 10^6 kob/ml seviyelerinde kontamine edilmiştir.

Yoğurtların üretimi ve depolama

İnokulasyonda kullanılan yoğurtlar çiğ koyun sütlerinden laboratuvar koşullarında üretilmiştir. Bunun için 90 °C'de 5 dk ısıtılan koyun sütleri 43 °C'ye kadar

soğutulduktan sonra *Lb. delburuecki* subsp. *bulgaricus* ve *Lac. thermophilus* içeren starter kültürden % 2 oranında sütlere (Chr. Hansens, YC-180) katılmıştır. Daha sonra bu karışımın üstüne mililitrede 10^4 ve 10^6 bakteri ihtiva edecek şekilde A tipi toksin oluşturan *S. aureus* referans suşu (SEA 10652 FDA 196E) inokule edilerek 8 farklı deneme grubu oluşturulmuştur. İnokulasyonları tamamlanan sütler kapaklı 250 ml'lik steril cam kavanozlara dağıtılmış ve 43 °C'de 3 saat inkube edilmiştir. Bu inkubasyon sonrası yoğurtlar 4 °C'de 16 saat soğutmaya alınmış ve yoğurtlar soğutma sonrası 4 °C, 18 °C, 25 °C ve 30 °C'de 21 gün süre ile depolanmıştır. Deneme yoğurtları depolamanın 1. 3. 7. 15. ve 21. günlerinde mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal ve serolojik yönden incelenmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

Yoğurt örneklerinde *S. aureus*, toplam aerob mezofil bakteri ve laktobasillerin sayısı belirlenmiştir (10, 37).

Örneklerin alınışı ve dilüsyonların hazırlanması

Mikrobiyolojik analizi yapılacak örnekler steril stomacher torbalarına 10'ar g tartılarak üzerine 90'ar ml steril peptonlu fizyolojik tuzlu su (%0.85 NaCl + %0.1 pepton) ilave edilip stomacherde (Interscience, UK) 2 dakika süreyle homojenize edilmiştir. 1:10 sulandırması yapılan örneklerin homojenizatından desimal solüsyonlar 10^{-7} 'e kadar hazırlanmıştır.

Besiyerlerine ekim ve sayım

Hazırlanmış olan dilüsyonlardan damla plak yöntemi ile Plate Count Agar'a (PCA, OXOID, CM325), Lactobacillus Agar'a (de Man Rogosa Sharpe, MRS; OXOID, CM 361) ve Baird Parker Agar'a (BP, OXOID, CM 275) ekim yapılmıştır. PCA 30 °C'de 2-3 gün aerob, MRS 30 °C'de 2-3 gün anaerob ve BP 37 °C'de 2 gün aerob şartlarda inkube edilmiştir. PCA'da üreyen tüm koloniler toplam aerob mezofil bakteri sayısı, Laktobacillus Agar'da en az 1 mm büyüklüğünde üreyen ve katalaz testi pozitif sonuç

veren koloniler laktobasillus ve BP'de üreyen 1-3 mm çapında parlak, siyah (tellurit reaksiyonu) etrafı bir hale ile çevrili (yumurta sarısı veya lesitinaz reaksiyonu) koloniler *S. aureus* olarak sayılmıştır.

Enterotoksin analizi

Enterotoksin tayini amacı ile yoğurt örneklerinin 10 g'mı 10 ml serum fizyolojik ile homojenize edildikten sonra 4 °C'de 900 g'de 30 dk santrifüje edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan sıvı membran filtrelerden (Minisart 0.20 µm, Sartorius) süzölmüş ve berrak süzöntüde A tipi enterotoksinlerin (SEA) varlığı Reversed Passive Latex Agglutination ticari test kiti (OXOID, SET RPLA, TD 900) ile tespit edilmiştir (39).

Fiziko-kimyasal analizler

Analize alınan yoğurtlardan mikrobiyolojik analiz amacıyla örnekler alındıktan sonra pH değerleri ölçümü pH metre ile (Inolab, T800) yapılmıştır (23).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Deneyssel olarak koyun sütlerinden yapılan yoğurtların mikrobiyolojik, fiziko-kimyasal ve serolojik analiz sonuçları Tablo 1 ve Tablo 2'de verilmiştir.

İnokulasyon öncesi alınan örneklerde yapılan mikrobiyolojik analiz bulgularına göre; pasatörize sütte, toplam aerob mezofil bakteri, laktik asit bakterileri ve *S. aureus* izole edilmemiştir (Tablo 1).

Pastörize süt örneklerinde inokulasyondan hemen sonra (0. saat) *S. aureus* suşlarının sayısı 4,72 log kob/ml (10^4 kob/ml düzeyinde inokulasyon için) ve 6,78 log kob/ml (10^6 kob/ml düzeyinde inokulasyon için) bulunmuştur. Laktik asit bakterileri ise her iki grupta da 6.62 log kob/ml düzeylerinde belirlenmiştir (Tablo 1).

Bu çalışmada koyun sütlerinden yapılan ve 10^4 kob/ml *S. aureus* ile kontamine edilen yoğurtlarda *S. aureus* sayısı fermentasyon periyodu sonunda en yüksek değeri olan 3.0×10^5 sayısına ulaşmış ancak enterotoksin A saptanmamıştır (Tablo 1). Buna karşın 10^6 kob/ml *S. aureus* ile kontamine edilen koyun yoğurtlarında ise *S. aureus* sayısı en yüksek değeri olan 7.6×10^7 sayısına fermentasyon periyodu sonunda ulaşmış ve enterotoksin A oluşumu belirlenmiştir (Tablo 1). Bir deneme hariç (4°C 'de depolanan ve 10^6 kob/ml düzeyinde kontamine yoğurt) *S. aureus* 7. günde ve sonrası tespit edilememiştir (Tablo 2).

Süt ürünlerinin kalitesini üretimde kullanılan sütün mikrobiyolojik kalitesi büyük ölçüde etkilemektedir (34). Yoğurt üretiminde kullanılacak sütün yüksek bakteriyolojik kalitesi olmalı, bakteriyofaj, deterjan kalıntısı ve antibiyotik içermemelidir (44). Yapılan mikrobiyolojik çalışmalar, sütün aseptik koşullar altında sağılması halinde bile bakteri içerdiğini göstermiştir. Bunun sebebi mikroorganizmaların meme ucundan girerek süt bezlerine girmesidir ve özellikle memenin kirli olması durumunda da fazla oranda görülür (25). Süt sağım kapları ve bu periyotta soğutma işlemi gibi hususlara dikkat edilmediği zaman sütteki mikroorganizmaların sayısı kısa zamanda milyonları bulabilir. Çiftliği terk ettikten sonra da gerekli özen gösterilmezse işletmeye gelinceye kadar ve işletmedeki işlemler esnasında süte mikroorganizma bulaşma riski bulunmaktadır (25). Ülkemizde yoğurt üretimi genellikle küçük işletmelerde ve aile bünyesi içinde yapılmaktadır. 1997 yılı itibariyle süt ve süt ürünleri üreten 3278 işletme vardır ve toplam gıda işletmelerinin %15'ini oluşturmaktadır (7). Pek çoğu küçük imalathane olan bu işletmelerde genelde yoğurt üretimi ilkel biçimini devam ettirmekte, standart bir işleme tekniği bulunmamakta, yeterli bir kalite kontrolü yapılmamaktadır.

Ubiquiter (her yerde bulunma) özelliğe sahip olan bu mikroorganizmanın gıdalara bulaşması genel itibariyle insanlar, hayvanlar ve ekipmanlar vasıtasıyla olmaktadır (14). *S. aureus* sağlıklı hayvanlar kadar özellikle mastitisli hayvanlardan izole edilmektedir. *S. aureus* mastitis sağaltımında kullanılan penisiline karşı direnç gösterdiğinden son zamanlarda *S. aureus*'tan kaynaklanan mastitisle her geçen gün daha önem kazanmaktadır. (8). Sağlıklı insanların % 50'si bu mikroorganizma ile kontamine olup (13), gıda işyerlerinde çalışan işçilerin el, deri ve burun gibi organlarında bulunduğu bir

çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (19, 21, 42). Sütte bulunan Staphylococcal mastitis etkenleri süt ekipmanlarına geçebilmektedir (8). Ecker ve Lenz (16), işletmelerde yeterli temizlik ve sanitasyon yapılmazsa *S. aureus*'un uzun süre alet ve ekipmanlar üzerinde canlı kalabildiğini belirlemişlerdir.

Gıdalarda *S. aureus*'un gelişimi ve enterotoksin oluşumu üzerine gıdanın pH'sı, su aktivitesi, muhafaza sıcaklığı, gıdanın içeriği, yarışmacı mikroflora etki etmektedir (26). *S. aureus*'lar 10 farklı çeşitte enterotoksin üretebilmekte (5), enterotoksinler sindirim sistemini etkilemekte ve beyindeki kusma merkezini uyarak kusmaya sebep olmaktadır (2). Oluşan enterotoksinler genelde ısıya karşı dirençlidir (16). Bu enterotoksinler içinde SEA'nın genelde insan orijinli suşlarca sentezlendiği ve gıda zehirlenmelerinde de en çok görülen ve en toksik etki yapan toksindir (28). İngiltere'de *S. aureus*'tan kaynaklanan gıda zehirlenmelerinin % 52'sinin SEA'dan kaynaklandığı rapor edilmiştir (2). Yapılan çalışmalar sonucunda SEA oluşturan *S. aureus* suşlarının diğer toksin sentezleyen *S. aureus* suşlarına göre uygun olmayan şartlarda da enterotoksin üretebileceği bildirilmiştir (4, 32). *S. aureus*'un gelişebildiği sıcaklık aralığı 7-48 °C, pH aralığı 4.0-9.8 ve SEA'nın üretildiği optimal pH 5.3-6.8'dir (2). SEA'nın sentezlendiği minimal pH 5 olup (38), Tatini ve ark. (43) ise SEA'nın steril sütte 4.6 ile 6.5 pH arasında üretilbildiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada, koyun sütlerinden yapılan 10^4 ve 10^6 kob/ml *S. aureus* ile kontamine edilen yoğurtlarda fermentasyon periyodu sonunda *S. aureus* sayısı sırasıyla en yüksek değerleri olan 3.0×10^5 kob/g ve 7.6×10^7 kob/g sayılarına ulaşmıştır. 10^4 kob/ml *S. aureus* ile kontamine edilen yoğurtlarda SEA saptanamamış iken, 10^6 kob/ml *S. aureus* ile kontamine edilen yoğurtlarda SEA oluşumu tespit edilmiştir. Toksin oluşumu *S. aureus* sayısının 6,78 log kob/ml'den 7,78 log kob/ml' ye ve pH 6,57'den pH 4,55'e geçişi sırasında gerçekleşmiştir.

Yoğurtta fermentasyonun ilk saatlerinde iç ve dış faktörler *S. aureus*'un gelişimini kamçılamaktadır. Ne asitlik ve ne de bakteriosin oluşumu *S. aureus* üzerinde inhibitör etki yapacak miktarda değildir. İlave olarak süt bakterinin ihtiyacı olan yeterli besi ihtiyacını karşılamaktadır ve ısı sınırlayıcı bir faktör değildir (12). Yoğurt

fermantasyonu başında *S. aureus* sayısındaki artış Benkerroum ve ark. (12)'nin değerlerine benzer bulunmuştur. 10^4 kob/ml *S. aureus* ile kontamine edilen yoğurtlarda SEA üretilmemesi bu denemeye inokule edilen başlangıç *S. aureus* sayısının düşük olmasıyla açıklanabilir. *S. aureus* suşlarının sayılarının artması ve enterotoksin oluşturabilmesi için rekabetçi floraya karşı dominant olmalıdır (4, 29, 30). Nitekim, Müller (29), *S. aureus* 'ların başlangıç sayılarının ancak 10^4 kob/g'den büyük olması durumunda, rekabetçi floranın *S. aureus* 'un gelişmesi ve enterotoksin oluşumuna karşı engelleyici etkisinin zayıf olabileceğini bildirmiştir. Bir deneme hariç koyun yoğurtlarında *S. aureus* 7. günde tespit edilememiştir. Bunun nedeni koyun yoğurtlarının düşük pH'sı olabilir. Araştırmanın sonuçları Benkerroum ve ark. (12) ile Orden ve ark. (33)'nin değerlerine uyum göstermektedir.

Doğal mikroflorası ısı uygulaması gibi işlemlerle elimine edilmiş gıdalarda, sonradan enterotoksijenik *S. aureus* 'un kontaminasyonu ile enterotoksin oluşumu sıkça meydana gelebilmektedir (13). *S. aureus* 'un yoğurtlarda bulunması yoğurt yapım prosesi boyunca gelişebilmesinden veya post-kontaminasyondan kaynaklanmaktadır (33, 36). Gram negatif basiller ve Staphylococ'ların da içinde bulunduğu mikrokoklar asitlik oluşmamışsa veya oluşuncaya kadar çoğalabilmekte (8) ve sütte gelişmekte olan Staphylococ'lar fermentasyon başlamadan önce enterotoksin sentezlemektedirler (14). Pazakova ve ark. (36), sütün *S. aureus* 'la yüksek seviyelerde kontaminasyonu durumunda yoğurt kültürünün antibakteriyel etkisinin gıda zehirlenmesi riskinden uzaklaştırmada yetersiz kaldığını bildirmiş ve en etkili önlemin üretim, depolama ve dağıtım periyodu boyunca hijyen standartlarına uymak olduğunu bildirmiştir.

Sonuç olarak çiftlikte sütün sağımından başlayarak yoğurt imalatı prosesi hijyenik koşullar altında yapılır, uygun ısı işlemi, soğukta muhafaza uygulanır ve rekontaminasyondan korunursa enterotoksijenik *S. aureus* 'lar tüketiciler açısından bir sorun oluşturmayabilir. Tüketicilerin sağlığı dikkate alındığında işletmelerde geleneksel üretim şekline son verilip uygun teknolojik üretim tekniklerinin (good manufacture practis, GMP) kurallarına uyulması ve etkili bir kontrol sistemi olan tehlike analiz ve kritik kontrol noktaları (hazard analysis and critical control point, HACCP) sisteminin kurulması ve uygulamanın tam ve eksiksiz yapılması önerilebilir.

Tablo 1. Yoğurtların fermentasyon ve soğutma periyodunda (0-16 saat) mikrobiyolojik (kob/g), fiziko-kimyasal ve serolojik analiz sonuçları

Analiz Aşamaları	Analizler	İnokulum: 10 ⁴ kob/ml	İnokulum: 10 ⁶ kob/ml
İnokulasyon Öncesi Süt (Pastörizasyon sonrası, süt sıcaklığı: 43°C)	TAMB	2,30	2,30
	<i>S. aureus</i>	2,30	2,30
	LAB	2,30	2,30
	pH	6,57	6,57
	Enterotoksin	-	-
İnokulasyon Sonrası Süt (Süt sıcaklığı: 43°C)	TAMB	7,53	7,53
	<i>S. aureus</i>	4,72	6,78
	LAB	6,62	6,62
	pH	6,57	6,57
	Enterotoksin	-	-
Fermentasyon Periyodu Sonu (43°C'de 3 Saat)	TAMB	9,04	9,04
	<i>S. aureus</i>	5,47	7,88
	LAB	8,44	8,44
	pH	4,55	4,55
	Enterotoksin	-	SEA
Soğutma Periyodu Sonu (4°C'de 16 Saat)	TAMB	9,38	9,38
	<i>S. aureus</i>	3,62	5,46
	LAB	8,50	8,50
	pH	4,37	4,37
	Enterotoksin	-	SEA

TAMB: Total Aerobik Mezofil Bakteri (log₁₀); *S. aureus*: SEA 10652 FDA 196E, (log₁₀); *LAB, Laktik Asit Bakterisi, (log₁₀); SEA: Staphylococcus Enterotoksin A; <: den fazla; -: Yok

Tablo 2. Yoğurtların farklı sıcaklıklarda depolama periyodunda (1-21 gün) mikrobiyolojik (kob/g), fiziko-kimyasal ve serolojik analiz sonuçları

Analiz Aşamaları	Analizler	İnokulum: 10 ⁴ kob/ml				İnokulum: 10 ⁶ kob/ml			
		4°C	18°C	25°C	30°C	4°C	18°C	25°C	30°C
1.Gün	TAMB	9,43	9,57	9,63	9,69	9,43	9,57	9,63	9,49
	<i>S. aureus</i>	3,60	3,59	3,50	3,39	5,17	4,67	4,57	4,49
	LAB	8,57	8,77	8,79	8,83	8,57	8,77	8,79	8,83
	pH	4,21	3,90	3,88	3,75	4,21	3,90	3,88	3,75
	Enterotoksin	-	-	-	-	SEA	SEA	SEA	SEA
3.Gün	TAMB	9,59	9,77	9,81	9,85	9,59	9,77	9,81	9,85
	<i>S. aureus</i>	3	3,49	3,43	3,17	5,17	3,75	3,69	3,56
	LAB	9,04	9,30	9,39	9,57	9,04	9,30	9,39	9,57
	pH	4,09	3,61	3,57	3,53	4,09	3,61	3,57	3,53
	Enterotoksin	-	-	-	-	SEA	SEA	SEA	SEA
7.Gün	TAMB	9,69	9,83	9,85	9,90	9,69	9,83	9,85	9,90
	<i>S. aureus</i>	2,30	2,30	2,30	2,30	2,64	2,30	2,30	2,30
	LAB	9,11	9,27	9,44	9,63	9,11	9,27	9,44	9,63
	pH	4,05	3,70	3,54	3,48	4,05	3,70	3,54	3,48
	Enterotoksin	-	-	-	-	SEA	SEA	SEA	SEA
15.Gün	TAMB	9,75	9,83	9,89	9,91	9,75	9,83	9,89	9,91
	<i>S. aureus</i>	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30
	LAB	9,25	9,46	9,51	9,68	9,25	9,46	9,51	9,68
	pH	4,00	3,65	3,51	3,45	4,00	3,65	3,51	3,45
	Enterotoksin	-	-	-	-	SEA	SEA	SEA	SEA
21.Gün	TAMB	7,79	9,91	9,93	9,95	7,79	9,91	9,93	9,95
	<i>S. aureus</i>	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30
	LAB	9,20	9,49	9,66	9,74	9,20	9,49	9,66	9,74
	pH	3,98	3,61	3,50	3,42	3,98	3,61	3,50	3,42
	Enterotoksin	-	-	-	-	SEA	SEA	SEA	SEA

TAMB: Total Aerobik Mezofil Bakteri (log₁₀); *S. aureus*: SEA 10652 FDA 196E, (log₁₀); LAB, Laktik Asit Bakterisi, (log₁₀); SEA: Staphylococcus Enterotoksin A; <: den fazla; -: Yok

KAYNAKLAR

1. Abou-Donia SA, Sirry I, Nofal AA, Rashed MA (1975). Identification of certain microbial isolates in zabady. J of Agricultural Research, 23, 3, 425-429.
2. Adams M R and Moss M O. (1993). *S. aureus*, in Food Microbiology, Vol 7, 205-210, Allen Press, England.
3. Alichanidis ES, Tzenetakis NM (1974). Characterization of Bacteria Isolated From Atypical of the Coliform Group On Desoxycholate Lactose Agar. Milkwissenschaft, 29, 2, 344-345.
4. Alişarlı M. (1997). Vermehrung von *Staphylococcus aureus* und Enterotoxinbildung in Türkischen Puddingspesien, Vet. Med. Diss., Zürich.
5. Alişarlı M, Sağun E, Alemdar S ve Akkaya L. (2002). Kremalı Pastalarda Enterotoksin Oluşturan *S. aureus* Suşlarının Çoğalma ve Enterotoksin Oluşturma Özellikleri Üzerine Etki Yapan Faktörler, Tübitak Türk Vet. Hayv. Dergisi, 26, 535-542.
6. Al-Shaikhli JS (1980). A study of fermented milks in the Riyadh area. Incidence of coliform contamination. In fourth symposium on the biological aspects of Saudia arabia, 68-69.
7. Anonymous (1997). DİE Tarım İstatistikleri özeti, Yayın No 1728, Ankara.
8. Asperger H (1994). The significance of pathogenic microorganisms in raw milk, Ege Üni. Zir. Fak Yayınları, No: 527, Ege Üni. Basımevi, İzmir.
9. Atamer M, Yetişemeyen A, Alpar O. (1986). Farklı ısı uygulamalarının inek sütlerinden üretilen yoğurtların bazı özellikleri üzerine etkisi. Gıda, 11, 1, 22-28.
10. Baumgart J. (1993). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln, Behr's GmbH & Co. Hamburg.
11. Bean N and Griffin M P. (1990). Foodborne Disease Outbreaks in The United States, 1973-1987: Pathogens, Vehicles and Trends, J. Food Protect., 53, (9), 804-817.
12. Benkerroum N, Oubel H, Mimoun Ben L (2002). Behavior of *L. Monocytogenes* and *S. Aureus* in yogurt fermented with a bacteriocin-producing thermophilic starter. J. Food Protection, 65, 5, 799-805.
13. Bergdoll M S. (1990). Staphylococcal Food Poisoning, in Foodborne Diseases, Ed. Cliver O D, Vol. 5, 86-106, Academic Press, Wisconsin.
14. Bryan L F. (1983). Epidemiology of Milk-Borne Diseases, J. Food Protect., 46, (7), 637-649.
15. Duru S ve Özgüneş H (1981). Ankara piyasasında satışa sunulan ayran ve yoğurt özelliklerinin hijyenik kaliteleri üzerinde araştırmalar, Gıda Dergisi, 6, 4, 19-23.
16. Ecker C and Lenz W. (1990). Enterotoxinnachweis und Lysotypie bei *Staphylococcus aureus* in Rahmen der Speiseüberwachung, Arch. Für Lebensmittelhyg., 41, 120-126.
17. Ergün Ö, Bayraktar N, Bostan K (1986). Piyasa yoğurtlarının kimyasal ve mikrobiyolojik kaliteleri üzerine araştırmalar. İ. Ü. Vet. Fak. Derg. 23-27.
18. Ghoniem NA (1972). The survival period of staphylococcus group in eggypian yoghurt during different storage temperatures. Milkwissenschaft, 27, 170-172.
19. Hacıbektasoğlu A, Eyigün C P, Özsoy M F ve Avcı İ Y (1992). Nasal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı ve Tedavide Sefuroksim Aksetil' in Eksikliği, Enfeks. Derg., 49, (2), 103-112.
20. Kaptan N, Gürsel A (1984). Ankara'da tüketime sunulan yoğurtların kalitesi. A.Ü. Zir. Fak. Yıllığı, 33, 1-2-3-4., 9-20.
21. Kaya D ve Metintaş S. (1995). Besin İşleri ile Uğraşan Kişilerde *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı, Türk Hij. Biol. Derg., 52, (2), 77-80.

22. Koçhisarlı İ, Ergül E (1987). Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Yoğurt Örneklerinin bazı kalite özellikleri üzerine araştırmalar. Gıda, 12, 3, 175-177.
23. Kosikowski F V. (1982). Cheese and Fermented Milk Foods. Published By F.V. Kosikowski and Associates, New York.
24. Metin F (1979). Ankara'da imal edilen yoğurtların kalite sorunları üzerine araştırma. Ankara Gıda Kontrol, Eğitim ve araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No : 821-106, Ankara.
25. Metin M, Öztürk GF (1995). Yoğurt işletmelerinde sanitasyon, III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 2-3 Haziran 1994, İstanbul, MPM Yayınları, No 548, 145-165.
26. Minor TE, Marth EH (1972). Fate of *S. Aureus* in cultured buttermilk, sour cream, and yogurt during storage. J Milk Food Technology, 302-306.
27. Minör T E, Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.
28. Mossel, D.A.A., Van Netten, P. (1990): Staphylococcus aureus and related staphylococci in foods: Ecology, proliferation, toxinogenesis, control and monitoring. J. Appl. Bacteriol. Symposium Supplement. 123-145.
29. Müller C. (1993). Charakterisierung von *S. aureus* aus Mastitsmilchproben der Region Nordostschweiz. Vet. Med. Diss., Zürich.
30. Noleto, A.L.S., Malburg, L.M., Bergdoll, M.S.: (1987). Production of staphylococcal enterotoxin in mixed cultures. Appl. Environ. Microbiol.; 53: 2271-2274.
31. Nolte U. (1982). Zum Einfluss der Wasseraktivitet und Wasserstoffionenkonzentration auf die Enterotoxin- und Thermo-nukleasebildung bei Staphylokokken Stämmen. Vet. Med. Diss., FU-Berlin.
32. Notermans S, Tips P and Heuvelman C J. (1984). Einfluss der Milieu-Bedingungen auf das Wachstum von *S. aureus* und die Enterotoxin-Bildung. Fleischwirtsch., 64, 1490-1496.
33. Orden JA, Goyache J, Blanco JL, Hernandez FJ, Domanech A, Suarez G, Gomez-Lucia E (1989). 189, 16-20.
34. Özer İ, Özalp E (1979). Süt ve mamüllerimizin hijyenik ve teknolojik standardizasyonu. Türk Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi, 38, 2, 13-18.
35. Papavasiliou J, Dimitracopoulos G, Economou-Stamatelopoulou C (1972). Coliform bacteria in Greek Yoghurt. Alimenteria, 12 (4) 151-152.
36. Pazakova J, Turek P, Laciakova A (1997). The survival of *S. Aureus* during the fermentation and storage of yogurt. J Applied Microbiology, 82, 659-662.
37. Pichhardt K. (1993). Lebensmittel-Mikrobiologie, Springer Verlag, Berlin.
38. Radich R, Sandine WE, Elikler PR (1987). Inhibition of *S. aureus* by *Streptococcus diacetilactis* in milk and cream fillings. J Dairy Sci. 52, 880-884.
39. Rose S, Bankes P and 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.
40. Salji JP. (1984). Fluid Milk industry in the central province of Saudi Arabia. J. Dairy science, 67, 5, 1054-1060.
41. Salji JP, Saadi SR, Mashadi A (1987). Shelf Life of liquid yoghurt manufactured in Saudi Arabia. J of Food Protection, 50, 2, 123-126.
42. Tahtacı E, Balcı İ ve Erkmen O. (1996). Gaziantep Yöresinde Gıda İşleme Alanında Çalışan Bireylerde *Staphylococcus aureus* Portörülüğü ve İzole Edilen Suşların Bakteriofaj Tiplendirmesi, Gıda Teknolojisi, sayı 9.
43. Tatini SR, Jezeski J, Olson JC, Casman EP (1971). Factor influencing the production of staphylococcal enterotoxin A in milk. J Dairy Science, 54, 312-320.

44. Tekinşen OC (1986). Fermente süt ürünlerinin besin ve teropatik değeri. S.Ü.Veteriner Fak. Derg., 2,1, 1-8.
45. TSE, 1989a. T.S. 1330. Yoğurt Standartı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
46. Tzeanetakis NM (1972). Research on Coliform Organisms in Yogurt. *Alimenteria*, 15 (2), 79-89.
47. Wessels D, Jooste PJ, Mostert JF (1988). The prevalance of enterococcus species in milk and milk products. *Alimenteria*, 20, 2. 68-75.

YOĞURT ÜRETİMİNDE TRANSGLUTAMİNAZ KULLANIMININ KALİTEYE ETKİSİ

Alper Kürşat DEMİRKAYA¹ Ziya Gökalep CEYLAN²

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü 25700 İLİCA-ERZURUM
zgceylan@atauni.edu.tr

Özet

Bu araştırma, yoğurt üretiminde transglutaminaz kullanımının depolama süresince yoğurdun kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik ve duyu kalite nitelikleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada, deneysel yoğurt örnekleri 3 grupta üretildi. 1.grup kontrol grubu olarak, 2.grup örneklerin üretiminde kullanılan süte starter kültür katmadan önce %0,2 oranında transglutaminaz enzimi katıldıktan sonra enzimatik inkübasyon uygulaması yapıldı. 3.grup örneklerde ise üretimde kullanılan süte mayalama anında %0,2 oranında, enzimatik inkübasyon uygulaması yapılmadan fermentasyona tabi tutuldu. Örnekler 4±1°C'de muhafaza edildi ve 1., 3., 7., 10., 14. ve 21. günlerde kimyasal (pH, laktik asit cinsinde yüzde asitlik, kuru madde, yağ, protein, asetaldehit), fiziksel (serum ayrılması, viskozite, jel gücü ve su aktivitesi), mikrobiyolojik (yoğurt bakterileri, toplam psikrotrofik aerobik mikroorganizma, maya ve küf ve koliform grubu mikroorganizma) ve duyu analizlere tabi tutuldu. Grup değişkeni örneklerin laktik asit cinsinden yüzde (%) asitlik, jel gücü, viskozite ve serum ayrılması, maya küf sayısı ve kaşıқта kıvam değerleri üzerine çok önemli ($P<0,01$) etkide bulunmuştur. pH ve görünüş, ağızda kıvam ve toplam duyu özellikleri üzerine de önemli ($P<0,05$) etkide bulunmuştur. Depolama süresi değişkeni ise pH, laktik asit cinsinden yüzde (%) asitlik ve serum ayrılması, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* toplam psikrotrofik mikroorganizma, maya ve küf ve koliform grubu mikroorganizma sayıları üzerine çok önemli ($P<0,01$), *Streptococcus thermophilus* sayısı, jel gücü, viskozite ve kaşıқта kıvam değerleri üzerine ise önemli ($P<0,05$) etkide bulunmuştur. Sonuç olarak, %0,2 oranında transglutaminaz enziminin yoğurtların jel gücünü artırdığı, serum ayrılmasını azalttığı ve görünüşü düzelttiği belirlendi. Farklı yoğurt tipleri için amaca uygun sonucu almak için, farklı oran ve uygulama şekillerinin denenmesi gerektiği kanaatine varıldı.

¹Araştırmacının yüksek lisans tezinden derlenmiştir.

Abstract

THE QUALITY EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE USING IN YOGHURT PRODUCTION

This study was preformed to investigate the effects of using transglutaminase on yoghurt quality, chemical, physiochemical, microbiological and organoleptical properties during the storage period. In this study three different yoghurt samples were produced. The first group samples were control. The second group sample were incubated after add 0.2 % transglutaminase before fermentation. Three group samples were added 0.2% transglutaminase without incubation at the moment of add starter culture. The yoghurts produced in this way were stored in $4\pm1^{\circ}\text{C}$. Experimental yoghurt samples were examined chemically (dry matter, fat, protein, acetaldehyde, acidity, synresis, viscosity, gel strength, water activity, pH), microbiologically (yoghurt bacteria, total psychrotrophic aerobic microorganism, mould and yeasts and coliform) and organoleptically on 1, 3, 7, 10, 14 and 21th days. It was found that treatment of transglutaminase enzyme has statistically very important effect on % acidity, gel strength, viscosity, syneresis, yeast and mold counts, and texture in spoon ($P<0.01$). In addition, the treatment has effect on pH value, appearance, texture in mouth and total sensory acceptability score ($P<0.05$). On the other hand storage period has statistically very important effect on pH value, % acidity, syneresis, count of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, total psychrotrophic microorganism, yeast and mould and coliform grup bacteria ($P<0.01$). Also, Storage period has effect on count of *Streptococcus thermophilus*, gel strength, viscosity and texture in the spoon ($P<0.05$). As a result, in this study transglutaminase was used 0.2% ratio; the ratio was increased gel strength, decreased syneresis and improved appearance of yoghurt. It can be preferred for that different aim must be studied about different ratio and practice.

GİRİŞ

Yoğurt, ekstra veya birinci sınıf inek sütü, koyun sütü, keçi sütü, manda sütü ve pastörize süttten biri veya birkaçının karışımının gerektiğinde süt tozu ilavesiyle homojenize edilip veya edilmeden *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un etkisiyle laktik asit fermentasyonuna yoğurt yapım kurallarına uygun olarak tâbi tutulması sonucu elde edilen ürün olarak tanımlanır (1). Yoğurt ismi sadece *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* içeren kültürlerle yapılan ürüne özgüdür (27). Yoğurtta en sık gözlenen kusurlardan biri konsistens kusurlarıdır (28). Fermente süt

ürünlerinde stabilizasyonu sağlayarak bu kusurları önlemek amacıyla nişasta, jelatin, Johannis çekirdek unu ve pektin gibi hidrokolloidler en fazla kullanılan maddelerdir (30). Fakat bu stabilizatör maddelerin kullanımına birçok ülkede yasal olarak izin verilmemektedir (23). Böyle durumlarda yoğurtların konsistens kusurlarını önlemek için süt proteinleri arasındaki reaksiyonların enzimatik yollarla teşviki alternatif bir metot olarak önerilmektedir (23). Bu amaçla en çok kullanılan enzim transglutaminazdır.

Transglutaminaz (Sistemik adlandırılması: protein-glutamine: amine glutamyltransferase, EC 2.3.2.13, TG) bir çok hayvanın doku ve vücut sıvılarında sıklıkla gözlenmektedir. Kanın pıhtılaşması, yaraların iyileşmesi, epidermal keratizasyon gibi birçok biyolojik reaksiyonda görev alır (20). Bu enziminin yetersizliğinde, yaraların iyileşmesinde zorluklar, hemofili, hamilelerde nedensiz düşük gibi sorunlar ortaya çıktığı belirtilmiştir (6). Hayvansal kaynaklarda bulunmasına karşın transglutaminaz enziminin hayvansal kaynaklardan üretimi endüstriyel olarak ekonomik değildir (32). Endüstriyel olarak kullanılabilir transglutaminaz üretimi için en fazla *Streptovorticillium mobaraense* gibi bakterilerden yararlanılmaktadır. *Streptovorticillium mobaraense* ve *Streptovorticillium ladakanum* hücre dışı olarak, *Bacillus subtilis* ve *Physarum polycephalum* hücre içi olarak transglutaminaz enzimi üretmektedir (10). Mikrobiyal transglutaminaz non-patojeniktir, toksik değildir, optimum pH'sı 5 – 8'dir. Aynı zamanda 4 – 9 gibi geniş pH aralığında da enzimatik aktivitenin devam ettiği belirtilmiştir(20). Enzimatik aktivitesinin optimum sıcaklığı 55°C'dir. Yapılan çalışmalarda 70°C'de enzimatik aktivite birkaç dakika içinde kaybolduğu bildirilmiştir (22).

Transglutaminaz, bir açıl verici olan glutamin rezidüsündeki peptid bağının γ -karboksilamid ile bazı proteinlerdeki lizin rezidüsündeki ϵ - amino grubunu da içeren bir çok amino bileşiğindeki primer amino grubu arasında bir açıl grubunun transfer reaksiyonunu katalizler (19,20). Substrat olarak amin olmadığı durumda, enzim su moleküllerini açıl akseptör olarak kullanabildiği sürece glutamin rezidülerinin deaminasyonunu da katalizler. Transglutaminaz enzimi amin transferi, çapraz bağlama ve deaminasyon yoluyla proteinleri modifiye eden bir enzimdir (20). Bu modifikasyonlar sonucu besin proteinlerinin erimeyebilme yeteneği, hidrasyon yeteneği, rheolojik ve emülsiyon yapma özelliği kadar model sistemlerde ısı stabilitesi gibi birçok fonksiyonel özelliğini etkilemektedir (19).

Transglutaminaz enziminin set tipi yoğurtlarda, stabilizör ve kuru madde ilavesine gerek kalmadan veya çok az bir kuru madde ilavesiyle jel gücünü artırdığı, serum ayrılmasını

azalttığı, dış görünüşü düzelttiği, stirred tipi yoğurtlarda ise viskoziteyi artırdığı, kıvamı düzelttiği, serum ayrılmasını azalttığı saptanmıştır (22). Diğer bir çalışmada, bu enzimle muamele edilerek üretilen yoğurtlarda serum ayrılmasının daha düşük, jel gücünün daha yüksek olduğu, daha yumuşak bir tadın yanı sıra daha beyaz, parlayan, düz ve kuru bir yüzey gösteren yoğurt üretilbildiğini belirtilmiştir (18). Transglutaminaz enzimi muamelesinin yoğurtta çapraz bağlama reaksiyonlarını katalizlediği için penetrometre ölçümleriyle jel gücünün artmasına sebep olduğu saptanmıştır (4). Enzimin muamelesinin jel gücünü ve protein çözeltisinin viskozitesini arttırmasının sonucu su tutma kapasitesinde meydana gelen artış, set tipi yoğurdun jel gücünü ve stirred yoğurdun viskozitesi etkileyerek duysal olarak daha fazla tercih edilebileceği belirtmişlerdir (15). Enzim muamelesinin sütün protein ağıının gözenek büyüklüklerini azalttığı ve yoğurt jelindeki proteinlerin daha düzenli dağıldığı, taramalı elektron mikroskobu çalışmalarında saptanmıştır (19).

Bu araştırma, yoğurt üretiminde % 0.2 oranındaki transglutaminaz enzimi farklı muamele şekillerinin depolama süresince yoğurdun bazı fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal kalite nitelikleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Yoğurt üretiminde Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Pilot Süt İşletme Ünitesi'nden temin edilen pastörize ve homojenize edilmiş inek sütü kullanıldı. Maya olarak (YC-350, Yo-Flex, Freze-Dried Lactic Culture for Direct Vat Set, Chr-Hansen) ve Transglutaminaz enzimi olarak ise mikrobiyal transglutaminaz (mTGase) (Activa MP, Milk Protein Modification: %1 transglutaminaz, %90 laktoz, %9 maltodekstrin, Ajinomoto Co. Inc.) kullanıldı.

Deneysel Yoğurt Üretimi

Deneysel yoğurt üretimi Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Et ve Süt Ürünleri Araştırma Geliştirme ve Uygulama Ünitesinde gerçekleştirildi. Deneysel yoğurt örnekleri 3 grup olarak üretildi ve üretim 3 kez tekrarlandı. Üç gruba ayrılan sütler pastörizasyon sonrası $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutulan sütler 2 saat bekletildikten sonra 80°C 'de 1 d tutulduktan sonra $43\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutulduktan sonra önceden aktive edilmiş starter kültür inoküle edilerek fermentasyona bırakıldı. Örneklerin pH'sı 4,6 düşünce fermentasyona son verilerek $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'ye

soğutularak depolandı. 1.grup (kontrol grubu); yukarıda belirtilen işlemler dışında hiçbir işlem uygulanmadı. 2.grup; pastörizasyon sonrası 40°C'ye soğutuldu, %0,2 oranında mTGase ilavesi ve 2 saat boyunca enzimatik fermentasyona tutuldu. 3.grup; üretimde starter kültür ile birlikte %0,2 oranında mTGase ilavesi yapıldı. Üretilen yoğurt örnekleri depolamanın 1., 3., 7., 10., 14. ve 21. günlerinde kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal analizlere alındı.

Deneyisel Metotlar

Örneklerin kuru madde miktarı, yağ oranı ve laktik asit cinsinden yüzde (%) asitliği yoğurt standardında önerilen metoda göre belirlendi (1). Örneklerin pH değeri, pH metrede (WTW InoLab, 20±1°C'de belirlendi) ve protein miktarı Kjeldahl metodu (Gerhardt Inc) ile belirlendi (29). Asetaldehit Değeri, iyodimetrik olarak saptandı (17). Serum Ayrılması Değeri, 25 g yoğurt örneği 4±1°C'de 2 saat filtre kâğıdından süzülmesi ile ayrılan serum miktarının volumetrik yolla ölçülmesi ile belirlendi (2). Jel gücü değeri; PNR-10 marka penetrometre ile 34,101 g konik başlığın 10 saniyedeki batma derinliğine göre ve viskozite ölçümü, Poulten RY-8 model rotasyonel viskozimetre ile 20 rpm kayma hızlarında 6 nolu başlık kullanılarak belirlendi²⁶. Örneklerin su aktivitesi Novasima, AW SPRINT TH-500 marka cihaz ile belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

Yoğurt bakterilerinin sayımı; *Streptococcus thermophilus* sayımı için ST agar (tryptone 10.0 gr, yeast extract 5.0 g, sucrose 10.0 g, dipotassium phosphate 2.0 g, agar 15.0 g, distile su 1.0 lt), *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* sayımı için LB agar (tryptone 10.0 g, yeast extract 5.0 g, glucose 20.0 g, dipotassium phosphate 2.0 g, beef extract 10.0 g, filtre edilmiş domates suyu 40.0 ml, Tween 80 1.0 g, agar 20.0 g, distile su 780.0 ml, acetate buffer 80.0 ml) kullanıldı ve dökme plak yöntemiyle ekilen plaklar 37±1°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi (5). Toplam psikrotrofik mikroorganizma sayımında Plate Count Agar (PCA, Merck) kullanıldı ve 4°C'de 10 gün inkübe edildi (8). Maya ve küf sayımında Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RBC, Merck) besiyeri kullanıldı ve 22±1°C'de 5 gün inkübe edildi (12). Koliform grubu mikroorganizma sayımında ise Violet Red Bile Agar (VRBA, Merck) besiyeri kullanıldı ve 35±1°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler değerlendirildi (8).

Duyusal Analizler

Örneklerin duysal analizleri Rasic ve Kurman (24) tarafından belirtilen puanlama esas alınarak, 6 kişilik panelist grubu tarafından toplam 25 puan üzerinden gerçekleştirildi.

İstatistiksel Analizler

Araştırmada elde edilen sonuçların istatistiksel analizinde SPSS 12 Windows paket programı kullanılarak varyans analizi (F Testi) uygulandı. Önemli çıkan varyans kaynakları arasındaki farklar Duncan testi uygulanarak belirlendi.

BULGULAR

Örneklerin depolama süresi boyunca kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişim ve istatistiksel çoklu karşılaştırma sonuçları Tablo 1'de, fiziksel özelliklerinde meydana gelen değişim ve çoklu karşılaştırma sonuçları Tablo 2'de, mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişim ve çoklu karşılaştırma sonuçları Tablo 3'de, duysal özelliklerinde meydana gelen değişim ve çoklu karşılaştırma sonuçların da Tablo 4'de verilmiştir.

Grup değişkeni örneklerin laktik asit cinsinden yüzde (%) asitlik, jel gücü, vizkozite ve serum ayrılması, maya küf sayısı ve kaşıқта kıvam değerleri üzerine çok önemli ($P<0,01$) etkide bulunmuştur. pH ve görünüş, ağızda kıvam ve toplam duysal özelliği üzerine önemli ($P<0,05$) etkide bulunmuştur.

Depolama süresi değişkeni ise pH, laktik asit cinsinden yüzde (%) asitlik ve serum ayrılması, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, toplam psikrotrofik mikroorganizma, maya ve küf ve koliform grubu mikroorganizma sayıları üzerine çok önemli ($P<0,01$), *Streptococcus thermophilus* sayısı, jel gücü, vizkozite ve kaşıқта kıvam değerleri üzerine ise önemli ($P<0,05$) etkide bulunmuştur.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Örneklerde depolama süresi boyunca pH değerinde meydana gelen azalma yoğurt bakterilerinin laktozu laktik aside parçalamaları sonucu olduğu bilinmektedir(3,14,16,28,31,33). Meydana gelen laktik asit pH değerini düşürmesi yanında

yoğurdun yüzde laktik asit oranlarını da arttırıcı etkisi vardır. Bütün örneklerde pH değeri depolama süresi boyunca azalma gösterirken, yüzde asitlik değeri yüzde laktik asit cinsinden asitlik artış göstermiştir. 1.grup ve 3.grup örneklerde depolamanın 7. gününde tepe noktaya ulaşmış depolama sonuna kadar az bir artış gözlenmesine rağmen bu artış istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$) 2.grup örneklerde laktik asit cinsinden asitlik 10. günde tepe noktaya ulaşmıştır. Lorenzen ve ark. (19) laktik asit cinsinden asit değerinde benzer artış belirtilmiş, fakat tepe noktasına ulaşma süresi iki haftalık süre olarak bildirilmiştir. Bu farklılık yoğurt üretiminde kullanılan süt ve bakteriyel kültürlerin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yoğurt örneklerinin tamamı 21 günlük depolama sonucu yoğurt standardında (1) belirtilen laktik cinsinden asitlik değerleri arasındadır. Ayrıca, yağ oranı yönünden tam yağlı sınıfa girmiştir. Yoğurt örneklerinin jel gücünü belirlemek için penetrometre ucunun 10 saniyede batma derinliğinin milimetre ölçüsü belirlendi. En fazla jel gücü olan yoğurtlarda en az batma olacağından penetrometre değerleri küçük olacaktır. Bir başka değişle, jel gücü ile batma derecesi arasında zıt bir ilişki vardır. 2.grup ve 3.grup örnekler 1. grubu nazar daha yüksek bir jel gücüne sahip olduğu saptanmıştır. Bu sonucun transglutaminaz enzimi katalize ettiği reaksiyonlardan kaynaklandığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (4,19). 2. grupta depolama süresine bağlı olarak jel gücünde bir azalma belirlenmiştir. Bu grupta transglutaminaz enzimi inkübasyon sonrası inaktive edildiği için, enzimin faaliyeti sonucu oluşan başlangıçtaki jel gücü depolama zamanına bağlı olarak azalma göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Viskozite değeri de ise farklı olarak 1. günde kontrol grubu (1.grup) en yüksek değeri göstermiş depolama süresine bağlı olarak azalma göstermiştir. Enzim katılan örneklerde ise tam depolama süresince artış göstermiştir. Transglutaminaz enzimi ilave edilmiş örneklerde depolama süresi boyunca çapraz bağlama oranında artışa bağlı olduğu zannedilmektedir. Schorssch ve ark. (25) ve Lorenzen ve ark. (19) transglutaminaz enzimi ilavesi, kazein misellerinin asit jel yapısındaki ağ yapısı daha düzenli ve sıkı hale getirdiğini bildirmişlerdir. Bu sıkı ağ yapının oluşması nedeniyle transglutaminaz enzimi ilave edilmiş örneklerde serum ayrılması kontrole nazaran daha az olduğu saptanmıştır. Depolama süresi boyunca fermentasyon ile koloidal yapısını koruyarak, misel oluşturup pıhtılaşan kazein, pH 4,6'nın altında, net yükün sıfır olduğu izoelektrik noktadan uzaklaşarak pozitif yükle yüklenerek asit koloidal özelliğini yeniden kazanmaya başlar bu durumda asit jelin çözünmesine ve yoğurdun su salmasına sebep olduğu bildirilmektedir(7,17,13).

Depolama süresine bağlı olarak *S. thermophilus* sayısı genel olarak azalma göstermiş ve *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* sayısında ise artış göstermiştir. Artan asitlik ve azalan oksijen miktarına bağlı olarak *S. thermophilus*'un optimum üreme koşullarında uzaklaşmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (26). Özellikle, glutamik asit histidin gibi aminoasitlere ihtiyaç hisseden *S. thermophilus*, depolama süresinde bu aminoasitlerin çapraz bağlanmalarının artışı, özellikle transglutaminaz ilave edilmiş örneklerde daha yüksek bir azalma göstermesinin sebebi olabilir. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* sayısı transglutaminaz ilave edilmiş örneklerde daha az bir artış göstermiş fakat bu istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Transglutaminaz enzimi ilavesinin Lactobasiller üremesi üzerine minor azalma yaptığı Neve ve ark. (21) tarafından da belirtilmektedir. Bütün yoğurt örnekleri depolama süresinin 3. günden itibaren yoğurt standardında (1) belirtilen koliform sayısının altında değerler alırken, örneklerin maya ve küf sayıları depolamanın 14. gününden itibaren standartta belirtilen maya ve küf sayısının üstünde bulunmuştur. Özellikle transglutaminaz ilave edilmiş örneklerde depolama süresince maya küf sayısının artış, bu mikroorganizmaların düşük pH değerlerinde üreme yeteneğine sahip olmaları yanından enerji kaynağı olarak, karbonhidratları kullanmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (9). Buzdolabında muhafaza edilen yoğurtlarda psikrotrofik mikroorganizma sayısı 4 – 5 log kob/g sayısına ulaştıkları zaman yoğurtta çabuk ekşime, ekşimsi ve acı tat oluşumuna sebep olarak kalite bozukluklarına sebep olduğu bildirilmiştir (11). Örneklerde 21 günlük depolama süresi sonunda bile ortalama bu değerlerin altında seyretmiştir.

Görünüş yönünden en yüksek puan transglutaminaz ilave edilmiş örnekler alması transglutaminaz muamele edilmiş set tipi yoğurtların yüzeylerinin daha kuru yumuş ve daha parlak olmasından kaynaklanmaktadır (19). Ayrıca, enzim ilavesiyle meydana gelen çapraz bağlama reaksiyonu örneklerin kıvamı üzerine etkisi olduğu da belirtilmektedir (19). Benzer olarak kaşıқта kıvam yönünden en yüksek değerleri transglutaminaz enzimi ilave edilmiş 2. grup ve 3. grupta gözlenmiştir. Enzim muamelesi sonucu oluşan yumuşak pıhtıdan dolayı 2. grup örneklerde ağızda kıvam yönünden düşük puanlar almış olmasına rağmen en yüksek ortalama toplam duyuşsal puanları almıştır. En beğenilen örnekler transglutaminaz ile edilen örnekler olmuştur. Yoğurt standardında (1) belirtilen her özellikten en az 4 puan almak kaydıyla toplamda 20 puan almak ölçütünü 2. grup örnekler toplam, tat, görünüş, koku, ağızda kıvam puanlarında yerine getirmiş fakat kaşıқта kıvam değerlendirmesinde 3,95 gibi yakın bir puan elde etmesine rağmen yakalamamıştır. Toplam puanda ve diğer ölçütlerde en yüksek puanları 3. grup örnekler elde etmiştir

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan %0,2 oranında transglutaminaz enziminin yoğurtların jel gücünü artırdığı, serum ayrılmasını azalttığı ve görünüşü düzelttiği belirlendi. Farklı yoğurt tipleri için amaca uygun sonucu almak için, farklı oran ve uygulama şekillerinin denenmesi gerektiği kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Anonymous. Türk Standartlar Enstitüsü Yoğurt Standartı. TS 1330, TSE, Ankara 1989; 1-9.
2. Atamer M, Sezgin E. Yoğurtlarda Kuru Madde Artırımının Pıhtının Fiziksel Özellikleri Üzerine Etkisi. Gıda Dergisi, 1986; 11(6): 327-331.
3. Deeth HC, Tamime AY. Yoghurt: Nutrive and Therapeutic Aspects. J. Food Prot. 1981; 44(1): 78-86.
4. Faergemand M, Sorensen MV, Jorgensen U, Qvist KB. Transglutaminase: Effect on Instrumental and Sensory Texture of Set Style Yoghurt. Milchwissenschaft 1999; 54(10): 563-566.
5. Gillian SE, Sandine WE, Vedamuthu ER. Acid-Producing Microorganism. Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods. Second edition. Ed. Marvin Speck. American Public Health Association. Washington DC, 1984; 184-186.
6. Grootjans JJ, Groenen PJTA, Dejong WW. Substrate Requirements for Transglutaminases. Influence of the Amino Acid Residue Preceding the Amine Donor Lysine in a Native Protein. J of Biol. Chem. 1995; 270(39): 22855-22858.
7. Gönc S, Akçiçek E, Enfiyeci AS. Yoğurdun Terapatik Etkisi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg. 1990; 27(2): 245-265.
8. Harrigan WF, McCance ME. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic pres. London, 2000.
9. Harrigan WF. Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic pres. London, 1998.
10. Ichinose A, Bottenus RE, Davie EW. Structure of Transglutaminases. J of Biol. Chem. 1990; 265(23): 13411-13414.
11. İnal T. Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi. Final Ofset Aş. İstanbul, 1990; 521-557.

12. Jarwis B. Comparison of An Improved Rose-Bengal Chlortetracycline Agar with Other Media for The Selective Isolation and Enumeration of Moduls and Yeasts in food. J. Appl. Bacteriol. 1998; 36: 723-727.
13. Konar A. Yoğurda İşlenecek Sütün Isıtılması ve Kaliteli Yoğurt Üretiminde Uygulanabilecek Sıcaklık ve Sürenin Belirlenmesi.Yoğurt. Mert Matbaası. Milli Prodüktive Merkezi Yayınları No:548, 1995: 51-56.
14. Kosikowski FV. Cheese and fermented Milk Foods. 2nd ed. Edward Broth. Inc. Ann Arbor. Michigan. 1982.
15. Kuraishi C, Yamazaki K, Susa J. Transglutaminase: Its Utilization in The Food Industry. Food Reviews İnternational 2001; 17: 221-246.
16. Kurt A. Süt İşleme Teknolojisine Giriş. Atatürk Üniversitesi Basımevi. Erzurum, 1987: 89.
17. Lees GJ and Jago GR. Methods for the Estimation of Acelaldehyde in Cultured Dairy Products.Australian Journal of Dairy Technology 1969; 24: 181-185.
18. Lorenzen PC, Schlimme E. Properties and Potential Fields of Application of Transglutaminase Preparations in Dairying. Bulletin of The International Dairy Federation 1998; 332: 47-53.
19. Lorenzen PC, Neve H, Mautner A, Schlimme E. Effect of Enzymatic Cross-Linking of Milk Proteins on Functional Properties of Set-Style Yoghurt. International Journal of Dairy Technology 2002; 55(3): 152-157.
20. Motoki M, Seguro K. Transglutaminase and its Use for Food Processing, Trends in Food Science and Technology, 1998; 9: 204-210.
21. Neve H, Lorenzen PC, Mautner A, Schlimme E, Heller KJ. Effects of Transglutaminase Treatment on the Production of Set Skim-milk Yoghurt: Microbiological Aspects. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte 2001; 53: 347-361.
22. Nonaka M, Sakamoto H, Tolguichi S, Kawajiri H, Soeda T, Motoki M. Sodium caseinate and Skim Milk Gels Formed by İncubation with Microbial Transglutaminase. J. of Food Sci. 1992; 57(5): 1214-1218.
23. Özer B, Kırmacı HA, Öztekin Ş, Hayaloglu A, Atamer M. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production, International Dairy Journal, 2006: 1-9.
24. Rasic JL, Kurman JA. Yoghurt, Fermented Fresch Milk Products. Distributed by Technical Dairy Publishing House 1978; 1(39): 428.

25. Schorsch C, Carrie H, Clark AH, Norton IT. Cross-linking Casein Micelles by a Microbial Transglutaminase Conditions for Formation of Transglutaminase-Induced Gels. *International Dairy Journal*, 2000; 10: 519-528.
26. Tamime AY and Robinson RK. *Yoghurt Science and Technology*. First Edition, Pergamen Press. Ltd. Oxford, 1985; 431.
27. Tamime AY and Deeth HC. *Yoghurt: Technology and Biochemistry*. J. Food Prot. 1980; 43: 939-976.
28. Tekinşen C. *Süt Ürünleri Teknolojisi*. Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya, 2000; 75-99.
29. Tekinşen C, Atasever M, Keleş A, Tekinşen KK. *Süt, Yoğurt, Tereyağı, Peynir Üretim Kontrol*. Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya, 2002; 21-27.
30. Yetişmeyen A. *Süt Teknolojisi*. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:1420, Ders Kitabı: 410, 1995; 165-178.
31. Yöney Z. *Yoğurt Teknolojisi*. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. Ankara Üniversitesi Basım Evi, 1979; 7-10.
32. Zhu Y, Rinzema A, Tramper J, Bol J. Microbial Transglutaminase-a Review of its Production and Application in Food Processing. *Appl. Microbiol Biotechnol*. 1995; 44: 277-282.
33. Zourari A, Accolas JP, Desmazeaud MJ. Metabolism and Biochemical Characteristics of Yoghurt Bacteria. A Review. *Lait*. 1992; 72: 1-34.

Tablo 1. Depolama Süresince Örneklerin Kimyasal Özelliklerinde Meydana Gelen Değişimler

Nitelik	Grup	Depolama Süresi (Gün)								
		1 Gün	3 Gün	7 Gün	10 Gün	14 Gün	21 Gün	Toplam		
pH	1. grup	4.30±0.05 ^a	4.23±0.06 ^a	4.09±0.04 ^b	4.05±0.05 ^{bc}	3.99±0.07 ^{bc}	3.96±0.08 ^c	4.10±0.13 ^a		
	2. grup	4.20±0.04 ^a	4.13±0.05 ^{ab}	4.00±0.07 ^{abc}	3.95±0.08 ^{bc}	3.91±0.12 ^{bc}	3.88±0.11 ^c	4.01±0.15 ^b		
	3. grup	4.28±0.05 ^a	4.21±0.04 ^{ab}	4.08±0.06 ^{bc}	4.03±0.05 ^{cd}	3.90±0.10 ^{de}	3.87±0.12 ^c	4.06±0.16 ^{ab}		
	Toplam	4.26±0.07 ^a	4.19±0.07 ^a	4.06±0.07 ^b	4.01±0.07 ^{bc}	3.94±0.11 ^{cd}	3.91±0.11 ^d			
Laktik asit einsinden % asitlik	1. grup	0.93±0.04 ^d	1.05±0.03 ^{bc}	1.13±0.05 ^{ab}	1.19±0.05 ^{ab}	1.26±0.06 ^{ab}	1.28±0.05 ^{ab}	1.14±0.13 ^a		
	2. grup	0.89±0.01 ^c	1.03±0.01 ^d	1.08±0.02 ^b	1.10±0.01 ^a	1.12±0.01 ^{ab}	1.13±0.01 ^{ab}	1.05±0.09 ^b		
	3. grup	0.91±0.01 ^c	1.03±0.03 ^b	1.07±0.02 ^a	1.08±0.02 ^a	1.10±0.02 ^{ab}	1.11±0.02 ^a	1.05±0.07 ^b		
	Toplam	0.91±0.03 ^d	1.04±0.03 ^c	1.09±0.04 ^b	1.13±0.06 ^b	1.16±0.08 ^a	1.17±0.09 ^a			
Kuru Madde (%)	1. grup	11.35±1.75	10.52±0.92 ^s	13.88±0.60	13.59±2.98	13.19±0.30	13.55±0.55	12.68±2.13		
	2. grup	11.54±1.45	11.62±0.34 ^s	12.53±1.96	13.02±2.22	15.48±2.49	12.64±0.44	12.81±2.35		
	3. grup	14.28±1.45	13.78±0.73 ^s	12.05±1.77	13.01±1.58	14.11±1.96	12.88±0.41	13.27±1.88		
	Toplam	12.23±2.36	11.97±1.67	12.82±2.01	13.21±2.74	14.26±2.31	13.03±0.69			
Yağ (%)	1. grup	4.00±0.00 ^{bc}	4.00±0.00 ^{bc}	4.00±0.00 ^{bc}	4.73±0.49 ^a	4.27±0.36 ^{ab}	3.40±0.27 ^c	4.07±0.50		
	2. grup	4.00±0.40	4.00±0.00	3.47±0.62	4.33±0.22	4.00±0.27	4.07±0.09	3.98±0.46		
	3. grup	4.13±0.18	4.07±0.18	3.33±0.89	4.20±0.40	3.53±0.36	3.67±0.44	3.71±0.75		
	Toplam	3.82±0.74	4.02±0.12	3.60±0.77	4.42±0.50	3.93±0.51	3.71±0.45			
Protein (%)	1. grup	2.43±0.14	2.64±0.29	2.24±0.51	2.65±0.69	2.30±0.11	2.46±0.11	2.45±0.46		
	2. grup	2.50±0.26	2.80±0.52	2.37±0.82	2.52±0.19	2.01±0.51	2.61±0.49	2.47±0.65		
	3. grup	2.78±0.27	2.20±0.33	1.90±0.51	2.46±0.15	2.31±0.16	2.64±0.53	2.36±0.49		
	Toplam	2.52±0.33	2.55±0.55	2.17±0.79	2.54±0.49	2.21±0.39	2.57±0.52			
Asetaldehit (ppm)	1. grup	12.35±7.07	11.48±7.58	8.78±1.10	11.27±4.69	15.41±3.27	9.04±2.46	11.39±5.90		
	2. grup	12.87±7.33	12.54±5.03	10.82±2.23	11.79±1.33	11.95±1.51	8.59±0.66	11.43±4.47		
	3. grup	11.47±5.54	12.41±5.42	11.66±1.94	10.70±2.24	14.97±1.32	8.21±2.56	11.88±4.48		
	Toplam	12.85±7.52	12.14±6.91	10.42±2.50	11.25±3.60	14.11±3.05	8.61±2.42			

a, b, c, d, e: Aynı harfle gösterilen aynı satırdaki ortalama değerler istatistik olarak birbirlerinden farklı değildir ($P>0,05$)

x, y, z: Aynı harfle gösterilen aynı sütundaki ortalama değerler istatistik olarak birbirlerinden farklı değildir ($P>0,05$)

Tablo 2. Depolama Süresince Örneklerin Fiziksel Özelliklerinde Meydana Gelen Değişimler

Nitelik	Grup	Depolama Süresi (Gün)							
		1. Gün	3. Gün	7. Gün	10. Gün	14. Gün	21. Gün	Toplam	
Jel Gücü (10 sn'de batma derinliği x 1/10 mm)	1. grup	396,0±114,6	412,3±103,7	434,6±98,9	442,7±100,3	450,0±100,5	462,7±80,8	433,0±87,4 ^a	
	2. grup	298,3±33,2 ^c	332,7±45,3 ^{bc}	354,3±40,1 ^{abc}	387,7±56,2 ^{abc}	413,0±68,4 ^{ab}	442,7±38,3 ^a	371,4±64,5 ^b	
	3. grup	261,8±28,5	286,3±48,4	320,3±74,3	350,0±69,6	366,0±67,3	394,7±38,1	329,9±67,1 ^b	
	Toplam	318,71±85,8 ^c	343,68±82,7 ^{bc}	369,77±82,5 ^{abc}	393,44±78,4 ^{abc}	409,67±78,5 ^{ab}	433,23±57,2 ^a		
Viskozite (20 rpm) (cP)	1. grup	9433,3±5949,7	6990,0±2536,6	5850,0±1715,7 ^a	5043,3±2070,9 ^a	3910,0±785,6 ^a	3296,7±713,2 ^a	5753,9±3212,5 ^a	
	2. grup	3993,3±1234,8 ^b	5170,0±861,6 ^b	7086,7±1789,6 ^{bc}	8173,3±655,5 ^{abc}	9670,0±1270,8 ^{abbc}	13900,0±7447,9 ^{abbc}	7998,9±4294,6 ^b	
	3. grup	7716,7±1006,5 ^b	8270,0±1480,1 ^b	11443,3±1849,1 ^{bc}	13510,0±3226,9 ^{abbc}	16346,7±5970,4 ^{abbc}	20893,3±8672,7 ^{abbc}	13030,0±6112,7 ^b	
	Toplam	7047,8±3909,6 ^b	6810,0±2040,1 ^b	8126,7±2977,5 ^b	8908,9±4186,7 ^b	9975,6±6206,7 ^{ab}	12696,7±9574,5 ^{ab}		
Serum Ayrılması (ml/25g)	1. grup	3,20±0,07 ^d	4,00±0,13 ^{cs}	2,40±0,27 ^c	9,40±0,40 ^{as}	8,50±0,20 ^b	9,50±0,33 ^a	9,50±0,5 ^a	
	2. grup	3,00±0,07 ^d	2,60±0,13 ^{db}	2,80±0,27 ^d	6,20±0,40 ^{cs}	8,00±0,33 ^b	9,20±0,53 ^a	5,30±2,8 ^b	
	3. grup	3,00±0,27 ^c	2,80±0,13 ^{cs}	2,40±0,40 ^{bc}	5,80±0,27 ^{bs}	7,50±0,33 ^a	8,00±0,67 ^a	4,90±0,4 ^c	
	Toplam	3,07±0,23 ^d	3,13±0,68 ^d	2,53±0,46 ^c	7,13±1,77 ^c	8,00±0,58 ^b	8,90±0,97 ^a		
Su Aktivitesi (a _w)	1. grup	0,990±0,001	0,998±0,001	0,988±0,003	0,990±0,000	0,990±0,004	0,991±0,001	0,990±0,003	
	2. grup	0,990±0,001	0,991±0,000	0,988±0,000	0,991±0,001	0,991±0,002	0,991±0,001	0,990±0,002	
	3. grup	0,991±0,000	0,991±0,000	0,989±0,001	0,990±0,001	0,990±0,001	0,991±0,000	0,990±0,001	
	Toplam	0,990±0,001	0,991±0,001	0,989±0,002	0,990±0,001	0,991±0,003	0,991±0,001		

a, b, c, d, e: Aynı harfle gösterilen aynı satırdaki ortalama değerler istatistikî olarak birbirlerinden farklı değildir ($P>0,05$)

x, y, z: Aynı harfle gösterilen aynı sütundaki ortalama değerler istatistikî olarak birbirlerinden farklı değildir ($P>0,05$)

Tablo 3. Depolama Süresince Örneklerin Mikrobiyolojik Özelliklerinde Meydana Gelen Değişimler (log kob/g)

Nitelik	Grup	Depolama Süresi (Gün)						
		1.Gün	3.Gün	7.Gün	10.Gün	14.Gün	21.Gün	Toplam
ST ¹	1.grup	3.37±0.01 ^y	3.34±0.16	3.88±0.34	3.02±1.18	2.93±0.71	2.73±0.41	3.21±0.64
	2.grup	3.60±0.05 ^x	3.14±0.18	3.44±0.62	3.26±1.12	2.38±0.87	2.81±0.20	3.10±0.68
	3.grup	3.32±0.11 ^y	3.11±0.56	3.44±0.89	3.12±0.92	2.90±0.61	2.17±0.43	3.01±0.69
	Toplam	3.43±0.14 ^a	3.20±0.32 ^{ab}	3.58±0.61 ^a	3.13±0.94 ^{ab}	2.74±0.69 ^b	2.57±0.44 ^b	
LB ²	1.grup	7.08±0.03 ^y	8.16±0.05	7.62±1.31	8.16±0.14	8.22±0.11	8.36±0.27	7.93±0.65
	2.grup	7.01±0.09 ^y	8.09±0.08	7.74±1.31	8.17±0.27	8.30±0.04	8.35±0.07	7.94±0.66
	3.grup	7.55±0.35 ^x	8.18±0.03	7.55±1.07	8.17±0.14	8.30±0.16	8.31±0.03	8.01±0.52
	Toplam	7.21±0.31 ^b	8.14±0.06 ^a	7.64±1.07 ^b	8.17±0.17 ^a	8.27±0.11 ^a	8.34±0.14 ^a	
Toplam Psikrotrofik Bakteri	1.grup	3.29±0.64 ^{ab}	3.98±1.17 ^a	1.87±0.84 ^{bc}	1.55±0.62 ^c	3.09±0.95 ^{ab}	1.60±0.00 ^c	2.57±1.17
	2.grup	2.59±0.83	3.58±0.92	2.74±0.38	2.53±1.67	2.70±0.43	2.54±0.00	2.78±0.83
	3.grup	3.84±0.49 ^a	3.79±0.63 ^a	2.79±0.52 ^{ab}	1.57±1.16 ^c	2.94±0.53 ^{ab}	2.32±0.00 ^{bc}	2.32±0.00
	Toplam	3.24±0.79 ^{ab}	3.78±0.83 ^a	2.47±0.69 ^{bcd}	1.88±1.17 ^d	2.91±0.61 ^{bc}	2.15±0.43 ^{cd}	
Maya ve Küf	1.grup	1.17±0.46 ^b	1.13±0.31 ^{bx}	1.36±0.41 ^b	0.93±0.06 ^b	3.06±1.32 ^a	1.88±0.52 ^{bx}	1.59±0.92 ^y
	2.grup	1.2514±0.61	1.30±0.39 ^y	1.63±0.82	2.08±2.05	2.76±0.48	2.33±0.26 ^y	1.89±0.99 ^y
	3.grup	1.54±0.56 ^{bc}	3.06±0.99 ^{ax}	2.71±0.98 ^{ab}	1.30±0.61 ^c	3.74±0.57 ^a	3.81±0.55 ^{ax}	2.69±1.18 ^x
	Toplam	1.32±0.50 ^b	1.83±1.08 ^b	1.90±0.91 ^b	1.44±1.18 ^b	3.19±0.88 ^a	2.67±0.96 ^a	
Koliform Grubu	1.grup	1.45±0.5	1.23±0.6	0.9±0.00	0.9±0.00	0.9±0.00	0.9±0.00	1.05±0.34
	2.grup	1.56±7.33 ^a	0.9±0.00 ^b	0.9±0.00 ^b	0.9±0.00 ^b	0.9±0.00 ^b	0.9±0.00 ^b	1.01±0.33
	3.grup	1.89±0.86 ^a	1.09±0.3 ^b	0.9±0.00 ^b	0.9±0.00 ^b	0.9±0.00 ^b	0.9±0.00 ^b	1.10±0.49
	Toplam	1.63±0.61 ^a	1.08±0.36 ^b	0.90±0.00 ^b	0.90±0.00 ^b	0.90±0.00 ^b	0.90±0.00 ^b	

¹*S.thermophilus* sayısı

²*L. delbrueckii subsp bulgaricus* sayısı

a, b, c, d: Aynı harfle gösterilen aynı satırdaki ortalama değerler istatistiki olarak birbirlerinden farklı değildir ($P>0.05$)

x, y: Aynı harfle gösterilen aynı sütundaki ortalama değerler istatistiki olarak birbirlerinden farklı değildir ($P>0.05$)

Tablo 4. Depolama Süresince Örneklerin Duyusal Özelliklerinde Meydana Gelen Değişimler

Nitelik	Grup	Depolama Süresi (Gün)						
		1.Gün	3.Gün	7.Gün	10.Gün	14.Gün	21.Gün	Toplam
Aroma	1.grup	3,61±0,37	3,61±0,15	3,78±0,18	3,50±0,22	3,89±0,19	3,78±0,18	3,75±0,39
	2.grup	4,05±0,18	4,05±0,18	3,72±0,74	3,94±0,26	3,94±0,26	3,89±0,19	3,93±0,42
	3.grup	3,72±0,18	3,78±0,18	3,89±0,52	3,17±0,22	3,50±0,22	3,72±0,48	3,63±0,46
	Toplam	3,80±0,37	3,81±0,28	3,91±0,71	3,54±0,44	3,78±0,34	3,80±0,39	
Koku	1.grup	4,06±0,15	3,78±0,37	3,94±0,26	4,17±0,11	3,83±0,22	3,89±0,19	3,97±0,29
	2.grup	4,11±0,08	4,22±0,18	3,61±0,37	4,17±0,33	4,00±0,33	4,11±0,08	4,04±0,36
	3.grup	4,17±0,00	3,89±0,19	3,61±0,59	3,78±0,30	3,50±0,00	4,28±0,41	3,87±0,47
	Toplam	4,11±0,12	3,96±0,37	3,78±0,56	4,04±0,36	3,78±0,36	4,09±0,34	
Görünüş	1.grup	3,95±0,52	3,89±0,08	4,11±0,15	4,16±0,22	3,94±0,15	3,61±0,19	3,97±0,37 ^a
	2.grup	4,61±0,15	4,28±0,15	4,17±0,22	4,16±0,22	4,22±0,15	4,11±0,19	4,26±0,27 ^a
	3.grup	4,39±0,26	4,11±0,15	4,16±0,22	4,11±0,15	4,34±0,22	4,28±0,52	4,23±0,33 ^a
	Toplam	4,32±0,49	4,09±0,22	4,20±0,26	4,15±0,23	4,17±0,26	4,00±0,49	
Ağızda Kıvam	1.grup	3,44±0,15 ^a	3,39±0,26 ^a	3,78±0,26	4,06±0,37	3,72±0,40	3,55±0,37	3,69±0,46 ^a
	2.grup	4,11±0,08 ^a	4,06±0,15 ^a	3,94±0,26	4,16±0,22	3,83±0,56	3,89±0,30	3,99±0,35 ^a
	3.grup	4,11±0,29 ^a	3,78±0,07 ^{ab}	3,44±0,41	3,33±0,34	3,45±0,48	3,94±0,41	3,68±0,49 ^a
	Toplam	3,89±0,40	3,74±0,36	3,80±0,47	3,85±0,54	3,67±0,59	3,79±0,45	
Kaşıқта Kıvam	1.grup	3,39±0,26 ^a	3,72±0,07	3,45±0,18	3,72±0,30	3,67±0,22	3,50±0,11	3,61±0,27 ^a
	2.grup	4,22±0,15 ^{ab}	4,17±0,11 ^a	3,56±0,26 ^b	3,89±0,15 ^{ab}	4,00±0,11 ^a	3,89±0,19 ^{ab}	3,95±0,29 ^a
	3.grup	4,17±0,22 ^a	4,05±0,18	3,44±0,37	3,39±0,19	3,83±0,34	4,11±0,30	3,83±0,45 ^a
	Toplam	3,93±0,48 ^a	3,98±0,25 ^a	3,56±0,33 ^b	3,67±0,34 ^{ab}	3,83±0,32 ^{ab}	3,83±0,37 ^{ab}	
Toplam Duyusal	1.grup	18,44±1,15	18,39±0,63 ^a	19,05±0,63	19,61±0,74 ^{ab}	19,06±1,08	18,33±0,67	18,99±1,30 ^a
	2.grup	21,11±0,52	20,78±0,70 ^a	19,00±1,78	20,33±0,66 ^a	20,00±1,11	19,89±0,52	20,19±1,31 ^a
	3.grup	20,56±0,41	19,61±0,63 ^{ab}	18,55±1,85	17,78±0,63 ^a	18,61±0,63	20,34±2,11	19,24±1,78 ^{ab}
	Toplam	20,04±1,54	19,59±1,28	19,24±2,08	19,24±1,40	19,22±1,32	19,52±1,77	

a, b: Aynı harfle gösterilen aynı satırdaki ortalama değerler istatistiki olarak birbirlerinden farklı değildir ($P>0,05$)

x, y: Aynı harfle gösterilen aynı sütundaki ortalama değerler istatistiki olarak birbirlerinden farklı değildir ($P>0,05$)

Table 1. Frequency of occurrence of the various types of lesions in the various organs of the body.

Organ	Lesion	Frequency of occurrence (%)
Heart	Coronary atherosclerosis	100
	Myocardial infarction	85
	Myocardial degeneration	75
	Myocardial hypertrophy	65
Lungs	Pneumonia	95
	Emphysema	85
	Chronic bronchitis	75
	Asthma	65
Liver	Fatty degeneration	95
	Chronic hepatitis	85
	Cirrhosis	75
	Cholelithiasis	65
Gallbladder	Cholelithiasis	95
	Chronic cholecystitis	85
	Acute cholecystitis	75
	Cholelithiasis with cholecystitis	65
Pancreas	Chronic pancreatitis	95
	Acute pancreatitis	85
	Pancreatic carcinoma	75
	Pancreatic adenoma	65
Stomach	Gastritis	95
	Peptic ulcer	85
	Gastric carcinoma	75
	Gastric adenoma	65
Intestine	Chronic enteritis	95
	Acute enteritis	85
	Intestinal carcinoma	75
	Intestinal adenoma	65
Colon	Chronic colitis	95
	Acute colitis	85
	Colonic carcinoma	75
	Colonic adenoma	65
Rectum	Chronic proctitis	95
	Acute proctitis	85
	Rectal carcinoma	75
	Rectal adenoma	65
Bladder	Chronic cystitis	95
	Acute cystitis	85
	Bladder carcinoma	75
	Bladder adenoma	65
Uterus	Chronic endometritis	95
	Acute endometritis	85
	Uterine carcinoma	75
	Uterine adenoma	65
Vagina	Chronic vaginitis	95
	Acute vaginitis	85
	Vaginal carcinoma	75
	Vaginal adenoma	65
Cervix	Chronic cervicitis	95
	Acute cervicitis	85
	Cervical carcinoma	75
	Cervical adenoma	65
Ovary	Chronic oophoritis	95
	Acute oophoritis	85
	Ovarian carcinoma	75
	Ovarian adenoma	65
Testis	Chronic orchitis	95
	Acute orchitis	85
	Testicular carcinoma	75
	Testicular adenoma	65
Prostate	Chronic prostatitis	95
	Acute prostatitis	85
	Prostatic carcinoma	75
	Prostatic adenoma	65

GIDA SEKTÖRÜNDE ÇALIŞAN İŞÇİLERİN GAITALARINDA *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. OOKİSTLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hanifi KÖRKOCA¹, Yaşar GÖZ², Mustafa BERKTAŞ³, M. Güzel KURTOĞLU⁴, Kamil EKİCİ⁵

¹ Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Laboratuvarı, Van.

² YYÜ Tıp Fakültesi, Hematoloji laboratuvarı, Van.

³ YYÜ Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van.

⁴ Sağlık Bakanlığı, Yüksek İhtisas Hastanesi, Van.

⁵ YYÜ Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van.

Özet : *Cryptosporidium* spp. zorunlu hücre içi parazit olup, bağırsak enfeksiyonuna neden olmaktadır. Sporadik ve salgınlar şeklinde neden oldukları barsak enfeksiyonlarında, gıdalar ve dolayısıyla gıda işçileri enfeksiyon kaynağı olarak rol oynayabilmektedirler.

Çalışmada Van yöresinde gıda sektörünün çeşitli kollarında çalışan 393 işçiye ait gaita örneği materyal olarak kullanıldı. *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin tespiti amacıyla Modifiye Ziehl Neelsen (MZN) boyama yöntemi kullanıldı. Bu çalışmayla gıda işçilerinin gaitalarında *Cryptosporidium* spp. ookistlerinin varlığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışmada 393 gıda işçisine ait gaita örneğinin 5 (%1.27)'inde *Cryptosporidium* spp. ookistleri tespit edilmiştir.

Epidemiyolojik ve moleküler bulgular gıda işçilerinin *Cryptosporidium* spp. salgınının kaynağı olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle epidemiyolojik açıdan potansiyel önemi olan gıda işçilerinde *Cryptosporidium* spp.'un varlığının araştırılması ve tespiti halinde gerekli tedbirlerin alınması, halk sağlığı açısından önemlidir.

Anahtar kelimeler : *Cryptosporidium* spp., gıda işçisi, MZN

THE INVESTIGATING *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. OOCYST OF FOODHANDLERS FECES WORKING IN FOOD SECTOR

Hanifi KÖRKOCA¹, Yaşar GÖZ², Mustafa BERKTAŞ³, M. Güzel KURTOĞLU⁴, Kamil EKİCİ⁵

¹ The Ministry of Health, Public Health Laboratory, Van.

² University of Yuzuncu Yil, College Medicine, Haematology Laboratory, Van.

³ University of Yuzuncu Yil, College Medicine, Department of Microbiology and Clinic Microbiology, Van.

⁴ The Ministry of Health, High Specialization Hospital, Van.

⁵ University of Yuzuncu Yil, Veterinary College, Department of Food Hygiene and Technology, Van.

Abstract : *Cryptosporidium* spp. oocysts are obligat intracellular parasites that cause enteritis. Food and foodhandler may play a role as a source of infection, when it cause sporadic and outbreak enteritis.

In this study, 393 feces samples belonging to foodhandler working several branche in food sector around Van city were used as material. Modified Ziehl Neelsen (MZN) staining method was used to determine *Cryptosporidium* spp. oocyst.

The aim of the study was to determine *Cryptosporidium* spp. oocysts in feces of foodhandlers. In this study, *Cryptosporidium* spp. oocysts in 5 out of 393 (1.27%) feces samples of foodhandlers were determined.

Previous results of epidemiological and molecular studies indicated that foodhandlers could be the source of *Cryptosporidium* spp. outbreaks, thus it is important to examine the presence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in the feces of foodhandlers who have potential significance, consequently, put the necessary measures in place for public health.

Key words: *Cryptosporidium* spp., foodhandler, MZN

ERİK EKSTRAKTI, NAR EKŞİSİ VE LİMON SUYUNUN ÇİĞ KÖFTENİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

İşıl VAR, Bülent KABAK

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 01330 Adana

Özet : Çiğ köfte, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi başta olmak üzere Türkiye'nin birçok yöresinde tüketilen geleneksel bir et ürünüdür. Çiğ köftenin yapımı ve bileşimine katılan maddelerin miktarı ile ilgili herhangi bir standart bulunmadığından kullanılan katkı maddelerinin miktarı ve çeşidi, isteğe göre farklılıklar gösterebilmektedir. Genel olarak 2:1 veya 1:1 oranında dövülmüş et veya yağsız dana kıyması, köftelik bulgur, kırmızı pul biber, tuz, yeşil veya kuru soğan, karabiber, maydanoz, sarımsak ve salçanın karıştırılıp yoğrulması ile hazırlanan ve ısıtılma işlemi görmeden çiğ olarak tüketilen bir et ürünüdür. Avrupa Birliği'ne girme girişimlerinde bulunduğumuz şu günlerde belki de vazgeçeceğimiz gıda maddelerinden biri olan çiğ köftenin mikrobiyolojik açıdan yüksek risk potansiyeline sahip olan bir gıda olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada ev koşullarında geleneksel olarak üretilen erik ekstraktı, nar ekşisi ve limon suyunun çiğ köftenin mikrobiyolojik kalitesine ve çiğ köftede bulunabilecek patojen mikroorganizmalara karşı etkisi incelenmiştir. Bu amaçla çiğ köfte üretimi 3 tekerrür olarak gerçekleştirilmiştir. Çiğ köfte örneklerinde *Salmonella* spp. ve koagülaz (+) *Staphylococcus aureus* bulunamamıştır. Nar ekşisi ve limon suyu kullanılarak üretilen çiğ köfte örneklerinde toplam aerob mezofilik bakteri sayısı kontrol grubu örneğine göre yaklaşık 1 logaritma azalma gösterirken, koliform ve *Escherichia coli* sayısında önemli bir azalma görülmemiştir.

Anahtar kelimeler : çiğ köfte, antimikrobiyel, erik ekstraktı, nar ekşisi, limon suyu

EFFECT OF DRIED PLUM SAUCE, POMEGRANATE SAUCE AND LEMON JUICE ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF RAW MEAT BALL

İşıl VAR, Bülent KABAK

Department of Food Engineering, Agricultural Faculty, University of Cukurova, 01330, Turkey.

Abstract : Raw meat ball is consumed in a wide region of Turkey, largely in east and south-east Anatolia. Because there is no any standard related to raw meat ball production and its ingredients, the variety and quantity of ingredients differ contributing to the consumer preference. It is produced traditionally with a mixture of lean veal and bulgur (traditional food material) in a ratio of 2:1 or 1:1, dried red pepper, salt, green or dried onion, black pepper, parsley, and tomato and/or red pepper sauce. It is consumed as a raw material without heat treatment. It is attempted to join European Union in these days, so raw meat ball which is one of the food products we may give up consuming it, because of having highly microbiological risk potential. In this research the antimicrobial effects of dried plum board, pomegranate sauce and lemon juice produced traditionally in home-made conditions against microbial flora and pathogen microorganisms in raw meat ball were determined. Raw meat ball (çiğ köfte) was manufactured at triplicate to determine the antimicrobial effect of dried plum sauce, pomegranate sauce, and lemon juice on the prevalence of pathogen microorganisms in raw meat ball. *Salmonella* spp. and coagulase (+) *Staphylococcus aureus* were not found in all raw meat ball samples. While the number of total aerob mesophilic bacteria in raw meat ball samples produced with pomegranate sauce or lemon juice decreased approximately 1 log cycle when compared to the control sample, there was no significantly reduction in the population of coliforms and *Escherichia coli*.

Key words : raw meat ball, antimicrobial, dried plum sauce, pomegranate sauce, lemon juice

GIDA GÜVENLİĞİ İZLEME YÖNTEMLERİ

Zerrin ERGİNKAYA

Naci Erhan YURDAKUL

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü – Adana
zerriner@cu.edu.tr, yurdakulerhan@gmail.com

Özet : Kaliteli ve sağlık riskleri taşımayan gıdalara “Güvenli Gıda” ve buna yönelik yapılan uygulamalara da “Gıda Güvenliği” denilmektedir. Gıda üretiminin insan sağlığı ile doğrudan ilişkili olması nedeni ile, gıda güvenliğini sağlamak için üretimin her aşamasında gıda güvenliğine yönelik kontrollerin yapılması gerekmektedir. Söz konusu kontroller hammaddeden başlayarak, tüketime sunuluncaya kadar geçen tüm aşamaları kapsamaktadır. Bazı ülkelerin gıda güvenliğine yönelik olarak, değişik normları uygulaması ve ürünlerin farklı karakteristikleri gibi ayrıcalıklar bazı temel stratejilerin geliştirilmesi zorunluluğunu getirmiştir. Bu stratejiler içerisinde, İyi Üretim uygulamaları (GMP), Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (HACCP) ve bu sistemlerin yanı sıra gıda güvenliğini sağlamada HAZOP, HT, PM ve ISO 9000 serileri de diğer uygulamalar ön plana çıkmaktadır. Bunların dışında gıda güvenliği ve hijyen Standardı. ISO/TC 34 tarafından gıda güvenliği yönetim sistemine yönelik olarak hazırlanmış ve HACCP sistemini içeren bir standart olan ISO 22000, 2006 yılı Ocak ayında devreye girmiştir.

Bu çalışmada gıda güvenliği açısından önemli olan fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikle de mikrobiyolojik risklerin önlenmesine yönelik olarak HACCP izleme sisteminde kullanılması hedeflenen ve/veya kullanılan hızlı teşhis yöntemlerine değinilmiştir.

MONITORING METHODS IN FOOD SAFETY

Abstract : Food not including any quality and health risk is described as “Safer food” and practices for obtaining safer food is defined as “Food Safety”. It is required to control towards food safety in all steps of production in order to supply food safety that food production has direct relationship on public health. These mentioned controls should be in all process from raw material to consumption. Quality control in practice is formed by basis on some parameters as an indicator of quality of food product. Despite of practices of different norms in countries and favors as different characteristics of products are carried to necessity of

improve some basic strategies. GMP, HACCP and also HAZOP, HT, PM, ISO 9000 series are some strategies to obtain food safety. In addition to these food safety and hygiene standards, ISO 22000 has started to apply that includes HACCP system prepared by ISO/TC 34.

In this study, it is indicated rapid identification methods in HACCP system used to prevent physical, chemical, and biological, especially microbiological risks that is important in point of food safety.

GİRİŞ

Gıda üretiminin insan sağlığı ile doğrudan ilişkili olması nedeni ile, gıda güvenliğini sağlamak için üretimin her aşamasında gıda güvenliğine yönelik kontrollerin yapılması gerekmektedir. Söz konusu kontrollerin hammaddeden başlayarak, tüketime sunuluncaya kadar geçen tüm aşamalarda yapılmalıdır. Dünyanın birçok ülkesinde gıda üreten işyerlerinde uygulanması yasal zorunluluk haline getirilen ve gıda güvenliği yönetim sistemi olan HACCP, günümüzde tarladan veya ahırdan sofraya gıda güvenliğini sağlamak için geliştirmiş önemli sistemlerden birisidir.

Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (*Hazard Analysis Critical Control Points*) olan HACCP, gıdaların üretiminden tüketimine kadar geçen süreç içerisinde ortaya çıkabilecek olası tehlikelerin ürün bazında ayrı ayrı belirlenerek, önleyici tedbirlerin alınmasına yönelik sistematik bir yaklaşımdır. Bu yaklaşım, üretim ve dağıtımın tüm aşamalarında, özellikle mikrobiyal kökenli tehlikelerin ve risklerin belirlenmesini, değerlendirilmesini ve zararların saptanarak ve kontrol altına alınmasını içeren grup çalışmasına dayanmaktadır.

Gıdalardan kaynaklanan sağlık riskleri; biyolojik kimyasal ve fiziksel riskler olarak gruplandırılmaktadır.

Biyolojik Riskler: Mikrobiyal kökenli gıda bozulmaları gıda ürünlerinde fiziksel ve kimyasal değişikliklere neden olmakta, besleyici değerini olumsuz etkilemekte ve önemli sağlık sorunları yaratabilmektedir. Buna gıda ürünlerini üreten ve pazarlayan kesimlerdeki hijyenik olmayan ve sanitasyon kurallarından uzak uygulamalar ve tüketici düzeyindeki hatalı uygulamalar da eklenince, önemli riskler ortaya çıkmaktadır(9).

Gıda kaynaklı enfeksiyon ve intoksikasyonlar ABD ve Avrupa dahil tüm dünyada önemli bir problem olarak görülmekle birlikte daima solunum yolu enfeksiyonlarına oranla ikincil bir öneme sahiptir. Bununla beraber, bu rahatsızlıkların en alt düzeye indirilmesi için verilen uğraşlara karşı enfeksiyon ve intoksikasyonların azalması hatta son yıllarda artış kaydetmesi gıda kaynaklı patojen ve toksinlerin gıdalarda her geçen gün daha güvenilir yöntemlerle ve doğru olarak belirlenmesini zorunlu hale getirilmektedir(11).

Kimyasal Riskler: Gıda kaynaklı kimyasal kirlenmelerin başında pestisitler ilk sırayı almaktadır. Birim alanda daha fazla tarımsal ürün alınmasına yönelik olarak giderek daha fazla tarımsal ilaç kullanılmakta, bunların hatalı uygulaması sonunda bir yandan bu ilaçlara karşı direnç artmakta ve buna bağlı olarak daha fazla ilaç kullanılması gerekmekte, öte yandan daha fazla ilaç kalıntısı hammadde ile işletmeye taşınmakta, bu kalıntılar yeterli bir yıkama yapılmazsa son ürüne de yansımaktadır. Benzer sıkıntı bitki ve hayvan büyüme hormonları ve hayvanların tedavisinde kullanılan ilaçlar içinde geçerlidir (6).

Fiziksel Riskler : Paketleme malzemeleri,cam, metal , plastik,odun v.s parçaları, personelden ve /veya ortamdaki ürün içerisine düşen yabancı maddeler, haşereler veya haşere pisliği fiziksel kirlilik olarak ilk akla gelenlerdir.

Gıda işletmelerinde HACCP sisteminin doğruluğunun kanıtlanabilmesi için izleme yöntemlerinin hızlı, sonuçlarının güvenilir ve ekonomik olması gerekmektedir. Özellikle mikrobiyolojik açıdan klasik teşhis yöntemlerinin uzun sürmesi nedeniyle, son yıllarda hızlı teşhis yöntemleri geliştirilmiştir.

HY-RISE Hijyen Test Şeritleri

HY-RISE, özellikle ürün kalıntısı şeklindeki biyolojik kirliliğin belirlenmesi ile yüzey temizliğini kontrol etmek için geliştirilmiştir. Görsel kontrollerde fark edilemeyecek gıda kalıntılarının 4-5 dakika gibi çok kısa bir süre içinde belirlenebilmesi üretime başlamadan önce işletmede tekrar temizlik yapılmasına olanak sağlamaktadır. HY-RISE seti, kimyasalları ve 50 test şeridi ile önlük cebine sığabilecek kadar küçük kutusunda bulunduğu için, kolayca taşınıp istenilen yerde analiz yapılabilir. HY-RISE sistemi, sonuçların değerlendirilmesi için

ilave bir analitik cihaz gerektirmediginden özellikle gıda işletmelerinde yoğun olarak kullanılmaktadır(2).

Envirocheck Slaytları

Yüzey ve su örneklerinde farklı mikroorganizmalar için nitel ve yarı nicel sonuçlar veren Envirocheck Contact Slides, iki yüzünde farklı besiyeri bulunduran plastik ve eğilebilir özellikte bir slayttır. Kullanımı kolaydır. Esnekliği sayesinde ulaşılması zor yerlerde bile örnek alımını sağlamaktadır. Slaytların plastik tüp içerisinde olması örnek alımından önce ve sonra kontaminasyonu önler. İnkübasyondan sonra, sonuçlar karşılaştırma tablosu ile kontrol edilip okunur. Analiz sonrasında slaytlar steril edildikten sonra atılır.

Envirocheck Contact Slides'in, yüzeylerde ve sıvılarda dezenfeksiyon kontrolü, yüzeylerde ve sıvılarda toplam bakteri sayımı, yüzeylerde ve sıvılarda maya ve küf kontrolü, yüzeylerde ve sıvılarda *Enterobacteriaceae* kontrolü ve yüzeylerde ve sıvılarda toplam koliform ve *E.coli* kontrolü olmak üzere 5 tipi bulunmaktadır.

Son yıllarda gıdaların gerek üretim ve gerekse dağıtım, depolama ve hazırlama aşmalarında mikrobiyolojik kontrollerinin daha az iş gücü ile ve daha hızlı bir şekilde yapılabilmesi amacıyla birçok yeni analiz yöntemi geliştirilmiştir(2).

Hidrofobik Grid Membran Filtre Tekniği (HGMF)

Bu yöntem 1974 yılında Sharpe ve Michand isimli araştırmacılar tarafından geliştirilmiştir. Araştırmacılar suyu iten ve toksik olmayan bazı mumsu yapıdaki materyallerin mikroorganizma kolonilerinin büyümesine ve yayılmasına engel olduğunu saptamışlar ve buna dayanarak tek bir hidrofobik grid membran filtre (HGMF) üzerinde çok sayıda bakteri kolonisinin sayılabilesine olanak tanıyan HGMF yöntemini geliştirmişlerdir. bu yöntemle tek bir membran filtre üzerinde 10^4 bakteri kolonisi sayılabilmekte ve yöntem gıdaların analizinde başarı ile kullanılabilmektedir(12).

Grit hidrofobik membran filtreler üzerinde 40x40 olmak üzere 1600 adet küçük bölme bulunmaktadır. Bu bölmeler içine yerleşen mikroorganizmalar inkübasyondan sonra dairesel koloniler oluşturmaktadır. Filtre üzerinde bulunan hidrofobik ızgara(çizgiler) sistemi

sayesinde kolonilerin yayılarak birbirine karışması engellenmekte ve bu durum sayım kolaylığı sağlamaktadır (5).

ATP Biyoluminesans Yöntemi

Bu yöntem mikrobiyal hücrelerde bulunan ATP'nin mikrobiyal olmayan gıda orjinli ATP'den ayrılarak lusiferin-lusiferaz enzimi ile reaksiyona girmesi sonucu biyoluminesans ışık vermesi ve açığa çıkan bu biyoluminesansın bir lüminometre (fotometre) ile ölçülmesi esasına dayanır. ATP'nin kullanıldığı bu reaksiyonda ateşböcekleri tarafından ışık enerjisi üretilir. Bu ışık verme olayına biyoluminesans adı verilmektedir. Biyoluminesans doğada ateş böcekleri dışında deniz bakterilerinde, bazı deniz canlıları ve tuzlu su balıklarında yaygın olarak görülmektedir. Bu reaksiyon ATP'ye özel bir reaksiyondur ve bu reaksiyonun gerçekleşebilmesi için enzim-substrat sistemine, oksijene ve bazı ko-faktörlere gereksinim vardır.

ATP testiyle biyomasın ölçülmesi üç ilkeye dayanmaktadır.

1. Bütün yaşayan organizmalar ATP içerir.
2. Oldukça saf reaktifler ve duyarlı lüminometre kullanmak suretiyle ATP çok düşük konsantrasyonlarda da saptanabilir.
3. Bütün mikroorganizmalarda hücre içi ATP konsantrasyonu belirli bir değer aralığında bulunur.

Gıda orjinli ATP'nin örnekten uzaklaştırılması bazı durumlarda örneğin hazırlanması aşamasında mümkün olmaktadır. Su, gazoz ve fermente içecekler gibi gıda orjinli ATP miktarının çok düşük olduğu örneklerde örneğin hazırlanması oldukça kolaydır. Bu durumlarda örnek membran filtreden geçirilir ve filtre üzerinde kalan mikroorganizmalar yıkandıktan sonra mikrobiyal ATP uygun bir yöntemle ekstrakte edilir. Daha sonrada ATP bağlantılı bioluminesans testiyle ATP miktarı saptanır. Herhangi bir örnekteki mikrobiyal yükün saptanabilmesi için yöntemin önceden plak sayım metodu ile elde edilen sonuçlarla kalibre edilmesi gerekir. Her uygulama için ayrı bir kalibrasyon eğrisi elde edilerek değişik ürünlerdeki mikroorganizma sayısı tahmin edilebilmektedir (12).

Petrifilm Tekniği

Petrifilm, steril koşullarda hazırlanan besi ortamı ve indikatörün iki film arasına işlenerek, direkt kullanıcının hizmetine sunulduğu bir üründür. Gıda mikrobiyolojisi için özel olarak hazırlanan bu filmlerde analiz, besi ortamı hazırlanmadan direkt numunenin homojenize edilip, petrifilme ekilmesiyle yapılmaktadır. Elde edilen sonuçlar sayısalıdır. (CFU cinsinden) ve uluslararası akredasyon kuruluşlarınca kabul edilen bir metottur (AOAC, FDA, AFNOR,vs.). Laboratuvar yatırımlarını ve rutin giderlerini, maksimum düzeyde azaltır. Hijyen kontrolleri ve HACCP sisteminin kontrollerinde rutin olarak kullanılmaktadır.

İmmunolojik Bazı Yöntemler

Gıdalarda patojen mikroorganizmaların ve toksinlerinin saptanmasında genellikle ELISA tekniği kullanılmaktadır. Tek bir antijene karşı hazırlanmış antikorlarının (monoklonal antikorlar) yanında birden çok antijene karşı hazırlanmış antikorların (poliklonal antikorlar) kullanımıyla ELISA tekniğinde farklı tür ve suşların saptanması mümkün olabilmektedir. Bugüne kadar yapılan immunolojik çalışmalarla *Bacillus cereus*'un ishale neden olan toksini (kusmaya neden olan toksini antijenik özellik taşımaz), *Clostridium boulinum* (A,B,C1,C2,D,E,F ve G) toksinleri, *Clostridium perfringens* (A-F) toksinleri, *Escherichia coli* toksini, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, küfler ve mikotoksinlerin saptanması mümkün olmuştur (12).

Limulus Test Yöntemi (LAL)

Limulus-Amöbozit-Lysat Testi (LAL) çok hızlı, yüksek duyarlılığa sahip bir yöntem olup sıvı ve katı gıda maddelerinde gram(-) bakterilerinin lipopolisakkaritlerinin kantitatif ve kalitatif tayininde kullanılmaktadır.

Limulus polyphemus'un kanı gram(-) bakterilerin enfeksiyonuyla pıhtılaşmaktadır. Gıda örneğinde gram (-) bakteri bulunması durumunda, bakteri hücre duvarındaki lipopolisakkaritler ile Limulus kanının antikorları, yani amöbozitleri arasında bir jel oluşmaktadır. Amöbozitlerin içerdıği proenzimler ve aglütinasyon enzimleri, lipopolisakkaritlerin ortamda bulunması ile aktifleşirler. Bunlar aglütinasyon enzimleri ile reaksiyona girerek jel oluşumunu gerçekleştirmektedirler. Bakteri endotoksinlerinin

saptanması bu jel oluşumu esasına dayanmaktadır. Endotoksin konsantrasyonu ve bakteri sayısı arasında doğrusal bir korelasyon bulunduğundan, endotoksin konsantrasyonunu belirlemek suretiyle gıdanın, gram (-) bakterilerle kontaminasyonun derecesi bu yöntemle tayin edilebilmektedir. Örn. ortamda 10^2 - 10^3 gram(-) bakteri/ml bulunuyorsa, endotoksin konsantrasyonu 0.05-0.1 ng/ml arasında bulunabilir.

Gıda maddesinin içinde bulunan ölü ve çoğalma yeteneğine sahip, yani metabolik aktivite gösteren gram(-) hücrelerin , hücre çeperindeki bileşenleri, kantitatif olarak 1-2 saniye içinde saptayabilen çok hızlı bir tayin yöntemidir. Özellikle süt, sıvı yumurta ve et ürünlerinde endotoksinlerin hızlı tayininde kullanılmaktadır. Bu yöntemde canlı ve ölü bakteriler tayin edilebildiğinden, hammadde ve üretime giren materyal hakkında bilgi sahibi de olunmaktadır (8).

Ribo Printer(Qualicon) Mikrobiyal Karakterizasyon Sistemi

Bu sistemle *Staphylococcus aureus* 24-30 saat içinde belirlenebilmektedir. Bu sistem temel olarak genetik parmak izi yöntemi esasına dayanmaktadır. EcoRI restriksiyon enzimi ile kesilen kromozomal DNA fragmentleri boyutlarına göre ayrılıp, işaretli rRNA operon problemleri ile hibridize olmakta ve *S.aureus*'un bilgisayar ortamında kayıtlı 252 referans marker fragmenti izolattan elde edilen fragment ile karşılaştırılarak izolatan *S.aureus* olup olmadığı belirlenmektedir.

Lazer Sistemi

Patojen mikroorganizmaların tespitinde kullanılan bu sistem, gıdalarda güvenli kontrollerini hızlandırmakta ve maliyeti düşürmektedir. Bakterilerin hızlı tespitinde kullanılan optikal yayma teknolojisi, petri kutusunda besiyerinde gelişen bakteri kolonilerinin üzerinden lazer ışığı geçirilerek çalışmaktadır. Bu sistem üzerinde ki araştırmalar devam etmektedir(1)

Koliform grubu ve *E.coli* tespitinde kullanılan yöntemler

A. Elektro Kimyasal Yöntemler

Bu yöntemlerin esası gelişmekte olan bakteri kültüründe oluşan moleküller hidrojenin ölçülmesi bakteri kültürünün ortama uyum sağlarken oluşan direncin ölçülmesi ve elektrot yüzeyi ile ilişki kurulduğunda bakteri yüzeyleri ile arada oluşan elektron transferinin ölçülmesi esasına dayanır(5).

Çiğ süt, yoğurt, dondurma ve pastörize krema gibi süt ürünlerinde koliform grup mikroorganizma aranmasında kullanılmak üzere geliştirilmiş Bactomer™ mikrobiyal analiz cihazı impedans-kondüktans prensibine göre çalışmaktadır. Bu yöntemle göre önce standart miktarda test örneği alınarak aletin inkübatör kısmına yerleştirilerek 35 °C 'da 3 saat ön zenginleştirme aşamasından sonra 1.5 ml örnek alınarak aletin inkübasyon kuyucuklarına yerleştirilip yine aynı derecede inkübasyona bırakılır. Kuyucuk içindeki test karışımı renginin menekşeden sarıya dönmesi koliform grup pozitif reaksiyon olarak değerlendirilir. Analiz cihazı bilgisayar donanımlı olduğu için sonuçlar direkt bilgisayara kaydedilebilmekte veya yazdırılabilmektedir. Bactomer ile *E.coli* 1-11 saatte gerçekleştirilmektedir(5).

B. *Escherichia coli* O157:H7 Serotipi 'nin Tanımlanmasında Kullanılan Gelişmiş ve Hızlı Yöntemler

- Ab-DEFT Yöntemi

E. coli O157:H7 'nin zenginleştirme ve katı besiyeri kullanılmadan antikor-direk epifluorescent filitre tekniği (Ab-DEFT) ile doğrudan sayımı mümkündür. Bu analiz yöntemi ile 15 dakika süre ile tripsin ve Triton X-100 ile muamele edilen kıyma 5 mm por çaplı ön filitreden sonra 0,2 mm por çaplı siyah polikarbonat filitreden geçirilmekte ve son filitre doğrudan fluorescein ile işaretlenmiş anti-O157 poliklonal antikor ile boyanıp yıkanmakta ve epifloresan mikroskopta incelenmekte, böylece 1 saatten daha az bir süre içinde analiz tamamlanmaktadır(10).

- İmmunoliposome Sandwich Assay Yöntemi

İmmunolipozomlar kullanılarak geliştirilen ve bir kolorimetrik immuno analiz yöntemi olan "immunoliposome sandwich assay" ile *E. coli* O157:H7 'nin yıkama ve inkübasyon aşamalarına gerek duyulmadan 8 dakika gibi kısa bir süre içinde belirlenebileceği ve immunopolizomların

sadece *E. coli* O157:H7 ile bağlanabileceği ve hiç bir çapraz reaksiyon alınmadığı transmisyon elektron mikroskopik analizler ile gösterilmiştir(7).

- Polymacron Yöntemi

E. coli O157 'nin hızlı ve basit olarak belirlendiği bir diğer enzim immunoassay sistemi polymacron 'dur. Bu sistemin esas test örneğinin sodyum cholate ile 100 °C 'da 10 dakika ısıtılması ile ekstrakte edilen *E. coli* O157 antijeninin immuno enzimatik yöntemle belirlenmesidir. Immunoabsorbent yüksek bir yüzey alanına sahiptir. Sistem, *E. coli* 'nin 29 O157:H7 serotipi, 1 O157:H12 serotipi ve 1 O157:NM (non motile ; H⁻) serotipi ve *S. urbana* (N grup) ile pozitif sonuç vermiş ancak çok sayıda Gram negatif ve pozitif bakteri ile reaksiyon vermemiştir. Bu yöntem ile çiğ kıymaya inoküle edilen 0,4 kob/g düzeyindeki *E. coli* O157:H7 belirlenebilmektedir(4).

C.Bio Sys yöntemi

Bio sys(Inc,Ann Arbor Mich) optik ölçüm sistemidir. Yöntemin prensibi mikroorganizma gelişimi sonucu meydana gelen pH ve redoks değişimlerinin optik okuyucu yardımı ile ölçülmesi esasına dayanır. Ph'da meydana gelen değişiklikler besiyerinde bulunan brom cresol purple indikatörü yardımıyla tespit edilir. Burada indikatörün renginin değişmesi ile besiyerinden geçen ışık şiddetinde meydana gelen değişimler tespit edilmektedir. Bu yöntemle göre önce uygun bir seyreltme çözeltisi içinde homojenize edilen örnekten 4,5 ml alınarak Bio Sys tüplerine aktarılır. Bio Sys tüplerinde %2 dekstroz ilave edilmiş çift kuvvetli Coliform Medium (bio Merieux Vitek Inc) besiyeri bulunmakta olup ayrıca tüplerin dip kısmında agar içeren bir bölme bulunmaktadır. İnkübasyondan sonra tüpler aletin inkübasyon kısmına yerleştirilerek (42°C) inkübasyon süresi boyunca sonuçlar kaydedilir. *E.coli* sayımı 1-11 saatte gerçekleştirilmektedir(5).

Biyosensörlerin Mikotoksin Analizlerinde Kullanımı

Biyosensörler, kompleks materyalden spesifik maddeyi tespit eden analitik sistemler olup, biyolojik birimlerden oluşmaktadır. Bu biyolojik birimler hedef molekülü seçici olarak bağlamakta, sinyal çevirici (transducer) biyolojik sinyali kantitatif olarak fiziksel veya kimyasal sinyale çevirmekte ve detektör kantitatif olarak çevrilen sinyali son kullanıcıya

okumaktadır. Biyosensörlerde kullanılan biyolojik materyal hedef molekül için spesifik özellik göstermektedir. Biyosensörlerin çoğunda biyolojik materyal olarak enzim kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, mikroorganizma, bitki veya hayvan hücresi, antikor veya antijen de kullanılabilir (15).

Biyosensörlerde biyokomponent bileşenlerin (reseptörlerin) sinyal çevirici üzerinde immobilizasyonu fiziksel (absorbsiyon, polimer matriksde tutuklama) veya kimyasal (kovalent bağlama, çapraz bağlama vb.) yöntemler ile gerçekleştirilebilmektedir. Bu şekilde reseptörlerin sinyal çevirici ile teması sağlanmaktadır. Biyosensörlerin çoğunda sinyal çevirici olarak elektrokimyasal sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemlere alternatif olarak optik, kütle ve termometrik sistemler de geliştirilmiştir (14).

Biyosensörler özellikle teşhis ve klinik çalışmalarda kullanılmakta olup, son yıllarda gıda analizlerinde kullanımı da yaygınlaşmaktadır

- SPR Biyosensör

Mikotoksin analizlerinde çeşitli biyosensörler kullanılmasına karşın, bunlar arasında özellikle surface plasmon resonance (SPR) tekniği üzerinde durulmaktadır. SPR tekniği, antikor-antijen interaksyonu temeline dayanan immunokimyasal bir yöntem olup, sensör yüzeyinde meydana gelen kütle konsantrasyonundaki değişikliğin ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Bu yöntemde, optik sensör yüzeyi olarak farklı kırılma indeksine sahip ortamlar (cam prizma ve örnek solüsyonu) arasında ince metal bir film (altın) tabakası kullanılmaktadır. Bu altın film tabakasının yüzeyine spesifik antikorlar immobilize edilmiştir. Hedef mikotoksin bu immobilize antikorlara bağlanmakta ve bağlanan mikotoksin miktarı SPR ile ölçülmektedir (15).

SPR tekniğinde, ışık kaynağından çıkan polarize ışık, cam prizmadan kırılmadan geçerek, sensör yüzeyinde bulunan immobilize antikor içeren metal film tabakasıyla temas etmektedir. Bu temas sonucu yansıyan ışık optik detektör vasıtasıyla ölçülmekte ve kantitatif olarak sonuç alınmaktadır (15).

Son yıllarda, mikotoksin analizlerinde biyosensörlerin kullanımına yönelik araştırmalar yoğunluk kazanmış durumdadır. Bu amaçla, 4 farklı mikotoksinin (aflatoksin B1, deoksinivalenol, fumonisin B1 ve zearalenon) aynı anda teşhisine yönelik SPR tekniğinin kullanıldığı cihazlar geliştirilmiştir. Bu cihazda toplam analiz süresi yaklaşık 25 dakika sürmektedir. Analiz sonuçlarının HPLC/GC ile karşılaştırılması durumunda, analiz sonuçları bakımından önemli bir farklılık bulunmamıştır. Bu konuda yapılan çalışmalarda SPR biyosensörün mikotoksin (örneğin fumonisin B1 için) tespit limitinin 50 ng ml⁻¹ olduğu belirlenmiştir(15).

Bu yöntemin düşük maliyetli olması, analiz süresinin kısa olması (10-25 dk) ve farklı mikotoksin türlerinin aynı anda tespiti olanağının bulunması, yöntemin üstünlükleri arasında yer almaktadır. Ayrıca, taşınabilir biyosensörlerin geliştirilmesi ve bunların tarla koşullarında da kullanılabilmesi büyük önem taşımaktadır (13,15).

KAYNAKLAR

1. ANONYMOUS, 2006, <http://www.foodproductiondaily.com/>
2. ANONYMOUS, 2006, <http://www.orlab.com.tr>.
3. AYTAÇ, A., 2002. Gıda İşletmelerinde Hijyen ve Sanitasyon “TMMOB Gıda Mühendisleri Odası HACCP Eğitim Semineri Notları , s. 69-70 ” Ankara.
4. BLAIS, B.W., BOOTH, R.A., PHILLIPPE, L., PANDIAN, S. (1995). Polymacron Enzyme Immunoassay System for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Inoculated into Foods. J Food Prot 60(2)98-101.
5. ÇAKIR, İ. (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. baskı pp 457. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara 552s.
6. HALKMAN, K., 2002. HACCP(Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizi) “TMMOB Gıda Mühendisleri Odası HACCP Eğitim Semineri Notları. s. 94-98 ”, Ankara.
7. PARK, S., DURST, R.A. (2000). Immunoliposome Sandwich Assay for the Detection of *Escherichia coli* O157:H7. Anal Biochem 280(1): 151-158.
8. PİCHHARDT, K.(Çeviren: Sekin, Y., Karagözlü, N.), 2003. Limulus Test Yöntemi. Gıda Mikrobiyolojisi, 4. basım. Literatür yayıncılık dağıtım pazarlama LTD.ŞTİ. Manisa

9. SAYIN, A.Ü.,DEMİRTAŞ, M., KAHVECİ, G., KAYA, B., 2003. Adana İlinde Faaliyet Gösteren Bazı Küçük ve Orta ölçekli Gıda İşletmeleri ve HACCP Uygulamaları. Tez Notları. s.7-11, Adana
10. TORTORELLO, M.L., STEWART, D.S. (1994). Antibody-Direct Epifluorescent Filter Technique for Rapid, Direct Enumeration of *Escherichia coli* O157:H7 in Beef. Appl Envr Micr 60(10) :3553-3559.
11. TUNAİL, N. (2000). Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. “ Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. baskı pp 82 ” Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara 552s.
12. TURANTAŞ, F., ÜNLÜTÜRK,A., 1998. Hızlı Mikrobiyolojik yöntemler. Alınmıştır. “ Gıda Mikrobiyolojisi. Eds A. Ünlütürk, F. Turantaş pp 551-592 ” Mengi Tan Basımevi İZMİR 605s.
13. GAAG, B., SPATH, S., DIETRICH, H., STIGTER, E., BOONZAAIJER, G., OSENBRUGGEN, T., KOOPAL, K., 2003. Biosensors and Multiple Mycotoxin Analysis. Food Control, 14, 251-254.
14. WALSH, G., 2002. Proteins Biochemistry and Biotechnology. John wiley & Sons, Ltd. pp: 364-370
15. KABAK, B., VAR, I., 2005. Mikotoksin Analizlerinde Biyosensörlerin Kullanımı. II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiri Kitabı, 23-24 Mayıs, İstanbul. s: 184

GIDALARDA AKRİLAMİD

Kamil EKİCİ¹

Emrullah SAĞUN¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, 65080, Van
kekici@yyu.edu.tr

Özet : Akrilamid beyaz renkli kristal, katı, kokusuz ve suda eriyebilen bir maddedir. Akrilamid nişastadan zengin gıdaların ısı ile pişirilmesi sırasında oluşan kanserojen bir bileşiktir. Isıtma işlemi sırasında kızartma sıcaklığı ve süresi oluşan akrilamid miktarında etkili olmaktadır. Deney hayvanlarında kanserojen insanlarda ise nörotoksik olarak bilinmektedir. Patates ve tahıllar gibi indirgen şeker içeren gıdalar ısıtılınca akrilamid oluşmaktadır. Akrilamid gıdalarda özellikle asparajın gibi amino asidin amin grubu ile glukoz, fruktoz gibi indirgen şekerlerin kaboksil grubu arasında ısı etkisiyle bir dizi reaksiyonlar sonucu oluşmaktadır. Maillard reaksiyonları olarak bilinen bu reaksiyonlar sonucunda pişirme ile gıdalarda tat ve aroma da oluşmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, gıda, pişirme, gıda işleme

ACRYLAMIDE IN FOODS

Abstract : Acrylamide is white crystalline solde, odourless and high solubility in water. Acrylamide a carcinogenic compound is formed during heating processes in preparation of starchy foods. Acrylamide is known as a neurotoxin in humans and as carcinogen in experimental animals. The highest acrylamide of acrylamide has been found in stachy foods had been heat-treated. Potatoes and cereals contain free asparagine and reducing sugars, and when heated generate acrylamide. The temperature as wellas the frying time affected the amount of acrylamide formed during processing. Acrylamide forms naturally during a series of reactions between an amino acid and reducing sugar such as fructose or glucose. These reactions known as Maillard reactions also cause the browning of food and development of tast during cooking.

Keywords: Acrylamide, food, cooking, food processing

GİRİŞ

Akrilamid, katı, beyaz kristal şeklinde, kokusuz, suda yüksek oranda eriyebilen bir maddedir. Erime noktası 85.5 °C'dir (7). Akrilamid sahip olduğu çift bağlar sayesinde oldukça aktif bir kimyasaldır (1,7). Akrilamid gıda ambalajlaması, içme sularının saflaştırılması gibi endüstri alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (13).

Akrilamid, Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (International Agency for Research on Cancer, IARC) tarafından deney hayvanlarında kanserojen insanlarda ise potansiyel kanserojen olarak kabul edilmiştir. İnsanlarda nörotoksik olduğu belirtilmektedir (4,6,7,15,16,). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda DNA ve sinirsel hasara sebep olduğu gözlenmiştir. Kemiricilerde kanserojenik etkisi belirtilmiştir (7,12).

GIDALARDA AKRİLAMİD OLUŞUMU

Akrilamidin gıdalardaki kimyasal oluşum mekanizması tam bilinmemektedir (7). Bununla birlikte, akrilamid gıdalarda özellikle asparajin gibi bir amino asidin amin grubu ile glukoz, fruktoz gibi indirgen şekerlerin kaboksil grubu arasında ısı etkisiyle bir dizi reaksiyonlar sonucu oluşmaktadır (5). Maillard reaksiyonları olarak bilinen bu reaksiyonlar sonucunda pişirme ile gıdalarda tat ve aroma da oluşmaktadır. Akrilamid oluşumu 120 °C civarında başlar 160-180 °C' ler arasında en yüksek seviyeye ulaşır. Akrilamid kızartma, kavurma ve fırınlama gibi yüksek sıcaklıklardaki belirli pişirme işlemleri ile karbonhidrat ve nişasta bakımından zengin, patates cipsleri, fırınlamış patatesler, bisküvi kraker, kahvaltılık hububat ürünleri, ekmek ve çikolata gibi ürünlerde oluşmaktadır. Haşlanmış ve mikrodalga ile pişirilmiş gıdalarda oluşmamaktadır (1,2,4,11,16). Maillard reaksiyonu akrilamid oluşumunda en önemli yol olduğu düşünülmektedir. Ancak, akroleinin de akrilamid oluşumunda önemli bir prokürsör olduğu ve akrolein olmadan da protein ya da amino asitlerin hidroliz, dekarboksilasyon gibi bir dizi transformasyon yoluyla da oluşabileceği belirtilmektedir(7). Bu mekanizmada gliserolün ısısal indirgenmesiyle akroleinin oluşması, akroleinin akrilik aside oksidasyonu ve akrilik asidin gıdanın yapısında doğal olarak bulunan azotlu bileşiklerin prolizinden oluşan amonyakla reaksiyonu sonucunda

akrilamid oluştuğu düşünülmektedir(10) 200 °C gibi yüksek sıcaklıkta uzun süre uygulanırsa akrilamid oluşumun parçalanmaya bağlı olarak azaldığı ileri sürülmektedir (15).

AKRİLAMİD OLUŞUMUNU ETKİLEYEN PARAMETRELER

Akrilamid oluşumunu etkileyen parametrelerin belirlenmesi ile gıda endüstrisindeki firmalar gıdalarda akrilamid miktarını azaltmak için çaba göstermektedir. Yüksek ısıda, uzun süre kızartmanın yanı sıra patates cipslerinin yüzey hacimleri etkili olmaktadır. Yüksek yüzey hacminde, düşük yüzey hacmine göre daha fazla akrilamid oluşmaktadır. Isı ve zamanın yanında pH, su miktarı, gıdaların pişirme öncesi haşlanması ve asparajinaz enzimi ile muamele edilmesi de akrilamid oluşmasında etkili olmaktadır (16).

GIDALARDA AKRİLAMİD TAYİNİNDE KULLANILAN YÖNTEMLER

İsveç Ulusal Gıda Kurumu, (Swedish National Food Administration) akrilamid tayininde sıvı kromatografi-kütle spektroskopisi (LC-MS) metodunu önermiştir. Daha sonraları gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS) metodu kullanılmış ve benzer sonuçlar alınmıştır(1,3,8). Bazı araştırmacılar akrilamidin bromlanması takiben GC-MS metodunu kullanmaktadır(14). Ayrıca değişik pH değeri ve pepsin gibi farklı enzimler kullanılarak gıdalardaki akrilamid ekstrakte edilmeye çalışılmıştır(3). Güvenilir ve hızlı izleme metodlarına ihtiyaç devam etmektedir.

GIDALARDA AKRİLAMİD MİKTARININ AZALTILMASI

Normal kızartma koşulları yerine, vakumla kızartma gibi daha düşük ısıda modifiye kızartma teknolojilerinin kullanılması ile akrilamidin daha az miktarda oluştuğu belirtilmektedir. Geleneksel kızartma işleminde kızartma sıcaklığı 180 °C civarındadır. Vakumda kızartma işleminde sıcaklığın 125 °C'ye düşürülmesiyle akrilamid miktarının % 63 oranında azaldığı belirtilmektedir(9). Asparajin ve indirgen şeker oranı düşük patates türlerinin kullanılması da oluşan akrilamid miktarını azaltmaktadır(4,15,16).

Patateslerdeki şeker konsantrasyonu depolama koşullarına bağlı olarak ta değişmektedir. Örneğin, 8 °C'nin üzerinde depolanan patateslerdeki şeker oranı 4 °C'de depolananlardan daha fazladır. Gıdaların pişirilmeden önce asparajinaz enzimi ile muamele edilmesi ile serbest asparajin amino asidini azalttığından akrilamid oluşumu daha az olmaktadır(16).

SONUÇ

İsveç Ulusal Gıda Kurumu, (Swedish National Food Administration) ve Stokolm Üniversitesinin 24 Nisan 2002'de akrilamidin deney hayvanlarında kanserojen ve nörotoksik olduğu ve patates ürünleri gibi nişastadan zengin ve yüksek ısı işlemi görmüş gıdalarda yüksek miktarda akrilamidin bulunduğu açıklanmasından sonra halk sağlığı riski yönünden gıdalardaki akrilamid ile ilgili şüpheler artmıştır(12). Mevcut bilgilere göre akrilamidin birinci oluşum yolu Maillard reaksiyonlarıdır. Akrilamid reaktif bir moleküldür ve gıda bileşenleri ile kolaylıkla reaksiyona girmektedir. Kesin bir sonuca varabilmek için prekürsörler, oluşum yolları ve koşulları, zaman, ısı, pH, su aktivitesi gibi faktörlerin daha detaylı incelenmesi gerekmektedir. Bunun yanında, gıdalardaki akrilamidi ölçmeye yarayan basit yöntemler geliştirilmelidir (7).

KAYNAKLAR

1. Ahn, J. S., Castle, L., Clarke, D. B., Lloyd, A. S., Philo, M. R., Speck, D. R. 2002. Verification of the findings of acrylamide in heated foods. *Food Additives and Contaminants*, 19, (12) 1116-1124
2. Anonim, British Nutrition Foundation , 2003 . Acrylamide – hot off the frying pan. *Nutrition Bulletin* 28 , 5–6.
3. Eriksson, S., Karlsson, P. 2006. Alternative extraction techniques for analysis of acrylamide in food: Influence of pH and digestive enzymes. *LWT* 39: 392–398.
4. Granda, C., Moreira, R.G. 2005. Kinetics of Acrylamide Formation During Traditional and Vacuum Frying of Potato Chips. *Journal of Food Process Engineering* 28 (2005) 478–493.
5. Hilbig, A., Kersting, M. 2006. Dietary Acrylamide Exposure, Time Trends and the Intake of relevant Foods in Children and Adolescents between 1998 and 2004: Results of the DONALD Study. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 1 : 10–18.

6. Leungy, K. S., Linz, A., Tsangy, C. K., Yeungz, S. T. K. 2003. Acrylamide in Asian foods in Hong Kong. *Food Additives and Contaminants*, 20, (12): 1105–1113.
7. Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Törnqvist, M., Aman, P. 2002. Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandinavian Journal of Nutrition* 46 (4): 159–172.
8. Ono, H. Chuda, Y., Ohnishi-Kameyama, M. M., Yada, M., Ishizaka, M., Kobayashi, H., Yoshida, M. 2003. Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods. *Food Additives and Contaminants*, 20, (3): 215–220.
9. Özkan, T.G., Morlock, G. 2005. Gıdalardaki akrilamide bir bakış. Gıda kongresi 2005, İzmir, 135-138.
10. Özkaynak, E., Ova, G. 2006. Akrilamid- Gıdalarda oluşan önemli bir kontaminant. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 261-262.
11. Samuelson, G. 2002. Acrylamide in food—an update. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 46 (4): 157.
12. Vainio, H. 2003. Acrylamide in heat-processed foods – a carcinogen looking for human cancer? *European Journal of Epidemiology* 18: 1105–1106.
13. Wenzl, T., Calle, B., Gattermann, R., Hoenicke, K., Ulberth, F., Ankla, E. 2004. Evaluation of the results from an inter-laboratory comparison study of the determination of acrylamide in crispbread and butter cookies. *Anal Bioanal Chem.*, 379 : 449–457.
14. Wenzl, T., Calle, M.B., Ankla, E. 2003. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review. *Food Additives and Contaminants*, 20, (10) 885–902.
15. Wicklund, T., Ostlie, H., Lothe, O., Knutsen, S. H., Brathen, E., Kitch, A. 2006. Acrylamide in potato crisp—the effect of raw material and processing. *LWT* 39: 571–575.
16. Wilson, K. M., Rimm, E. B., Thompson, K. M., Mucci, L. A. 2006. Dietary Acrylamide and Cancer Risk in Humans: A Review. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 1 : 19–27.

GIDA İŞLETMELERİNDE ORTAM HAVASININ MİKROBİYOLOJİK YÜKÜ ve GIDA HİJYENİ ÜZERİNE ETKİSİ

B.Gökçe ÇÖL¹

Harun AKSU¹

Candan VARLIK²

¹ *İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul*

² *Anadolu Bil Meslek Yüksek Okulu, Gıda Teknolojisi Programı, Florya, İstanbul*

Özet : Dünyamızın çevresini saran bir gaz kitlesi olan hava, yeryüzündeki hayatın devamı için en önemli öğelerden birisidir. Havanın içerisinde var olan yabancı maddeler (örneğin toz-toprak parçaları, bitki tozları, yün ve pamuk lifleri, vb), toz zerrecikleri halinde rüzgar ve hava akımı gibi yollar ile havaya karışır. Mikroorganizmalar ise bu yabancı maddelere bağlı olarak ya da serbest halde havada bulunabilir. Bu mikroorganizmaların bazıları hastalık yapabilir. Havanın her yerde olduğu düşünülürse, özellikle gıda işletmelerinde açıkta bekletilen gıdaların havadan mikrobiyel kontaminasyona maruz kalma riski fazladır. Mikrobiyal kontaminasyon, işletme açısından önemli kayıplara yol açarken, o işletmede çalışan personelin sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bozulmuş gıdalar ise hem milli ekonomiye büyük zarar vermekte hem de halk sağlığını ciddi boyutlarda tehdit etmektedir. Bu nedenle, gıda işletmelerindeki havanın mikrobiyal yükü, gıda hijyeni ve halk sağlığı bakımından oldukça önemlidir ve sağlanması için çalışılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Gıda İşletmeleri, Ortam Havası, Gıda Hijyeni

MICROBIAL LOAD IN INDOOR AIR IN FOOD ESTABLISHMENTS and EFFECT ON FOOD HYGIENE

Summary : Air arounds the earth is one of the most important elements for life. Outsider materials in air (e.g dust-sold particles, plant powders, and wool and cotton fibers) contaminate the air via wind and air flow as minute particles. Microorganisms can also be found in air either bounded to these materials or independently. Some of these microorganisms can lead to diseases. If it is considered that air is everywhere, especially in food establishments, the risk of microbial contamination is at very high levels for foods without coverings. While microbial contamination causes important losses for companies, it

also affects the health of the personnel working in those companies. Contaminated foods do not only damage national economy but also it is a threat to nation health. Therefore, microbial load in air in food establishments is very important for food hygiene and public health.

Key Words: Food Establishments, Indoor Air, Food Hygiene

GİRİŞ

Hava çok sayıda mikroorganizma içermektedir ve havanın 1 m^3 ünde 10^2 - 10^4 düzeyinde mikroorganizma normal sayılabilmektedir. Konsantrasyon farklılıkları da mevsim ve yere göre değişmektedir. Örneğin tarım alanlarında ürünlerin toplanması sırasında bakteri ve küf sporları çok yüksek rakamlara ulaşabilmektedir. İç ortam havasındaki mikroorganizma konsantrasyonu öksürme, konuşma, hapşıрма, nefes alma gibi aktivitelere bağlı olarak değişir ve mikroorganizmalar bu aktiviteler yoluyla enfeksiyöz hastalıklarına neden olabilir. Hastalık oluşturmayan pek çok mikroorganizma mevcuttur ancak bunlar da gıdaların bozulmasında rol oynayabilir. Bazı mikroorganizmalar ise çeşitli toksinler oluşturarak gıda kaynaklı önemli zehirlenmelere ve hastalık tablolarına neden olurlar. Bu yüzden gıda üretiminde mikroorganizmaların kontrolü oldukça önemlidir. Nem, ısıtma, ventilasyon ve havalandırma sistemleri mikrobiyal kaynak olabilir ve hatta nem ve infiltrasyon problemi olan çevreler kabul edilebilenden daha fazla sayıda mikrobiyal popülasyon içerebilir. Özellikle havalandırma sistemlerindeki kanallar suyu toplayarak mikroorganizma gelişimine izin vermekte ve hava akımı ya da ventilasyon sayesinde mikroorganizmalar diğer ortamlara taşınabilmektedir. Kuru havada ise mikroorganizmalar nemli havaya nazaran daha hızla canlılığını kaybetmektedir. Kontrollü bir çevrede kontaminasyon kaynağı olarak insanların bulunmasının, havadaki toplam partikül sayısında artışa nede olduğu bildirilmektedir (16).

Nemli ortamlarda mikroorganizmalar, duman ve sis gibi gaz halinde veya havada katı ve sıvı mikroskobik partiküllerin süspansiyonu olarak tanımlan aeroller içerisinde küçük damlacıklar halinde bulunur (10). Çevresel ve fiziksel faktörler aerosollerin bulunmasını etkilemektedir. Polenler, algler, protozonlar, bakteriler, mayalar, küfler, bitki hücreleri, toksinler ve virüsler bioaerosoller içerisinde yer alır ve toz partiküllerine bağlı olarak veya kurutulmuş organik veya inorganik materyal yüzeyinde serbest halde bulunurlar. Bioaerosollerin bulunma düzeyleri, çevresel (nem ve sıcaklık) ve fiziksel (partiküllerin büyüklüğü, yoğunluğu ve biçimleri) faktörlere bağlıdır. Fungal bioaerosollerin yüksek oranda hava şartlarından

etkilendiği gözlenmiştir. Örneğin en yüksek konsantrasyondaki toplam koloni sayısı, sıcaklık 25-30 °C, relatif rutubet (Rh) %60-70 ve rüzgar hızı <1 m/s iken gözlenmiştir (15). Lutgring ve ark. (17) kanatlı kesimhanelerinde bioaerosol konsantrasyonlarını incelediklerinde, hava akımı ve işletmenin bulunduğu yerin konumunun tüm sürecin mikrobiyel seviyesini etkilediğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte, dış atmosfer havasındaki bakteri türünün büyük bir kısmını (%73-90) gram pozitif bakterilerin oluşturduğunu, zamana bağlı olarak bakteri sayısında bazı değişikliklerin olduğunu belirtmişlerdir. Gram pozitif spor oluşturan bakteriler gece boyunca minimum düzeyde iken (%17) gram negatif bakteri sayısı maximum (% 22), gün içerisinde gram pozitif bakteriler maximum iken (%35), gram negatif bakteriler minimum (%12) düzeyde bulunmuştur.

Süt İşletmelerinde Ortam Havası Hijyeni

Bioaerosoller, süt ürünlerinde mikrobiyal kontaminasyona sebep olabilir. Süt işletmelerinde havadan meydana gelen kontaminasyonlar, düşük kalitede ürünlerin oluşmasına sebep olarak ürünlerin raf ömrünü kısaltır. Paketleme materyalinin hava kaynaklı bulaşmaya maruz kalmamasının ürünün raf ömrünü yedi gün arttırdığı gözlenmiştir (12). Süt işletmelerindeki aerosoller; ısıtma, soğutma ve havalandırma sistemlerinden, yer drenaj sistemlerinden, üretim odaları arasındaki boş kısımlardan, çalışan personelden, yüksek basınçla su püskürtmeden, yere dökülmüş süttten ve taşıyıcı sistemlerinden kaynaklanabilir. Ren ve Frank (24, 25), RCS centrifugal air sampler (Şekil 1) kullanarak iki adet süt işletmesinden ve iki adet dondurma tesisinin ventilasyon giriş ve çıkış kısımlarından, paketleme bölgesinden, taşıyıcı hattından, pastörize ürünlerin bekletildiği tanktan ve suyla püskürtme sonrasında sekiz litre hava alarak mezofil aerob bakteri, *Staphylococcus* spp. ve toplam küf-maya sayısına bakmıştır. Ventilasyon giriş ve çıkışlarındaki toplam bakteri ile *Staphylococcus* spp. sayılarının benzer düzeyde çıkması, ventilasyon sisteminin etkin çalışmadığını göstermiştir. Sonuç olarak etkin bir zemin drenaj temizlik sisteminin bu riskli bölümlerde yapılması önerilmiştir. Üretim esnasında yüksek su basınçlı hortumlama kullanıldığında, toplam bakteri ve *Staphylococcus* spp. sayılarında tüm işletmelerde önemli ölçüde artış görülmüş, bazı işletmelerde ise küf ve maya sayısında artış gözlenmiştir.



Şekil 1. Centrifugal air sampler

İki adet dondurma işletmesinde pastörize ürünlerin bulunduğu depo, üretim ve dolum kısımlarında Anderson 2 stage ve Biolest rcs ve ross mikrobiyen sieve sampler ile örnekler alınarak gerçekleştirilen bir çalışmada, her bir cihaz ile iki işletmenin dolum alanlarında üretim ve depolara oranla daha yüksek sayıda mikrobiyal aerosol saptamıştır (24, 25). *Serratia marcescens* bakterisinin drenaj sisteminden hava kökenli mikroorganizma haline nasıl dönüştüğünü göstermek amacıyla Anderson 6 stage sieve sampler ile üretimden önce, zeminin bakteri içeren suyla spreyleneşinden 10 saniye sonra ve 10 dakika aralıklar ile toplamı 40 dakika olacak şekilde hava örnekleri alınmıştır. En yüksek seviyede tespit edilen mikrobiyal aerosol seviyesi, drenajın spreyleneşinden sonraki ilk 10 dakika içerisinde görülmüştür. Yaklaşık 40 dakika içerisinde de aerosol seviyesinin eski haline döndüğü görülmüştür. Dört adet süt işletmesinde, üretim esnasındaki havanın mikrobiyal içeriğı ile üretim olmayan zamandaki mikrobiyal içerik karşılaştırılmış ve üretimin olduğı zamanda büyük ölçüde mikroorganizma sayısında artış gözlenmiştir. Süt işletmelerinde tüm aerosol içersinde canlı mikroorganizma sayı ve oranının yüksek bulunmasında personelin önemli derecede etkili olduğı gözlenmiştir. Bu yüzden paketlenme ve dolumun yapıldığı kritik alanlarda aerosollerin kontrol edilmesi gerektiğı bildirilmektedir (24, 25). Süt işletmelerinde havadaki partiküllerin ortalama büyüklükleri 4.3 ile 5.3 log kob/m³ arasındadır. Kontaminasyonun yüksek olduğı süt işletmelerinde, partikül boyutlarının büyük olduğı gözlenmiştir (10). Genellikle süt dolum alanlarında depolama ve üretim alanlarına oranla daha fazla sayıda mikroorganizma olduğı gözlenmiştir. Bununla birlikte süt dolum alanlarında bakteriler çoğunlukta iken dondurma odalarında küfler çoğunlukta bulunmuştur (11). Herajoki süt işletmelerinde havanın mikrobiyel kalitesi üzerine yapılan bir çalışmada, süt işletmesinin çeşitli bölümlerinden yoğurt inkübasyon odası, krema olgunlaştırma odası,

yoğurt dinlendirme odası gibi bölümlerden MAS (Şekil 2) ve RCS tipi air samplerler kullanılarak ortam havasındaki toplam mezofil aerob bakteri sayısı ile küf ve maya sayısı incelenmiştir. Toplam mezofil aerob bakteri sonuçlarına bakılarak hava hijyeninin iyi ya da kötü olduğuna dair kesin bir yorum yapılamamış, çoğu örnekte toplam bakteri ve partikül sayısı yüksek çıkmasına rağmen, maya ve küfler süt kaynaklı ürünlerde önemli kontaminasyon kaynağı olabildikleri için küf mayalar üzerinde daha fazla durulmuştur. Küf ve maya sayıları varyasyonlar göstermiş ve genel itibariyle dolun bölümlerinden alınan hava örneklerinin çoğunluğu hijyenik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak Eylül ayında alınan hava örnekleri, Mayıs ayındakilere göre daha yoğun kontamine bulunmuştur. Bu durumun sonradan eklenen bağlantı yoluyla binada kullanılan alet-gereç ve makinelerden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.



Şekil 2: MAS-100 air sampler

Birçok peynir üretim yerinde yapılan çalışmaların sonucuna dayanarak tavsiye edilen limit, toplam bakteri için $200 - 500 \text{ kob/m}^3$ olarak belirtilmiştir. Küf-maya için ise bu değer 100 kob/m^3 bulunmuştur (21). Yapılan birçok çalışmada dondurma üretim yerlerinde canlı aerosol sayısının $1-2.3 \text{ log kob/100 L}$ ve süt işleme yerlerinde $1.2-3 \text{ log kob/100 L}$ olduğu görülmüştür (6, 10, 11, 21, 24, 25). Süt işletmelerinde havada bulunan mikroorganizma sayısının $2.15 \text{ log kob/100 L}$ 'den daha fazla olması durumunda ise hava kalitesinin yetersiz olduğu belirtilmiştir (6). Tam tersine, $1.3 \text{ log kob/100 L}$ 'den daha düşük sayıda mikroorganizma bulunması süt işletmelerindeki hava kalitesinin iyi olduğunu göstermiştir.

Brezilya'da yapılan bir çalışmada (19) süt işletmesinin süt kabul, paketlenme ve pastörizasyon odalarından alınan hava örnekleri ile Anderson air sampler cihazı ve sedimentasyon

yönteminin sonuçları karşılaştırılmıştır. Çarpıtma yöntemiyle alınan sonuçlar, sedimentasyona oranla 2 ile 10 kat daha yüksek bulunmuştur. Air sampler cihazında küf maya sayısı ve sedimentasyon yönteminde toplam bakteri sayısı çoğunlukta bulunmuştur. Üretim alanlarındaki sıcaklık farklılıklarının mikroorganizma sayıları üzerine belirgin etkisi görülmemiş, ancak nem artışının mikroorganizmaların sayıları üzerine etkisi görülmüştür. Sedimentasyon metodunda 13-30 dakika bekleme süresinde, besiyerinin kuruyabileceği, tahmin edilenden daha az sayıda mikroorganizma sayılacağı ve *S. aureus* ve *Koliform* bakterilerinin tespitinde çarpıtma metodunun daha etkili olacağı düşünülmüştür. Çarpıtma metoduyla alınan örneklerde sedimentasyona göre patojen mikroorganizmaların tespitinin daha kolay olduğu görülmüştür.

Türk beyaz peyniri üretim aşamalarında kontaminasyon kaynaklarını belirlemek amacıyla üretim alanları ve soğuk depolardan alınan hava örnekleri ile toplam bakteri ve küf-maya sayısı saptanmıştır. Toplam bakteri 1.76 ile 1.01 kob/petri iken, küf-maya sayısı 0.82 ve 1.9 log kob/petri bulunmuştur. Üretim alanındaki hava, peynir kaplarındaki süt üzerinde çok büyük etkiye sahipken, soğuk odalardaki peynir taşıma tepsilerinin ürüne herhangi bir etkisinin bulunmadığı görülmüştür (2).

Et ve Tavuk İşletmelerinde Ortam Havası Hijyeni

Yapılan çalışmalar havada bulunan mikroorganizmaların, çeşitli et ürünlerinde potansiyel mikrobiyel kontaminasyon kaynağı olduğunu göstermiştir (1). Tavukçuluk sektöründe hava kaynaklı mikroflorada baskın olarak bulunan tür, kok formunda olan bakterileridir. Bu bakterilerin çoğunluğu *Staphylococcus* spp. ve *Micrococcus* spp. cinslerine aittir. Toplam mikroorganizmanın %0.01' ini küfler oluşturmaktadır. Başlıca mantar türlerinden *Penicillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Geotrichum* ve *Rhizopus* identifiye edilmiştir (Neelsen ve Breum 1995). Fries ve Graw (4), MD8 sampler kullanarak tavuk işletmelerindeki soğutma alanlarında yaptıkları çalışmalarda, karkas, su ve topraktan orjin alan *Streptococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp. ve *Enterobacteriaceae* spp. türlerini bulmuşlardır. İki farklı üretim alanında yapılan çalışmada yetersiz hava akımı olan küçük ve eski bir imalathanede, modern yapı ve yeterince hava akımına sahip olan imalathaneye göre çok daha fazla mikrobiyel yükün olduğu saptanmıştır. İki işletmedeki toplam mikrobiyel yükün 2,2-3,2 log kob/m³ arasında olduğu,

başlıca mikrobiyel yükü *Micrococcların* ve düzensiz gram pozitif çubuk formu bakterilerin oluşturduğu bulunmuştur. Kanatlı işleme hattında gözle görülmeyen aerosollerin 6,3 log kob/mL den fazla olabileceği belirtilmiştir. Ellerbroek (3), Andersan air sampler kullanarak kanatlı kesimhanelerinin, giriş, iç organları çıkarma ve soğutma odalarından aldığı hava örneklerinde mikrofloranın birbirinden farklı olduğunu göstermiştir. Kanatlı giriş bölümlerinde ağırlıklı olarak Gram pozitif bakterilerden *Micrococcus*, *Corynebacterium* ve daha az miktarda *Staphylococcus* bulmuş, bunların da muhtemelen deri ve kanat tüyleri yoluyla işletmeye girdiği belirtilmiştir. İç organların boşaltıldığı alanlarda ise yine Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus* ve Gram negatif bakterilerden *Acinetobacter* ve *Moraxella*'ya rastlanmıştır. Soğutma odalarındaki dominant florada ise *Corynebacterium*, *Acinetobacter* ve *Moraxella* bulunmuştur. Karkasların hava kaynaklı bakterilerce nasıl kontamine olduğunun daha iyi anlaşılması için yapılan çalışmalarda en yüksek *Enterobacter* sayısının giriş bölümünde olduğu, kesme ve parçalama alanlarında ise en düşük sayıda bulunduğu belirtilmiştir. *Enterobacter* sayısı, kesme ve parçalara ayırma bölümlerindeki sayıya göre çok daha fazla saptanmıştır. Toplam mezofil aerob bakteri sayısı, kanatlı giriş (log 3.24 kob/m³) ve içini boşaltma odası girişinde (log 2.63 kob/m³) kesme ve parçalara ayırma bölümünden (log 1.04 kob/m³) düşük sayıda bulunmuştur (3). Lutgring ve ark. (17), N6 single Anderson cihazını kullanarak dört farklı kanatlı işleme tesislerinin çeşitli bölümlerinden hava örnekleri alınarak toplam mezofil aerob bakteri, psikrofilik bakteri ve küf-maya değerlerine bakılmıştır. En yüksek toplam mezofil aerob bakteri sayısı, kanatlı giriş bölümünde bulunmuştur. İşletme dışına göre kanatlı giriş bölümündeki bakteri sayısı 100 ile 1000 kat daha fazla gözlenmiştir. Kesimhanelerde giriş bölümünden karkas kesim ve kemiklere ayırma bölümüne doğru bioaerosol konsantrasyonunda dereceli olarak azalma görülmüştür. Küf ve maya sayıları toplam bakteri sayısından bir hayli az bulunmuştur. Hava akımının son üründen kabul bölümüne doğru olması gerektiği ve mümkünse bu bölümlerin fiziksel olarak birbirinden ayrılması gerektiği vurgulanmıştır. Ellerbroek (3), soğutuculardan altı aşamalı Anderson impactor cihazıyla aldığı hava örneklerinde, kuru soğutma yapılan kısımdaki mikroorganizma yükünü 3.3 log kob/m³ bulurken, sulu soğutmanın yapıldığı bölümlerde 4.2 log kob/m³ olduğunu gözlemiştir. İki aşamalı Anderson sampler kullanılarak yapılan ölçümlerde, sabah ve akşam arasında kayda değer bir farkın olmadığı saptanmıştır (22). Yapılan çalışmalarda et ürünlerindeki mikrobiyal kontaminasyon kaynağının havadaki mikroorganizmalar olduğu belirlenmiştir. Fecal ve toprak orjinli mesofilik aerob bakteriler,

hayvanların toynak ve postlarına yapışarak havadaki sayılarını 10^9 ' a kadar ulaştırabilmektedir. Bu da gıdaları tehlike altına sokacak bir risk olarak ortaya çıkmaktadır. Jericho ve ark. (9), et üretim tesislerinden aldığı hava örneklerinde SAS impactor ve soğutucu ve donduruculardan alınan hava örneklerinde STA-203 slit sampler (Şekil 3) kullanarak çalışmalar yapılmıştır. Karkas yüzüm ve soğutuculardan alınan çeşitli örneklerden en yüksek toplam bakteri sayısının karkas yüzüm kısmından alınan örnekte saptanmıştır.



Şekil 2.7: Bir slit samplerin çalışma prensibi

Whyte ve ark. (26), üç kanatlı kesimhanesinde, tüy yolma, iç organları çıkarma, parçalara ayırma ve hava soğutucuları kısımlarından aldıkları hava örneklerinde toplam mezofil ve pisikofil aerob bakteri, *E. coli*, *Enterobacteriaceae*, Termofilik *Campylobacter* spp. ve *Salmonella* spp. sayılarına bakmışlardır. Genel olarak örnek aldıkları tüm bölümlerde kıyasla, tüylerin yolunduğu bölümde toplam bakteri sayısını daha yüksek ($P < 0.05$) bulmuşlardır. *E. coli* ve *Enterobacteriaceae* tüy yolma bölümünde $(1.85-1.82) \log \text{ kob/m}^3$ iken, parçalara ayırma bölümünde $(1.15- 0.97) \log \text{ kob/m}^3$ bulunmuş ve diğer örnek alınan bölümlerde saptamamışlardır. *Salmonella* spp. örnek alınan üç kanatlı kesimhanesinden de izole edilememiştir.

Jericho ve ark. (9), slit air sampler kullanarak, deri yüzüm kısmı, karkasların asıldığı bölüm ve soğutucudan hava örnekleri almış ve en yüksek toplam canlı bakteri sayısının, derinin yüzüldüğü kısımda olduğunu saptamıştır. Al-Dagal (1) tarafından derin dondurucu ve

soğutucularda yapılan çalışmalarda mikrobiyal hava kalitesi, A, B ve C sınıfı olmak üzere üç başlık altında değerlendirilmiş ve A sınıfı $< 100 \text{ kob/m}^3$ (mükemmel), B sınıfı $100-300 \text{ kob/m}^3$ (orta), C sınıfı > 300 (yetersiz) olarak kaydedilmiştir. Rahkio ve Korkeala (22) ise sığır ve domuz kesimhanelerinde kesim sırasında domuz ve sığır karkaslarındaki kontaminasyon ile havada bulunan mikroorganizma sayısı arasındaki ilişkiyi içeren çalışmalar yapmış ve domuz ve sığır kesim hatlarında karkas parçalama ve tartım kısımlarından hava örnekleri almıştır. Anderson 2 aşamalı hava akım hızı $0,0283 \text{ m}^3/\text{dak}$ süreli olarak alınan örneklerin sonucunda, tartımın yapıldığı kısma göre parçalama alanındaki toplam mikroorganizma yükü arasında belirgin bir farklılığın olduğu ($P<0,05$) görülmüştür. Domuz kesimhanesinde karkas parçalama bölümünde $3,13- 4,07 \text{ kob/m}^3$ bululurken tartım bölümünde $2,45-3,58 \text{ kob/m}^3$ bulmuşlardır. Parçalama kısmında çok daha fazla mikroorganizma bulunması, havanın kontamine olmuş hattan parçalama bölümüne hava akımının etkisiyle geçişine bağlanmış, aynı zamanda parçalanma işleminde kullanılan testere hareketleri ile akan sıvının ve kesimhane kısmındaki kirli ve temiz alanlardaki personel hareketlerinin de mikroorganizma sayısını artırıcı bir etki yaptığı belirtilmiştir. Worfel ve ark. (27), Andersan tek aşamalı sampler cihazını kullanarak, üç farklı kesimhanenin temiz (hayvanların üstünde post varken) ve kirli (post yüzüldükten sonra) bölümlerinin çeşitli yerlerinden hava örnekleri almışlardır. Sonuçların temiz ve kirli yerlerin duvarla ayrımının yapıldığı iki işletmede, ayırım yapılmayan işletmeye oranla belirgin derecede ($P<0,05$) düşük olduğunu görmüşlerdir. Prendergast (20), iki farklı sığır kesimhanesinde hava, sığır karkas kontaminasyonu ve bina dizaynı arasındaki ilişkiyi saptamak amacı ile, kesimhanelerin temiz ve kirli alanlarındaki havadan ve karkastan örnekler almıştır. Kirli bölgeler kesimhanenin hayvan barınağı, kanatma ve dehiding kısımlarını, temiz bölgeler ise bağırsak çıkarma, karkas parçalama ve karkas yıkama kısımlarını içermektedir. Örneklerin alındığı iki farklı kesimhaneden birincisinin temiz bölümünden alınan havadaki toplam bakteri sayısı kirli bölüme göre çok çok az çıkmıştır. İkinci kesimhanede ise temiz alandaki karkas yıkama sonrasında alınan örneklerdeki toplam bakteri sayısı kirli alanlardaki kanatma kısmına oranla daha yüksek bulunmuştur. Bu da dolambaçlı ve iki katlı yapıya sahip olan kesimhanenin prosesin son aşamasında hava kaynaklı kontaminasyonun azaltılmasında etkili olmadığını göstermiş ve kanatma işlemi yıkama bölümüne yakın bir alanda yapıldığı için yıkama bölümünde bakteri sayısı daha fazla çıkmıştır. Kotula ve Emswiller-Rose (13), domuz işleme tesislerinde farklı bölümlerden aldıkları hava örnekleri sonucunda ortalama log toplam bakteri

değerini soğutucu içinde 64.28 kob/m^3 ve karkas fabrikasyon kısmında 60.39 kob/m^3 bulunmuştur. Aynı çalışmada ortalama küf değerleri ise soğutucularda 11.30 kob/m^3 , karkas fabrikasyon bölümünde 37.43 kob/m^3 olarak saptanmıştır. Aynı zamanda domuz işletme tesislerinde süt işletmelerine oranla kontaminasyonun 10 kat daha fazla belirlenmiştir.

İçecek Üretim Yerleri ve Ortam Havası Hijyeni

İçecek üretimi yapılan yerlerde hava kaynaklı mikroorganizmaların miktarı; işletmedeki drenler, ısıtıcılar, pastörizatörler ve soğutma tünellerine, hava ventilasyon sistemlerinin çalışmasına, dolum makinelerinin yapısına ve bulundukları konuma bağlıdır. Remus (23), deri parçacıklarının, toz ve saç gibi katı materyallerin, meşrubat dolum makinesinden taşan damlaların, sporlanma gibi doğal yayılma yollarının havayı kontamine eden kaynaklar olduğunu belirtmiştir. Özellikle, soğutma kangalları gibi merkezi klima sistem parçalarının periyodik olarak temizlenip sanitize edilmesi önerilmiştir. Modern merkezi klima sistemine sahip olan içecek firmalarında ısıtma ya da soğutma kangallarından sonra yerleştirilen hepa filtreler, havada buluna toz ve mikroorganizmaları azaltarak içeceklerin kalitesinin bozulmasını ve kontaminasyonu engellemek için kullanılmaktadır. Henriksson ve Haikara (7), 10 adet bira ve 1 adet meşrubat fabrikasının dolum yerlerindeki havanın mikroorganizma sayısı üzerine çalışma yapmıştır. SAS impactor cihazıyla alınan örneklerde, işletmelerdeki toplam bakteri sayısının ortalama 3.6 log kob/m^3 olduğu bulunmuştur. Bira dolum makinesinin yanından alınan örneklerde anaerobik bakterilerden LAB (*Aectinatus* ve *Megasphaerus*) tespit edilmiştir.

Fırınlr ve Ortam Havası Hijyeni

Fırınlr da havadaki mikroorganizma ve tozları taşıyabildiklerinden yüzey ve ürünlerin kontaminasyonuna sebep olabilir. Fırınlarda hava kaynaklı kontaminantlardan en sık rastlananları, mantarlar ve spor oluşturan bakterilerdir. Havada bulunan mantarlar, unlu mamülerde ve pişmemiş materyallerde kontaminasyona yol açarak büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (8). Mevsimsel değişikliklere bağlı olarak mantarların etki dereceleri de değişmektedir. Hindistan' da yapılan bir çalışmada (8) büyük bir fırından alınan hava örneklerinde 19 küf türü izole edilmiştir, ağırlıklı olarak *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Rhizopus* bulunmuştur. En yüksek mantar sayısı, 3.4 log kob/m^3 ve

en yüksek spor sayısı $3.3 \log \text{ kob/m}^3$ olarak kaydedilmiştir. Brezilya'da iç ortam havasında *Actinomyces* varlığına ilişkin yapılan çalışmalarda (5), dokuz farklı iç ortamda 53 toplama noktasının 35' inde *Actinomyces* (%66) saptanmıştır. *Actinomyces* ayrıca altı farklı dış ortamdaki dördünde belirlenmiştir. Çalışılan on noktada Brezilya yönetmeliklerinde belirtilen mikrobiyal hava kalitesinin limitleri üzerinde durulmuştur.

Cladosporium, *Penicilium*, *Aspergillus* ve *Alternaria* gibi türler, nemli iç ortam çevrelerinde üreyip sporlanabilen türler olarak tanımlanmıştır. Bu küfler tarafından üretilen sporlar, zamanla yüzeylerde birikerek bölgenin nemi ve insan hareketleriyle tekrar riskli hale gelebilir. Mantar sporlarının solunması astım, aşırı duyarlılık pnemonitisi, solunum irritasyonu ve kanser gibi hastalıkların gelişimiyle alakalıdır. Bununla birlikte fırın çalışanlarının mesleki astımı, mantarlara maruz kalmaları, un proteinleri, böcekler veya bunların kombinasyonları ile ilişkilendirilebilir. Fırın mutfaklarının farklı alanlarından iki farklı günde alınan hava örneklerinin incelemesi ile mantar sayılarının yapılan aktivitelere bağlı olarak önemli ölçüde değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Birinci gün *Penicillium* türü mantarlar iç ortam havasında dominantken ikinci günde *Clodiasporium* türü mantarlar dominant olarak bulunmuştur (14).

Gıda ürünlerinin raf ömürleri süresince sağlıklı ve güvenilir olmalarını sağlamak önemlidir. Bu nedenle, gıdaların üretimi ve muhafazası sırasında havadaki istenmeyen zararlı mikroorganizmalar ile gıdaların kontaminasyonu önlenmelidir. Gıda işletmelerinde mikroorganizma sayısının artışı üzerine giderler, atık sular ve ortama saçılmış veya dökülmüş ürünler de rol oynamaktadır. Bu nedenlerle çoğu gıda üreticisi, HACCP çerçevesinde tüm kontaminasyon kaynaklarını, dolayısıyla havanın mikrobiyal yükünü gözlem altına almaya çalışmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1-Al-Dagal, M.M.O. (1992). A case study of the influence of microbial quality of air on product shelf life in a meat processing plant. *Dairy Food Environmental Sanital*, **12**, 69-70.
- 2-Anar, S ve Temelli, S (2000). Determination of microbiological contamination sources during Turkish cheese production. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **27**, 29-35.
- 3-Ellerbroek, L. (1997). Airborne microflora in poultry slaughtering establishments. *Food Microbiology*, **14**, 527-531.
- 4-Fries, R. ve Graw, C. (1999). Water and air in two poultry processing plants' chilling facilities a bacteriological survey. *British Poultry Science*, **40**, 52-58.
- 5-Grigorevski-Lima, A.L., Silva-Filho, R.G., Linhares, L.F.ve Coelho, R.R.R. (2005). Occurrence of actinomycetes in indoor air in Rio de Janeiro, Brazil. *Building and Environment*
- 6-Hedrick,T.I. ve Heldman, D.R. (1969). Air quality in fluid and manufactured milk products plants. *Journal of Milk And Food Technology*, **30**, 265-269.
- 7-Henriksson, E. ve Haikara, A. (1991). Airborne microorganisms in the brewery filling area and their effect on microbiological stability of beer. *Brauwissenschaft*, **44**, 4-8.
- 8-Jain, A.K. (2000). Survey of bioaerosol in different indoor working environments in central India. *Aerobiology*, **16**, 221-225.
- 9-Jericho, K.W.F., Ho, J. ve Kozub, G.C. (2000). Aerobiology of a high-line speed cattle abattoir. *Journal of Food. Protection*, **63**, 1523-1528.
- 10-Kang, Y.J ve Frank, J.F. (1989a). Evaluation of air samplers for recovery of biological aerosols in dairy processing plants. *Journal of Food Protection*, **52**, 665-659.
- 11-Kang, Y.J. ve Frank, J.F. (1989b). Biological aerosols:a rewiew of airborne contamination and its measurement in dairy processing plants. *Journal of Food Protection*, **52**, 512-524.
- 12-Kantarcıoğlu, A. S. ve Yücel, A. (2003). *Aspergillus* cinsi mantarlar ve invaziv aspergilloz; mikoloji, patogenez, laboratuvar tanımı, antifungalere direnç ve duyarlılık deneyleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, **34**, 140-157.
- 13-Kotula, A.W. ve Emswiler-Rose, B.S. (1988). Airborne microorganisms in a pork processing establishment. *Journal of Food. Protection*, **51**, 935-937.
- 14-Levy, J.I., Nishioka, Y., Gilbert, K., Cheng, C.H. veBurge, H.A. (1999). Variabilities in Aerosolizing Activities and Airborne Fungal Concentrations in a Bakery. *American Industrial Hygiene Association Journal*, **60**, 317-325
- 15-Lin, W.-H ve Li, C.-S. (2000). Associations of fungal aerosols, air pollutants, and meteorological factors. *Aerosol Science and Technology*, **32**, 359-368.
- 16-Ljungquist, B. ve Reinmüller, B. (1998) Active sampling of airborne viable particles in controlled environments:a comparative study of common instruments. *European Journal of Parent Science*, **3**, 59-62.
- 17-Lutgring, K.R., Linton, R.H., Zimmerman, N.J., Peugh, M. ve Heber, A.J.(1997). Distribution and Quantification of bioaerosols in poultry slaughtering plants. *Journal of Food Protection*, **60**, 804-810.

- 18-Nielsen, B.H. ve Breum, N.O. (1995). Exposure to air contaminants in chicken catching, *Ann. Indoor Hygiene Association*, **56**, 804-808.
- 19-Salustiano, S.C., Andrade, N.L., Brandao, S.C.C., Azeredo, R.M.C. ve Lima, S.A.K. (2003). Microbiological air quality of processing areas in a dairy plant as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air sampler. *Brazilian Journal of Microbiology*, **34**, 255-259.
- 20-Prendergast, D. M. (2004). The effect of abattoir design on aerial contamination levels and the relationship between aerial and carcass contamination levels in two Irish beef abattoirs. *Food Microbiology*, **21**, 589-596.
- 21-Radmore, K., Holzapfel, W.H. ve Lück, H. (1988). Proposed guidelines for maximum acceptable airborne microorganism levels in dairy processing and packaging. *International Journal of Food Microbiology*, **6**, 91-95.
- 22-Rahkio, T.M. ve Korkeala, H.J. (1997). Airborne bacteria and carcass contamination in slaughters. *Journal of Food Protection*, **60**, 38-42.
- 23-Remus, C. (1996). The very air we breath. *Beverage World*, **115**, 100p.
- 24-Ren, T.J. ve Frank, J.F. (1992a). Measurement of airborne contamination in two commercial ice cream plants. *Journal of Food Protection*, **55**, 43-47.
- 25-Ren, T.J. ve Frank, J.F. (1992b). Sampling of microbial aerosols at various locations in fluid milk and ice cream plants. *Journal of Food Protection*, **55**, 279-283.
- 26-Whyte, P., Collins, J.D., McGill, K., Monahan, C. ve O'Mahony, H. (2001). Distribution and prevalence of airborne microorganisms in three commercial poultry processing plants. *Journal of Food Protection*, **64**, 388-391.
- 27-Worfel, R.C., Sofos, J.N., Smith, G.C. ve Schmidt, G.R. (1996). Airborne bacterial contamination in beef slaughtering-dressing plants with different layouts. *Dairy Food and Environmental Sanitation*, **16**, 440-44.

AFYONKARAHİSAR'DA TÜKETİME SUNULAN UHT SÜTLER İLE ÇİĞ SÜTLERDEKİ AFM₁ MİKTARININ BELİRLENMESİ

Yavuz Osman BİRDANE¹

Levent AKKAYA²

Ruhtan BAŞKAYA³

Mustafa CEMEK⁴

Sait BULUT⁵

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Bölümü, Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyonkarahisar

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, (Biyokimya) Afyonkarahisar

⁵Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Afyonkarahisar

³İ. Ordu A tipi Gıda Kontrol Müfrez Komutanlığı Selimiye İSTANBUL

Özet : Aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* gibi belirli mantarlar tarafından üretilen toksinlerdir. Tüketilen gıda maddelerindeki aflatoksin miktarı yüksek olduğu zaman hayvan ve insanlarda akut veya kronik hastalıklara neden olabilir. Özellikle yemlerle alınan kanserojen etkisi yüksek olan AFB₁, sindirim sisteminde metabolize olarak süt veren hayvanların sütlerine AFM₁ olarak geçer. Süt ve süt ürünlerini tüketen insanlar özellikle çocuklar sütle bulunan AFM₁ toksinine maruz kalma riski yüksektir. Afyonkarahisar'daki süt ve süt ürünlerinin tüketimi ve ticareti yüksektir. Bu çalışma ile Afyonkarahisar'daki yaz ve kış mevsimlerinde marketlerdeki satışa sunulan UHT sütleri ve bölgedeki bulunan çiftliklerden toplanmış çiğ sütlerdeki AFM₁ varlığı ve miktarları belirlenmiştir.

AFM₁ konsantrasyonları R-Biopharm GmbH AFM₁ kitleri ile prosedüre uygun olarak ELİSA cihazı ile belirlenmiştir.

Çalışmamızda toplam olarak 310 tane süt analize edilmiş olup bunlardan 158 (% 51.05) tanesinin AFM₁ ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Öte yandan bunlar arasında 6 (%1.93) tanesinde Türk Gıda kodeksinin önerdiği izin verilen limitlerden (50ng/l) yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan yazın (Haziran, Temmuz, Ağustos 2005) toplanan 158 (121 çiğ süt ve 37 UHT süt) süt örneklerinin 74 (%46.83) tanesi AFM₁ ile kontamine olduğu ve yalnızca 1 (% 0.63) örneğin 50 ng/l nin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Kışın (Aralık 2005-Ocak Şubat 2006) toplanan 152 (119 çiğ süt ve 33 UHT süt) süt örneklerinden yapılan analizlerde 84 (% 55.27) tanesinin AFM₁ ile kontamine olduğu ve 5 (% 3.28) örneğin 50 ng/l nin üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Analizlerin sonucunda kışın toplanan sütlerdeki AFM₁ miktarı yazın toplanan süt örneklerinden fazla olduğu belirlenmiştir. Şu anda AFM₁ miktarının sağlık için çok ciddi tehlike oluşturmayacağı sonucuna ulaşılmıştır. Fakat Türkiye'deki bu tür rutin taramaların devam edilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler : Aflatoksin M₁ , ELİSA, Süt

DETERMINATION OF AFLATOXIN M₁ IN RAW AND UHT MILK COMMERCIALIZED IN AFYONKARAHISAR, TURKEY

Yavuz Osman BİRDANE¹

Levent AKKAYA²

Ruhtan BAŞKAYA³

Mustafa CEMEK⁴

Sait BULUT⁵

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine,

²Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine,

⁴Department of Chemistry (Biochemistry Division), Faculty of Science and Arts

⁵Department of Biology, Faculty of Science and Arts, Afyon Kocatepe

University, Afyonkarahisar.

³1st Army commandership, A type Food Control Detachment Command, Selimiye, Istanbul

Abstract: Aflatoxins are naturally occurring toxins produced mainly by certain fungi such as *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus parasiticus*. Aflatoxins when present at high levels in the diet have caused acute and/or chronic adverse health effects in animals and humans. Aflatoxin M₁ (AFM₁), a hydroxylated metabolite of the potent carcinogen aflatoxin B₁ (AFB₁), occurs in milk from lactating animals consuming feed contaminated with AFB₁. The consumption of milk and milk products by the human population is quite high, particularly among infants and young children, thereby increasing the risk of exposure to AFM₁. The consumption of milk and milk product is widespread in Afyonkarahisar Turkey. For this purpose, this study was designed to determine the presence and levels from seasonal summer and winter of AFM₁ in determination of Aflatoxin M₁ in raw and market milk commercialized in Afyonkarahisar region.

The AFM₁ concentration was determined by the competitive ELISA method according to the procedure described by R-Biopharm GmbH.

A total of 310 samples analysed, 158 (% 51.05) were found to be contaminated with AFM₁. However, 6 (%1.93) samples among these contaminated at level above the maximum permissible limit (50 ng/l) accepted by Turkish Food Codex for aflatoxin M₁. On the other hand, 158 samples (121 raw milk and 37 UHT milk) in the summer (2005 June, July, August) milk were found contaminated 74 samples (46.83 %), and 1 (% 0.63) were above the 50 ng/l. 152 samples (119 raw milk and 33 UHT milk) in the Winter (2005 December-2006 January, February) milk were found contaminated 84 samples (% 55.27), and 5 (% 3.28) were above the 50 ng/l.

AFM₁ contents of milk samples taken in winter were higher than milk samples taken in summer. AFM₁ in milk does not appear to be a serious public health hazard at the moment. However, it implies that more emphasis should be given to the routine AFM₁ inspection of milk and dairy products in Turkey.

Key words: Aflatoxin M₁, ELISA, Milk

AFYONKARAHİSAR'DA TÜKETİME SUNULAN ET ÜRÜNLERİNDE HİSTAMİN, NİTRAT VE NİTRİT İÇERİKLERİ

Mustafa CEMEK¹

Levent AKKAYA²

Sait BULUT³

Muhsin KONUK³

Yavuz Osman BİRDANE⁴

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, (Biyokimya) Afyonkarahisar

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyonkarahisar

³Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Afyonkarahisar

⁴Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Bölümü, Afyonkarahisar

Özet : Sucuk, salam, sosıs ve pastırma gibi et ürünleri ülkemizde çok popülerdir. Histamin, özellikle proteince zengin ve fermente yiyecek ve içeceklerde şekillenmektedir. Nitrat ve nitrit ise, yaygın olarak gıda kontrolünde denetlenir. Bu çalışmanın amacı, Afyonkarahisar'da tüketime sunulan et ürünlerinde (sucuk, salam, sosıs ve pastırma) histamin, nitrat ve nitrit düzeylerini belirlemektir.

Toplam 100 et ürünü örneği araştırma materyalini oluşturdu. Bunun için, 53 fermente sucuk, 19 salam, 16 sosıs ve 12 de pastırma analizlere dahil edildi. Bütün örnekler, Afyonkarahisar ve çevresinden çeşitli marketlerden elde edildi. Bu numunelerde histamin, nitrat ve nitrit içerikleri kolorimetrik metotla belirlendi.

Afyonkarahisar'da perakende satış yapan marketlerden elde edilen farklı markalara ait et ürünlerinde histamin, nitrat ve nitrit düzeyleri Tablo da görölmektedir. Buna göre, en düşük ortalama histamin ve nitrat sosısten, nitrit ise sucuktan elde edildi. En yüksek ortalama histamin düzeyi pastırmada, en yüksek nitrat ve nitrit düzeyleri ise sucuk ve salamdanda elde edilmiştir.

Tablo – Et ürünlerinde histamin, nitrat ve nitrit düzeyleri

Et Ürünleri	n	Histamin (mg/kg)	Nitrat (mg/kg)	Nitrit (mg/kg)
Sucuk	53	38.41 ± 17.1	149.31 ± 66.2	23.49 ± 22.5
Salam	19	26.94 ± 9.7	124.47 ± 62.8	45.33 ± 25.8
Sosıs	16	19.67 ± 6.8	97.84 ± 22.8	38.80 ± 13.6
Pastırma	12	42.11 ± 4.1	126.73 ± 29.4	44.55 ± 8.10

Sunulan çalışmanın sonuçlarına göre, analiz edilen farklı markalara ait sucuk, salam, sosıs ve pastırma örneklerinden elde edilen histamin, nitrat ve nitrit içerikleri Gıda Düzenleme kurulu tarafından belirlenen değerlerle örtüşmektedir. Bununla birlikte analizleri yapılan et ürünlerinde toksikolojik ve halk sağlığı açısından iyi kalitede olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler : Et ürünleri, histamin, nitrat, nitrit, Afyonkarahisar

HISTAMINE, NITRATE AND NITRITE CONTENT OF MEAT PRODUCTS MARKETED IN AFYONKARAHISAR, TURKEY

Mustafa CEMEK¹

Levent AKKAYA²

Sait BULUT³

Muhsin KONUK³

Yavuz Osman BİRDANE⁴

¹Department of Chemistry (Biochemistry Division), Faculty of Science and Arts, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

²Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

³Department of Biology, Faculty of Science and Arts

⁴Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

Abstract : The meat products such as Turkish style fermented sausage, salami, fresh sausage and pastırma (Turkish dry meat product) are very popular in Turkey. Histamine can be formed in a variety of foods and beverages, especially in protein rich and fermented foods. Nitrate and nitrite are commonly monitored for food control. The aim of this study was to determine the histamine, nitrate and nitrite content of meat products marketed in Afyonkarahisar, Turkey.

Investigation material constituted a total of 100 meat product samples. Including 53 Turkish style fermented sausage, 19 salami, 16 fresh sausage and 12 pastırma. All samples were obtained from various markets in the Afyonkarahisar area of Turkey and analyzed for histamine, nitrate and nitrite content. The histamin, nitrate and nitrite levels in meat product samples were determined by colorimetric methods.

Histamine, nitrate and nitrite levels in meat products of different brands obtained from Afyonkarahisar retail markets are shown in Table. As seen from the Table, the lowest average histamine, nitrate and nitrite levels were obtained for fresh sausage and the highest average values were obtained for pastırma, fermented sausage and salami, respectively.

Table - Histamine, nitrate and nitrite levels of meat products

Meat product	n	Histamine (mg/kg)	Nitrate (mg/kg)	Nitrite (mg/kg)
Fermented sausage	53	38.41 ± 17.1	149.31 ± 66.2	23.49 ± 22.5
Salami	19	26.94 ± 9.7	124.47 ± 62.8	45.33 ± 25.8
Fresh sausage	16	19.67 ± 6.8	97.84 ± 22.8	38.80 ± 13.6
Pastırma	12	42.11 ± 4.1	126.73 ± 29.4	44.55 ± 8.10

According to the results above, Turkish style fermented sausage, salami, fresh sausage and pastırma of the different brands analyzed comply with the Regulations currently in force for histamine, nitrate and nitrite concentrations. Nevertheless, meat products samples showed a comparable good quality from a toxicological and public health point of view.

Key words : Meat products, Histamin, Nitrate and Nitrite, Afyonkarahisar

BİTLİS İLİ VE ÇEVRESİNDE TÜKETİME SUNULAN HAYVANSAL KAYNAKLI GIDALARDA *ESCHERİCHİA COLI* O157:H7 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI¹

Murat DÜLGAR

Mustafa ALIŞARLI

*Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 65080 Van, Türkiye.
e-mail. malisarli@yyu.edu.tr*

ÖZET: *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 serotipinin, son yıllarda özellikle ABD ve Avrupa'da başta hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendromu olmak üzere, çok sayıda insanı etkileyen ve ölümle sonuçlanan çeşitli gıda kaynaklı hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir. Sığırların başlıca taşıyıcı olduğu bu organizma, özellikle et ve süt ürünlerini kontamine ederek halk sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Bitlis ili ve çevresinde yürütülen bu çalışmada; her biri 100 adet olan kıyma, sığır eti, tavuk eti, çiğ süt ve peynir örneği ile 100 adet sığır dışkısı örneği *E. coli* O157:H7 varlığı yönünden araştırılmıştır. Hayvansal kaynaklı gıda örneklerinden %0.80 (4/500) oranında *E. coli* O157 serotipi (kıyma, sığır eti ve çiğ süt) bulunmuş ve bunlardan 2 adedi *E. coli* O157:H7 serotipi (çiğ süt) olarak tanımlanmıştır. Dışkı örneklerinde ise %4 (4/100) oranında *E. coli* O157 serotipi bulunmuş ve bunlardan 2 adedi *E. coli* O157:H7 olarak tanımlanmıştır. Söz konusu suşların 5 tanesi verotoksin üretmiştir. Bunlardan 4 tanesinin VT2, 1 tanesinin ise VT1+VT2 olduğu tespit edilmiştir. VT1 üreten serotip saptanamamıştır. Yapılan biyotiplendirme sonucu sığır dışkısındaki izolatlar B biyotipi ve çiğ sütteki izolatlar C biyotipi olarak belirlenmiştir. Bitlis bölgesinde varlığı ilk defa olarak kanıtlanan bu bakterinin bulunma oranlarının düşük düzeylerde olması, halk sağlığı açısından risk taşımadığını göstermez. Sonuç olarak; gıdalardaki kontaminasyon oranı düşük olsa bile hastalık oluşturma yeteneği ve kros bulaşma riski yüksek olduğundan bu bakteriye bağlı salgınlara engellenebilmesi için; özellikle büyükbaş hayvan barınaklarındaki ilkel koşulların iyileştirilmesi, hijyen standartlarının yükseltilmesi, süt sağımının modernizasyonu ve et ve süt ürünlerinin tüketiciye ulaşıncaya kadar hijyen ve soğuk zincirin sağlanması öncelikli konulardır.

Anahtar Kelimeler: Bazı gıdalar, *E. coli* O157:H7, verotoksin, biyotiplendirme

¹: Bu çalışma, Murat DÜLGAR'ın Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.

RESEARCH OF *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 IN SOME FOODS OF ANIMAL ORIGIN CONSUMED IN BITLIS PROVINCIAL AREA.

Murat DÜLGAR

Mustafa ALİŞARLI

Department of Food Hygiene and Technology, Veterinary Faculty, Yüzüncü Yıl University, 65080 Van, Turkey.

e-mail. malisarli@yyu.edu.tr

SUMMARY: In recent years, *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 has been reported to cause various foodborne diseases including haemorrhagic colitis and haemolytic uremic syndrome (HUS) with fatal consequences affecting a number of people, particularly in the USA and Europe. This organism, reservoir of which is cattle, constitutes a serious threat for the public health due to consumption of contaminated meat and dairy product. In this study, 100 samples from each of ground beef, boneless beef, chicken meat, raw milk, cheese and cattle feces collected from the city of Bitlis and neighboring villages were analyzed for the presence of *E. coli* O157:H7. Four (4/500) *E. coli* O157 were isolated from the food samples of animal origin (ground beef, meat and raw milk); and two of them were *E. coli* O157:H7 serotype which was isolated from raw milk. As for the fecal samples, four (4/100) *E. coli* O157 serotypes were isolated and two of them as *E. coli* O157:H7. Five of these serotypes were found to produce verotoxin. Four of them were producing VT2 while the remaining one was producing both VT1+VT2. None of the serotypes was producing VT1 alone. Based on the biotyping of the isolates those of cattle fecal origin were determined as biotype B while those of raw milk origin were biotype C. Determining prevalence of this bacterium in Bitlis region for the first time at low levels does not mean that it is not a health risk. In conclusion, even though the contamination level is low in food samples, precautions should be taken into considerations for preventing epidemics of these pathogen having the high potential of causing diseases and cross contamination. These precautions are the improvement of existing conditions and hygiene standards in cattle farms, modernization of milking technology and maintaining optimum cold storage of meat and milk products until consumed and keeping high levels of hygiene.

Key Words: Foods, *E. coli* O157:H7, verotoxin, biotyping.

GİRİŞ

Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Escherichia coli*, sıcak kanlı hayvan ve insanların bağırsaklarında doğal flora olarak bulunmaktadır. *E. coli*’lerin 100’den fazla suşu olmasına rağmen *E. coli* O157:H7 suşu enterohemorajik *E. coli* (EHEC) grubunda yer alan ve en çok zehirlenmeye neden olan serotiplerden biri olarak kabul edilmektedir (55).

Birçok ülkede (Arjantin, Avustralya, Belçika, Danimarka, Almanya, İsviçre, İsrail, Güney Afrika ve İtalya), verotoksijenik *E. coli* O157 ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi sonucu ortaya çıkan çok sayıda gıda zehirlenmesi bildirilmiştir (11,12). İngiltere’de sadece 1996 yılında 506 vakaya (51), İskoçya’da 1990-1996 yılları arasında 700 kişinin hastalanmasına (30), Japonya’da da 7000 okul çağındaki çocuğun zehirlenmesine neden olmuştur (59).

Etken, vücuda alındıktan sonra inkübasyon periyodu 3-8 gün arasında değişmekte ve genellikle krampla seyreden karın ağrısı, kusma, mide bulantısı, gastroenteritis, ishal, kanlı ishal ve hemorajik kolit gibi klinik semptomlara neden olmaktadır (22). Bunlardan hemorajik kolit, yaklaşık 5-10 gün sonra ilerleyerek hemorajik üremik sendroma (HUS) dönüşebilmekte, bu da şiddetli anemi ve böbrek yetmezliği ile komplike olabilmektedir (36). HUS semptomları gösteren özellikle okul çağındaki çocuklar ile yaşlı bireylerin yaklaşık % 5’i akut dönemde ölmekte, VTEC O157 ile enfekte olan insanların ise yaklaşık % 50’si hastanelerde tedavi edilmektedir (11). EHEC, ayrıca Trombotik-Trombositopenik Purpura (TTP)’ya neden olmakta, özellikle yaşlı bireylerde beyin trombozlarına neden olarak ölüm şekillendirmekte ve letaliteyi arttırmaktadır (34).

E. coli O157:H7’nin insanlara bulaşmasında en önemli yol, kontamine gıdalardır. Bunlar içerisinde de hayvansal gıdalar başta gelir. Bu gıdaların enfekte sığır dışkısı ile ya doğrudan yada dolaylı yoldan kontaminasyonu önemli rol oynamaktadır. Sığır dışkısı ile süte, ete, toprağa, suya ve dolayısıyla her yere bulaşan bu serotip sonuçta, bitkisel ürünlerle dahi insanlara taşınabilmektedir (48).

Bu nedenle hayvansal kaynaklı gıdaların etken yönünden incelenmesi ve kontaminasyon oranlarının ortaya konulması, olası bir salgını veya insandan insana bulaşma gibi ikincil enfeksiyonları önleyeceğinden dolayı halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Bitlis ili ve Tatvan ilçesinde bulunan çeşitli market ve kasaplardan sağlanan her biri 100 adet olan sığır eti, sığır kıyması, tavuk eti, çiğ süt ve çiğ süten üretilmiş peynir örneği ile bulaşmada önemli bir kaynak teşkil eden 100 adet sığıra ait rektal swab (dışkı ile iyice bulanmış) örneği materyal olarak kullanıldı. Aseptik şartlarda alınan gıda örnekleri (yaklaşık 200 gram) soğuk zincir altında laboratuara getirildi ve aynı gün incelendi. Örnekler, analizler sonuçlanıncaya kadar buzdolabında muhafaza edildi. Analiz örnekleri Mart-Temmuz 2004 tarihleri arasında temin edildi.

***E. coli* O157:H7' nin izolasyon ve identifikasyonu:** İzolasyon amacıyla, analizi yapılacak her bir gıda örneği (sığır eti, sığır kıyması, tavuk eti, çiğ süt, peynir) ayrı olarak steril stomacher torbalara 25'er gr tartılarak üzerine 225 ml Novobiocin içeren modifiye Tryptone Soy Broth (Oxoid CM813; Oxoid SR181E) ilave edilip stomacherde 2 dakika homojenize edildi. Hazırlanan homojenizat ve rektal swab örnekleri de, içerisinde 9 ml Novobiocin içeren EC Broth (Merck 1.14582)'lu tüplere konarak 42°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı (10,54).

İnkübasyon sonrası, her bir homojenizattan bir öze dolusu olmak üzere Cefixime-Tellurite Supplement (Oxoid, SR172E) içeren Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid, CM813)'a çizme yöntemi ile ekildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi (10,54).

İnkübasyondan sonra CT-SMAC besiyerinde gelişen renksiz kolonilerden (sorbitol aktivitesi negatif) 4-5 koloni seçilerek indol testi yapıldı. İndol testi pozitif kolonilerin β -glukoronidaze aktivitesini belirlemek için Fluorocult O157:H7 Agar (Merck; 1.04036)'a öze ile ekimleri yapıldı ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası karanlık odada uygulanan UV testinde (366 nm, Merck; 13203)

florans ışıması vermeyen koloniler β -glukoronidaze aktivitesi yönünden negatif olarak değerlendirildi. Böylece, sorbitol ve β -glukoronidaze negatif olarak belirlenen kolonilerden *E. coli* O157 serotipini belirlemek için, bu kolonilere O157 lateks aglütinasyon test kiti (Oxoid, DR620M) uygulandı (13). Bu çalışmada, ayrıca hem sorbitol hem de β -glukoronidaz pozitif sonuç veren kolonilere de O157 lateks aglütinasyon testi uygulandı.

E. coli O157 olarak tanımlanan kolonilerin her biri Nutrient Agar (Merck, 105450)'a çizme yöntemiyle ekildi ve 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası besiyerleri; H7 flagellar antijen (immobilizasyon testi), verotoksijenite (verotoksin testi) ve biyokimyasal testleri yapılmak üzere 4°C'de saklandı.

H7 flagellar antijenin belirlenmesi (H7 immobilizasyon testi): Flagellar antijen tespiti için H7 immobilizasyon testi yapıldı (37). Test, hazırlanan yarı katı *E.coli* H7 antiserumlu immobilizasyon test besiyerinde (Denka Seiken, 211057) uygulandı. İğne uçlu öze ile her kültürden, 1/64–1/ 65.536 oranında H7 antiserumu içeren test ve kontrol besiyeri tüplerine 0,3 cm derinliğinde batırılarak inokülasyon yapıldı ve tüpler 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Kontrol tüpünde ve 1/65.536'lık tüpte dibe kadar üreme, 1/64'lük tüpte sadece inokülasyon yerinde kalan üreme H7 pozitif olarak kabul edildi. 12 tüpün her birinde dibe kadar olan üreme ise negatif olarak kabul edildi.

Verotoksijenik serotiplerin belirlenmesi: *E.coli* O157 ve *E.coli* O157:H7 olarak belirlenmiş suşların verotoksin tiplerini tespit amacıyla Glisa Duopath Verotoxin immünokromotografik hızlı test kartuşları (Merck, 1.04144) kullanıldı. *E. coli* O157 ve *E.coli* O157:H7 kolonilerinin saf kültürlerinden bir öze dolusu alınarak, içerisinde 1ml Caye buyyon supplement (Merck, 1.00051) bulunan Caye buyyon (Merck, 1.00060)'lu tüplere inokülasyon yapıldı. Bu tüpler 37°C'de 6 saat inkübasyondan sonra vortekslendi ve sonra inokulumdan 180 μ l alınarak ependorf tüpüne konuldu ve üzerine ayrıca 20 μ l polimiksin B sülfat (Merck, 1.09875) ilave edilerek 35-37°C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra buradan 160 μ l alınarak test kartuşuna aktarıldı. İnoküle edilen test kartuşları oda sıcaklığında (24-26°C) 20 dakika bekletildi. Kartuşun üzerinde oluşan kırmızı hat sadece kontrol bölgesinde ise verotoksin negatif, VT1 bölgesinde ise

verotoksin 1 pozitif, VT2 bölgesinde ise verotoksin 2 pozitif ve her iki bölge üzerinde de kırmızı hat oluştuğunda verotoksin 1 ve verotoksin 2 birlikte pozitif olarak değerlendirildi (14).

Biyokimyasal özelliklerin belirlenmesi: İdentifiye edilen suşların biyokimyasal özelliklerini belirlemek için adenitol, arabinoz, dulsitol, glikoz, gliserol, ksiloz, laktoz, maltoz, mannitol, myo-inositol, rafinoz, ramnoz, salisin, sükroz, trehaloz fermentasyon, oksidaz, indol, metil red, Voges Proskauer, sitrat, üreaz, H₂S, fenilalanin deaminasyonu, lizin-arginin-ornitin dekarboksilasyonu, jelatin hidrolizi, KCN'de üreme, DNase ve nitrit redüksiyon aktivitesi, β-galaktosidaz, eskülin hidrolizi, hareket ve glikozdan gaz oluşturma testleri yapıldı (13,14,15,17,19,53).

BULGULAR

İdentifiye edilen *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7'nin analiz örneklerinde belirlenen izolasyon oranları ve oluşturdıkları toksin tipleri ve dağılımları Tablo 1'de verildi.

Tablo 1. Analiz örneklerinde izole ve identifiye edilen *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 serotiplerinin bulunma oranları ve oluşturdıkları toksin tipleri ve dağılımları

Örnekler	n	<i>E. coli</i> O157		<i>E. coli</i> O157:H7		Toksın Tipleri ve (adedi)	
		n ₁	(%)	n ₁	(%)		
Kıyma	100	1	(1)	-	-	VT2 (1) ³	-
Sığır eti	100	1	(1) ¹	-	-	-	-
Tavuk eti	100	-	-	-	-	-	-
Çiğ süt	100	2	(2)	2	(2)	VT2 (1) ⁴	VT1+VT2 (1) ⁴
Peynir	100	-	-	-	-	-	-
Sığır dışkı	100	4	(4) ²	2	(2)	VT2 (2) ⁴	-
TOPLAM	600	8	(1.33)	4	(0.66)	4	1

n: Analiz edilen örnek sayısı; n₁: n içinde bulunan pozitif örnek sayısı; 1: sorbitol ve β-glukoronidaze pozitif; 2: İki adedi β-glukoronidaze pozitif; 3: *E. coli* O157 serotipinden; 4: *E. coli* O157:H7 serotipinden

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada 300 et ve et ürünü ile 200 adet süt ve süt ürünü olmak üzere incelenen 500 adet hayvansal kaynaklı gıda maddesinin 4'ünden (%0.8) *E. coli* O157 serotipi izole edildi. İzole edilen 4 etkenin ikisi *E. coli* O157:H7 olarak identifiye edildi. Tavuk

eti ve peynir örneklerinin hiç birisinde *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 serotipi belirlenemezken, *E. coli* O157 sığır eti ve kıyma örneklerinden 1'er (% 1) örnekte, çiğ süt örneklerinde 2 (% 2) örnekte saptandı. Çiğ süt örneklerinde belirlenen *E. coli* O157 serotiplerin tamamı *E. coli* O157:H7 olarak tespit edildi (Tablo 1).

Bu çalışmada, *E. coli* O157 kıyma ve sığır eti örneklerinin % 1'inde (2/200) bulunmuştur (Tablo 1). Bu değer, Coia ve ark. (29)'nın bulduğu değerlerden yüksek, bazı araştırmacıların (18,25,48) tespit ettiği değerlere yakın ve bazı araştırmacıların (4,9,24,52) bulduğu değerlerden düşük bulunmuştur. Yürütülen çalışmada kıyma ve sığır eti örneklerinde *E. coli* O157:H7 serotipi belirlenememiştir. Bir kısım araştırmacıda (3,28,32,48,55,57) aynı sonuca ulaşırken, bazı araştırmacılar (4,6,21,27,35) analiz örneklerinde *E. coli* O157:H7 serotipini tespit etmişlerdir.

Bu araştırmada incelenen 100 adet tavuk eti örneğinde hem *E. coli* O157 hem de *E. coli* O157:H7 serotipi izole edilememiştir (Tablo 1). Ülkemizde tavuk etlerinde *E. coli* O157:H7'nin saptanmasına yönelik çok az sayıda araştırma bulunmaktadır. Bunlardan; Ağaoğlu ve Güdücüoğlu (2) inceledikleri 90 adet tavuk eti örneğinde etkeni saptayamamışlar ve Akkaya ve ark. (5) inceledikleri 190 adet parça tavuk eti örneğinden 2'sinin (% 1,05) *E. coli* O157:H7 ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir. Yurtdışında ise Doyle ve Schoeni (35), 263 adet kanatlı etinin 4'ünde (% 1,5) *E. coli* O157:H7, Lukasova ve ark. (47), 987 örneğin 9 adedinde (% 0,91), Chiueh ve ark. (28), 1623 örneğin 2 adedinde (% 0,12) *E. coli* O157 saptamışlardır.

Bu çalışmada, *E. coli* O157:H7 serotipi çiğ sütlerde % 2 (2/100) oranında saptanmıştır. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, bazı araştırmacılar (6,18,26,32,50) etkeni izole ederken, bazı araştırmacılar (3,16,29,44,58) süt ve çiğ sütlerde *E. coli* O157:H7'yi tespit edememişlerdir. Bu çalışmada elde edilen değer, Dontorou ve ark. (32)'nin bulduğu değerden yüksek, Padhye ve Doyle (50) ile Chapman ve ark. (26)'nin buldukları değerden düşük, Aksu ve ark. (7) ile Aslantaş ve Yıldız (18)'in değerleri ile benzer bulunmuştur. *E. coli* O157'nin genelde sağılan sütte bulunmadığı, etkenin büyük olasılıkla sütün sağımı esnasında fekal bulaşma ile süte geçtiği bildirilmektedir (43).

Bu nedenle salgınların kontrol altına alınmasında; nakil sırasında uygun şartların oluşturulması, çiftliklerde hijyenik bir sağım ortamının sağlanması, dışkı kontaminasyonunun minimize edilmesini sağlayacak önlemlerin sağlanması ve tüketicinin sütü uygun bir şekilde pişirmesi gibi birçok faktör rol oynamaktadır. Özellikle büyük süt çiftliklerinde, dışkının su ile temizlenmesi oldukça yaygın bir uygulamadır. Bu uygulama dışkının ortamdan hızla uzaklaştırılmasında etkili olmakla birlikte, çiftlik içerisinde fekal floranın yayılmasına da neden olmaktadır. Nitekim çiftlik ortamlarındaki sularda *E. coli* O157:H7 izole edildiği ve su içerisinde uzun bir süre yaşayabildiği kanıtlanmıştır (38).

Bu çalışmada, köylerde geleneksel yöntemlerle çiğ süttten otlu ve otsuz olarak üretilmiş peynir örneklerinde *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 serotipleri incelenmiş, ancak her iki etkende izole edilememiştir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda; Aksu ve ark. (6), 50 salamura peynir örneğinin 1'inde (%2) *E. coli* O157:H7, Aslantaş ve Yıldız (18), 100 adet beyaz peynir örneğinin 1'inde (%1) *E. coli* O157:H- izole etmişlerdir. Coia ve ark. (28), çiğ süttten yapılmış toplam 739 adet peynir örneğinde etken izole edilememişlerdir. Bitlis ili ve çevresinde genelde çiğ süttten yapılmış otlu peynir üretilmekte ve yoğun olarak ta tüketilmektedir. Bu çalışmada incelenen köy tipi peynir örneklerinin yaklaşık yarısını otlu peynir örnekleri oluşturmuş ve örneklerin tümünde *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 izole edilememiştir. Bu sonuçlara; peynire katılan yabancı sarımsağın antimikrobiyal etkisi neden olabileceği gibi, örneklerin olgunlaşmasını tamamlamış peynir örnekleri olması da etkili olmuştur. Nitekim, Alemdar (8), *E. coli* O157:H7 serotipi ile farklı düzeylerde inoküle ederek hazırladığı gömme tipi otlu peynirlerde olgunlaşma periyodu sonunda etkenin izole edilemediğini bildirmiştir.

Sonuçlar arasındaki bu farklılıklar, kullanılan metot, analiz örneği miktarı, alınan örneklerin kaynağı ve satış şekli, bölge ve iklim değişikliği, işletme ve personel hijyeni eksikliğinden kaynaklanmış olabileceği gibi, aynı zamanda bölgelerdeki *E. coli* O157 infeksiyonlarının yaygınlığı ile de ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Etkenin en önemli rezervuarının sığırlar olduğu bilinmektedir. Etken karkaslara genellikle kesim sırasında hijyenik önlemlerin alınmaması durumunda enfekte

hayvanların bağırsak içeriği ile bulaşabilmektedir. (24). Yürütülen bu çalışmada da, sığır dışkısı kontaminasyonlarda birinci derecede rol oynadığından incelemeye alınmış ve inceleme sonucunda 100 adet sığır dışkısı örneğinin 4'ünde (% 4) *E. coli* O157 serotipi saptanmıştır. Bunlardan 2'si *E. coli* O157:H7 olarak tanımlanmıştır. Bazı araştırmacılar (7,24,39), dışkı örneklerinde *E. coli* O157 serotipini ortalama % 4-5 oranında saptamışlardır. Bu sonuçlar, yürütülen çalışma sonuçlarıyla oldukça uyumlu bulunmuştur. Bu değerler bazı araştırmacıların (20,24,42) bulgularından düşük, bir kısım araştırmacıların (31,33,38,39,60) değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Bu farklılıklar, kullanılan metot, alınan örneklerin kaynağı, bölge ve iklim değişikliği, ahır hijyeni eksikliğinden kaynaklanmış olabileceği gibi, aynı zamanda bölgelerdeki *E. coli* O157 infeksiyonlarının yaygınlığının da rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte *E. coli* O157:H7 izole etmek için kullanılan metotların duyarlılığı ve kesinliğinin sürekli gelişmesi, *E. coli* O157:H7'lerin analiz örneklerinden izole ve tanımlanma oranına katkı sağlayacaktır.

Türkiye'de bazı hayvansal kaynaklı ürünlerde *E. coli* O157'nin varlığı üzerine yapılan araştırmalar içerisinde, tanımlanmış suşların verotoksin üretimi üzerine yapılan araştırma (4,5,7,39,52,58) sayısı oldukça sınırlıdır. Sarımehtemoğlu ve ark. (52), 100 adet hamburger köfte örneğinde 2 adet, 100 adet inegöl köfte örneğinde 5 adet olmak üzere toplam 7 adet verotoksin oluşturan *E. coli* O157:H- saptamışlardır. Akkuş (7) 80 adet sığır dışkısı örneğinde 4 adet verotoksin oluşturan *E. coli* O157:H7, Gülhan (39), 430 adet dışkı (sığır + buzağı) örneğinde 7 adet verotoksijenik özellikte *E. coli* O157 bulmuştur. Tolun ve ark. (58), 74 adet peynir örneğinin bir adetinde VTEC O8:H- ve Osp:H25 serotipi belirlemiştir.

Bu çalışmada, 100 adet çiğ süt örneğinde biri VT1+VT2'yi birlikte ve diğeri VT2 üreten 2 adet verotoksijenik *E. coli* O157:H7, 100 adet kıyma örneğinde VT2 üreten bir adet verotoksijenik *E. coli* O157, 100 adet sığır dışkısı örneğinde VT2 üreten 2 adet verotoksijenik *E. coli* O157:H7 olmak üzere toplam 5 adet (%1,66) verotoksijenik *E. coli* O157 tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu değer Tolun ve ark. (58)'nin bulduğu değerlerden yüksek, Sarımehtemoğlu ve ark. (52), Akkuş (7) ile Gülhan (39)'ın bulduğu

değerlerden düşük bulunmuştur. Çalışmanın bulguları verotoksin tipleri açısından karşılaştırıldığında, Akkaya ve ark. (4,5)'nin bulguları ile VT1+VT2 toksinini birlikte üretmek yönünden benzer, fakat yürütülen çalışmada VT2 toksini belirlenirken, Akkaya ve ark. (4) VT1 toksini saptamışlardır.

Synge (56), farklı verotoksin üreten *E. coli* O157'lerin bulunma oranının coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterdiğini bildirmiştir. Araştırmacı, İskoçya'da VT2 üreten *E. coli* O157 serotipleri %94,9 oranında bulunurken, Washington'da %33 oranında bulunduğunu, VT1-2 üreten *E. coli* O157 serotiplerinin oranı İskoçya'da %4,9 iken Washington'da %66,5 oranında bulunduğunu belirtmiştir. Willshaw ve ark. (61), 1995-1998 yılları arasında İngiltere ve Galler'deki lokal ve genel salgınlarda elde edilen VTEC O157 izolatlarının %76'sının VT2 ürettiğini, %23,3'ünün ise VT1+VT2'yi birlikte ürettiğini tespit etmişlerdir. Yürütülen bu çalışmada, 5 adet VTEC O157 serotipinden 4'ünün (%80) VT2 ürettiği, 1'inin (%20) ise VT1+VT2'yi birlikte ürettiği tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu bulgular Willshaw ve ark. (61)'nin bulgularıyla büyük oranda benzerlik göstermiştir. Aynı araştırmacıların bulguları ile bu çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde Avrupa'da VT2 üreten, ABD'de VT1+VT2'yi birlikte üreten *E. coli* O157 serotiplerinin daha fazla bulunduğu sonucunun ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada izole edilen 4 adet *E. coli* O157 ve 4 adet *E. coli* O157:H7'nin biyotiplendirmesi yapılmıştır. Biyotiplendirme sonucunda; *E. coli* O157:H7 serotipleri sorbitol negatif, süktroz ve rafinoz pozitif sonuç vermiştir. Krishnan ve ark. (46), *E. coli* O157:H7'lerin sürekli aynı sonuçları vermesini diğer *E. coli* serotiplerinden farklı olmasına bağlamışlardır. Elde ettiğimiz sonuçlar Krishnan ve ark. (46)'nin bulgularıyla benzer bulunmuştur. Aynı araştırmacılar (46), izole ettikleri 4 farklı *E. coli* O157:H7 biyotipinin ayırt edilmesinden dulsitol ve ramnoz testlerinin sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, yürütülen bu çalışmada izole edilen *E. coli* O157:H7 serotiplerinin tamamı dulsitolü fermente etmiştir. Yine de bu bulgu, Kodaka ve ark. (46)'nin elde ettiği sonuçla aynı bulunmuştur. Bu çalışmada, *E. coli* O157:H7 izolatlarının bir kısmı ramnozu kullanırken bir kısmı kullanamamıştır. Yapılan çalışmalarda (1,40,46), ramnozu kullanamayan *E. coli* O157:H7 serotiplerinin

bulunduđu bildirilmiřtir. Bu veriler ışığında ramnozun *E. coli* O157:H7'nin biyotiplendirilmesinde dikkate alınması gereken bir test olduđu dűřűnűlebilir.

İzole edilen 4 adet *E. coli* O157'lerde yapılan biyotiplendirme neticesinde; sadece bir izolat *E. coli* O157:H7'den aynı test sonuçları vermiştir. Sığır eti ve kıymadan izole edilen iki serotipte sűkroz ve rafinoz negatif iken, sorbitol birinde pozitif diğerinde ise negatif sonuçlanmıştır. Ayrıca her iki serotip ornitini dekarboksile edememiştir. Dışkılardan izole edilen iki serotipte ise *E. coli* O157:H7'de olduğu gibi sűkroz ve rafinoz pozitif, sorbitol negatif sonuçlanmıştır. Haldane ve ark. (40), VTEC *E. coli* O157:H7 serotiplerinin ornitini ve lizini dekarboksile ettiğini ve bu iki biyokimyasal testin kullanılması ile serotiplendirilecek etken sayısını azalttđını ve biyokimyasal identifikasyonun % 33.6'ya yükseldiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada da izole *E. coli* O157:H7 serotipleri lizin ve ornitini dekarboksile etmiştir. Bu bulgu araştırmacıların (40) yapmış olduğu tespit ile uygunluk gűstermekle beraber, *E. coli* O157 serotiplerinde elde ettiğimiz sonuçlarla uyuşmamaktadır.

E. coli O157 serotipleri içerisinde sorbitol ve MUG aktivitesi pozitif olan suřlar nadiren gűzűkmesine rađmen, *E. coli* O157:H7 serotipleri arasında bulunma olasılıđı daha dűřűktűr. Nitekim yűrűtűlen bu çalıřmada da, tespit edilen *E. coli* O157:H7 serotiplerinin tamamı sorbitol ve MUG aktivitesi negatif iken, *E. coli* O157 serotipleri içerisinde bu űzellikler nadiren gűzűlenmiřtir. Bu bulgular ışığında, űzellikle verotoksijenik *E. coli* O157:H7 serotiplerinde sorbitol ve MUG aktivitelerinin negatif olması, identifikasyonda belirleyici bir kriter olarak kabul edilebilir. Yapılan birçok arařtırmada (2,6,18,23,38,39,42,48,52) benzer sonuçlar elde edilmiřtir.

Bununla birlikte, Okrend ve ark. (49), deneysel amaçlı yaptıkları çalıřmalarda űnemli űlűde MUG negatif, sorbitol negatif izolat elde ettiklerini, ancak bunların bűyűk çođunluđunun deđerlendirme testlerinde *E. coli* O157:H7 olarak tespit edemediklerini bildirmiřlerdir.

İlk olarak 1995 yılında ABD'de kanlı ishali olan bir hastadan izole edilen, ̢-glukuronidaz aktivitesi gűsteren atipik VTEC *E. coli* O157:H7 serotipine takip eden

yıllarda Akdeniz ülkeleri olan İtalya'da sığır dışkılarında ve Yunanistan'da keçi dışkısında rastlanmıştır (20,33,41). Çalışmamızda elde edilen hareketli fakat H7 antiserumu ile negatif reaksiyon veren *E. coli* O157 serotiplerinin 3'ü β -glukuronidaz aktivitesi göstermiştir. Sığır dışkılarından izole edilen *E. coli* O157 serotiplerinden birinin β -glukuronidaz aktivitesi dışında tüm biyokimyasal özellikleri *E. coli* O157:H7 serotipi ile aynı olduğu tespit edilmiştir. Diğer serotip ise yine β -glukuronidaz aktivitesi göstermekle beraber ramnoz'u kullanamayan *E. coli* O157:H7 serogrupları gibi aynı biyokimyasal özellikleri vermiştir. Elde ettiğimiz bulgular, Türkiye'de, β -glukuronidaz atipik *E. coli* O157:H7 serotiplerinde varolabileceğini düşündürmektedir.

E. coli O157'nin prevalansı; coğrafi bölge, hayvanın türü, yaşı ve cinsiyeti gibi birçok faktörün yanı sıra mevsim faktörü tarafından da önemli ölçüde etkilenmektedir. Yaz aylarında prevalansı daha yüksek çıkmaktadır. Yürütülen çalışmada, belirlenen 8 adet *E. coli* O157 serotiplerinden 2 adedi Mart, 1 adedi Mayıs ve 5 adedi Haziran ayında bulunmuştur. Garber ve ark. (38), ilkbahar (%7) ile karşılaştırıldığında yaz aylarında (%52.9) prevalansı daha yüksek belirlemişlerdir. Nitekim, Bonardi ve ark. (20)'da benzer sonuca ulaşmışlardır. Araştırmacılar (20); Mayıs-Eylül aylarında gözlemlenen *E.coli* O157'ye bağlı enfeksiyon vakaları ile sığırlarda aynı dönemlerde belirlenen yüksek mikroorganizma izolasyon oranı arasında paralellik olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışma ile, Bitlis ili ve çevresinde satılan et ve süt ürünlerinde *E. coli* O157:H7 varlığı kanıtlanmıştır. Ayrıca bu mikroorganizmanın, bölgedeki sığırların dışkılarından da izole edilmesi, bölgede üretilen hayvansal kaynaklı gıdaların kontaminasyonunda sığır dışkılarının rol oynayabileceğini de düşündürmektedir. Bitlis ili ve çevresinde *E. coli* O157 ve *E. coli* O157:H7 serotiplerinin ana rezervuarı olan sığırlarla, et ve süt ürünlerinde bulunması ve bunların bir kısmının verotoksin üretmesi bu konuda besi ve süt çiftliklerden başlayarak üretim, işleme ve tüketim aşamalarına kadar oluşan problemlerin belirlenmesini ve bu problemlere karşı etkin önlemlerin alınmasını gerekli kılmaktadır.

Sonuç olarak; gıdalardaki kontaminasyon oranı düşük olsa bile hastalık oluşturma yeteneği ve kros kontaminasyon riski yüksek olan *E. coli* O157'den korunmada hayvanların bakım, beslenme ve barındırma şartlarının iyileştirilmesi, hayvancılıkla

uğraşan işletmecilerin bilinçlendirilmesi ile üretimden tüketiciye ulaşana kadar gelişmiş ülkelerde geniş uygulama alanı bulan HACCP yaklaşımının devreye girmesinin toptan, kalıcı ve sağlam bir çözüm getireceği düşünülmektedir. Ayrıca tüketicilerin bilinçlendirilmesi ve bu kapsamda; çiğ yada yarı pişirilmiş kıymadan hazırlanan çiğ köfte ve içli köfte ile ısıtılmış işlem görmemiş çiğ sütlerden yapılan taze peynir gibi bölgeye has tüketim alışkanlıklarının değiştirilmesi, et ve et ürünlerinin tüketiminde soğuk zincir kurallarına uyulması, pişirme esnasında ısıtılmanın yeterli derece ve sürede uygulanmasının geçici fakat etkin bir çözüm olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Abbott SL, Hanson DF, Felland TD, Connell S, Shum AH, Janda JM (1994). *Escherichia coli* O157:H7 generates a unique biochemical profile on MicroScan conventional gram-negative identification panels. J. Clin. Microbiol., 32: 823-824.
2. Ağaoğlu S, Güdücüoğlu H (1999). Identification of *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *Shigella* and *Campylobacter* isolated from retail chicken products sold unpacked in Van. Bulletin of Pure and Applied Sciences, 18A (1): 25-30.
3. Ağaoğlu S, Yavuz MT, Berktaş M and Güdücüoğlu H (2000). Detection of *E. coli* O157:H7 in retail ground beef, raw ground beef patties and raw meat balls sold in Van. EJM, 5, 2, 43-46
4. Akaya L, Kenar B, Atabay H and Alişarlı M (2005). The prevalence of verocytotoxigenic *E. coli* O157:H7 in minced meat and ground beef sold in Afyon province. P52, 1st. Int Food and Nutrition Congress, 15-18 June 2005, İstanbul.
5. Akaya L, Alişarlı M, Atabay H and Kenar B (2005). The prevalence of verocytotoxigenic *E. coli* O157:H7 in poultry meat sold in Afyon province. P123, 1st. Int Food and Nutrition Congress, 15-18 June 2005, İstanbul.
6. Aksu H, Arun ÖÖ, Aydın A, Uğur M (1999). *Escherichia coli* O157:H7'nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı. Pendik Vet. Mikrobiyol. Derg., 30 (2): 77-81.
7. Akkış F (1996). Hazır sığır kıymalarında verotoksin oluşturan *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu. Ankara Üniv., Sağlık Bil. Enst., Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora tezi, 67 sayfa.
8. Alemdar S (1999). Van ili et satış yerlerinde çevre ve personel hijyeni üzerine araştırmalar. Y.Y. Ü. Sağlık Bil. Enst. Yüksek Lisans Tezi, Van.
9. Alişarlı M, Akman HN (2004). Perekende satılan kıymaların *Escherichia coli* O157 yönünden incelenmesi, YYÜ Vet Fak Derg, 15, 1-2, 65-69.
10. Anonim (2003). Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi- *Escherichia coli* O157'nin Tespiti İçin Yatay Yöntem, TS EN ISO 16654, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
11. Anonymous WHO (1995): Report on erocytotoxin-producing *E. coli*. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food, London:HMSO.
12. Anonymous WHO (1997): Prevention and control enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) infections: Report of a WHO consultation. Geneva.
13. Anonymus (1998). The Oxoid Manual, 8th Ed., Published by United Kingdom, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, England
14. Anonymus (2002). Merck Microbiology Manual. <http://service.merck.de/microbiology/>
15. Anonymus (2001). Bacteriological Analytical Manual Online. [F:\KCN broth\FDA-CFSAN BAM Potassium Cyanide \(KCN\) Broth.htm](http://www.fda.gov/cfsan/bam/potassiumcyanide/kcn_broth.htm)
16. Ansay SE, Kaspar CW (1997). Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for *Escherichia coli* O157:H7, Lett. App. Microbiol., 25 (2): 131-134.
17. Arda M (1985). Genel Bakterioloji 3. Baskı, Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay., 402, Ankara.
18. Aslantaş Ö, Yıldız P (2002). Kars Yöresinde Hayvansal Kaynaklı Gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7 İzolasyonu. Vet. Bil. Derg., 18 (1-2): 107-111

19. Bekar M (1997). Enterobacteriaceae Familyası Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri, Etlik Hay. Hast. Araşt. Enst., Ankara Yay. No:97-1.
20. Bonardi S, Maggi E, Bottarelli A, Pacciarini ML, Ansuini A, Vellini G, Morabito S, Caprioli A (1999). Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at a slaughter in Italy. Vet. Microbiol., 67: 203-211.
21. Cebiroğlu H, Nazlı B (1999). Dondurulmuş hamburger köfte ve diğer köfte çeşitlerinde enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığı üzerine araştırmalar. İstanbul Univ. Vet. Fak. Derg., 25 (1): 107-121.
22. Chapman PA (2000). Sources of *Escherichia coli* O157 and experiences over the past 15 years in Sheffield, UK. J App Microbiol Symp Suppl, 88: 51S-60S.
23. Chapman PA, Siddons CA, Gerdan Malo AT, Harkin MA (1997). A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. Epidemiol Infect, 119 (2): 245-250.
24. Chapman PA, Siddons CA, Wright DJ, Norman P, Fox J, Crick E (1993). Cattle as a possible source of verocytotoxin-producing *E. coli* O157 infections in man. Epidemiol Infect., 111 (3): 439-447.
25. Chapman PA, Siddons CA, Gerdan Malo AT, Harkin MA (1996). Lamb products as a potential source of *Escherichia coli* O157. Vet. Rec., 142: 427-428.
26. Chapman PA, Wright DJ, Higgins R (1993). Untreated milk as a source of verotoxigenic *E. coli* O157. Vet. Rec., 133 (7): 171-172.
27. Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chillemi 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. J Food Prot. 64(9): 1346-1351.
28. Chiueh L, Shiang W, Shih DY (2001). Characterization of *Escherichia coli* serotype O157 strains isolated in Taiwan by PCR and multilocus enzyme analysis. J Clin Microbiol, 9 (1): 12-19.
29. Coia JE, Johnston Y, Steers NJ, Hanson MF (2001). A survey of the prevalence of *Escherichia coli* O157 in raw meats, raw cow's milk and raw-milk cheese in south-east Scotland. (2001). Int. J. Food Microbiol., 66: 63-69.
30. Cowden JM (1997). Recent outbreaks of *E. coli* O157 in Scotland. Suppl. SCIEH Weekly Report. 97: 6-7.
31. Çabalar M, Boynukara B, Gülhan T and Ekin İH (2001). Prevalence of rotavirus, *Escherichia coli* K99 and O157:H7 in healthy dairy cattle herds in Van. Turk J Vet Anim Sci, 25: 191-196.
32. Dontorou C, Papadopoulou C, Filioussis G, Economou V, Apostolou I, Zakkas G, Salamoura A, Kansouzidou A, Levidiotou S (2003). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. Int. J. Food Microbiol., 82: 273-279.
33. Dontorou A, Papadopoulou C, Filioussis G, Apostolou I, Economou V, Kansouzidou A, Levidiotou S (2004). Isolation of a rare *Escherichia coli* O157:H7 strain from farm animals in Greece. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 27: 201-207.
34. Doyle MP (1991). *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. Int. J. Food Microbiol., 12: 289-302.
35. Doyle MP, Schoeni JL (1987). Isolation of *E. coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl. Env. Microbiol., 53(10): 2394-2396.
36. Eileen P, Virginia WJ, Susan MF (2001). *E. coli* O157:H7: Etiology, clinical features, complications and treatment. Nephrol. Nurs. J., 28: 5.
37. Farmer JJ and Davis BR (1985). H7 antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol., 22: 620-625.
38. Garber L, Wells S, Schroeder-Tucker L, Ferris K (1999). Factors associated with fecal shedding of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on dairy farms. J. Food Prot., 62 (4): 307-312.
39. Gülhan T (2003). Sağlıklı görünen hayvanların dışkılarından izole edilen *E. coli* suşlarının biyokimyasal, enterotoksijenik ve verotoksijenik özelliklerinin belirlenmesi. Y.Y. Ü. Sağlık Bil. Enst., Doktora Tezi, 78 sayfa.
40. Haldane DJM, Damm MAS, Anderson JD (1986). Improved biochemical screening procedure for small clinical laboratories for vero (shiga-like)-toxin-producing strains of *Escherichia coli* O157:H7. J. Clin. Microbiol., 24 (4): 652-653.
41. Hayes PS, Blom K, Feng P, Lewis J, Strockbine NA and Swaminathan B (1995). Isolation and characterization of a β -D-glucuronidase-producing strain of *Escherichia coli* serotype O157:H7 in the United States. J Clin Microbiol. 33, 3347-3348.

42. Heuvelink AE, Van Den Biggelaar FLAM, De Boer E, Herbes RG, Melchers WJG, Huis In't Veld JHJ, Monnens LAH (1998). Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from Dutch cattle and sheep. *J. Clin. Microbiol.*, 36 (4): 878-882.
43. Heuvelink AE, Van Den Biggelaar FLAM, Zwartkruis-Nahuis JTM, Herbes RG, Huyben R, Nagelkerke N, Melchers WJG, Monnens LAH, De Boer E (1998). Occurrence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on Dutch dairy farms. *J. Clin. Microbiol.*, 36 (12): 3480-3487.
44. Heuvelink AE, Bleumink B, Van Den Biggelaar FLAM, Te Giffel MC, Beumer RR, De Boer E (1998). Occurrence and survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in raw cow's milk in the Netherlands. *J. Food Prot.*, 61 (12): 1597-1601.
45. Kodaka H, Uesaka Y, Kashitani F (2004). Nissui glucose fermentative gram-negative rod identification system EB-20 gives a unique profile for typical non-sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Microbiol.*, 42: 354-358.
46. Krishnan C, Fitzgerald VA, Dakin SJ, Behme RJ (1987). Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Microbiol.*, 25 (6): 1043-1047.
47. Lukasova J, Abraham B and Cupakova S (2004). Occurrence of *Escherichia coli* O157 in raw material and food in Czech republic. *J. Vet. Med.*, 51, 77-81.
48. Noveir MR (1998). Gıda kaynaklı *Escherichia coli* O157:H7 üzerine bir araştırma. Ankara Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora tezi, 70 sayfa.
49. Okrend AJG, Rose BE and Benneth B (1990). A screening method for the isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from ground beef. *J. Food Protect.*, 53, 3, 249-252.
50. Padhye NV, Doyle MP (1991). Rapid procedure for detecting Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Appl. Env. Microbiol.*, 57 (9): 2693-2698.
51. Reilly WJ (1997). *E. coli* O157 in Scotland-an overview. Suppl. to SCIEH Weekly Report. 97: 4-5.
52. Sarımehtetoğlu B, Küplülü Ö, Kaymaz Ş (1998). Hamburger ve İnegöl köftelerinden *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 45: 221-227.
53. Schmidt H, Karch H, Beutin L (1994). The large-sized plasmids of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains encode hemolysins which are presumably members of the *E. coli* alpha-hemolysin family. *FEMS Microbiol. Letters*, 117 (2): 189-196.
54. Scotter, S., Aldridge, M., Capps, K. (2000). Validation of a method for the detection of *E. coli* O157:H7 in foods. *Food Control*, 11, 85-95.
55. Silveira NFA, Silva N, Contreras C, Miyagusku L, Baccin MLF, Koono E, Beraquet NJ (1999). Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburgers produced in Brazil. *J. Food Prot.*, 62 (11): 1133-1135.
56. Synge, BA (2000). Veterinary significance of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157. *World J. Microbiol. Biotech.*, 16: 725-732.
57. Tarr PL, Tran NT, Wilson RA (1999). *Escherichia coli* O157:H7 in retail ground beef in Seattle: results of a one-year prospective study. *J. Food Prot.*, 62 (2): 133-139.
58. Tolun V, Susever S, Yılmaz G, Açı-Küçük M, Açı Ö (2002). İstanbul'da satılan süt ve süt ürünlerinde *Salmonella* ve verotoksijenik *Escherichia coli* (VTEC) varlığının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 32: 48-54.
59. Watanabe H, Wada A, Inagaki Y (1996). Outbreaks of enterohaemorrhagic *E. coli* O157 infection by two different genotype strains in Japan 1996. *Lancet*, 348: 831-832.
60. Wells JG, Shipman LD, Greene KD, Sowers EG, Green JH, Cameron DN, Downes FP, Martin ML, Griffin PM, Ostroff SM, Potter ME, Tauxe RV, Wachsmuth IK (1991). Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga-like-toxin-producing *E. coli* from dairy cattle. *J. Clin. Microbiol.*, 29 (5): 985-989.
61. Willshaw GA, Thirlwell J, Jones AP, Parry S, Salmon RL, Hickey M (1994). Verotoxin-producing *E. coli* O157 in beefburgers linked to an outbreak of diarrhea, haemorrhagic colitis and haemolytic uremic syndrome in Britain. *Lett. Appl. Microbiol.*, 19: 304-307.

MUHAFAZA ŞARTLARININ YUMURTANIN FİZİKSEL KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ^{1,2}

Tahir AVAN

Mustafa ALIŞARLI

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

e-mail. malisarli@yyu.edu.tr

ÖZET: Bu çalışmada, yumurtanın fiziksel kalitesi üzerine muhafaza sıcaklığının etkisi araştırıldı. Bu amaçla; yumurtalar 150'şer adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. 1. Grup 4°C'de ve relativ nem 55-60, 2. Grup 15°C'de ve relativ nem 65-70, 3. Grup oda sıcaklığında (24-26°C) ve relativ nem 65-75 ve 4. Grup 35°C'de ve relativ nem 65-70'de 49 gün süreyle muhafaza edildi. 0, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 42 ve 49 gün sonra yumurta örnekleri alınarak fiziksel olarak analiz edildi. 1. Grup deneme yumurtaları muhafaza süresince tazeliğini kısmen korumuştur. Hava kamarası yüksekliği 21. günde 6,79 mm'ye ulaşırken, haugh birimi 49. günde dahi 74,56 olarak belirlenmiştir. Yoğunluk 35. günde 1,066 olarak bulunmuştur. 2. Grup deneme yumurtalarında ilk 10. günde hava kamarası yüksekliği 7,58 mm, haugh birimi 71,79 ve yoğunluk 1,068 olarak belirlenmiştir. 3. Grup deneme yumurtalarında hava kamarası yüksekliği 10. günde 8,25 mm'ye, haugh birimi 7. günde 72,59 ve yoğunluk 10.günde 1,066 olmuştur. 4. Grup deneme yumurtalarında hava kamarası yüksekliği 7. günde 7,36, haugh birimi 3. günde 70,79 ve yoğunluk aynı günde 1,061 olarak saptanmıştır. Gruplar arası fark istatistiksel olarak 10. günde önemli $p<0,05$ bulunmuştur.

Sonuç olarak, yumurtanın tazeliğinin korunmasında muhafaza sıcaklığının rolü önemli bulunmuştur. Yumurta tazeliğini kesin olarak garanti edecek tek yol iyi bir relativ nem ile soğukta muhafaza olduğu görülmüştür. Sonuçlar özellikle depolanan yumurtalarda soğutmanın gerekli olduğunu göstermektedir. Ayrıca bulgular, tazelik kontrolünde yumurtanın tekstüründeki değişimin hava kamarasındaki artıştan daha önemli olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Yumurta, Raf ömrü, Kalite kontrolü

1: Bu çalışma, Y.Y.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından (Proje no: 2001-VF-010) desteklenmiştir.

2: Bu çalışma, Tahir AVAN'ın Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir

THE EFFECTS OF STORAGE CONDITIONS ON THE PHYSICAL QUALITY OF THE EGG

Tahir AVAN

Mustafa ALİŞARLI

Department of Food Hygiene and Technology, Veterinary Faculty, Yuzuncu Yil University, Van, Turkey.

e-mail: malisarli@yyu.edu.tr

SUMMARY: In this study, the effect of storage temperature was investigated on the physical quality of eggs. For this aim, the eggs were divided into 4 groups, containing 150 eggs in each group. The first group at 4 °C and relative humidity 55-60 %, second group at 15 °C and relative humidity 65-70 %, third group at room temperature (24-26 °C) and relative humidity 65-70 % were stored for 49 days. After 0, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42 and 49 days, the eggs samples were analysed physically. First group samples have found to be remained fresh during storage. The air cell height reached up to 6.79 mm and the Hough unit was examined even as 74-56 at the 49th days. In the second groups, the air cell height reached up to 7.58 mm and the Hough unit and density was found to be 71.79 and 1.068 respectively at the first 10th days. In the fourth group, the air cell height reached up to 7.36 mm at the 7th days. The Hough unit and the density was examined 70.79 and 1.061 respectively at the 3rd days. The differences between the groups were found statically to be important ($p < 0.05$).

As a result, the role of storage temperature was found to be important in keeping of the egg freshness. It was seem that chilling storage and good relative humidity was the only condition to guarantee a certain level of freshness. Our findings show that chilling was especially necessary for stored eggs. In addition, our result indicate that the change of egg texture was more important than the rise of air cell height for the control of egg freshness.

Key Word: Egg, Storage life, Quality control

GİRİŞ

İnsan beslenmesi ve ülke ekonomisi açısından önemli bir besin maddesi olan yumurta, tüketici tarafından kolay temin edilebilen besin değeri yüksek bir gıda maddesi olup, çeşitli alternatiflerle kolaylıkla hazırlanıp tüketilebilmektedir. Özellikle taze tüketilen bu gıda maddesi tüketiciye sunulduğu anda tazeliğinin en yüksek düzeyde olması istenmektedir (4,18).

Ülkemizde yumurta, yumurta muhafazası teknolojileri fazla gelişmediği için ve halkın tercih etmesi sebebiyle daha çok taze olarak tüketilmektedir. Taze olarak tüketilecek yumurtada, farklı depolama sıcaklıklarındaki kalite kaybı takip edilerek uygun depolama sıcaklığının tespiti önem taşımaktadır. Farklı sıcaklık koşullarına bağlı fiziksel kalitedeki değişikliğin tespiti, yumurtanın muhafazası esnasındaki ekonomik kaybın önlenmesi açısından da oldukça önemlidir (4,5,8).

Bu çalışma, farklı koşullarda yeterli tazeliği garanti edecek depolama koşullarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen yumurtalarda muhafaza süresince meydana gelebilecek fiziksel kalite değişiklikleri araştırılmıştır. Böylece muhafaza hatası sonucu gelişen kalite değişikliklerini tespit ederek ekonomik kayıpların önlenmesi için öneriler sunulmuştur.

MATERYAL VE METOT

Yumurta ve Deneme Deseni: Bu çalışmada materyal olarak, sağlıklı bir kümeden (Van Tavukçuluk, Edremit Yolu 10.km, Van) temin edilen 600 adet yumurta örneği kullanıldı. Yumurtaların tartılıp seçilmeleri kümeste gerçekleştirildi. Yumurtalar, 0,001 g duyarlılıkta tartıldı (6). Yumurtalar; aynı günde, yaklaşık eşit ağırlıkta (55 g; $\pm 0,6$ g) ve aynı renkte (beyaz) bir örnek oluşturacak şekilde seçildi.

Yumurtalar 150'şer adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. 1. Grup 4°C'de ve relatif nem %55-60, 2. Grup 15°C'de ve reletiv nem %65-70, 3. Grup oda sıcaklığında (24-26°C)

ve relatif nem %65-75 ve 4. Grup 35°C'de ve relatif nem %65-70'de 49 gün süreyle muhafaza edildi. Yumurta örnekleri 0, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 42 ve 49 gün sonra alınarak fiziksel olarak analiz edildi. Fiziksel analizler için her gruptan 6 yumurta seçildi ve 3'ü haşlama denemelerinde kullanıldı. Haşlanmış yumurtalar sadece bazı iç kalite özellikleri yönünden kontrol edildi.

Etüvün sahip olduğu relatif nemin kontrolü günde en az 3 kez olmak üzere higrometre ile belirlenerek kayıtlara geçirildi. Etüv içi nemi aynı düzeyde tutabilmek için; etüv içerisine, içerisinde nemlendirilmiş pamuk olan petri bırakıldı.

Yumurtada dış kalite ile ilgili ölçümlerinin belirlenmesi: Yumurta örneklerinde kırılmadan önce; ağırlık kontrolü, yoğunluk (özellik ağırlık) ve hava kamarası yüksekliği ölçümleri yapıldı (14). Ayrıca, içinde ışık kaynağı olan ve üzerinde yumurtanın yerleştirileceği bir delik bulunan yumurta kutusu (ovoskop) ile hava kamarası alanı (hava kamarasını çevreleyen çember içerisinde kalan dairenin alanı) çemberi belirlendi (8,14,16). Yumurta, hava kamarası yukarı gelecek şekilde deliğe yerleştirildi. Işığın etkisi ile şeffaf bir görünüm alan yumurtanın hava kamarası alanı çemberi keçeli bir kalem ile marke edildi (Şekil 1). Önce parşömen kağıdına sonrada asetat kağıda geçirilen şekil planimetre yardımı ile ölçülerek alan belirlendi. Kabuk kalınlığını belirlemek için 0,01 mm'ye hassas mikrometre kullanıldı. Bu amaçla, kabuğun sivri, küt ve yan kısımlarından olmak üzere 3 değişik parçasının kalınlığı ölçüldü ve 3 ölçüm değerinin aritmetik ortalaması alınarak kabuk kalınlık değeri belirlendi.

Araştırma süresince, yumurtaların tartım işlemi için 0,01 grama hassas elektrikli, dijital göstergeli terazi ve hava kamarası yüksekliği ölçümü için 0,01 mm'ye hassas dijital göstergeli kompas kullanıldı. Yoğunluk ölçümleri, birbirinden 0,005 kadar ayrılan 1,060 ile 1,100 arasında değişen 9 farklı tuz çözeltisinde yapıldı (14).

Yumurtada iç kalite ile ilgili ölçümlerinin belirlenmesi: Yumurta örneklerinde kırıldıktan sonra, yumurta akı geniş çapı, dar çapı, ak yüksekliği, sarı çapı, sarı yüksekliği, koku ve görünüş belirlendi (14). Araştırma süresince, yumurta iç kalite özelliklerinin belirlenmesi için, yumurta akı geniş çapı, dar çapı ve sarı çapı 0,01 mm'ye

hassas dijital göstergeli kompas ile sarı ve ak yüksekliği 0,01 mm'ye hassas sabit ayaklı mikrometre kullanıldı. İç özelliklere ait bazı değerlerin elde edilmesinde aşağıda belirtilen formüller kullanıldı (14).

- Haugh birimi = $100 \cdot \log [\text{ak yüksekliği (mm)} + 7.57 - 1.7 \text{ yumurta ağırlığı}^{0.37} (\text{g})]$
- Sarı indeksi = $[\text{sarı yüksekliği (mm)} / \text{sarı çapı (mm)}] \cdot 100$
- Ak indeksi = $[\text{ak yüksekliği (mm)} / \{\text{ak uzunluğu (mm)} + \text{ak genişliği (mm)} / 2\}] \cdot 100$

Grup ortalamaları arasındaki farklılıkların önemliliği iki yönlü varyans analizi ve farklı grupların tespiti içinde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Değişkenler arası Pearson korelasyon katsayıları belirlendi. Bu istatistiksel analizler SAS paket programında yapıldı (12).

BULGULAR

Farklı sıcaklıklarda 49 gün muhafaza edilen yumurtanın muhafaza süresince fiziksel (Tablo 1) değişkenlerine ait analiz verilerinin ortalama değerleri ($\bar{x}$), standart hataları (S_x), minimum ve maksimum değerleri verilmiştir. Ayrıca, ortalama değerler dikkate alınarak gruplar arasındaki farklılıkların önemlilikleri ($P < 0,05$) farklı harfler ile belirtilmiştir.

Yumurtanın tüm fiziksel değişkenlerine ait korelasyonlar önemlilik kontrolleri ile beraber Tablo 2 içerisinde toplu olarak sunulmuştur. Tüm muhafaza sıcaklıklarında, analiz süresince bazı değişkenlere ait veriler Şekil 2-7'da verilmiştir.

Tablo 1. Yumurtada Muhafaza Süresince Fiziksel Değişkenlere Ait Veriler

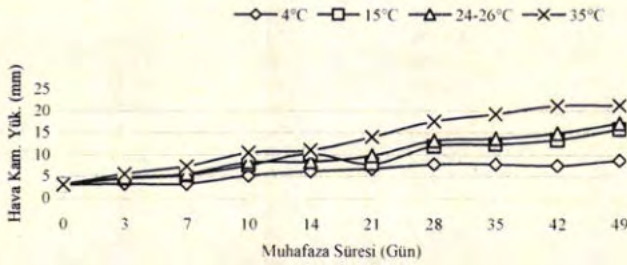
Değişkenler	Sıcaklık	x	Sx	Minimum	Maksimum
Ağırlık (g)	4°C	54,83a	0,18	53,33	55,68
	15°C	52,97b	0,37	49,73	55,68
	24-26°C	53,42b	0,41	49,73	55,68
	35°C	50,26c	0,81	42,31	55,68
Hava Kamarası (mm)	4°C	6,00a	0,38	3,06	8,77
	15°C	9,22b	0,74	3,06	15,82
	24-26°C	9,88b	0,83	3,06	17,14
	35°C	13,09c	1,16	3,06	21,30
Hava Kamarası Alanı (cm ²)	4°C	3,44a	0,18	2,43	5,20
	15°C	5,56b	0,38	2,46	8,73
	24-26°C	6,05b	0,48	2,46	10,53
	35°C	8,58c	0,77	2,46	15,50
Yoğunluk (g/cm ³)	4°C	1,075a	0,25	1,055	1,090
	15°C ²	1,072ab ²	0,29	1,046 ²	1,090
	24-26°C ²	1,071ab ²	0,91	1,043 ²	1,090
	35°C ¹	1,062c ¹	1,69	1,031 ¹	1,090
Haugh Birimi	4°C	81,98a	1,39	70,64	97,37
	15°C	67,58b	2,44	46,01	97,37
	24-26°C ³	68,08b ³	3,24	49,28 ³	97,37
	35°C ¹	72,78c ¹	2,91	62,81 ¹	97,37
Sarı Çapı (mm)	4°C	40,27a	0,25	38,06	42,71
	15°C	40,91ab	0,29	39,82	43,47
	24-26°C	42,80bc	0,91	39,79	54,42
	35°C ²	48,61d ²	1,69	40,00	60,35 ²
Sarı Yüksekliği (mm)	4°C	17,80a	0,13	16,83	18,55
	15°C	16,07b	0,32	13,54	18,06
	24-26°C	14,17c	0,72	8,43	18,06
	35°C ¹	12,08d ¹	0,97	7,17 ¹	18,06
Sarı İndeksi (%)	4°C	44,39a	0,50	42,97	47,35
	15°C	39,46b	0,96	31,16	45,17
	24-26°C ³	34,33c ³	2,14	16,68 ³	45,17
	35°C ¹	27,15d ¹	2,88	13,68 ¹	45,17
Ak Geniş Çapı (mm)	4°C	88,91a	1,07	81,00	96,49
	15°C	100,06a	2,16	81,00	112,70
	24-26°C ²	95,89b ²	2,99	81,00	110,13 ²
	35°C ¹	89,69b ¹	1,91	81,00	93,41 ¹
Ak Dar Çapı (mm)	4°C	62,52a	2,06	45,34	67,72
	15°C	74,85b	1,89	59,74	90,95
	24-26°C ²	73,81b ²	3,27	59,74	98,91 ²
	35°C ¹	73,06b ¹	2,39	59,74	82,17 ¹
Ak İndeksi (%)	4°C	8,88a	0,39	6,12	12,55
	15°C	5,85b	0,56	2,55	12,55
	24-25°C ²	7,01c ²	0,78	2,76 ²	12,55
	35°C ¹	6,89d ¹	0,78	4,64 ¹	12,55

Aynı satırda her bir değişken içerisinde farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında fark önemlidir. P<0,05. ¹: 14. güne kadar elde edilen veriler, ²: 21. güne kadar elde edilen veriler, ³: 35. güne kadar elde edilen veriler.

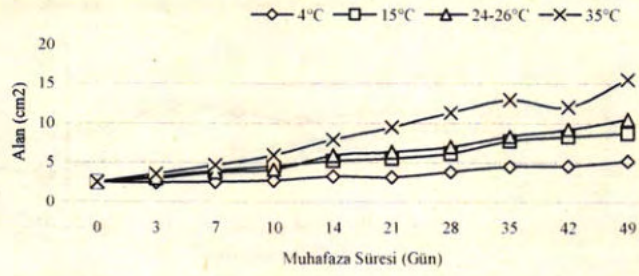
Tablo 2. Yumurtanın Tüm Fiziksel Değişkenlerine Ait Korelasyonlar ve Önemlilik Kontrolleri

Değişken	A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M
B	-0,924 **											
C	-0,951 **	0,966 **										
D	-0,610 **	0,585 **	0,697 **									
E	0,666 **	-0,719 **	-0,786 **	-0,846 **								
F	-0,571 **	0,603 **	0,611 **	0,084 -	-0,292 **							
G	-0,558 **	0,560 **	0,656 **	0,327 **	-0,544 **	0,659 **						
H	0,760 **	-0,849 **	-0,854 **	-0,424 **	0,617 **	-0,822 **	-0,708 **					
I	0,810 **	-0,914 **	-0,935 **	-0,591 **	0,740 **	-0,478 **	-0,512 **	0,732 **				
K	0,779 **	-0,870 **	-0,878 **	-0,473 **	0,675 **	-0,795 **	-0,746 **	0,980 **	0,767 **			
L	0,663 **	-0,721 **	-0,790 **	-0,902 **	0,989 **	-0,280 **	-0,530 **	0,615 **	0,734 **	0,675 **		
M	0,695 **	-0,787 **	-0,807 **	-0,358 **	0,577 **	-0,812 **	-0,799 **	0,965 **	0,709 **	0,956 **	0,569 **	
N	-0,469 **	0,478 **	0,543 **	0,551 **	-0,625 **	0,063 -	0,325 **	-0,197 *	-0,231 *	-0,277 **	-0,619 **	-0,219 *
O	-0,704 **	0,800 **	0,737 **	0,257 **	-0,353 **	0,475 **	0,282 **	-0,700 **	-0,645 **	-0,666 **	-0,372 **	-0,596 **

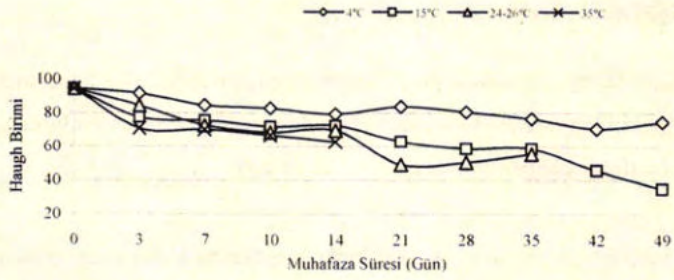
A: Ağırlık, B: Hava kamarası, C: Alan, D: Sarı çapı, E: Sarı yüksekliği, F: Akın geniş çapı, G: Akın dar çapı, H: Ak yüksekliği, I: Yoğunluk, K: Haugh birimi, L: Sarı indeksi, M: Ak indeksi, N: Sıcaklık, O: Gün **; $p < 0.01$ *; $p < 0.05$ -; $p > 0.05$



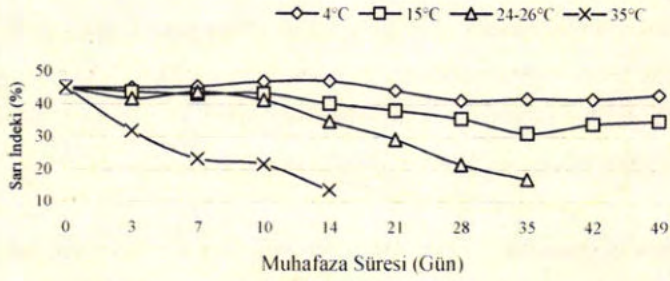
Şekil 1. Yumurtada Farklı Sıcaklıklarda Hava Kamarası Yüksekliği Değişimi



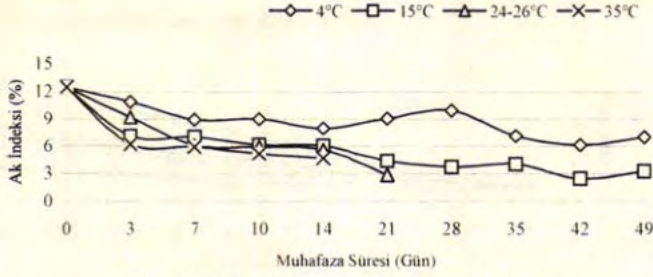
Şekil 2. Yumurtada Farklı Sıcaklıklarda Hava Kamarası Alanı Değişimi



Şekil 3. Farklı Sıcaklıklarda Yumurtada Haugh Birimi Değişimi



Şekil 4. Yumurtada Farklı Sıcaklıklarda Sarı İndeksi Değişimi



Şekil 5. Farklı Sıcaklıklarda Yumurtada Ak İndeksi Değişimi

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yumurta, üretimden tüketime kadar geçen süre içerisinde çevre faktörlerine bağlı olarak bazı değişikliklere uğrar. Bu, yumurtada kalite azalmasına neden olurken, aynı zamanda tüketici tarafından beğenilmemesine yol açar (4,5).

Yeterli tazeliği garanti edecek depolama koşullarını belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, farklı sıcaklıkların muhafaza süresince yumurtalarda oluşturabilecekleri fiziksel kalite değişiklikleri araştırılmıştır.

Önemli kalite kriterlerinden biri olarak kabul edilen hava kamarası yüksekliği, ortam sıcaklığı ve relatif nemden oldukça fazla etkilenmektedir (1,4,5,11,13,14). Yapılan bu çalışmada da; hava kamarası yüksekliği, muhafaza sıcaklığı ve süresinin artışı ile paralellik göstermiş ve yükselmiştir (Şekil 1).

Omurtag (10), Amerika Birleşik Devletleri'nde 0,96 cm hava kamarası yüksekliğini geçen yumurtaların insan gıdası olarak kabul görmediğini bildirmektedir. Sinell (13)'e göre, A kalite yumurtada hava kamarası yüksekliği en fazla 6 mm olmalı, B kalite yumurtalar ise 9 mm'yi geçmemeli, eğer 9 mm'yi aşarsa tüketiciye satışa sunulmamalıdır. Bu çalışmada, A kalite yumurtalarda aranan 6 mm hava kamarası yüksekliği, 4°C'de muhafaza edilen yumurtalarda 14. günde, 15°C ve 24-26°C'de 10. günde ve 35°C'de ise 7. günde aşılmıştır (Şekil 1).

Rauch (11) tavuk yumurtalarını; 17°C ve relatif nem %74, 21°C ve relatif nem %37 ve 35°C ve relatif nem %35-40 olan üç farklı ortamda muhafaza etmiş ve 40 gün süre ile hava kamarası yüksekliğini ölçümle belirlemiştir. Araştırmacı; 17°C'de 40. gün sonu hava kamarası yüksekliği 3mm'den 6 mm'ye, 21°C'de 10 mm'ye ve 35°C'de 13 mm'ye ulaştığını bildirmiştir. 6 mm yüksekliği 21°C'de 15. gün, 35°C'de ise 10. günden sonra bulmuştur.

Braun (4), hava kamarasının gelişiminde sıcaklık ve nemin etkili olduğunu ve hava ne kadar kuruyorsa yumurtanın o kadar su kaybedeceğini ve hava kamarasının büyüyeceğini bildirmiştir. Braun (4), 6°C'de 28 günlük periyotta hava kamarası yüksekliğini 6 mm'nin altında bulduğunu ve 20°C'de ise 9 mm üstünde ve yumurtanın raf ömrünün bittiğini bildirmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, Rauch (11) ve Braun (4)'un çalışmasının ham verileri ile karşılaştırdığımızda bire bir örtüşmemekte, ancak muhafaza süresince sıcaklıklara göre elde edilen hava kamarası yükselmesi paralellik göstermektedir. Çalışma verileri arasındaki bu farklılık; analiz için seçilen yumurtaların kabuk kalitesinden, por yapısı özelliğinden veya ortamın relatif nemlerinin farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada dikkat çekici olan bir nokta, hava kamarası alanının (hava kamarasını çevreleyen çember içerisinde kalan dairenin alanı) hava kamarası yüksekliği ile aynı özellikleri taşımasıdır (Tablo 1, Şekil 2). Bu da, hava kamarası alanının hava kamarası yüksekliği gibi yumurta kalite özelliklerinde belirleyici bir role sahip olabileceğini göstermektedir. Yumurtanın tazelik kontrolünde hava kamarası alanı ölçümü ilk bu çalışma ile uygulamaya konmuş ve kalite kontrolünde belirleyici bir role sahip olabileceği belirlenmiştir.

Muhafaza sıcaklığının önemli bir etkisi de yumurtanın yoğunluğu, ağırlığı ve su miktarı üzerinedir. Bir çok araştırmacı (1,14,17), yumurtanın muhafaza esnasında su kaybına bağlı olarak ağırlık kaybedeceğini ve hava kamarası boşluğunun büyüyeceğini bildirmiştir. Bu nedenle de, ayrıca yumurta yoğunluğunun azalacağını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada dikkat çekici olan diğer bir nokta kabuk kalınlığı bulgularıdır. Yapılan çalışmada, günlük yumurtada kabuk kalınlığı 0,40 mm, 49 günlük muhafaza sonunda

ise 4°C'de 0,40 mm, 15°C'de 0,37 mm, 24-26°C'de 0,37 mm ve 35°C'de 0,34 mm olarak bulunmuştur. Bu veriler tesadüfi olabileceği gibi, sıcaklığa bağlı olarak kabukta bir incelmenin de mümkün olabileceğini göstermektedir. Muhafaza sıcaklığına bağlı yumurtalarda oluşan ağırlık kaybı su miktarının azalmasına bağlı olabileceği gibi, bunun yanı sıra kabuk incelmesi sonucu da gelişmiş olabilir. Aynı zamanda, bu dönemdeki yumurtaların kolay kırılır olması da önemli bir kriterdir. Ancak, muhafaza sıcaklığı ve süresine bağlı kabukta bir incelmenin gerçekte olup olmadığı bir araştırma konusu olarak kalmaktadır.

Haugh birimi, sarı indeksi ve ak indeksi değerleri, yumurta kalite özelliklerinde belirleyici bir role sahiptir ve yumurtanın iç kalite özelliklerinden kabul edilmektedir (9,14,17). Yürütülen bu çalışmada, sıcaklığın bu değişkenler üzerinde etkisi oldukça önemli bulunmuştur (Tablo 1). Muhafaza sıcaklığının yükselmesi ile birlikte bu değişkenlere ait değerlerde önemli azalmalar olmuştur (Şekil 3, 4, 5). Muhafaza sıcaklığının haugh birimi, sarı indeksi ve ak indeksi değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak ta önemli ($P<0,01$) bulunmuştur (Tablo 2). Tablo 2 incelendiğinde sıcaklık ile haugh birimi, sarı indeksi ve ak indeksi arasında önemli ($P<0,01$) derecede negatif bir korelasyon olduğu görülmektedir. Yani, muhafaza sıcaklığı ve süresi arttıkça bu değişkenlerde önemli azalmalar kaçınılmaz olmaktadır. Bu sonuçlar, Braun (4), Braun ve ark (5) ve Bayıroğlu (3)'ün bulgularıyla paralellik göstermiştir.

Sıcaklığın hemen hemen tüm değişkenler üzerine etkisi istatistiksel olarak oldukça önemli ($P<0,01$) bulunmuştur (Tablo 1, 2). Bu da, eğer muhafaza sıcaklığı kontrol altına alınırsa yumurtalarda tazeliğin uzun süre korunabileceğini gösterir. Burada, relativ nem de ayrıca önemli bir faktör olarak bulunmaktadır. Braun (4)'da yaptığı çalışmada aynı sonuca varmış ve tazeliğin korunması için ortamın sahip olacağı relativ neminde kontrol altına alınması gerektiğini bildirmiştir. Bu çalışmada, hava kamarası yüksekliğinin 4°C'de %55-60 relativ nemde 21. günde 6 mm'nin üzerine çıkmasında en büyük etken muhafaza ortamının relativ neminin düşük olmasıdır. Braun (16), 6°C'de %70 relativ nemde muhafaza ettiği yumurtaların 6 mm hava kamarası yüksekliğini 28. güne kadar koruduğunu bildirmektedir.

Yumurtaların duyuusal araştırmalarında; akın viskozitesi, jelöz yapısı, sarısının konveks yapısı ve kokusu dikkate alınmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; taze yumurtada ak kısmın gevşek ve kıvamlı tabakası net bir şekilde belirgin, sarı kısım küresel ve toplu durumdadır. Haşlanmış taze bir yumurtanın sarısının konumu merkezi, yumurta akı oldukça kalın ve beyaz renkte ve kabuğunun soyulması Tekinşen ve elik (16)'in belirttiği gibi oldukça güçtür .

Yumurta tazeliğini kaybettikçe, başlangıçta sahip olduğu tekstüründe bozulmalar şekillenir. Bir çok araştırmacıya (4,5,8,15,16) göre bunlar; ak kısmın gevşemesi ve tabakalarının belirsizleşmesi, yani viskozitesinin ve jelöz özelliğinin azalması, sarı kısım kendine özgü kubbemsi şeklini kaybederek yassı (basık) ve taze yumurtaya göre daha geniş bir alana yayılması şeklindeyir. Yürütülen çalışmada, muhafaza sıcaklığı ve süresine bağlı olarak yumurta akı ve sarısı başlangıç özelliklerini kaybetmiştir. Yumurtanın önemli kalite faktörleri olan ak ve sarı indeksinde gerileme olmuştur (Tablo 1). Bu bulgular, yukarıdaki araştırmacıların (4,5,8,15,16) verileri ile paralel bulunmuştur.

Muhafazanın 14. gününden sonra 35°C'de saklanan yumurtalarda, yumurta sarısı membranının elastikiyeti zayıflamış ve kırılan yumurtada sarı düzleşmiştir. İlerleyen durumlarda, yumurta içinde dahi sarı ve ak birbirine karışmıştır. Sinell (13), bu durumu otolitik bozulmaya bağlamaktadır. Yani, yüksek sıcaklık ve nemde otolitik bozulma ile ovomucinin yapısı bozulmakta ve buna bağlı olarak ta akın koyuluğu azalmakta ve böylece yumurta kırıldığı zaman ak daha geniş alana yayılmaktadır. Braun (4), Sinell (13)'i destekler şekilde bu değişimleri, iç tabakada bulunan enzimlere bağlamakta ve bu enzimler tarafından depolama süresince albüminin etkilenererek daha akıcı ve az jelatinöz olduğunu, vitellin membranın zayıfladığını ve bir zaman sonra kolay yırtılır hale geldiğini bildirmiştir. Aynı araştırıcı (4), bu değişim şiddetini sıcaklığa, atmosferik neme, CO₂ konsantrasyonuna ve genetik faktöre bağlı olduğunu belirtmiştir.

Muhafaza sıcaklığının etkisine bağlı, yumurtanın tekstüründeki bu değişiklikler haşlanmış yumurtanın kesitinde de net bir şekilde grlmştir. Yumurta akı taze yumurtada sahip olduğu parlak beyaz rengi ve jelöz yapısını kaybetmiş ve teksir kağıdı

rengine yakın peltemsi hal almıştır. Yumurta sarısı merkezi konumunu kaybetmiş ve yapısal özelliği bozulmuştur. Aynı zamanda bu yumurtalarda, yumurtalar karşılaştırıldığı zaman kütlece bir azalmanın da olduğu görülebilmektedir. Yine bu şekiller içerisinde haşlanmış yumurta üzerinde de hava kamarası boşluğunun sıcaklığa bağlı olarak arttığı açık bir şekilde görülebilmektedir.

Analiz sonuçları, yumurtaların tüketilinceye kadar pazarlama süresince muhakkak soğuk zincir altında tutulması gerektiğini göstermiştir. Çünkü, sıcaklığın tüm değişkenler üzerine etkisi oldukça önemli bulunmuştur. Bu da, eğer muhafaza sıcaklığı kontrol altına alınırsa yumurtalarda tazeliğin uzun süre korunabileceğini göstermiştir. Burada, sıcaklık faktörü aynı zamanda relatif nem ile desteklenmelidir. Türk Standartlarına (2) göre, yumurta muhafaza odası sıcaklığı 15°C'den fazla ve nisbi rutubeti de %70'den az olmamalıdır. İnal (7)'da soğutma odalarının 10°C sıcaklık ve %70-80 nispi nem içermesi ve toplanan yumurtaların kısa sürede soğuk muhafaza odalarına götürülmesi gerektiğini bildirmektedir.

Sonuçlara göre, A kalite bir yumurtada aranan kalite kriterlerinin 4°C'de %55-60 relatif nemde 28. güne, 15°C'de %65-70 relatif nemde 10-14. güne, oda sıcaklığında (24-26°C) %65-75 relatif nemde 10. güne ve 35°C'de %65-70 relatif nemde 3-7. güne kadar korunduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, yumurtanın tazeliğinin korunmasında muhafaza sıcaklığının rolü önemli bulunmuştur. Yumurta tazeliğini kesin olarak garanti edecek tek yol dengeli bir relatif nem ile soğukta muhafaza olduğu görülmüştür. Sonuçlar özellikle depolanan yumurtalarda soğutmanın gerekli olduğunu göstermektedir. Ayrıca bulgular, tazelik kontrolünde yumurtanın tekstüründeki değişimin hava kamarasındaki artıştan daha önemli olduğunu göstermiştir. Son olarak, yumurtada yapılacak tazelik kontrolü araştırmalarında, hava kamarası alanı ölçümü de yeni bir metot olarak önerilir.

KAYNAKLAR

1. Aksoy F T (1993). Tavuk Yetiştiriciliği, ISBN 975-95417-0-X, Şahin Matbaası, Ankara.
2. Anonim (1991). Yumurta muhafaza ve taşıma kuralları, Türk Standart. Enst., T.S.9423, Ankara.
3. Bayıroğlu F (1996). Suplemental magnezyumun kanatlılarda yumurta verim ve kalitesine etkisi, YYÜ Vet. Fak. Derg., 7(1-2), 81-89.

4. Braun P (2000). Freshnes of table eggs during storage. *World Poultry*, 6(10), 40-41.
5. Braun P, Beer R and Fehlhaber K (2001). Storage methods affects microbiol stability of eggs. *World Poultry*, 6, 20-21.
6. Harms RH (1991). Spesific gravity of eggs and egg shell weight from commercial layer and broiler breeders in relation of time of oviposition. *Poultry Sci*, 70, 1099-1104.
7. İnal T (1992). Yumurta hijyeni, Bölüm 4, 687-723, Besin Hijyeni ve Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset, İstanbul.
8. Keskin H (1982). Besin Kimyası, Cilt II, İ.Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınları NO: 72, İstanbul.
9. Nazlıgöl A, Türkyılmaz K ve Bardakçioğlu HE (2001). Japon bıldırcınlarında bazı verim ve yumurta kalite özellikleri üzerinde bir araştırma, *Türk J Vet. Anim. Sci.*, 25, 1007-1013.
10. Omurtag AC (1982). Besin Analizleri, Cilt II, İÜ Ecz. Fak. Yayınları No: 1, İstanbul.
11. Rauch W (1968). Eier, "Alınmıştır" Sinell HS (1992). Einführung in die Lebensmittelhygiene, Pareys Studentexte, Berlin.
12. SAS (1998). SAS User's Guide Statistics, Ed.: Carry NC, SAS Institue, Inc.
13. Sinell HS (1992). Einführung in die Lebensmittelhygiene, Pareys Studentexte, Berlin.
14. Şenköylü N (1995). Modern Tavuk Üretimi, 2. Baskı, Anadolu Matbaası, Tekirdağ.
15. Tekinşen OC (1980). Yumurta, Tavukçuluk Derneği Yayınları, No: 1, Ankara.
16. Tekinşen OC ve Çelik C (1996). Yumurtada sık rastlanan bozukluklar. *Int. Anim.*, 11(125), 90-98.
17. Türkoğlu M, Arda M, Yetişir R, Sarıca M ve Ersayın C (1997). Tavukçuluk Bilimi. ISBN:975-94647-0-5, Otak Form-Ofset, Samsun.
18. Uğur M, Nazlı B ve Bostan K (1999). Gıda Hijyeni, Teknik Yayınları, İstanbul.

ANKARA'DA TÜKETİME SUNULAN SÜZME BALLARIN KİMYASAL KALİTELERİ

Cenk ÜNAL

Özlem KÜPLÜLÜ

*Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Dışkapı, ANKARA
kupulu@veterinary.ankara.edu.tr*

Özet : Bu çalışma, Ankara'da tüketime sunulan süzme balların bazı kimyasal özellikleri yönünden kalitelerini ve Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine uygunluklarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu kapsamda, analize alınan 35 süzme çiçek ve 35 süzme çam balı örneği olmak üzere toplam 70 süzme bal örneği rutubet miktarı, asitlik, diastaz sayısı, hidroksimetil furfural, invert şeker, sakkaroz, ticari glikoz, kül, nişasta ve polen yönünden incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre çiçek balı örneklerinden % 80'ninin, çam balı örneklerinden % 31,43'ünün Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine uygun olmadığı belirlenmiştir. Yapılan polen analizinde çiçek ballarının % 5,71'inde rhododendron polenleri saptanmıştır. Sonuç olarak Ankara'da tüketime sunulan süzme balların üretiminde yetiştiricinin bilgilendirilmesinin, üretim ve satış aşamalarında denetimin artırılmasının halk sağlığının ve tüketici haklarının korunması açısından gerekli olduğu görüşüne varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bal, çam balı, çiçek balı, kimyasal kalite.

CHEMICAL QUALITY OF THE STRAINED HONEY CONSUMED IN ANKARA

Summary: The present study was conducted for the determination of some chemical quality and suitability of the 70 strained honey samples (35 flower honey and 35 pine honey). The findings were evaluated by using Honey standard presented in the Turkish Honey Regulation (Turkish Food Codex, Honey Directive) All the samples collected from local retailers in Ankara were analysed for their humidity, acidity, diastase activity, hydroxymethyl furfural, invert sugar, sucrose, commercial glucose, ash, starch and pollen contents. 80 % floral honey and 31.43 % of pine honey samples were laid down by the Turkish Standard. According to the pollen analyse results 5.71% of floral honey samples included rhododendron pollen. As a result, control of the honey sold in Ankara should be analysed more usually than before from farm to table both for the protection of public health and consumer rights.

Key Words: Honey, honeydew honey, flower honey, chemical quality.

Giriş

Bal, bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektarların veya bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak bazı eşkanatlı böceklerin salgıladığı maddelerin bal arıları (*Apis mellifera*, *Apis mellifica*) tarafından toplanması, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek

gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı bir üründür (3).

Balın kimyasal bileşimi birçok etkene bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu etkenlerin en önemlisi, nektar ve salgının doğal bileşimidir. Ayrıca iklim koşulları ve arının bal yapma özelliği de bileşimde etkili faktörlerdendir (15). Çizelge 1'de Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde (4,5,7,8) ballar için belirlenmiş kimyasal özellikler gösterilmiştir.

Çizelge 1 Ballar için belirlenmiş kimyasal özellikler (4,5,7,8).

Rutubet miktarı	$\leq \% 20$	
Toplam Asitlik Miktarı	$\leq 50 \text{ meq/kg}$	
Diastaz Sayısı	$8 \leq$	
HMF	$\leq 40 \text{ mg/kg}$	
Invert Şeker	Çiçek Balı: $\% 60 \leq$	Çam Balı: $\% 45 \leq$
Sakkaroz	Çiçek Balı: $\leq \% 5$	Çam Balı: $\leq \% 10$
Kül	Çiçek Balı: $\leq \% 0,6$	Çam Balı: $\leq \% 1,2$
Ticari Glikoz	Bulunmamalı	
Nişasta	Bulunmamalı	

Ballarda su miktarı sadece kalitenin belirlenmesinde ve fermentasyon yönünden önemlidir. Arıların çalışma yoğunluğu, balın depo edildiği yerin rutubet oranı ve ısı, balın hazırlanış şekli ve hava akımı, balın rutubet miktarının değişmesine neden olmaktadır (15). Balda su miktarı $\% 20$ 'den az olmalıdır. Daha yüksek olursa osmofilik mayaların fermentasyonu için uygun ortam oluşmaktadır (11,16).

Balın temel bileşimi karbonhidrattır. Bunlardan en çok früktoz ve glikoz bulunur. Disakkaridlerin bileşimi çoğunlukla balın yapıldığı bitki çeşitlerine bağlıdır (11,21,30). Kolza, hindiba çiçeği ve mavi bukle gibi çok az balda glikoz früktozdan fazladır. Diğer tüm ballarda früktoz glikozdan daha fazladır. Bu iki şeker balın karbonhidratlarının $\% 69 - \% 78$ 'ini oluşturmaktadır. Sakkarozun baldaki miktarı, balın olgunlaşma derecesine ve nektarın bileşimine göre değişebilmektedir. Çok erken hasat edilen olgunlaşmamış ballar fazla miktarda sakkaroz içermektedir. Buna bağlı olarak sakkarozun bal standardında belirtilen miktardan fazla olması, hile yapıldığı düşüncesini akla getirebilmektedir (11,29,30).

Bal enzimler bakımından oldukça zengindir. Bal enzimleri, balın kalitesini ortaya çıkaran indikatördür. Balda bulunan en önemli enzimler α -glukosidaz (invertaz veya sakaraz) α - ve β -amilaz (diastaz), glikoz oksidaz, katalaz ve asit fosfatazdır (11).

Balda önemli kalite kriterlerinden olan 5-hidroksimetil-2-furaldehid (HMF), früktoz ve glikozun dehidrasyonu ile oluşmaktadır (19). Depolama sırasında heksoz şekerlerden, asit etkisinde balın pH ve sıcaklığına bağlı olarak, değişik oranlarda HMF oluşmaktadır (14). Yüksek HMF değerleri (40 mg/kg veya üstü) balın ısıtıldığının ve/veya bala asit ile hidroliz olmuş sakkaroz veya mısır şurubu katıldığının göstergesidir (20). Bal, 25 °C'de 1 yıl, 60 °C'de 3 gün tutulduğunda 3,0 mg/100 g seviyesinde HMF oluştuğu bildirilmiştir (19).

Bal üretim şekli ve bileşimi nedeniyle en fazla hile yapılan hayvansal gıdalardandır. TS 3036'ya (3) göre hileli bal bazı yabancı maddeler katılması (su, süt, nişasta, melas şurubu, un, zambak, ayva peltesi, tutkal, alçı, tebeşir, jelatin, jeloz, renk ve aroma maddeleri) nedeniyle genel özelliklerini kaybetmiş baldır. Özellikle arıların melas şurubu ile beslenmesi sonucu elde edilen şekerli ballar hileli ballar içerisinde önemli yer tutar. (12,15,24).

Balların kimyasal kalitelerinin belirlenmesi halk sağlığının ve tüketici haklarının korunması açısından önem taşımaktadır. Bu çalışma, Ankara'da tüketime sunulan süzme balların kimyasal yönden Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine uygunluklarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, Ankara'nın çeşitli bölgelerinde bulunan market ve semt pazarlarında ambalajlı veya açık olarak tüketime sunulan 35 çiçek balı örneği ve 35 çam balı örneği olmak üzere toplam 70 süzme bal örneği gereç olarak kullanıldı. Örnekler cam kavanozlara yaklaşık olarak 300'er gram alındı.

Rutubet tayini refraktometre yöntemiyle (2), asitlik tayini titrasyon metoduyla yapıldı. Diastaz sayısı tayininde diastaz enziminin nişasta solusyonunu hidroliz etme esasına

dayanan yöntem kullanıldı. Hidroksimetilfurfurol tayininde spektrofotometrik yöntem kullanıldı. İnvert şeker tayini bazik ortamda bakır (II) çözeltisinin metilen mavisi indikatörüne karşı titrasyonu ile yapıldı. Sakkaroz tayini metilen mavisi indikatörüne karşı indirgen şekerler çözeltisi ile yapılan titrasyonda bulunan toplam şeker yüzdesinden invert şeker yüzdesi çıkartılarak 0,95 çevirme faktörüyle çarpılarak hesaplandı. Ticari glikozun varlığı iyot ve/veya fiske metodu ile belirlendi (3). Kül tayini kül fırınında yakma yöntemi ile yapıldı (6). Nişasta tayini iyot metoduyla yapıldı (15). Polen analizi mikroskopik olarak yapıldı (27).

Sonuçlar ve Tartışma

Analize alınan 35 çiçek, 35 çam balı olmak üzere toplam 70 süzme bal örneğine ait kimyasal sonuçlar Çizelge 3 ve Çizelge 4'te gösterilmiştir.

Çizelge 3. Çiçek ballarının kimyasal analiz sonuçları

	En Düşük	En Yüksek	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
Rutubet (%)	13,0	25,0	16,3	2,06	0,348
Asitlik (meq/kg)	8,23	33,21	24,464	5,88	0,993
HMF (mg/kg)	11,133	256,27	74,51	72,02	12,166
Diastaz Sayısı	0	29,4	11,58	8,96	1,514
İnvert Şeker (%)	23,47	89,29	70,48	10,99	1,856
Sakkaroz	0	23,64	5,28	4,83	0,816
Kül (%)	0,11	0,72	0,37	0,15	0,025

Çizelge 3'de gösterilen değerler dışında çiçek balı örneklerinden 7'sinde nişasta bulunmuştur. Ticari glikoz tespiti için uygulanan iyot metodunda 8. fiske metodunda 6 çiçek balı örneği pozitif reaksiyon vermiştir. Polen analizinde incelenen çiçek balı örneklerinden 2'sinde hiç polen bulunmamış ve 2'sinde de rhododendron polenleri gözlemlenmiştir.

Çizelge 4- Çam ballarının kimyasal analiz sonuçları

	En Düşük	En Yüksek	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
Rutubet (%)	13	17,4	15,62	1,16	0,196
Asitlik (meq/kg)	17,43	40,88	26,89	5,24	0,885
HMF (mg/kg)	5,88	125,32	21,50	19,50	3,294
Diastaz Sayısı	1	38,5	25,14	9,71	1,640
İnvert Şeker (%)	61,96	81,27	71,56	5,14	0,868
Sakkaroz	0	16,82	4,64	5,21	0,880
Kül (%)	0,18	0,75	0,44	0,13	0,022

Çam balı örneklerinden 1'inde nişasta saptandı. Ticari glikoz için uygulanan iyot ve fische metodunda sadece fische metodunda 1 çam balı örneğinde pozitif reaksiyon elde edilmiştir.

Bu çalışmada diastaz sayısı yönünden bulunan sonuçlar White (30), Velioğlu ve Köse (28) ve Devillers ve ark.'nın (13) buldukları sonuçlardan düşük, Tolon'un (25) bulduğu sonuçtan yüksek bulunmuş ve Aydoğan ve ark. (9), Tosun (26) ve Şahinler ve ark.'nın (22) buldukları sonuçlarla benzerlik göstermiştir. Şahinler ve ark.'nın (22) yaptıkları çalışmada incelenen 50 bal örneğinin % 44'ünün Bal Tebliğine uygun olmadığı bildirilmektedir. Çalışmamız bu açıdan da Şahinler ve ark.'nın (22) yaptığı çalışmayla benzerlik göstermektedir. Balın biyolojik değerliliğinde diastaz gibi enzimlerin önemli rolü vardır. Diastaz enzimi yüksek ısı işlemi gören ve uzun süre bekletilen ballarda düşmektedir. Çalışmamızdaki 14 bal örneğinde diastaz sayılarının çok düşük bulunmasıyla birlikte HMF miktarlarının da çok yüksek olması bu ballara yüksek sıcaklık işlemi uygulanmış olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu ballardan biri hariç diğerlerinde ticari glikoz bulunması bu örneklerin hileli ballar olduğunu kanıtlamaktadır.

Araştırmamızda bulunan HMF miktarları yapılan literatür taramalarında (1,9,13,22,25,26,28) bulunan değerlerin hepsinden yüksektir. Bu farklılığın, çalışmamızda kullanılan çiçek balı örneklerinin % 40'ının, çam balı örneklerinin ise % 2,86'sının olmak üzere toplamda % 42,86 örneğin ticari glikoz içermesi nedeniyle meydana geldiği düşünülmektedir. Ayrıca HMF miktarı yüksek olan bal örneklerinin diastaz sayılarının düşük olması bu ballara yüksek sıcaklık işleminin uygulandığını göstermektedir.

Bu çalışmamızda bulunan sakkaroz değerleri, White ve ark. (29), Tetik (24), Balcı (10), Velioğlu ve Köse (28), Aydoğan ve ark. (9), Şahinler ve ark. (22) ve Devillers ve ark.'nın (13) sonuçlarından yüksek ve Kurt ve Yamankaradeniz (17), Tolon (25) ve Tosun'un (26) sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Bu farklılığın, şeker katılmış balların olmasından, arıların nektar yerine kovan önlerine konan şekerli sularla beslenmiş olmasından, balların zamanından önce hasat edilerek balların petekteki

olgunlaşma sürecini tamamlamamış olmasından ve bu ballara salkım ağacı (*Robina pseudoacacia*), adi yonca (*Medicago sativa*), *Banksia menziesii* çiçek balları, tatlı yonca (*Hedsaryum*), kırmızı ökaliptüs (*Eucalyptus camadulensis*), meşin ağacı (*Eucryphia lucida*, *Eucryphia milliganii*) orijinli ballar ve narenciye balları karıştırılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Analize alınan çiçek balı örneklerinden 14'ünde (% 40), çam balı örneklerinden ise 1'inde (% 2,86) ticari glikoz saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda Tetik (24), Kurt ve Yamankaradeniz (17) ve Tolon (25) inceledikleri bal örneklerinin hiçbirinde ticari glikoz bulmamışlardır. Tosun (26) incelediği 30 örneğin 7'sinde (% 23,3) ticari glikoz saptadığını bildirmiştir. Çalışmamızda bulunan ticari glikoz değerleri Tosun'un (26) bulduğu değerlerden daha yüksektir. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine (4,5,7,8) göre balda ticari glikoz bulunmamalıdır. Bu nedenle, ticari glikoz bulunan 15 (% 21,43) bal örneği hileli ballardır.

İncelenen çiçek balı örneklerinin 7'sinin (% 20), çam balı örneklerinin 1'inin (% 2,86) nişasta içerdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda Tetik (24), Aydoğan ve ark. (9) ve Tosun (26) inceledikleri örneklerin hiçbirinde nişasta bulmamışlardır. Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine (4,5,7,8) göre balda nişasta hiç bulunmamalıdır. Nişasta bulunan örnekler bu açıdan Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine uygun değildir ve hileli ballar içerisinde yer almaktadırlar.

Çalışmada saptanan kül değerleri, White (2), Kurt ve Yamankaradeniz (17) ve Velioğlu ve Köse'nin (28) bulduğu değerlerden yüksek, Tetik (24), Şengonca ve Temiz (23), Tolon (25) ve Ojeda de Rodriguez ve ark.'nın (18) bulduğu değerlerle benzerlik göstermektedir. Meydana gelen bu değişikliklerin, nektarın elde edildiği bitkilerin farklılığından ve çiçek ballarına salgı kaynaklı ballar karıştırılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada polen analizi, botanik olarak balın kaynağını aldığı bitki çeşitlerini belirlemek üzere yapılmamış olup, ballarda polen ve zehirli polen varlığını belirlemek üzere yapılmıştır. Çalışmada çiçek ballarında, 2 (% 5,71) örnekte zehirli rhododendron

polenleri saptanmıştır. Ayrıca 2 (% 5,71) örnekte de hiç polen belirlenmemiştir. Polen ve zehirli polen varlığının belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalarda Aydoğan ve ark. (9) zehirli polen bulmamışlardır, Tetik (24) başta Karadeniz Bölgesinden gelen ballar olmak üzere diğerlerinde de az sayıda, özel şekilli zehirli polenlere rastlandığını bildirmiştir. Araştırmamızda 2 örnekte polen bulunmamasının nedeni, bu ballara filtrasyon işlemi uygulanmış olmasından veya bu balların yapay ballar olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu polen bulunmayan 2 çiçek balı örneğinin diğer bulguları da göz önüne alınınca, bu balların yapay, hileli bal oldukları görülmektedir.

Sonuç olarak, Ankara'da tüketime sunulan balların, farklı kalitelere sahip oldukları, bir bölümünün biyolojik değerlilikleri açısından önemli belirleyici faktörler olan diastaz sayılarının sınırların altında, HMF miktarlarının ise sınırların çok üstünde olduğu ve zehirli polen içerdiği belirlendi. Standartlara göre hiç bulunmaması gereken ve önemli hile kriterlerinden olan ticari glikoz ve nişasta özellikle çiçek ballarında önemli oranda bulundu. İncelenen kriterler göz önüne alınınca çiçek balı örneklerinden % 80'ninin, çam balı örneklerinden % 31,43'ünün Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğine uygun olmadığı saptandı. Tebliğe uygun olmayan örneklerde özellikle sakkaroz miktarlarının yüksek olması dikkat çekici bulundu. Bu durumun, arıların mısır ve melas şurubuyla beslenmesinden ileri gelebileceği düşünülmektedir. Ankara'da tüketime sunulan başta çiçek balları olmak üzere süzme balların üretiminde yetiştiricinin bilgilendirilmesinin, üretim ve satış aşamalarında denetimin artırılmasının halk sağlığının ve tüketicinin haklarının korunması açısından gerekli olduğu görüşüne varılmıştır.

Kaynaklar

- 1- Al-Khalifa, A.S., Al-Arfy, I.A. (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Food Chem.*, **67**: 21-25.
- 2- Anon. (1984). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14th Edition. p.: 588-596.
- 3- Anon. (1990). Bal Standartı TS 3036. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- 4- Anon. (2000). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği. Resmi Gazete 22 Ekim 2000-24208: 49-52.
- 5- Anon. (2001a). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete 29 Aralık 2001-24625.
- 6- Anon. (2001b). Baharat ve Çeşni Veren Bitkiler-Toplam Kül Tayini TS 2131 ISO 928. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- 7- Anon. (2003). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete 26 Temmuz 2003- 25180.

- 8- Anon. (2004). Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete 15 Ocak 2004- 25347.
- 9- Aydoğan, A., Özalp, E., Bozkurt, M. (1990). Yerli ballarımızın kimyasal yapıları üzerine araştırmalar. *Türk. Hij. Den. Biyol. Derg.* **48**: 55-84.
- 10- Balcı, F. (1978). Ankara'da üretilen ballarla Ankara piyasasında satılan balların fiziki, kimyevi ve biyolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. Mesleki Yayınlar Serisi. Ankara.
- 11- Belitz, H-D., Grosch, W. (1999). Food Chemistry. 2nd Edition, p.: 821-828.
- 12- Birer, S., Yücesan, S. (1984). Balın beslenmemizdeki yeri ve kullanılması. *J. Nutr. Diet.*, **13**: 113-123.
- 13- Devillers, J., Morlot, M., Pham-Delegue, M.H., Dore, J.C. (2004). Classification of monofloral honeys based on their quality control data. *Food Chem.*, **86**: 305-312.
- 14- Güven, M. (1995). Balın analitik özelliklerinin safiyetinin değerlendirilmesinde kullanımı. *Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Kimya-Metalurji Fakültesi, İstanbul.
- 15- Keskin, H. (1982). Besin Kimyası. 4. Baskı. Cilt II. s.: 101-117.
- 16- Krell, R. (1996). Value-Added Products From Beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin No.124.
- 17- Kurt, A., Yamankaradeniz, R. (1982). Erzurum ili merkezinde tüketilen süzme ballar üzerinde bir araştırma. *Gıda*, **3**: 115-120.
- 18- Ojeda De Rodriguez, G., Sulbaran De Ferrer, B., Ferrer, A., Rodriguez, B. (2004). Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chem.*, **84**: 499-502.
- 19- Orak, H. (1986). Yurdumuzun değişik yore ballarının bileşimi ve kristallenme nedenlerinin araştırılması. *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, İstanbul.
- 20- Pandolfé, W.D. (1992). Honey Analysis. Encyclopedia of Food Science and Technology, A Wiley-Interscience Publication, Canada. 1417-1421.
- 21- Shambaugh, P., Worthington, V., Herbert, J.H. (1990). Differential effects of honey, sucrose, and fructose on blood sugar levels. *J. Manip. Physiol. Ther.*, **13** (6): 322-325.
- 22- Şahinler, N., ŞAHİNLER, S., GÜL, A. (2001). Hatay yöresi ballarının bileşimi ve biyokimyasal analizi. *MKÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, **6(1-2)**: 93-108.
- 23- Şengonca, M., Temiz, İ. (1981). İzmir ve çevresinde üretilen bazı balların yapı özellikleri üzerinde bir araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Ofset Ünitesi. 36.
- 24- Tetik, İ. (1968). Yerli, tabii, süzme ballarımızın besleyici değeri ve gıda tüzüğü yönünden kimyasal bileşimleri üzerine araştırmalar. *Doktora Tezi*, T.C. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Çalışmalarından.
- 25- Tolon, B. (1999). Muğla ve yöresi çam ballarının biyokimyasal özellikleri üzerine bir araştırma. *Doktora Tezi*. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- 26- Tosun, M. (1999). Erzurum ve ilçelerinde üretilen balların analitik özellikleri. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Elazığ.
- 27- Ungan, A. (1950). Besin Kimyası Analiz Metodları. T.C. Refik Saydam Merkez Hıfızışha Enstitüsü Yayınları No: 17. s.: 149-158.
- 28- Velioglu, S., Köse, G. (1988). Ülkemizde üretilen ayçiçeği ballarının standarda (TS 3036) uygunluğu üzerinde bir araştırma. *J. Nutr. Diet.*, **17**: 285-293.
- 29- White, J.W. (1980). Hydroxymethylfurfural content of honey as an indicator of its adulteration with invert sugars. *Bee World*. **61(1)**: 29-37.
- 30- White, J.W., Riethof, M.L., Subers, M.H., Kushnir, J. (1962). Composition of American honeys. *Tech. Bull. U.S. Dep. Agric.*. 1261-124 A.A. 655/53.

ERZURUM'DA TÜKETİME SUNULAN BUĞDAY UNLARINDA TESPİT EDİLEN TOPLAM AFLATOKSİN, AFLATOKSİN B₁ VE OKRATOKSİN A DEĞERLERİ

Korhan ÖZTURAN¹

Cemal ÜNSAL¹

Yakup KARAKAYA²

Mustafa ATASEVER²

Ziya Gökalep CEYLAN²

Meryem ATASEVER²

Kürşat DEMİRKAYA²

¹ 9 ncu Kor. "A" Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı, Erzurum

² Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum

ÖZET: Bu çalışmada Erzurum piyasasında satışa sunulan Buğday unları örnekleri toplam aflatoksin, AFB₁ ve okratoksin A yönünden incelenmiştir.

Çalışmada Erzurum yöresinden toplam 50 örnekte Toplam aflatoksin, AFB₁ ve okratoksin A analizi yapılmıştır. Toksin varlığının saptanmasında ELISA tekniği kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda incelenen toplam 50 buğday unu örneği, AFB₁ yönünden incelendiğinde 37 (% 74) adedinde AFB₁ tespit edilmiş ve örneklerin 13 (% 26) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde AFB₁ tespit edilememiştir. Örneklerin 8 tanesinde (% 16) ise AFB₁ miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. Toplam aflatoksin yönünden incelendiğinde örneklerin 37 (% 74) adedinde aflatoksin tespit edilmiş ve örneklerin 13 (% 26) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde toplam aflatoksin tespit edilememiştir. Örneklerin 9 tanesinde (% 18) ise toplam aflatoksin miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. Okratoksin A yönünden incelendiğinde 45 örnekte (% 90) okratoksin A tespit edilmiş ve örneklerin 5 (% 10) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde okratoksin A tespit edilememiştir. Örneklerin 6 (% 12.00) adedinde ise okratoksin A miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır.

Korelasyon analizi sonucu, unların toplam aflatoksin, AFB₁ ve okratoksin A içerikleri arasında çok önemli düzeyde ($P<0.01$) ilişki olduğu da bulunmuştur. Toplam aflatoksin ve AFB₁ arasında 0.920, toplam aflatoksin ve okratoksin A arasında 0.519, AFB₁ ve okratoksin A arasında ise 0.537 korelasyon katsayıları hesaplanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Buğday unu, Toplam aflatoksin, AFB₁ ve Okratoksin A

IDENTIFICATION OF TOTAL AFLATOXİN, AFLATOXIN B₁ AND OCHRATOXİN A IN WHEAT FLOUR CONSUMED IN ERZURUM

Abstract: In this study, the wheat flour samples purchased from markets and shops in Erzurum were analyzed for the presence of total aflatoxin, aflatoxin B₁ and ochratoxin A. The analyses for the toxins were conducted on a total 50 samples. ELISA method was utilized for the detection for the toxins.

As a result, it was found that AFB₁ was detected in 37 (74 %) of the 50 samples. The amount of AFB₁ detected 8 samples (16 %) was higher than amount permitted by the Turkish Food Standard. It was found that AFTotal was detected in 37 (74 %) of the 50 samples. The amount of AF Total detected 9 samples (18 %) was higher than amount permitted by the Turkish Food Standard. It was found that ochratoxin A was detected in 45 (90 %) of the 50 samples. The amount of ochratoxin A detected 6 samples (12 %) was higher than amount permitted by the Turkish Food Standard. In the statistical analysis, there was positive correlation ($P<0.01$) among AFB₁, AF Total and Ochratoxin A.

Key words: wheat flour, total aflatoxin, AFB₁, ochratoxin A

GİRİŞ

Küfler insan ve hayvanlar için toksik etki gösteren metabolitler üretebilmektedir. Küflerin ikincil metabolizmaları sonucu sentezlenen toksik maddelere "mikotoksin" denilmektedir. 1930 ve 1940'lı yıllarda fungus kaynaklı antibiyotik olarak kullanılan birçok metabolit, bugün yüksek canlılara gösterdikleri toksik etkiler nedeniyle mikotoksin olarak sınıflandırılmıştır. Mikotoksinler, esas olarak protein yapısında ve antijen özellikte olan bakteriyel toksinlerin aksine, çok çeşitli kimyasal yapı ve biyolojik aktiviteye sahip maddelerdir. Küflerin hemen her yerde bulunabilmeleri ve birçok gıda ve yem maddesinde gelişerek toksinlerini oluşturabilmeleri nedeniyle, mikotoksinler çok önemli doğal toksinler olarak kabul edilmektedir (5, 10, 21). Üzerinde en çok çalışılmış mikotoksin grubu olan aflatoksinler 1960 yılında keşfedilmiş ve 1962 yılında da güçlü bir "hepatotoksik" ve "hepatokarsinojen" etkisi olduğu anlaşılmıştır (4, 21). Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*'un bazı suşları, *Aspergillus parasiticus*'un ise hemen hemen bütün suşları tarafından üretilmektedir (4,24). Ancak

1987 yılında *A. flavus*'a fenotipik olarak benzeyen *Aspergillus nomius* (3) ve son olarak da *Aspergillus pseudotamarii* olarak isimlendirilen bir türün (13) de aflatoksin ürettikleri belirlenmiştir.

Mikotoksinlerle bulaşmış yemlerle beslenen hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmeler oluşabilmektedir. Bu durumda, verim kaybı, ağırlık artışında azalma ve immunosupresyon ve kanser oluşumu gözlemlenebilmektedir. Bu hayvanlardan elde edilen besinler insanlarda çeşitli sağlık problemlerine yol açabilmektedirler. İnsan ve hayvanlarda toksik etkiler meydana getiren mikotoksinlerle ilgili olarak yapılmış çalışmaların büyük bir kısmını aflatoksinler oluşturmaktadır. Aflatoksinlerle birlikte hububat, tohum ve mısırdaki bulunan okratoksin A, trikotesenler ve fumonisinsin insan ve hayvan sağlığı açısından büyük problemler oluşturmaktadır (7,14).

Aflatoksinler, aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ olmak üzere başlıca altı ana bileşikten oluşmaktadırlar. Bunlara ilave olarak, aflatoksinlerin gerek küflü kültürlerden gerekse hayvan vücudundan elde edilmiş metabolitleri ile (örn., aflatoksin B_{2a}, G_{2a}, P₁, Q₁ ve aflatoksikol) sayıları 18'i bulmaktadır (20). Aflatoksinlerin kimyasal olarak bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin türevleri oldukları saptanmıştır. Aflatoksinlerin isimlendirilmesinde kullanılan B ve G harfleri ultraviyole ışık altında mavi (Blue) ve yeşil (Green) floresans verme özelliklerinden kaynaklanmaktadır (22). Aflatoksin M₁ (AFM₁) ve M₂ (AFM₂), aflatoksin B₁ (AFB₁) ve B₂ (AFB₂)'nin süt veren hayvanların bünyesinde metabolize olarak, OH içeren türevlere dönüşmesi ve süte salgılanması ile "süt kaynaklı toksin" (milk toxin) olduklarını belirtmek amacıyla M ile simgelenmiştir (27).

Aflatoksinlerin halk sağlığı üzerine olan etkilerini araştıran IARC (International Agency for Research in Cancer – Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu)'nın yaptığı değerlendirmeler sonucunda; aflatoksin B₁ sınıf I olarak sınıflandırılmış ve insanlar için karsinogen oldukları değerlendirilmiştir (12).

Okratoksin A; *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum* ve *P. chrysogenum* tarafından üretilen bir mikotoksindir. Dünyada yaygın olarak çoğunlukla *A. ochraceus* (28) ve *P. verrucosum* (19) tarafından okratoksin A üretilmektedir. İnsan yiyecekleri ve

hayvan yemleri doğal kontaminantlardır (11,18). Nefrotoksik (proksimal tubuluslarda dejenerasyon ve glomeruluslarda hyalinizasyon), immunosupressif ve teratojen etkilere; renal adenom ve karsinom insidensinde artışa ve genotoksiteye yol açması nedeniyle insan ve hayvan sağlığı açısından oldukça önemli kabul edilmektedir (9,17,18). İnvitro olarak fare ve tavşan karaciğer böbrek mikrozomlarında yapılan bir çalışmada (17), okratoksinin peroksidazlara etkiyerek prostaglandin sentetaz ve lipooksijenaz aktivitesini değiştirdiği ve bunun sonucunda genotoksik metabolitlerin oluşumuna ve indirekt olarak genotoksik etkiye yol açtığı bildirilmiştir.

Son zamanlarda okratoksin A'nın oksidatif strese sebep olduğu ve beynin bütün bölgelerinde DNA'ya zarar verdiği tespit edilmiş ve bu gelişmelerden yola çıkarak okratoksin A'nın Alzheimer hastalığına, Amyotrophic Lateral Sclerosis ve Parkinson hastalığına sebep olup olmadığı araştırılmaktadır (23).

Okratoksin A'nın nefrotoksik, immunosupresiv, teratojenik ve karsinojenik etkileri vardır. Son zamanlarda okratoksin A'nın gıdalarda doğal olarak meydana geldiği (25) ve Kuzey Afrika'da insanlarda kan serumunda görüldüğü rapor edilmiştir (2,15).

Okratoksin A IARC tarafından grup 2B muhtemel insan karsinojeni olarak sınıflandırılmıştır. Avrupa Komisyonu yiyecekler için bazı mikotoksin standartlarını belirlemek için çeşitli çalışmalar yapmıştır (6). Komisyon okratoksin A için çığ tahıl ürünlerinde 5 µg/kg, diğer işlenmiş tahıl ürünlerinde ise 3 µg/kg olarak maksimum limitleri tespit etmiştir (26).

Okratoksin A insan kanında da tespit edilmiştir (16). Fransız halkının yaklaşık % 22'sinin kanında okratoksin A tespit edilmiş ve konsantrasyonlarının 0.1 ile 130 µg/L seviyesinde olduğu belirtilmiştir. İtalya'da bir çalışmada insanların % 97'sinde kan örneklerinde okratoksin A seviyesi 0.12 ve 2.84 µg/L seviyesinde tespit edilmiştir. Ayrıca idrarda ve insan sütünde de okratoksin A tespit edilmiştir (1).

Okratoksin A Balkan Endemik Nefropatisi etiyolojisine neden olduğu için aynı zamanda hem nefrotoksik hemde karsinojenik olduğu düşünülmektedir. Bosna, Bulgaristan, Hırvatistan, Romanya, Sırbistan ve Karadağ bölgelerinde çok yüksek

oranda gözükmekte ve insanlarda ayrıca ölümcül hastalıkların görülmesine neden olmaktadır. Ayrıca nadir olarak renal pelvis ve üreterlerde ürotelyal tümörlere neden olmaktadır (8).

MATERYAL VE METOD

Materyal

Bu çalışmada Nisan 2005-Nisan 2006 tarihleri arasında Erzurum piyasasında satışa sunulan 50 adet buğday unu örneği numune olarak kullanılmıştır.

Metod

Numunelerden yaklaşık 200'er g örnekler, numaralandırılarak steril stomacher poşetlerinde, oda sıcaklığında muhafaza edilerek toplanmıştır.

Bu çalışmada toplam aflatoksin, aflatoksin B₁ okratoksin A analizi için ELISA yöntemi kullanılmıştır (r- biofarm RIDASCREEN toplam aflatoksin, aflatoksin B₁ ve okratoksin A test kitleri ile çalışılmıştır).

AFB₁ İçin Örneklerin Hazırlanması

2 gr öğütülmüş örnek tartılarak vidalı kapaklı cam bir kaba alındı. 3 ml PBS-buffer veya distile su ve 0.2 ml Amilaz solüsyonu ilave edildi. 20 d oda ısısında karıştırıldı. 7 ml % 100'lük metanol eklendi ve ekstraksiyon için 10 d çalkalandı. Örnek solüsyon filtre kağıdından süzüldü. 2 ml filtrat üzerine 2 ml distile su ile 3 ml dikolorometan ilave edildi ve 5 d kuvvetlice çalkalandı. 10 d, 3500 devir/dakika, 10-15 °C'de santrifüj edildi. Üstteki sıvı kısım ayrılarak kısa bir süre vortekste karıştırıldı. Karışım tamamen kuruması için 50-60 °C'de yaklaşık 30 d bekletildi. Kuru artık üzerine 1 ml % 100'lük metanol ile tekrar çözüldü ve üzerine 1 ml distile su, 1.5 ml n-Heptan eklenerek 5 d çalkalandı. 5 d 3500 devir/dakika, 10-15 °C'de santrifüj edildi. Üstteki n- Heptan tabakası tamamen ayrıldı ve alttaki metanolik tabakadan 100 µl alınarak 400 µl sample dilüsyon buffer ile dilue edildi ve testte bu karışımdan 50 µl kullanıldı.

AFB₁ İçin Test Prosedürü

Standart ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter strip pleyte yerleştirildi. Her standarttan ve hazırlanmış örneklerden 50 µl kuyucuklara konuldu. Üzerlerine 50 µl dilue edilmiş enzim konjugat ilave edilerek 2 saat oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp yıkama solusyonuyla otomatik yıkayıcıda 3 kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen konularak 30 d oda ısısında karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl stop solüsyonu konularak absorbansı 450 nm'de okundu. Kalibrasyon eğrisi üzerinden okunarak elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü olan 25 ile çarpıldı.

Toplam Aflatoksin İçin Örneklerin Hazırlanması

2 gr öğütülmüş örnek tartılarak bir kaba alınarak ve üzerine 10 ml % 70'lik metanol ilave edildi ve 10 d oda ısısında karıştırıldı. Bütün örnek solüsyon katlanmış filtre kağıtından süzüldü. 100 µl süzüntü 600 µl örnek dilüsyon buffer ile dilue edilerek bundan 50 µl teste kullanıldı.

Toplam Aflatoksin Test Prosedürü

Standart ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter strip pleyte yerleştirildi. Her standarttan ve hazırlanmış örneklerden 50 µl kuyucuklara konuldu. Üzerlerine 50 µl dilue edilmiş enzim konjugat ilave edildi. Bundan sonra her kuyucuğa dilue edilmiş antibody'den 50 µl ilave edilerek oda ısısında 30 d inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp yıkama solusyonuyla otomatik yıkayıcıda 3 kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen konularak 30 d oda ısısında karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl stop solüsyonu konularak absorbansı 450 nm'de okundu. Kalibrasyon eğrisi üzerinden okunarak elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü olan 35 ile çarpıldı.

Okratoksin A İçin Örneklerin Hazırlanması

2 gr öğütülmüş örnek tartılarak vidalı kapaklı cam bir kaba alındı. 3 ml distile su ve 0.2 ml Amilaz solüsyonu ilave edildi. 20 d oda ısısında karıştırıldı. 1 ml 5 N HCl ile 5 d karıştırıldı. 10 ml diklorometan ilave edildi ve 15 d karıştırıldı. 15 d, 3500 devir/dakika, 15 °C'de santrifüj edildi. Üstteki tabaka atılarak geri kalan kısım filtre edildi. Üzerine filtratın hacmi kadar 0.13 M Sodyum hidrojen karbonat eklenerek 15 d karıştırıldı. Tekrar 15 d, 3500 devir/dakika, 15 °C'de santrifüj edildi. Dilüsyonun üst fazından 100 µl alınarak 400 µl 0.13 M Sodyum hidrojen karbonat ile dilue edildi ve buradan 50 µl alınarak testte kullanıldı.

Okratoksin A için Test Prosedürü

Standart ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter strip pleyte yerleştirildi. Her standarttan ve hazırlanmış örneklerden 50 µl kuyucuklara konuldu. Üzerlerine 50 µl dilue edilmiş enzim konjugat ilave edilerek 2 saat oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp yıkama solusyonuyla otomatik yıkayıcıda 3 kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen konularak 30 d oda ısısında karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl stop solüsyonu konularak absorbansı 450 nm'de okundu. Kalibrasyon eğrisi üzerinden okunarak elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü olan 25 ile çarpıldı.

BULGULAR

Çalışma sonucunda incelenen toplam 50 buğday unu örneği, AFB₁ yönünden incelendiğinde 37 (% 74) adedinde AFB₁ tespit edilmiş ve örneklerin 13 (% 26) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde AFB₁ tespit edilememiştir. Örneklerin 8 (% 16) adedinde ise AFB₁ miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. Toplam aflatoksin yönünden incelendiğinde 37 (% 74) adedinde tespit edilmiş ve örneklerin 13 (% 26) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde toplam aflatoksin tespit edilememiştir. Örneklerin 9 (% 18) adedinde ise toplam aflatoksin miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. Okratoksin A yönünden incelendiğinde 45 (% 90)

adedinde okratoksin A tespit edilmiş ve örneklerin 5 (% 10) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde okratoksin A tespit edilememiştir. Örneklerin 6 (% 12) adedinde ise okratoksin A miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır.

Tablo 1. Tespit edilen Toplam Aflatoksin, AFB₁ ve Okratoksin A düzeyleri

Numune sayısı	Toplam Aflatoksin			AFB ₁			Okratoksin A		
	<1.75 ^a	>1.75	<4 ^d	<1 ^b	>1	>2 ^d	<0.625 ^c	>0.625	>3 ^d
50	13	37	9	13	37	8	5	45	6

*: ppb

<:den az

>:den fazla

a: Toplam aflatoksin için ELISA metodu ile tespit edilebilen en alt limit

b: AFB₁ için ELISA metodu ile tespit edilebilen en alt limit

c: Okratoksin A için ELISA metodu ile tespit edilebilen en alt limit

d: Türk Gıda Kodeksinin izin verdiği miktardan daha fazla tespit edilen numune sayısı

Korelasyon analizi sonucu, araştırmada incelenen toplam aflatoksin, AFB₁ ve okratoksin A arasında çok önemli düzeyde ($P<0.01$) ilişki olduğu da bulunmuştur.

Toplam aflatoksin ve AFB₁ arasında 0.920, AFTotal ve Okratoksin A arasında 0.519, AFB₁ ve okratoksin A arasında ise 0.537 korelasyon katsayıları hesaplanmıştır.

SONUÇ

Gıda ve yemlerde aflatoksin ve okratoksin oluşumunun önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Aflatoksin oluşumunun önlenmesinde öncelikle hammaddenin tarlada gelişimi, hasatı, depolanması, nakliyesi, ürünün işlenmesi ve ürün elde edilmesi aşamalarındaki küf kontaminasyonunun engellenmesi veya en aza indirilmesi önem taşımaktadır. Mikrobiyal kontaminasyonu tarlada kontrol altında tutmak çok güçtür. Ancak, mikrobiyal kontaminasyon ürünün hasatı ve onu izleyen aşamalarda alınacak hijyen ve sanitasyon önlemleri ve bilinçli uygulamalarla büyük ölçüde engellenebilir. Aflatoksin ve okratoksin oluşumunun önlenmesinde ikinci ve daha da önemli adım ise hammadde, ara ürünler ve son ürüne çeşitli şekillerde bulaşan küflerin gelişiminin önlenmesidir. Bu da üretimde iyi bir teknoloji kullanma ve bilinçli uygulamalarla mümkün olabilir.

KAYNAKLAR

1. Abouzied MM, Horvath AD, Podlesny PM, Regina NP (2002) *Ochratoxin A concentrations in food and feed from a region with Balkan Endemic Nephropathy*. Food Additives and Contaminants, Vol 19, 8, 755-764
2. Bacha H, Maaroufi K, Achour A, Hammami M, Ellouz F and Creppy EE (1993) *Human ochratoxicosis and its pathologies*. Collog Inserm 231, 101-110
3. Betina V (1989) *Mycotoxins. Chemical, Biological and Environmental Aspects*, Elsevier. ISBN 0-444- 98885-8, Amsterdam-Oxford-New York. Tokyo, 437p
4. Bullerman, LB (1979) *Significance of Mycotoxins to Food Safety and Human Health*, Journal of Food Protection, 42 (1): 65-86.
5. Chu FS (1977) *Mode of Action of Mycotoxins and Related Compounds*. Adv. Appl. Microbiol., 22, 83- 142
6. De Koe WJ (1999) *Regulations of the European Union for mycotoxins in foods*. Arhiv Za Higijenu Rada Toksikologiju, 50, 37-46
7. Fink-Gremmels J, (1999): *Mycotoxins: Their implications for human and animal health*. Vet.Quart., 21 (4): 115-120.
8. Fuchs R, Perica M (2005) *Ochratoxin A in human kidney diseases*. Food Additives and Contaminants, Supplement 1, 53-57.
9. Gekle M, Sauvant C, Schwerdt G, Silbernagl S, (1998): *Tubulotoxic Mechanisms of ochratoxin A*. Kidney Blood Press Res., 21: 277-279.
10. Hsieh DPH (1979) *Mycotoxins - Their Biosynthesis in Fungi: General Introduction*. Journal of Food Protection, 42(10), 804.
11. Höhler D (1998) *Ochratoxin A in food and feed: occurrence, legislation and mode of action*. Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, 37, 2-12
12. IARC-International Agency for Research in Cancer (1993) *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Some naturally occurring substances: Food items and constituents. Heterocyclic aromatic amines and mycotoxins*. IARC Scientific Publications, 56, Lyon
13. Ito Y, Peterson, SW, Wicklow, DT and Goto T (2001) *Aspergillus pseudotamarii, A New Aflatoxin Producing Species in Aspergillus Section Flavi*, Mycological Research, 105(2), 233-239.
14. Kaya S, (1984): *Mikotoksinler: Hayvan ve insan sağlığı yönünden önemi*. A.Ü. Vet.Fak.Derg., 31(3): 388-409
15. Khalef A, Zidane C, Charef A, Gharbi A, Tadjerouna M, Betbeder AM and Creppy EE (1993) *Human ochratoxicosis and its pathologies*. Collog Inserm 231, 123-128
16. MacDonald SJ, Landton S and Brereton PA (2001) *Assesment oh human exposure to ochratoxin in the UK- relationship between dietary intake and plasma and urine levels*. Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Century, 21-25 May, pp 181-188
17. Obrecht-Pflumio S, Dirheimer G, (2000): *In vitro DNA and dGMP adducts formation caused by ochratoxin A*. Chem. Biol. Interact., 15; 127(1): 29-44
18. Petzinger E and Ziegler K (2000) *Ochratoxin A from a toxicological perspective*. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 23, 91-98
19. Pitt JI (1987) *Penicillium viridicatum, Penicillium verrucosum and production of ochratoxin A*. Applied and Enviromental Microbiology, 53, 266-269
20. Pittet A (1998) *Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an updated review*. Rev Med Vet, 149 (6), 479-492
21. Pohland, AE (1993) *Mycotoxins in Review*. Food Additives and Contaminants, 10 (1), 17-28.
22. Pons WJr, Robertson JA and Goldblatt LA (1966) *Objective fluorometric measurement of aflatoxins on TLC plates*, J Am Oil Chem Soc, 43, 665-669
23. Sava V, Reunova O, Velasquez A, Harbison R, Sanchez-Ramos J (2006) *Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin A*. Neurotoxicology; 27, 82-92
24. Scott, PM (1978) *Mycotoxins in Feeds and Ingredients and their Origin*. Journal of Food Protection, 41(5), 385-398.
25. Speijers GJA and Van Egmond HP (1993) *Worldwide Ochratoxin A levels in food and feeds*. Collog Inserm 231, 85-100.
26. Standing Committee on Foodstuffs at the European Comission (2001) *Summary Record of the 80th Meeting*. Available at [http:// europa.eu.int/comm/food/re/scfs/index_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/re/scfs/index_en.html)

27. **Tunail N (2000)** *Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu In" Gıda mikrobiyolojisi ve Uygulamaları* p153" Sim Matbaacılık, 522, Ankara.
28. **Van Der Merve KJ, Steyn P, Fourrje L, Scott D and Theron JJ (1965)** *Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by Aspergillus ochraceus*. Nature, 205, 1112-1113.

ERZURUM'DA TÜKETİME SUNULAN CAĞ KEBAPLARINDA BAZI PATOJENLERİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Cemal ÜNSAL¹

Mustafa ATASEVER²

Korhan ÖZTURAN¹

Yakup KARAKAYA²

Gülşah ADIGÜZEL²

¹ 9 ncü Kor. "A" Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı, Erzurum

² Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum

Özet: Bu çalışmada, Erzurum'daki işletmelerden alınan 84 adet (42 şer adet çiğ ve pişmiş) cağ kebab (yatık döner) örneği incelendi. Çalışmanın amacı cağ kebabının tanıtımını sağlamak ve hijyenik kalitesini ortaya koymaktır.

Örnekler pH değeri, aerobik mezofilik bakteri sayısı, küf sayısı, maya sayısı, *E. coli* sayısı, *Staphylococcus aureus* sayısı, salmonella, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* ve *E.coli* O157:H7 yönünden incelendi. Genellikle tüm parametreler açısından çiğ ve pişmiş örnekler arasında farklılık ($P<0.05$) belirlendi. Tüm örneklerde pH değerinin 6'dan düşük olduğu gözlemlendi. Çiğ cağ kebab örneklerinde; aerobik mezofilik bakteri sayısı $7.0 \times 10^5 \pm 1.3 \times 10^6$ kob/g, *E. coli* sayısı $9.9 \times 10^3 \pm 3.4 \times 10^4$ kob/g, *Staphylococcus aureus* sayısı $3.9 \times 10^4 \pm 8.5 \times 10^4$ kob/g, maya sayısı $2.3 \times 10^4 \pm 7.3 \times 10^4$ kob/g, küf sayısı $9.7 \times 10 \pm 1.7 \times 10^2$ kob/g olarak saptanmıştır. Çiğ örneklerin ikisinde (%4.76) salmonella, üçünde (%7.1) *Listeria monocytogenes*, ikisinde (%4.76) *Clostridium perfringens* belirlenmiş ve hiçbir örnekte *E. coli* O157:H7 tespit edilememiştir. Pişmiş cağ kebab örneklerinde ise; aerobik mezofilik bakteri sayısı $7.9 \times 10^4 \pm 1.3 \times 10^5$ kob/g, *E. coli* sayısı $7.1 \times 10 \pm 3.4 \times 10$ kob/g, *Staphylococcus aureus* sayısı $4.0 \times 10^3 \pm 7.3 \times 10^3$ kob/g, maya sayısı $5.1 \times 10 \pm 1.5 \times 10^2$ kob/g, olarak saptanmıştır. Çiğ örneklerin birinde (%2.38) salmonella, ikisinde (%4.76) *Listeria monocytogenes*, belirlenmiş ve hiçbir örnekte küf, *Clostridium perfringens* ve *E. coli* O157: H7 ise tespit edilememiştir.

Sonuç olarak, cağ kebab örneklerinin hijyenik kalitelerinin genel olarak düşük olduğu ve halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanaatine varılmıştır. Cağ kebabının üretiminde hijyenik kurallara uyulmalı, iyice pişirildikten sonra tüketilmelidir. **Anahtar kelimeler:** cağ kebab, kebab, patojen, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *E. coli* O157: H7, salmonella, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.

AN INVESTIGATION ON THE PRESENCE OF SOME PATHOGENS IN CAG KEBAB CONSUMED IN ERZURUM

Abstract: In this study, a total of 42 raw samples and 42 done samples of cag kebab were investigated for microbiological aspect. The objective of this research were to acquaint the product and to determine hygienic quality of the cag kebabs sold in the Erzurum restaurant. The samples were examined for pH values, total aerobic mesophilic bacteriae, yeast, molds, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* and *E. coli* O157: H7

As a result, all of the samples' pH values were found under 6. In the raw samples; the number of the microorganisms were determined as total aerobic mesophilic bacteriae $7.0 \times 10^5 \pm 1.3 \times 10^6$ cfu/g, *E.coli* $9.9 \times 10^3 \pm 3.4 \times 10^4$ cfu/g, *Staphylococcus aureus* $3.9 \times 10^4 \pm 8.5 \times 10^4$ cfu/g, yeasts $2.3 \times 10^4 \pm 7.3 \times 10^4$ cfu/g, molds $9.7 \times 10 \pm 1.7 \times 10^2$ cfu/g., It was found that the raw samples contain salmonella (2 samples, 4.76%), *Listeria monocytogenes* (3 samples, 7.1%), and *Clostridium perfringens* (2 samples, 4.76). There wasn't *E. coli* O157:H7 in the samples. In the done samples, the number of the microorganisms were determined as total aerobic mesophilic bacteriae $7.9 \times 10^4 \pm 1.3 \times 10^5$ cfu/g, *E.coli* $7.1 \times 10 \pm 3.4 \times 10$ cfu/g, *Staphylococcus aureus* $4.0 \times 10^3 \pm 7.3 \times 10^3$ cfu/g, yeasts $5.1 \times 10 \pm 1.5 \times 10^2$ cfu/g. It was found that the done samples contain salmonella (1 samples, 2.38%), and *Listeria monocytogenes* (2 samples, 4.76%). There weren't mold, *Clostridium perfringens*, and *E. coli* O157:H7 in the samples.

In conclusion, it was determined that the cağ kebab consumed in Erzurum were inappropriate for hygienic quality. They had low hygienic quality; therefore, they would have a potential hazard for public health. It must be obey the hygienic rule and eat after effective heat treat.

Key words: cağ kebab, kebab, pathogen, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *E. coli* O157:H7, salmonella, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.

GİRİŞ

Et ve ürünleri yoğun besin ögesi içeriği ve lezzeti nedeniyle sevilerek tüketilen besinlerdir. Özellikle son yıllarda et ürünleri tüketiminde hızlı artış söz konusudur. Et ürünleri üretiminde uygulanan farklı teknik ve uygulamalarla, yeni ürünlerin gelişimine ve mevcutların da daha iyi kalitede ürün olmasına katkı sağlanmaktadır. Son yıllarda tüketimi artan et ürünlerinden birisi de cağ kebaptır. Cağ kebab (yatık döner), Erzurum bölgesinde yaygın olarak tüketilen bölgesel bir kebab çeşididir. Günümüzde bu kebab çeşidi artık sadece Erzurum'da değil Türkiye'nin birçok bölgesinde de tüketime sunulmaktadır.

Cağ kebab yapımı; hammadde temini, ön işlemler, hazırlama ve pişirme olmak üzere dört aşamada gerçekleşmektedir. Bu kebabın üretiminde; taze veya soğutulmuş, kuzu veya koyun karkası hammadde olarak kullanılmaktadır. Cağ kebab yapımında diğer bir önemli uygulama da ete uygulanan ön işlemlerdir. Cağ kebab için hazırlanan et, dilimler halinde kesildikten sonra tuz ve baharata ilaveten soğanla karıştırıldıktan sonra yaklaşık

1 gün bekletilmiş yoğurt ile muamele edilir. Hazırlanan et, cağ kebab şişine hemen geçirilerek bir gün daha 4-8°C'de bekletilir. Dinlendirilen bu et, yatık şekilde odun ateşinde pişirilerek yöresel olarak adlandırılan cağ şişlerine kesilerek tüketime sunulur.

Cağ kebab yapımında kullanılacak etin, mikrobiyel yükünün düşük olması mikrobiyolojik kalitesi yüksek cağ kebabı elde etmek açısından önemli bir husustur. Çünkü et besin içeriğinin zengin olması ve su aktivitesinin yüksekliğiyle patojen mikroorganizmalar da dahil olmak üzere çok geniş bir mikroorganizma grubunun gelişme ve çoğalmaları için uygun bir ortamdır. Mikrobiyolojik kalitesi düşük etin bu kebabın yapımında kullanılması birçok probleme neden olabilir. Özellikle parçalanmış etin, baharat ve diğer katkılarla beraber uygun olmayan şartlarda bekletilmesi besin zehirlenmelerine neden teşkil edebilir.

Gelişmiş ülkelerde hızla artış gösteren besin kaynaklı hastalıkların, hijyenik olmayan çiğ besinlerin ve et ürünlerinin tüketiminden kaynaklandığı belirtilmektedir (12). Artan sanayileşme ve hızlı şehirleşmeye bağlı olarak çalışan nüfusun sürekli artması, çalışma ve sosyo-ekonomik koşullar ile tüketim alışkanlıklarındaki değişimler sonucu, hazır besin tüketimi de tüm dünyada giderek artmaktadır (16).

Beslenme alışkanlıklarının çeşitli nedenlere bağlı olarak değişimi; hazır besinlerin tüketimini buna bağlı olarak da bu besinlerin hijyenik önemini artırmıştır. Türkiye'de tüketime hazır lokanta besinlerinin yeterli hijyenik kaliteye sahip olmadığını belirleyen çok sayıda araştırma mevcuttur (1, 4, 7). Yapılan çalışmalar (9,13), tüketime hazır besinlerde *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* ile diğer bazı patojenlerin bulunabileceğini ortaya koymaktadır. Bu besinlerde mikroorganizmaların bulunmasının nedenleri arasında, besin hammaddelerinde mikroorganizma yükünün fazla olması, yetersiz ısı işlemi, kontamine malzeme (örn., baharat), uygun olmayan ortamlarda muhafaza, yetersiz işletme hijyeni, çapraz kontaminasyon ve bilinçsiz personel sayılabilir.

Besin kaynaklı bakteriyel hastalıkların seyri çoğunlukla hafif olmakla beraber önemli sağlık ve ekonomik problemlere yol açmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık olarak her yıl yaklaşık 76 milyon insan besin kaynaklı olarak hastalanmakta, bunların 325000'ni hastanede tedavi görürken yaklaşık 5000'ni hayatını kaybetmektedir (17). Amerika Birleşik Devletleri'ne bu hastalıkların yıllık maliyetlerinin yaklaşık 80 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (12). Besin kaynaklı bakteriyel hastalıklar, son yıllarda tüm dünyada yaygın olan önemli sağlık problemleri içerisinde yer almaktadır. Bu nedenle hijyenik ve iyi kaliteli besin, birçok ülke için öncelikli konular içerisinde yer almaktadır (11).

Bu çalışma cağ kebabının tanıtımına katkı sağlamak ve pH değeri ile mikrobiyolojik kalitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Araştırmada Erzurum il merkezinde şansa bağlı olarak seçilen altı işletmenin cağ kebabı mikrobiyolojik kalite yönünden incelenmiştir. Her bir işletmeden altı kez birer hafta aralıklarla yedişer kez çiğ ve pişmiş olmak üzere toplam 84 adet örnek (42 çiğ+42 pişmiş) toplanmıştır. Örnekler steril kaplar içerisine alınmış ve soğuk şartlarda kısa sürede laboratuvara getirilerek analize alınmıştır.

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Uygun dilüsyonların (10^{-3} ve 10^{-4}) her birinden steril boş petrilere 1'er ml aktarılmış ve üzerlerine 12-15 ml Plate Count Agar (Oxoid CM 325) dökülerek ekim tamamlanmıştır. Ekim yapılan plaklar 30 °C' de 72 saat inkübe edilmiştir (5).

***E. coli* sayısı**

Uygun dilüsyonların (10^{-1} ve 10^{-2}) her birinden T.B.X. Medium (Oxoid CM 945) plaklarına paralelli olarak 0.1'er ml aktarılmış ve steril drigalski spatülü ile yayılmıştır. Ekim yapılan plaklar, 30 °C'de 4 saat ve daha sonra da 45 °C'de 24 saat inkübe

edilmiştir. İnkübasyon süresi bitiminde oluşan mavi-yeşil koloniler sayılmış ve IMVIC testleri sonucu pozitif olan koloniler hesaplanarak sonuç saptanmıştır (5).

***E. coli* O157: H7 tespiti**

E.coli O157: H7 için 25 g numuneye 225 ml mTSB-Broth with Novobiocin (Merck. 1.09205) ilave edilerek 3 dakika süreyle stomacher ile homojenize edildikten sonra, 37 °C' lik etüvde 16-20 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda bir özeyle Cefixime Tellurite Selective katkılı (Oxoid SR 0172 E) Sorbitol Macconkey Agar With bcig (Oxoid CM 0981) besiyerine çizim yöntemiyle ekim yapılarak 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir (5,6).

***Staphylococcus aureus* sayımı**

Uygun dilüsyonlarda (10^{-2} ve 10^{-3}) Egg Yolk – Tellurite Selective (Oxoid SR 0054 C) katkılı Baird – Parker Medium (Oxoid CM 275) besiyeri plaklarına 0,1'er ml aktarılmış ve steril drigalski spatülü ile yayılmıştır. Ekim yapılan plaklar 37 °C'de 48 saat aerobik şartlarda inkübe edilmiştir. 30 saatlik inkübasyon bitiminde etrafında berrak bir zon oluşan, ince beyaz kenarlı, parlak siyah koloniler sayılmıştır. Bu koloniler işaretlendikten sonra petri kutuları 18 saat daha inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonunda işaretlenen kolonilere ilaveten beyaz kenar ve berrak zonu bulunmayan parlak siyah kolonilerde sayılarak berrak zonlu olan ve berrak zonu bulunmayan kolonilerden beşer koloni seçilerek koagülaz testine tabi tutulmuştur. Ayrıca Oxoid DR0595A Staphylase Test kiti kullanılmıştır. Koagülaz ve Staphylase testinde pozitif sonuç veren koloniler dikkate alınmış ve *S. aureus* sayısı belirlenmiştir (5).

***Salmonella* spp tespiti**

25 g numune steril stomacher torbasına tartılmış üzerine 225 ml Buffered Peptone Water (Oxoid CM 509) ilave edilerek stomacherde 3 dakika homojenize edildi. Elde edilen homojenizat 37 °C' de 18-20 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda ön zenginleştirme ortamında 10 ml olarak hazırlanmış olan Salmonella Enrichment Broth acc.to Rappaport and Vassiliadis (Merck. 1.07700.0500) içeren tüplere bir özeyle geçiş yapıldı. RV-Broth içeren tüpler 42°C'de selektif zenginleştirme amacıyla 48 saat inkübasyona bırakıldı. 48 saatlik inkübasyon sonunda selektif zenginleştirme

kültüründen SS Agar (Oxoid CM 99) ve BPLS Agar Modified (Merck. 1.10747.0500) besiyerlerine çizim usulü ile ekim yapıldı. Bu süre sonunda pembe renkli şüpheli salmonella kolonileri VRB-Agar plaklarına çizim usulü ekim yapıldı. 37 °C' de 24 saatlik inkübasyon sonunda saf renksiz kolonilerden Triple Sugar Iron (TSIA, Oxoid CM 277), Lysine Decarboxylase Broth (LDB, Oxoid CM 0308), Üre Agar, Voges-Proskauer ve Tryptone Water (TW, Merck. 1.10859) geçiş yapılarak biokimyasal testler uygulandı (5,6). Ayrıca Refik Saydam Hıfzısıha Merkez Başkanlığından temin edilen Salmonella TYPHI O, Salmonella TYPHI H ve Salmonella Antiserum Vi identifikasyon test kitleriyle doğrulama yapıldı.

***Clostridium perfringens* tespiti**

Clostridium perfringens sayımı için besiyeri olarak *Clostridium perfringens* Selective (Merck. 1.00888.0001) katkılı TSC Agar (Merck. 1.11972.0500) kullanılmıştır. 10^{-1} ve 10^{-2} dilüsyonlardan petri kutularına 1'er ml aktararak üzerlerine 12-15 ml bu besiyerinden döküldü. Daha sonra inükle edilmiş besiyerinin donmasından sonra üzerine yaklaşık 8 ml daha dökülerek 37°C' de 20 saat anaerobik ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan siyah koloniler sayılmıştır. *C. perfringens* sayısını belirlemek için, siyah kolonilerden toplam sayıyı temsil edecek kadar tipik koloni seçilmiş gram boyama, laktoz fermentasyonu, jelatin hidrolizi, nitrat redüksiyonu ve hareket biyokimyasal doğrulama testlerine tabi tutulmuştur (6).

Maya-Küf sayımı

Maya ve küf sayısını belirlemek için, Chloramphenicol selective (Oxoid SR 0078E) supplement katkılı Rose-Bengal Chloramphenicol Agar Base (RO)(Oxoid CM 549) ile OGYE Selective Supplement (Merck. 1.09877.0001) katkılı OGYE Agar (Merck. 1.05978.0500) besiyerleri kullanılmıştır. Boş steril petri kutularına 1' er ml ¼ Ringerli su ile homojenize edilmiş ana dilüsyondan konuldu. Üzerine 15 ml OGYE besiyerinden dökülerek ekim tamamlanmıştır. Paralel olarak çalışılan RO besiyerine ana dilüsyondan 0,1 ml aktararak yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekimi tamamlanan plaklar 25°C' de 5 gün inkübe edildikten sonra sayım gerçekleştirilmiştir (5).

***Listeria monocytogenes* tespiti**

Her bir cağ kebab örneğinden *L.monocytogenes* için tartılan 25 g numuneye 225 ml Frasher Selective Supplement (Oxoid SR 156E) katkılı Frasher Broth Base (Oxoid CM 895) ilave edilerek 3 dakika süreyle stomacher ile homojenize edildi. Baskılanmış mikroorganizmaların canlandırılması için ana süspansiyon 60 d süre ile 20°C' lik inkübatörde bekletildi. Kullanımdan önce inkübatörde kurutulmuş iki PALCAM agar plağına her birine ana süspansiyondan 0,1 ml aktararak yayma yöntemiyle ekim yapıldı. Ekim yapılan PALCAM agar plakları 37°C' de % 5' lik mikroaerobik ortamda 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 1,5 – 2 mm çapında, ortası çökük ve siyah haleyle çevrili yeşil koloniler şeklinde görülenler *Listeria* spp. şüpheli koloniler olarak kabul edildi ve biyokimyasal testler ile doğrulama yapıldı (5).

pH değerlerinin belirlenmesi

Örneklerin pH değerlerini belirlemek için kıyma haline getirilmiş örneklerden 10 g tartılıp, üzerine 100 ml saf su ilave edildi. Ultratoraksta (IKA Werk Tp 18-10, 20 000 Upm) bir dakika homojenize edildi. Homojenizatın pH değeri, pH-metre (ATI ORION 420A the Shcraft Center 529 Main Street, Boston, MA 02129, USA) ile okunarak saptandı (15).

BULGULAR

Erzurum il merkezinden şansa bağlı olarak seçilen altı işletmeden alınan toplam 84 adet (42 çiğ+42 pişmiş) cağ kebabı örneğine ait bulgular Tablo 1'de gösterilmektedir.

Örnekler pH değeri, aerobik mezofilik bakteri sayısı, küf sayısı, maya sayısı, *E. coli* sayısı, *Staphylococcus aureus* sayısı, salmonella, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* ve *E. coli* O157:H7 yönünden incelendi. Genellikle tüm parametreler açısından çiğ ve pişmiş örnekler arasında farklılık ($P<0.05$) belirlendi. Çiğ cağ kebab örneklerinde; aerobik mezofilik bakteri sayısı $7.0 \times 10^5 \pm 1.3 \times 10^6$ kob/g, *E. coli* sayısı $9.9 \times 10^3 \pm 3.4 \times 10^4$ kob/g, *Staphylococcus aureus* sayısı $3.9 \times 10^4 \pm 8.5 \times 10^4$ kob/g, maya sayısı $2.3 \times 10^4 \pm 7.3 \times 10^4$ kob/g, küf sayısı $9.7 \times 10 \pm 1.7 \times 10^2$ kob/g olarak saptanmıştır. Pişmiş cağ kebab örneklerinde ise; aerobik mezofilik bakteri sayısı $7.9 \times 10^4 \pm 1.3 \times 10^5$

kob/g, *E.coli* sayısı $7.1 \pm 3.4 \times 10$ kob/g, *Staphylococcus aureus* sayısı $4.0 \times 10^3 \pm 7.3 \times 10^3$ kob/g, maya sayısı $5.1 \times 10 \pm 1.5 \times 10^2$ kob/g, olarak saptanmıştır.

Analiz bulgularına göre, altı işletmeden alınan çiğ cağ kebab örneklerin ortalama pH değeri 5.08 ± 0.13 ile 5.42 ± 0.12 arasında ve ortalama 5.24 ± 0.22 olduğu tespit edilmiştir.

Çiğ cağ kebab örneklerinde, aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının $1.1 \times 10^5 \pm 9.0 \times 10^3$ kob/g ile $1.2 \times 10^6 \pm 2.4 \times 10^6$ kob/g arasında tespit edilmiştir. İşletmelerden alınan örnekler, aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı açısından istatistiksel olarak önemli bir fark göstermemiştir. *E. coli* sayısı örneklerde $1.4 \times 10^2 \pm 3.7 \times 10^2$ kob/g ile $3.1 \times 10^4 \pm 7.8 \times 10^4$ kob/g arasında bulunmuştur. Örneklerde *S. aureus* sayısı, $3.7 \times 10^3 \pm 1.3 \times 10^3$ kob/g ile $1.0 \times 10^5 \pm 1.8 \times 10^5$ kob/g; maya sayısı $3.0 \times 10^3 \pm 3.8 \times 10^3$ kob/g ile $8.7 \times 10^4 \pm 1.7 \times 10^5$ kob/g; küf sayısı da <10 kob/g ile $1.0 \times 10^2 \pm 1.3 \times 10^2$ kob/g arasında tespit edilmiştir. Tüm işletmelerden alınan çiğ cağ kebab örneklerinin, 3 tanesinde (%7.1) *L. monocytogenes*, 2 tanesinde (%4.76) *Salmonella* ve 2 tanesinde (%4.76) de *C. perfringens* tespit edilmiştir. Numunelerin hiçbirinde *E. coli* O157: H7 bulunamamıştır.

Pişmiş cağ kebab örneklerinin pH değeri 5.36 ± 0.14 ile 6.06 ± 0.54 arasında ve ortalama 5.70 ± 0.37 olduğu tespit edilmiştir.

Pişmiş cağ kebab örneklerinin, aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı $2.4 \times 10^4 \pm 2.9 \times 10^4$ kob/g ile $1.4 \times 10^5 \pm 1.3 \times 10^5$ kob/g; *E. coli* sayısı, <10 kob/g ile $2.8 \times 10 \pm 7.5 \times 10$ kob/g ve *S. aureus* sayısı $1.7 \times 10^3 \pm 1.8 \times 10^3$ kob/g ile $1.0 \times 10^4 \pm 1.5 \times 10^4$ kob/g arasında tespit edilmiştir. Maya sayısı, <10 kob/g ile $1.3 \times 10^2 \pm 2.9 \times 10^2$ kob/g arasında saptanmıştır. Pişmiş cağ kebab örneklerin 2 tanesinde (%4.76) *L. monocytogenes* ve 1 tanesinde (%2.38) de *Salmonella* belirlenmiştir. Pişmiş cağ kebab numunelerin hiçbirinde *E. coli* O157: H7, *C. perfringens* ve küfe rastlanmamıştır.

Tablo 1. Çağ Kebap Örneklerine Ait Bulgular

İşleme No	pH	Total aerobik mezofilik	E. coli	S. aureus	Maya	Küf	E. coli O157 H7	L. monocytogenes	Salmonella	C. perfringens
Çiğ örnekler										
1	5.08±0.26 ^c	2.4x10 ⁵ ±1.0x10 ⁵	1.3x10 ⁴ ±2.7x10 ⁴	3.0x10 ⁴ ±1.8x10 ⁴ ^{ab}	2.0x10 ⁴ ±9.9x10 ³ ^{ab}	1.0x10 ⁴ ±1.3x10 ⁴ ^{ab}	-	-	+(1/7)	-
2	5.42±0.12 ^a	1.1x10 ⁵ ±9.0x10 ⁴	6.9x10 ³ ±1.5x10 ³	7.5x10 ³ ±1.5x10 ³ ^b	5.1x10 ³ ±1.0x10 ³ ^{ab}	3.2x10 ⁴ ±6x10 ⁴ ^{ab}	-	+(1/7)	-	-
3	5.33±0.13 ^{ab}	7.5x10 ⁵ ±1.3x10 ⁶	1.4x10 ⁵ ±3.7x10 ⁵	3.7x10 ⁵ ±1.3x10 ⁵ ^b	4.4x10 ⁵ ±3.9x10 ⁵ ^a	2.2x10 ⁵ ±1.8x10 ⁵ ^a	-	-	-	-
4	5.41±0.20 ^a	9.7x10 ⁵ ±1.2x10 ⁶	6.3x10 ⁵ ±1.5x10 ⁵	2.1x10 ⁵ ±1.4x10 ⁵ ^{ab}	3.0x10 ⁵ ±3.8x10 ⁵ ^{ab}	1.5x10 ⁵ ±2.8x10 ⁵ ^{ab}	-	-	-	-
5	5.15±0.15 ^{bc}	9.1x10 ⁵ ±1.6x10 ⁶	3.1x10 ⁴ ±7.8x10 ⁴	6.4x10 ⁴ ±8.4x10 ⁴ ^{ab}	1.8x10 ⁵ ±1.9x10 ⁵ ^b	-	-	+(1/7)	-	+(1/7)
6	5.08±0.13 ^c	1.2x10 ⁵ ±2.4x10 ⁵	1.7x10 ⁵ ±3.2x10 ⁵	1.0x10 ⁵ ±1.8x10 ⁵ ^a	8.7x10 ⁵ ±1.7x10 ⁵ ^{ab}	5.7x10 ⁵ ±1.5x10 ⁵ ^{ab}	-	+(1/7)	+(1/7)	+(1/7)
Total	5.24±0.22	7.0x10 ⁵ ±1.3x10 ⁶	9.9x10 ³ ±3.4x10 ⁴	3.9x10 ⁵ ±8.5x10 ⁴	2.3x10 ⁵ ±7.3x10 ⁴	9.7x10 ⁵ ±1.7x10 ⁵	-	+3/42	+2/42	+2/42
Pişmiş örnekler										
1	5.75±0.28 ^{ab}	9.8x10 ⁴ ±2.0x10 ⁵	1.4x10 ⁴ ±3.7x10 ⁴	2.0x10 ³ ±1.2x10 ³ ^b	1.3x10 ² ±2.9x10 ²	-	-	-	+(1/7)	-
2	5.76±0.44 ^{ab}	5.8x10 ⁴ ±8.7x10 ⁴	-	2.9x10 ³ ±6.6x10 ³ ^{ab}	1.4±3.7	-	-	+(1/7)	-	-
3	6.06±0.54 ^a	5.8x10 ⁵ ±9.0x10 ⁵	-	2.5x10 ³ ±9.4x10 ³ ^{ab}	1.3x10 ² ±1.7x10 ²	-	-	-	-	-
4	5.77±0.10 ^{ab}	1.4x10 ⁵ ±1.3x10 ⁵	-	1.7x10 ³ ±1.8x10 ³ ^b	-	-	-	-	-	-
5	5.52±0.07 ^{bc}	8.5x10 ⁵ ±1.5x10 ⁶	-	1.0x10 ³ ±1.5x10 ³ ^a	1.1x10 ² ±2.6x10 ²	-	-	+(1/7)	-	-
6	5.36±0.14 ^c	2.4x10 ⁴ ±2.9x10 ⁴	2.8x10 ² ±7.5x10 ²	4.1x10 ³ ±1.8x10 ³ ^{ab}	2.1x10 ⁵ ±6x10 ⁵	-	-	-	-	-
Total	5.74±0.37	7.9x10 ⁵ ±1.2x10 ⁶	7.1±3.4x10	4.0x10 ³ ±7.3x10 ³	5.1x10 ⁵ ±1.4x10 ⁵	-	-	+2/42	+1/42	-

- Üreme görülmedi

+(1/7) Bu işletmeden alınan örneklerin yedi örneğin birisinde bu mikroorganizmaya rastlanmıştır

+1/42, +2/42, +3/42 Sırasıyla 42 örneğin birisinde, ikisinde, üçünde bu mikroorganizmaya rastlanmıştır

a, b, c Aynı sütundaki farklı harfler arasındaki farklılık önemlidir (P<0.05).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmada, bir Türk ürünü olan ve Erzurum ili ile özdeşleştirilmiş cağ kebabı mikrobiyolojik kalite ve pH yönünden incelenmiştir. Erzurum il merkezinde şansa bağlı olarak seçilen altı işletmeden birer hafta aralıklarla, yedi çiğ ve yedi pişmiş olmak üzere toplam 84 adet (42 çiğ+42pişmiş) cağ kebab örneği toplanmıştır.

İşletmeler arasında çiğ cağ kebab örneklerinin pH değerleri arasında farklılık gözlemlenmiştir. Bu farklılığın üretimde ete katılan yoğurtla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Çünkü üretimde standardizasyon olmaması nedeniyle, ustanın beceri, tecrübe ve alışkanlığına bağlı olarak katılacak yoğurdun niteliği ve miktarı belirlenmektedir. Örneklerin pH değerinin 6'dan düşük olması, bu ürün için olumlu bir nitelik olarak düşünülebilir.

Toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı pişirilmiş et ürünleri için kalite belirlenmesinde kullanılan önemli bir kriterdir. Bu tip ürünler için toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının $\leq 10^5$ kob/g 'dan fazla olmaması istenir (2,10,14). 4 numaralı işletmenin bu açıdan uygun olmadığı anlaşılmaktadır.

Çiğ cağ kebab örneklerinde, *E. coli* sayısı $1.4 \times 10^2 \pm 3.7 \times 10^2$ kob/g ile $3.1 \times 10^4 \pm 7.8 \times 10^4$ kob/g arasında bulunmuş ve tüm işletmelerin çiğ ürünlerinde *E. coli* saptanmıştır. Bu durum, işletmelerde etkin hijyenik önlemler alınmamasıyla alakalı olabilir. *E. coli* ısıya duyarlı bir bakteridir. Bu nedenle 4 işletmenin (2,3,4 ve 5 nolu işletmeler) pişmiş ürünlerinde *E. coli*'ye rastlanmamış, ancak 1 ve 6 numaralı işletmelerin pişmiş ürünlerinde de *E. coli* belirlenmiştir. Bunun sebebi, ısıtıl işlem sırasında yeterli pişirmenin yapılmaması ve cağ kebabı dilimlerinin kalın kesilmesi olabilir.

Çiğ örneklerdeki $3.7 \times 10^3 \pm 1.3 \times 10^3$ kob/g ile $1.0 \times 10^5 \pm 1.8 \times 10^5$ kob/g arasında olan *S. aureus* sayısı, pişmiş ürünlerde $1.7 \times 10^3 \pm 1.8 \times 10^3$ kob/g ile $1.0 \times 10^4 \pm 1.5 \times 10^4$ kob/g'a düşmüştür. Pişmiş ürünlerin tümünde *S. aureus* saptanması; ürüne uygulanan ısıtıl işlemin yetersizliğini ve etkin personel hijyeninin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Nitekim, pişmiş ürünlere *S. aureus* kontaminasyonu sıklıkla çalışanların elleriyle olmaktadır.

Maya ve küf sayısı pişmiş ürünlerde önemli oranda azalmıştır. Çiğ cağ kebab örneklerinin, 3 tanesinde (%7.1) *L. monocytogenes*, 2 tanesinde (%4.76) *Salmonella* ve 2 tanesinde (%4.76) de *C. perfringens* tespit edilmiştir. Numunelerin hiçbirinde *E. coli* O157: H7 bulunamamıştır. Pişmiş örneklerden ise, 2 tanesinde (%4.76) *L. monocytogenes* ve 1 tanesinde (%2.38) de *Salmonella* belirlenmiş ve hiçbirinde *E. coli* O157: H7, *C. perfringens* ve küfe rastlanmamıştır. Benzer sonuçlar birçok araştırmacı (3,8,10,14) tarafından da saptanmıştır. Bu patojenlerin ciddi halk sağlığı problemlerine yol açabileceği düşünülerek üretimde daha etkin önlemlere (örn., hammadde seçimi, hijyen) başvurulmalıdır.

Sonuç olarak, cağ kebabı üretiminde hammadde seçiminden servis aşamasına kadar tüm aşamalarda hijyenik önlemlere uyulmalı, üretimde iyi kalitede hammadde (örn., koyun eti, baharat) kullanılmalı ve etkin ısıtma işlemi uygulanmalı, yeterli pişirme etkinliği açısından cağ kebabı dilimleri kalın olmamalı ve günlük tüketilecek kadar ürün hazırlanmalıdır. Ayrıca bir Türk ürünü olan cağ kebabı hakkında daha kapsamlı çalışmaların yapılarak, bu ürüne ait bir standardın oluşturulmasının önemli bir ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Acar, M.S., Çiftçiöğlu, G. (1997). Kasaplık hayvan etleri ve tavuk etlerinden yapılan döner kebablarının mikrobiyolojik kalitesi üzerine bir araştırma. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 23(2), 395-404.
2. Aran, N. (1988). İstanbul piyasasında tüketilen hazır gıdaların tüketici sağlığı yönünden değerlendirilmesi. *Gıda Sanayi*, 7 (1), 36-42.
3. Cooksey, D.K., Klein, B.P., McKeith, F.K., Blaschek, H.P. (1993). Reduction of *Listeria monocytogenes* in precooked vacuum-packaged beef using postpackaging pasteurisation. *J. Food Prot.* 56 (12), 1034-1038.
4. Gülmez, M., Sezer, Ç., Duman, B., Vatansever, L., Oral, N., Baz, E. (2005). Lokantalarda tüketime sunulan bazı gıdaların ve içme sularının mikrobiyolojik kaliteleri. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 11(1), 5-10.
5. Halkman, A.K (2005). Merck gıda mikrobiyolojisi uygulamaları. Başak Matbaacılık, Ankara.
6. Hemakim (2005). Mikrobiyolojik analiz yöntemlerinde yeni yaklaşımlar, İstanbul.
7. İldız, F., Çiftçiöğlu, G. (1997). Toplu tüketim amacıyla üretilen gıdaların bazı patojen mikroorganizmalar yönünden incelenmesi. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 23 (2), 405-412.
8. Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G. (1990). *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. In meat and meat products. *J. Food Prot.*, 53 (1), 81-91.

9. Kaneko, K.I., Hayashidani, H. Ohtomo, Y., Kosugge, J., kato, M., Takahashi, K., Shiraki, Y., Ogawa, M. (1999). Bacterial contamination of ready-to-eat foods and fresh products in retail shops and food factories. J.Food Prot., 60(8), 644-649.
10. K peli, V. (1996). Yaprak d nerin kimyasal bileşimi ve mikrobiyolojik kalitesi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
11. Loaharanu, By-P (2001). Rising calls for food safety radiation tecnology becomes a timely answer. laea Bulletin.
12. McCabe-Sellers, B.J., Beattie, S.E. (2004). Food safety: Emerging trends in foodborne illness surveillance and prevention. J. Am. Diet. Assoc. 104, 1708-1717.
13. Odumera, J.A., mitchell, S.J., Alves, D.M., Linch, J.A., ye, A.J., Wang, S.L., Styliadis, S., Farber, J.M. (1997). Assessment of the microbiological quality of ready-to-use vegetables for health-care food services. J.Food Prot., 60(8), 954-960.
14. Stolle, A., Eisgruber, H., Kerschofer, D., Krausse, G. (1993). Doner kebab-untersuchungen zur verkehrsauffassung und microbilogischen-hygienischen beschaffenheit im raum München. Fleishwirtsch., 73(8-9), 834-848.
15. Tekinşen, O.C. Atasever, M. ve Keleş, A. (1997). S t  r nleri üretimi ve Kontrolu, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
16. Thorns, C.J. (2000). Bacterial food-born zoonoses. Sci.Tech. Off. Int. Epiz. 19 (1), 226-239.
17. Vattem, D.A., Lin, Y.T, Labbe, R.G., Shetty, K. (2004). Antimicrobial activity aganist select foodborne pathogens by phenolic antioxidants enriched in cranberry pomace by solid-state bioprocessing using the food grade fungus *Rhizopus oligoporus*. Process Biochemistry. 39, 1939-1946.

ANKARA BÖLGESİNDEN SAĞLANAN İÇME SULARINDA *E. COLI* VE KOLİFORM BAKTERİLERİN ARAŞTIRILMASI

Serkan ŞEKER¹, Buket ER¹, Gülderen YENTÜR¹, Güven URAZ², Ebru YILMAZ²

¹ Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Besin Analizleri Bilim Dalı, Ankara

² Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

Özet : Su insan yaşamında çok önemli bir faktördür. *E.coli* ve koliform grubu bakteriler su kalitesinde indikatör olarak kullanılırlar. Bu çalışmada, Ankara Bölgesinden sağlanan damacana, pet şişe ve şebeke içme sularında *E.coli* ve koliform grubu bakterilerin tanımlanması ve tespiti amaçlanmıştır. Bu amaçla, Ankara Bölgesinden 22 adet damacana suyu su bayilerinden, 16 adet pet şişe suyu süpermarketlerden ve 62 adet musluk suyu Ankara'nın değişik semtlerinden olmak üzere toplam 100 adet su örneği temin edilmiştir. İçme suyunda *E.coli* ve koliform grubu bakterilerin araştırılmasında Türk Standartları Enstitüsü (TSE)'nin Membran Filtrasyon (MF) Tekniği ve bütün bakterilerin tanımlanması için API 20 E sistemi kullanılmıştır. Sonuç olarak, Ankarada'ki süpermarketlerden toplanan pet şişe suyu örneklerinden mezofil, *E.coli* ve koliform grubu bakteriler izole edilememiştir. Toplam canlı mezofil bakteri 100 örneğin % 49'undan izole ve identifiye edilmiştir. Bu örnekler halk sağlığı açısından potansiyel risk taşımaktadır.

Anahtar kelimeler : İçme Suyu, Mikrobiyolojik Analiz, *E.coli*, Koliform Bakteriler

INVESTIGATION OF *E. COLI* AND COLIFORM GROUP BACTERIA IN DRINKING WATERS PROVIDED FROM ANKARA REGION

Abstract : Water is the single most important factor for human life. The *E. coli* and coliform group bacteria have been used extensively as an indicator of water quality. In this study, our aim was to identify and detect *E. coli* and coliform group bacteria in drinking waters that were provided from demijohn waters, bottle waters and tap water in Ankara Region. For this purpose, a total of 100 samples of water were collected in Ankara Region. Water samples consisted of 22 demijohn waters, 16 bottle waters and 62 tap waters, which were collected from water distributors, supermarkets, and different districts of Ankara, respectively. The detection and enumeration of *E. coli* and coliform group bacteria in drinking water were investigated by the membrane filtration (MF) method through the guidelines of the method recommended by Turkish Standard Institute (TSI). All bacteria identifications were performed by the API 20 E system. As a result, mesophile, *E. coli* and coliform group bacteria have not been isolated from bottle water samples, which were collected from Ankara supermarkets. Total mesophile bacteria have been isolated and identified in 49 samples (49 %) of 100 water samples and these samples are a potential hazard for public health.

Key words : Drinking Water, Microbiological Analysis, *E. coli*, Coliform Bacteria

*Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu desteği ile gerçekleştirilmiştir (Proje No: 02/2005-02)

GİRİŞ

Su, canlıların temel bir gereksinimidir. Suyun yetersizliği ve kirlenmesi çeşitli sorunları da beraberinde getirmektedir (4). Mikroorganizmalar, suda bulunan diğer ajanlardan daha fazla hastalıklara ve gastrointestinal rahatsızlıklara yol açabilmektedirler (13).

Araştırmalar dünyada her gün 50.000 den fazla insanın su kaynaklı hastalıklardan öldüğüne dikkat çekmektedir (11). Gelişen toplumlar ve artan dünya nüfusunda özellikle beş yaşından küçük çocuklarda diyarel hastalıklar sağlık problemi olarak ön plana çıkmaktadır (7,21).

Koliform grubu bakteriler ve *Escherichia coli* su kirliliğinin/kalitesinin indikatörü olarak kullanılmaktadır (13,8,14). Bir su muayenesinde patojen mikroorganizmaların aranması zor ve uzun zaman gerektirdiği için, ayrıca bu patojenlerin saptanması şansı her zaman yüksek olmadığından koliform grubu bakteriler ve *Escherichia coli* indikatör mikroorganizma olarak aranmaktadır (9).

Koliformlar, aerobik ve fakültatif anaerobik Gram-negatif sporsuz basil şeklinde ve laktozu 48 saatte 35°C'de fermente ederek gaz oluşturan bakterilerdir. Koliform bakteriler insan ve hayvanların bağırsak sisteminde, toprakta ve bitki materyallerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar fekal kontaminasyonlu toprakta yüksek miktarda bulunmakta topraktan atmosfere geçmekte ve sonra yağmurun da etkisiyle akarsular, nehirler ve göllere taşınmaktadır (2).

Dünya Sağlık Örgütü, World Health Organization (WHO), içme sularının 100 ml'sinde fekal veya ısıya dayanıklı koliformların bulunmamasını önermektedir (7).

Çevre Koruma Ajansı, Enviromental Protection Agency (EPA), içme sularının kalite standartlarında 100 ml'deki toplam bakteri sayısını 5 den az olması gerektiğini ve fekal bakterininde bulunmaması gerektiğini belirtmektedir (3).

Türk Gıda Mevzuatına göre, içme sularının 100 mililitresinde koliform, *fekal* (termotolerant) koliform, *E.coli*, *Fekal Streptokok*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, patojen *Stafilokoklar*, parazitler, yosunlar ve diğer mikroskobik canlılar ile

50 mililitresinde anaerob sporlu sülfat redükte eden bakteriler ve 10 litresinde enterovirüsler bulunmayacaktır (15).

Türk Standartları Enstitüsü içme ve kullanma suları için *E. coli*, *Enterococci*'nin en çok değerlerini 100 ml'de sıfır ve memba suları için en çok değerlerini 250 ml'de sıfır olarak belirtmiştir (17).

Avrupa Birliği 98/83/EC direktifine göre suyun mikrobiyolojik parametrelerinde *E. coli* ve *Enterococci* değerleri 100 ml'de sıfır ayrıca şişe sularında *E. coli* ve *Enterococci*'nin değerleri 250 ml'de sıfır olarak belirtmiştir (1).

Bu çalışma ile Ankara'da satılan damacana, pet şişe sularının ve şebeke sularının *E. coli* ve koliform grubu bakteriler yönünden incelenmesi amaçlanmıştır. Böylece hayati öneme sahip olan suyun Ankara Bölgesinde sağlık açısından riskli bir durum oluşturup oluşturmadığı araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Ankara Bölgesinden temin edilen toplam 100 adet su örneği materyal olarak kullanıldı. Örneklerden 22 adet damacana suyu su bayilerinden, 16 adet pet şişe suyu süpermarketlerden ve 62 adet musluk suyu Ankara'nın farklı semtlerinden temin edilmiştir. Örneklerin toplanmasında Türk Standartları Enstitüsü'nün numune alma teknikleri, numunelerin muhafaza ve taşınma kuralları uygulanmıştır (18,19). Türk Standartları Enstitüsünde belirtilen esaslara uygun olarak örneklerin alınmasında 250 ml'lik steril örnek şişeleri kullanılmış ve bulaşmayı önleyecek şekilde aseptik koşullarda örnekleme yapılmıştır. Uygun şartlarda laboratuvara getirilen su örneklerinin bekletilmeden analizi yapılmıştır.

Bakterilerin Membran Filtrasyon Yöntemi ile Tespiti ve Sayımı

Escherichia coli, koliform grubu bakterilerin sayımı ve değerlendirilmesi Membran Filtrasyon (MF) Tekniği ile yapılmıştır (16,20). Analiz için 0,45 µm por çapında steril membran filtreler (Sartorius) kullanılmıştır. EMB ve Mac Conkey besiyerleri

kullanılmış ve plaklar 37 °C de 48 saat inkübe edilmiştir. Saf olarak izole edilen koloniler daha sonra manuel yöntemler ve API 20E (Biomérieux) test kiti ile adlandırılmıştır

Toplam canlı mezofil bakterilerin sayımı ve değerlendirilmesinde üzerine filtreleri yerleştirdiğimiz PCA besiyerleri kullanılmıştır ve plaklar 37 °C de 48 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Yapılan çalışmada Ankara'nın farklı semtlerinden ve marketlerinden alınan toplam 100 adet içme suyu örneği bakteriyolojik açıdan incelenmiştir. Ankara bölgesine ait içme sularında, *Enterobacteriaceae* familyasına dahil olan *E.coli*, *Enterobacter* ve bazı *Klebsiella* türlerinin yanısıra *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Chryseomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Ochrobactrum*, *Buttiauxella*, *Acinetobacter* ve *Pantoea* cinslerine ait toplam 49 Gram negatif bakteri izole edilmiştir. Tablo 1'de içme suyu örneklerinden elde edilen toplam canlı mezofil bakteri sayım sonuçları görülmektedir.

Tablo 1: Ankara'nın Farklı Semtlerinden Toplanan İçme Suyu Örneklerinde Toplam Canlı Mezofil Bakteri Üreme Sıklığı

Numune Alınan Yerler	Numune Suyu	Toplam Mezofil Bakteri Üremesi Görülen Örnek Adeti	Toplam Mezofil Bakteri Üreme Sıklığı
Marketlerden alınan pet şişe su örnekleri	16	Üreme görülmedi	% 0
Su bayilerinden alınan damacana su örnekleri	22	19	% 86,36
Değişik semtlerden alınan şebeke suyu örnekleri	62	30	% 48,39
Toplam	100	49	% 49

Ankara'nın farklı semtlerinden toplanan içme suyu örneklerinden en çok damacana su bayilerinden alınan su örneklerinde mezofil bakteri ürediği belirlenmiştir. Su bayilerinden alınan damacana suyu örneklerinin toplam canlı mezofilik bakteri ortalaması $5,3.10^3$ kob/100 ml, toplam koliform bakteri ortalaması $3,5.10^3$ kob/100 ml olarak tespit edilmiştir. Su bayilerinden alınan damacana suyu örneklerinde toplam canlı mezofilik bakteri sayısı en fazla $13,0.10^3$ kob/100 ml, en az 0 kob/100 ml olarak bulunmuştur. Toplam koliform bakteri sayısı ise en fazla $12,5.10^3$ kob/100 ml, en az 0

kob/100 ml olarak belirlenmiştir. 22 adet farklı damacana su örneğinin üçünde koliform grubu bakteri ve mezofilik bakteri üremesi gerçekleşmemiştir.

Ankara'nın farklı marketlerinden alınan 16 adet pet şişe suyu örneğinde mezofil bakteri ve koliform grubu bakteri üremesi görülmemiştir.

Değişik semtlerden alınan şebeke suyu örneklerinde toplam canlı mezofilik bakteri ortalaması $2,5.10^3$ kob/100 ml, toplam koliform bakteri ortalaması $2,0.10^3$ kob/100 ml olarak tespit edilmiştir. Değişik semtlerden alınan şebeke suyu örneklerinde toplam canlı mezofilik bakteri sayısı en fazla $17,5.10^3$ kob/100 ml, en az 0 kob/100 ml olarak bulunmuştur. Toplam koliform bakteri sayısı ise şebeke sularında en fazla $15,0.10^3$ kob/100 ml, en az 0 kob/100 ml olarak belirlenmiştir.

Yapılan çalışmada 100 adet içme suyu örneğinin toplam canlı mezofilik bakteri ortalaması $2,6.10^3$ kob/100 ml, toplam koliform bakteri ortalaması $1,8.10^3$ kob/100 ml olarak tespit edilmiştir. 100 adet içme suyu örneğinde toplam canlı mezofilik bakteri sayısı en fazla $17,5.10^3$ kob/100 ml, en az 0 kob/100 ml olarak bulunmuştur. Toplam koliform bakteri sayısı da en fazla $15,0.10^3$ kob/100 ml, en az 0 kob/100 ml olarak belirlenmiştir. Ankara'nın farklı semtlerinden alınan toplam 62 adet içme suyu örneğinin 32'sinde (% 51,61) koliform ve mezofilik bakteri üremesine rastlanmamıştır. Ankara bölgesinden alınan 100 adet içme suyu örneğinde tespit edilen bakterilerin görülme sıklığı olarak; % 12,24'ü *Escherichia*, % 16,32'si *Enterobacter*, % 6,12'si *Klebsiella*, % 10,20'si *Salmonella*, % 2,04'ü *Shigella*, % 6,12'si *Ochrobactrum*, % 2,04'ü *Buttiauxella*, % 2,04'ü *Pantoea*, % 4,08'i *Stenotrophomonas*, % 24,48'i *Pseudomonas*, % 2,04'ü *Burkholderia*, % 2,04'ü *Chryseomonas* ve % 10,20'si *Acinetobacter* cinsine ait bakterilerdir.

Ankara'da farklı marketlerden alınan pet şişe suları, su bayilerinden alınan damacana suları ve semtlerden temin edilen şebeke suları örneklerinden izole edilen bakterilerin tür seviyesinde yüzdelik dağılımları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Ankara’da Farklı Süpermarketlerinden Alınan Pet Şişe Suları, Su Bayilerinden Alınan Damacana Suları ve Şebeke Suları Örneklerinden İzole Edilen Bakterilerin Tür Seviyesinde Yüzdelik Dağılımları

Tür	Toplam izolat sayısı	Pet şişe su örnekleri	Damacana su örnekleri	Şebeke suyu örnekleri
<i>Escherichia coli</i>	3	0	0	3 (% 10,00)
<i>Escherichia vulneris</i>	3	0	0	3 (% 10,00)
<i>Enterobacter cloacae</i>	6	0	5 (%26,32)	1 (%3,33)
<i>Enterobacter sakazakii</i>	2	0	0	2 (%6,66)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	0	0	3 (% 10,00)
<i>Salmonella</i> spp.	4	0	0	4 (%13,33)
<i>Salmonella</i> Arizonae	1	0	0	1 (%3,33)
<i>Shigella</i> spp.	1	0	0	1 (%3,33)
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	3	0	3 (%15,79)	0
<i>Butiauxella agrestis</i>	1	0	0	1 (%3,33)
<i>Pantoea</i> spp.	1	0	1 (%5,26)	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	0	1 (%5,26)	1 (%3,33)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	0	6 (%31,58)	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4	0	0	4 (%13,33)
<i>Pseudomonas putida</i>	2	0	1 (%5,26)	1 (%3,33)
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	0	1 (%5,26)	0
<i>Chryseomonas luteola</i>	1	0	1 (%5,26)	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3	0	0	3 (% 10,00)
<i>Acinetobacter calcoaticus</i>	2	0	0	2 (%6,66)
Toplam	49	0	19 (% 38,78)	30 (% 61,22)

İzolasyonu gerçekleştirilen 49 adet gram negatif bakterinin 19’unu (% 38,78) damacana su bayilerinden alınan içme suyu örnekleri, 30’unu (% 61,22) ise farklı semtlerden alınan şebeke suyu örnekleri olmaktadır. Bununla birlikte marketlerden alınan 16 adet pet şişe su numunesinin hiçbirinde bakteri üremesi gözlenmemiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada farklı su bayilerinden alınan 22 adet damacana suları farklı marketlerden alınan pet şişe suları (16 adet) ve farklı semtlerden toplanan şebeke suları (62 adet) olmak üzere toplam 100 adet içme suyu örneğinden toplam 49 izolat elde edilmiştir.

Pet şişe sularında üreme görülmemesine rağmen, şebeke sularının % 48,39’unda, damacana sularının % 86,36’sında bakteri üremesi gözlenmiştir. Şebeke ve damacana sularından izole edilen 49 adet bakterinin 28’i *Enterobacteriaceae* familyasına aittir. Şebeke sularından izole edilen *Enterobacteriaceae* türleri sayısı (19 adet), damacana

sularından elde edilen *Enterobacteriaceae* türlerinin sayısının (9 adet) yaklaşık iki katıdır. Damacana sularından izole edilen diğer 10 adet bakterinin hepsi *Pseudomonadaceae* familyasına aittir.

İçme sularında bizim çalışmamıza paralel olarak *E.coli* ve koliform varlığının rapor edildiği yurtiçi ve yurt dışı çalışmalar bulunmaktadır (5, 9, 10, 22).

Sağlıklı bir yaşam sürdürülmesi su kaynaklarının iyileştirilmesi ile olur. Güvenilir olmayan suların tüketilmesi büyük ölçüde ciddi hastalıklara yol açmaktadır. Ev sularının iyileştirilmesi veya güvenli depolanması halk arasında yayılan diyarel hastalıkların azalmasını sağlayabilir (12). Sonuç olarak yapılan mikrobiyolojik analizlere göre Ankara Bölgesinde tüketilen bazı damacana ve şebeke içme sularına ait örneklerde koliform bakteriler saptanmıştır. İncelenen içme suyu örnekleri Türk Gıda Mevzuatında belirtilen standart değere uygun değildir. Bu durumun halk sağlığı açısından önemli risk oluşturduğunu düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Anon (1998). Council Directive no.98/83/EC of 3 November 1998 on the Quality of Water Intended for Human Consumption, Official Journal of the European Communities.
2. Banwart, G.J. (1999). Basic Food Microbiology, Second Edition, 372-373, Avi Book, New York.
3. Bordner, R., Winter, J. (1978). Microbiological Methods for Monitoring the Environment, Water and Wastes, 94, EPA-600/8-78-017.
4. Bostan, K., Aksu, H. (1995). Bir Kaynak Suyu Şişeleme Tesisinde Mikrobiyel Kontaminasyon Kaynakları Üzerine Bir Araştırma. Gıda, 20, 6, 347-351.
5. Çakmak, Ö., Erol, İ., Özyurt, M., Ormanlı Bilir, F.S., Yıldız, A., Ardic, N., Erdemoğlu, A. (2004). İstanbul Garnizonundaki Askeri Birlik ve Kurumlara ait Suların Mikrobiyolojik Analizi, I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi Bildiri Kitabı, 487-494.
6. Edberg, S., C., Allen, M., Smith, D., B., And National Collaborative Study. (1988). National Field Evaluation of a Defined Substrate Method for the Simultaneous Enumeration of Total *Coliforms* and *Escherichia coli* from Drinking Water: Comparison with the Standard Multiple Tube Fermentation Method, Appl. Environ. Microbiol., 54, 6, 1595-1601.
7. Hunter, P. R., Waite, M., Ronchi, E. (2003). Drinking Water and Infectious Disease. 198-199, CRC Pres, Washington.
8. Jay, J. M. (2000). Modern Food Microbiology, Sixth Edition, 390, Apsen Publication, Maryland.
9. Karakaş, N., Kıvanç, M., Güven, K., Yılmaz, N. (2003). Eskişehir Damacana Sularının Koliformlar Yönünden İncelenmesi ve Bu Bakterilerin İçme Suyunda Yaşam Kabiliyetlerinin Araştırılması, Gıda, 28, 1, 95-99.
10. Keven, F. (2002). Elazığ İçme Sularının Yedi Yıllık Periyottaki Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimi. Gıda, 27, 5, 407-410.
11. Momba, M., N.B., Kaleni, P. (2002). Regrowth and Survival of Indicator Microorganisms on the Surfaces of Household Containers Used for the Storage of Drinking Water in Rural Communities of South Africa. Water Research, 36, 3023-3028.
12. Moyo, S., Wright, J., Ndamba, J., Gundry, S. (2004). Realising the Maximum Health Benefits From Water Quality Improvements in the Home: a Case from Zaka District, Zimbabwe. Physics and Chemistry of the Earth, 29, 1295-1299.
13. Peker, İ., Çiloğlu, F., Öz, V., Birbir, M. (1998). Drinking Water Analyses of Kadıköy District in İstanbul, Türk. Hij. Den. Biyol. Derg, 55, 2, 113-120.

14. Rompre, A., Servais, P., Baudartj., De-Roubin Mr, Laurent, P. (2002). Detection and Enumeration of *Coliforms* in Drinking Water: Curent Methods and Emerging Approaches. j. Microbiol Methods, 49,1, 31-54.
15. Sağlam, Ö. F. (1999). Türk Gıda Mevzuatı, 179, Ankara.
16. Turner P., Allen, W. G., Ganderton D., Griffiths, E. (1993) British Pharmacopoeia, Vol. 2, A185 – A190, London
17. Türk Standartları Enstitüsü. (2005). Sular-İnsani Tüketim Amaçlı Sular, TS 266, ICS 13.060.20.
18. Türk Standartları Enstitüsü. (1997). Su Kalitesi- Numune Alma Bölüm2 : Numune Alma Teknikleri Kuralları, TS 5090, ICS 13.080
19. Türk Standartları Enstitüsü. (1997). Su Kalitesi- Numune Alma Bölüm3: Numunelerin Muhafaza ve Taşıma Kuralları, TS 5106 , ICS 13.060
20. Türk Standartları Enstitüsü. (2004). Su Kalitesi *Escherichia Coli* ve Koliform Bakterilerin Tespiti ve Sayımı- Bölüm 1: Membranla Süzme Yöntemi, TS EN ISO 9308-1, ICS 13.060.30.
21. World Health Organization. (2000). Foodborne Disease: A Focus for Health Education, 2, Geneva.
22. Zamyaka, M., Pironcheva, G., Nyo, M. (2004). Bacterial Communicate Patterns of Domestic Water Sources in the Gogogo and Nkonkobe areas of the Eastern Cape Province, South Africa, Water SA, 30, 3, 341-346.

HELLİM PEYNİRİ ÜRETİMİNDE GLUKANO DELTA LAKTON KULLANIMI

Gülşah ADIGUZEL

Mustafa ATASEVER

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum

ÖZET: Bu araştırma hellim peyniri üretiminde glukano delta laktonun (GDL) kullanılabilirliğini belirlemek, hellim peynirinin olgunlaşması süresince kimyasal bileşimi, mikroflorası ve duyuşal özelliklerini ortaya koymak amacıyla yapıldı. Araştırmada, üretimde kullanılacak sültere % 0 (kontrol grubu-1. grup), %0.05 (2.grup), %0.025 (3.grup) ve %0.0125 (4.grup) oranlarında GDL ilave edildi. Üretilen peynirler vakum ambalajda $7\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de olgunlaşmaya bırakıldı. Deneysel hellim peyniri numuneleri üretiminin 1. ve olgunlaşmanın 7, 15, 30 ve 60. günlerinde kimyasal (rutubet, yağ, tuz, kül, asidite, pH) ve mikrobiyolojik (toplam aerobik mezofilik, koliform grubu, maya-küf, Lactobacillus, Staphylococcus-Micrococcus) yönünden incelendi. Numuneler ayrıca olgunlaşmanın 15, 30 ve 60. günlerinde duyuşal analizlere tabi tutuldu. Hellim peyniri üretiminde kullanılan sültere GDL ilave edilmesinin kurumaddede yağ, kurumaddede kül ve kurumaddede tuza etkisinin olmadığı tespit edildi. Hellim peyniri üretiminde kullanılan süte GDL ilave edilen grupların rutubet oranıyla pH değerlerinin, kontrol grubuna nazaran, daha yüksek, asitliklerinin ise daha düşük olduğu belirlendi. Deneysel hellim peyniri numunelerinin tümünde ve olgunlaşma dönemlerinde koliform grubu bakteriler ile maya ve küf mikroorganizmalarının üremediği saptandı. Deneysel hellim peyniri numuneleri üretiminde kullanılan süte GDL ilave edilmesiyle mikroorganizma sayılarında farklılık gözlemlenmedi. Duyusal değerlendirmede en yüksek puanı 1.grup (kontrol grubu) ile 4.grup peynir numuneleri (üretiminde kullanılan süte %0.0125 GDL ilave edilen grup) aldı. Sonuç olarak, hellim peyniri üretiminde kullanılan süte %0.0125 GDL ilave edilmesinin uygun bir yöntem olabileceği kanaatine varıldı.

ABSTRACT: In this study, the effect of glucono delta lactone (GDL) addition of milk used in production on chemical, microbiological and sensorial properties of halloumi cheese were investigated. In production of halloumi cheese cow's milk was used having 0.00 % (control-group 1), 0.05 % (group 2), 0.025 % (group 3), 0.0125 % (group 4) glucono delta lactone. The cheese samples were salted with 2.5 % of sodium chloride and vacuum packaged and stored in cold storage at $7\pm1^{\circ}\text{C}$. Cheese samples were examined chemically and microbiologically at the first day of production and on 7th, 15th, 30th and 60th days ripening period. The samples were also examined in sensorially on 15th, 30th and 60th days of ripening. There was no difference in some chemical compositions (fat in dry matter, ash in dry matter, salt in dry matter) of milks having different amount of glucono delta lactone, that were used in halloumi cheese production. The samples including GDL have higher moisture ratio and pH value then control group. Furthermore, they have lower acidity, too. There was no difference in microbiological properties (number of coliform groups, mould and yeasts, Lactobacillus, Staphylococcus-Micrococcus, total aerobic mesophilic) of the samples. In sensorial examinations, the cheese samples produced from 0.0125 % GDL addition .n milk and control group (no include glucono delta lactone) had higher scores. As a result, GDL addition amount 0.0125 % of milk in halloumi cheese production is recommended.

GİRİŞ

Hellim peyniri başta Kıbrıs olmak üzere diğer bazı Orta Doğu ülkelerinde (örn., Suriye ve Lübnan) oldukça yaygın olarak üretilen bir peynir çeşididir (1,2,3,4,5,6). Hellim peyniri geleneksel olarak çiğ koyun veya keçi sütü ya da bunların karışımının mayalanmasından sonra oluşan telemenin preslenip kalıplar halinde kesilmesi ve kaynama derecesinde pişirilmesiyle elde edilen yarı-sert, taze veya olgunlaşmış olarak tüketilen bir peynir çeşididir (1,3,4,5,7,8). GDL, hafif ekşimsi tada sahip, beyaz renkli, kokusuz, toz halinde bir maddedir. GDL sağlık açısından herhangi bir risk oluşturmamakta ve vücutta kolay metabolize olmaktadır. GDL süt ürünlerinin doğrudan asitlendirilmesin de yaygın kullanılan glukonik asidin iç esteridir. Birçok gıdanın (örn., üzüm, üzüm suyu, şarap, bal, malt, bira) bileşiminde doğal olarak GDL bulunmaktadır. GDL, sütte kolayca çözünerek kademeli bir şekilde glukonik aside hidrolize olmakta ve pıhtı niteliğini değiştirmektedir (9,10,11). Peynir üretimi esnasında bazı istenmeyen durumlarla (örn., standartlara uygun ürün elde edilememesi, peynirin raf ömrünün kısa olması, starter kültür aktivitesinde sorun oluşması, peynir üretim süresinin uzaması, istenmeyen mikroorganizmaların peynirde gelişmesi) karşılaşılmaktadır. Peynir yapımı sırasında starter kültür aktivitesinde süreklilik sağlanamaması, üretimin önemli sorunlarındanıdır. Ayrıca mevsimsel faktörlerin, inhibitör maddelerin ve bakteriyofajların starter kültürler üzerine yapmış olduğu olumsuz etkilerle, asitliğin istenilen seviyeye ulaşması için gereken inkübasyon sıcaklığının sürekli olarak aynı düzeyde kalmaması da kültürden kaynaklanan sorunlar içerisinde sayılmaktadır. Bu nedenlerden dolayı son yıllarda peynir üretiminde doğrudan asitlendirme yönteminden yararlanılmaktadır (9,10).

GEREÇ ve YÖNTEM

Deneyisel peynir üretimi Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Deneyisel peynir numuneleri 4 grup olarak üretildi ve üretim 2 kez tekrarlandı. Gruplardan biri kontrol grubu olarak üretildi ve süte GDL ilave edilmedi (1. grup). Diğer 3 grupta üretimde kullanılan süte farklı oranlarda (%0.05, %0.025 ve %0.0125) GDL katıldı. Üretilen deneyisel peynir numuneleri, olgunlaşmanın 1, 7, 15, 30 ve 60 günlerinde kimyasal ve mikrobiyolojik, 15, 30, ve 60. günlerinde de duyu analize alındı.

BULGULAR

Tablo 1. Peynir Numunelerinin Kimyasal Nitelikleri

Olgunlaşma süresi	Nitelik	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	F
1. gün	Rutubet (%)	45.65±0.35	47.45±4.25	50.60±5.60	46.65±7.65	0.17
	Yağ (km,%)	47.19±0.34	45.82±1.81	44.92±2.00	42.49±3.47	0.81
	Tuz (km,%)	5.17±0.47	4.90±0.06	5.07±0.25	3.94±1.25	0.70
	Kül (km,%)	7.94±1.45	8.86±1.41	9.91±1.92	8.23±1.45	0.31
	pH	5.98±0.36	6.41±0.09	6.53±0.12	6.56±0.20	1.56
7. gün	Asitlik	0.21±0.07	0.16±0.07	0.17±0.02	0.15±0.01	0.28
	Rutubet (%)	41.70±3.30	46.05±3.25	49.93±4.08	48.73±1.58	1.31
	Yağ (km,%)	45.36±1.72	47.71±0.37	44.53±4.96	42.12±6.17	0.32
	Tuz (km,%)	5.19±1.20	4.23±0.07	4.84±1.01	3.45±0.91	0.80
	Kül (km,%)	7.80±1.31	7.28±0.16	6.68±0.12	6.37±0.25	0.89
15. gün	pH	5.99±0.27	6.40±0.14	6.63±0.03	6.40±0.25	1.83
	Asitlik	0.30±0.03	0.27±0.05	0.21±0.03	0.18±0.05	2.64
	Rutubet (%)	37.70±4.70 ^a	45.58±4.75 ^{bc}	55.20±0.20 ^a	49.05±3.75 ^{ab}	3.64 ^a
	Yağ (km,%)	42.10±4.79	48.80±6.53	53.95±8.39	43.64±6.16	0.67
	Tuz (km,%)	4.07±0.40	5.81±1.10	7.32±2.39	4.17±0.53	1.29
30. gün	Kül (km,%)	7.08±0.99	8.45±1.61	10.06±1.95	6.79±0.21	1.21
	pH	6.18±0.16	6.30±0.01	6.50±0.12	6.44±0.19	1.03
	Asitlik	0.28±0.03	0.30±0.01	0.28±0.05	0.20±0.08	0.99
	Rutubet (%)	43.25±2.75	46.15±4.85	45.80±1.50	46.99±1.99	0.28
	Yağ (km,%)	43.81±2.13	41.87±6.09	44.15±11.83	41.81±8.17	0.03
60. gün	Tuz (km,%)	5.15±1.79	4.96±2.72	6.18±1.98	4.34±0.21	0.16
	Kül (km,%)	7.75±1.70	7.35±0.62	7.66±0.07	7.52±0.76	0.03
	pH	5.98±0.40	5.93±0.28	6.23±0.31	6.30±0.22	0.36
	Asitlik	0.60±0.40	0.52±0.20	0.43±0.20	0.40±0.15	0.13
	Rutubet (%)	42.90±5.30	44.30±5.30	44.00±0.00	45.38±4.43	0.06
60. gün	Yağ(km,%)	47.65±0.84	41.92±4.21	42.64±8.71	47.92±3.47	0.38
	Tuz(km,%)	6.01±0.56	4.22±0.19	5.96±1.57	3.59±0.62	1.90
	Kül(km,%)	7.55±2.10	6.92±0.39	8.42±1.10	7.11±0.17	0.31
	pH	5.69±0.33	5.63±0.08	5.92±0.28	5.88±0.14	0.37
	Asitlik	0.65±0.29	0.43±0.04	0.44±0.22	0.33±0.44	0.53

km, %: yüzde kuru maddede

a,b,c: aynı satırda farklı harfler istatistikî önemi göstermektedir.

*:P<0,05

Tablo 2.Hellim Peyniri Numunelerinin Mikrobiyolojik Nitelikleri (cfu/g)

Olgunlaşma süresi	Nitelik	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	F
1. gün	<i>Lactobacillus</i>	7.09±0.20	2.39±2.39	2.17±2.17	3.92±0.18	1.97
	<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	2.63±0.33	2.33±0.15	5.75±0.30	3.63±1.12	6.50
	Toplam aerobik mezofilik Maya-küf	7.20±0.29 ^a	5.08±0.29 ^b	6.72±0.46 ^a	7.53±0.55 ^a	7.05 [*]
	Koliform grubu	-	-	-	-	-
	<i>Lactobacillus</i>	6.82±0.06 ^a	5.05±0.24 ^b	3.50±0.83 ^c	6.08±0.04 ^{ab}	11.18 [*]
7. gün	<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	2.65±0.03	3.91±1.39	5.13±0.79	5.68±0.51	2.59
	Toplam aerobik mezofilik Maya-küf	7.10±0.19	5.58±0.32	6.62±0.42	6.67±0.33	3.93
	Koliform grubu	-	-	-	-	-
	<i>Lactobacillus</i>	6.02±0.42	5.55±1.28	5.34±0.09	6.80±0.60	0.78
	<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	1.33±1.33 ^b	5.28±0.52 ^a	5.85±0.31 ^a	6.27±0.20 ^a	9.59 [*]
15. gün	Toplam aerobik mezofilik Maya-küf	5.81±0.66	6.38±0.68	6.19±0.25	7.35±0.20	1.72
	Koliform grubu	-	-	-	-	-
	<i>Lactobacillus</i>	5.83±1.65	7.43±0.05	7.15±0.28	6.50±0.87	0.57
	<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	5.93±0.02	5.79±0.58	6.25±0.80	6.79±0.69	0.55
	Toplam aerobik mezofilik Maya-küf	6.50±0.69	6.90±0.51	7.32±0.12	7.20±0.17	0.70
30. gün	Koliform grubu	-	-	-	-	-
	<i>Lactobacillus</i>	7.10±0.38	7.26±0.21	6.46±1.01	7.05±0.44	0.36
	<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	5.32±0.41	5.90±0.62	6.45±0.66	6.89±0.03	1.86
	Toplam aerobik mezofilik Maya-küf	6.91±0.16	7.17±0.25	6.83±0.65	7.41±0.07	0.54
	Koliform grubu	-	-	-	-	-
60. gün	<i>Lactobacillus</i>	7.10±0.38	7.26±0.21	6.46±1.01	7.05±0.44	0.36
	<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	5.32±0.41	5.90±0.62	6.45±0.66	6.89±0.03	1.86
	Toplam aerobik mezofilik Maya-küf	6.91±0.16	7.17±0.25	6.83±0.65	7.41±0.07	0.54
	Koliform grubu	-	-	-	-	-
	<i>Lactobacillus</i>	7.10±0.38	7.26±0.21	6.46±1.01	7.05±0.44	0.36

a,b,c: means within the same row not sharing common superscripts are different

* : P < 0.05

- : not found.

Tablo 3. Çeşitli Olgunlaşma Dönemlerinde Hellim Peyniri Numunelerinin Duyusal Analiz Puanları

Olgunlaşma süresi	Nitelik	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	F
15. gün	Lezzet (45)	35.00±3.24	30.42±3.48	31.83±3.95	33.42±3.79	0.30
	Tekstür(30)	21.58±2.42	20.25±2.41	20.08±2.79	20.07±2.61	0.70
	Görünüm(15)	10.25±1.24	9.50±1.03	9.17±1.17	9.75±1.30	0.15
	Renk (10)	6.50±0.81	5.75±0.76	5.92±0.69	6.33±0.80	0.21
	Toplam (100)	73.33±7.53	65.92±7.44	67.00±8.22	70.17±8.34	0.18
30. gün	Lezzet (45)	34.50±4.15	29.00±4.00	32.08±4.34	34.50±3.34	0.43
	Tekstür(30)	22.75±2.88	18.17±2.77	21.00±2.95	21.42±2.52	0.48
	Görünüm (15)	10.42±1.40	9.25±1.45	10.50±1.53	11.33±1.34	0.36
	Renk (10)	6.33±0.84	6.50±0.93	7.00±0.96	7.25±0.83	0.23
	Toplam (100)	74.00±9.10	62.92±9.06	70.58±9.73	74.50±7.78	0.36
60. gün	Lezzet (45)	33.67±3.92	32.58±4.16	32.17±3.86	34.00±3.73	0.05
	Tekstür (30)	22.33±2.64	21.33±2.67	20.75±2.91	21.92±2.90	0.06
	Görünüm (15)	10.67±1.41	10.75±1.58	11.33±1.37	10.58±1.45	0.06
	Renk (10)	7.17±0.81	7.50±0.92	7.42±0.86	7.50±0.91	0.03
	Toplam (100)	73.83±8.60	72.17±9.72	71.67±8.71	74.00±8.72	0.02

(-) : Highest points for sensorial properties are shown in parenthesis
P>0.05

Hellim peyniri numunelerinin rutubet oranında ve pH değerlerinde olgunlaşma süresince, genellikle, kısmen azalma gözlemlendi. Peynir numunelerinde koliform grubu mikroorganizma ile maya ve küf mikroorganizmalarının üremediği belirlendi. Numunelerin toplam aerobik mezofilik bakteri içeriği, genellikle olgunlaşma süresince azaldı. Gruplar arasında toplam mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı yönünden önemli ($P>0.05$) farklılık bulunmadı. *Staphylococcus-Micrococcus* grubu bakterilerin sayısında olgunlaşma süresince genellikle artış gözlemlendi. *Lactobacillus* grubu bakterilerin sayısı genellikle olgunlaşma süresince artış gösterdi. Peynir numunelerinin duyusal puanları incelendiğinde gruplar arasında duyusal puanları yönünden istatistiki açıdan önemli farklılık olmadığı ($P>0.05$) tespit edildi. Ancak 4. gruptaki peynirlerin duyusal yönden daha çok beğenildiği gözlemlenmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sonuç olarak; hellim peyniri üretiminde kullanılacak süte %0.0125 oranında GDL ilavesinin uygun olabileceği kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Davis Jg.(1976): Cheese: Vol. III. Manufacturing methods Ed. Edinburgh: Livingstone, C.T., Constable A. 887-891.
2. Fox Pf. (1993): Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. II, 2nd ed. London: Chappman & Hall. 439-443.
3. Economides S., Georhiades E. & Mavrogenis Ap. (1987): The effect of different milks on the yield and chemical composition of Halloumi cheese. Cyprus: Technical Bulletin Agr. Res. Inst. No:90.
4. Keleş A., Doğruer Y., Ucar G.& Güner A. (2003): Preacidification treatments milk used in halloumi cheese manufacture. *Acta Alimentaria*. 32(1): 5-12.
5. Robinson Rk., Hadadin Msy.& Abdullah Bm. (1991): Haloumi cheese some aspects of manufacture and quality. *S. Afr. J. Dairy Sci.* 23(3): 61-64.
6. Williams Mr. & Syson S. (1984): The bacteriological quality of Cyprus cheese. *Environmental Health*. 92(6): 146-149.
7. Bayoumi S.& Madkor S.(1988): The use of glucono delta lactone in the manufacture of yoghurt..*Egyptian J.Dairy Sci.* 16 (2): 233-238.
8. Watine P.& Freres R. (1990): Use of glucono delta lactone in cheese manufacture. 2nd Cheese Symposium. 22 nd-23 th November, Moorepark Ireland: National Dairy products Research Centre. 89-94.
9. International Dairy Federation. (1981): Sensory Evaluation of Dairy Products. IDF.
10. Steel Rgd. & Torrie Jf. (1981) Principles and procedures of statistics Mc Graw-Hill Camp.New York.
11. Usca A.& Erol I. (1998): Microbiological quality of Halluomi cheese. *Ankara University J. Veterinary Science*. 45: 97-103.

TAVŞAN ETLERİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Ö. KURŞUN*

F. TAŞCI*

A.S. AKCAN KALE**

R.BAŞKAYA***

F.PEHLİVANOĞLU****

*Akdeniz Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Burdur.
e-mail: ozenkursun@hotmail.com

**Tarım ve Köyşeri Bakanlığı, Burdur İl Kontrol Laboratuvarı, Burdur.

***1 nci Ordu 1 No.lu Gıda Kontrol Müfrez Komutanlığı, Selimiye, İstanbul.

****Akdeniz Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Burdur.

Özet : Bu çalışma, tavşan etlerinin mikrobiyolojik kalitesini saptamak amacıyla yapılmıştır. Bu çerçevede toplam 40 adet Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanılmıştır. Tavşanların 20 tanesinin mezbaha koşullarında asılarak, 20 tanesinin ise yerde kesimi yapılmıştır. Tavşan eti örnekleri, aerob mezofil genel canlı, mikrokok ve stafilokok, koagulaz pozitif stafilokok, enterobakteriler, koliform bakteriler, enterokok, maya ve küf, pseudomonas ve *Salmonella* yönünden incelenmiştir.

Analiz bulgularına göre, örneklerin %97.5'inde aerob mezofil genel canlı sayıları 10^2 - 10^6 kob/g arasında bulunmuştur. Koagulaz pozitif stafilokoklar örneklerin %50'sinde ortalama 10^2 - 10^4 kob/g düzeyinde saptanmıştır. Enterobakteriler; örneklerin %37.5'inde ortalama 10^2 - 10^4 kob/g, koliform bakteriler %22.5'inde ortalama 10^2 - 10^3 kob/g, enterokoklar ise %15'inde 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde bulunmuştur. *Salmonella*'lar örneklerin %20'sinden izole edilmiştir.

Yerde kesimi yapılan tavşanlardan alınan örnekler ile asılarak kesimi yapılan tavşanlardan alınan örneklerde aerob mezofil genel canlı, mikrokok ve stafilokok, koagulaz pozitif stafilokok, enterobakteriler, koliform bakteriler ve pseudomonas yönünden istatistiki açıdan farklılıklar tespit edilmiştir.

Sonuç olarak yerde kesimi yapılan tavşan eti örneklerinin hijyenik kalitesinin düşük olduğu saptanmıştır. Giderek artan tavşan eti tüketiminden kaynaklanabilecek infeksiyon ve intoksikasyonların önlenmesi için kesim aşamasında gerekli hijyen önlemlerinin alınması önerilir.

Anahtar kelimeler: Tavşan eti, mikrobiyolojik kalite.

Abstract: This study was undertaken to determine the microbiological quality of rabbit meat. A total of 40 New Zealand white rabbits were used in the study. Shackling method was applied to 20 of the rabbits and the other 20 animals were slaughtered on the ground. The meat samples were cultured for total aerobic count, micrococci and

staphylococci, coagulase positive staphylococci, Enterobacteriaceae, coliforms, enterococci, pseudomonas, yeast and moulds, and *Salmonella*.

According to the culture and bacterial count results, 97.5% of the meat samples contained total aerobic count between 10^2 - 10^6 CFU/g. Coagulase positive staphylococci were found in 50% of the meat samples at the mean value ranging between 10^2 - 10^4 CFU/g. Enterobacteriaceae were found in 37.5% of the meat samples at the mean range of 10^2 - 10^4 CFU/g, coliform bacteria in 22.5% of the meat samples at the mean range of 10^2 - 10^3 CFU/g. Enterococci in 15% of the meat samples at the mean range of 10^2 - 10^3 CFU/g. On the other hand, *Salmonella* were isolated from only 20% of the meat samples.

In terms of total aerobic count, micrococci and staphylococci, coagulase positive staphylococci, enterobacteriaceae, coliform and pseudomonas, the differences between the meat samples taken from the rabbits slaughtered with shackling and on the ground were found statistically significant.

As a conclusion, it was determined that the meat samples of the rabbits slaughtered on the ground have poor quality. Since the consumption of rabbit meat is increasing, to prevent the foodborne infections and intoxications in human, we recommend the strict hygienic measurements during slaughter of rabbits.

Key words: Rabbit meat, microbiological quality.

GİRİŞ

Avrupa ülkeleri başta olmak üzere dünyanın çeşitli ülkelerinde insanların et ihtiyacının karşılanması amacıyla tavşan eti tüketilmektedir. Özellikle Akdeniz ülkelerinde tavşan eti aranan bir et türü haline gelmiştir (6). Tavşan eti, protein düzeyinin yüksek ve kolesterol seviyesinin düşük olması nedeniyle özellikle kalp damar hastalarına ve diyet yapan kişilere önerilmektedir (1). Ayrıca çok sayıda yavru yapmaları, yavruların kısa bir sürede kesim zamanına gelmeleri, tükettikleri yemi hızla ete dönüştürmeleri, basit barınak sistemlerinde yaşamaları ve yüksek ek yemlerin kullanılma zorunluluğu olmaması nedeniyle tavşan diğer evcil hayvanlara göre önemli avantajlara sahiptir (10). Ülkemizde son yıllarda tavşan yetiştiriciliği artmış özellikle turizm merkezlerinde tavşan eti aranan bir gıda maddesi durumuna gelmiştir. Yapılan anketler sonucunda %54 oranında tavşan eti tüketen bir kesimin olduğu ve bunların büyük bir çoğunluğunun (%92.5) tavşan etinden hoşlandıkları saptanmıştır (9). Ancak üretimi yapılan tavşanların kontrolsüz ve hijyenik olmayan ortamlarda kesiminin yapılmasından

dolayı tavşan etlerinin patojen mikroorganizmalarla önemli derecede kontamine olduğu belirtilmektedir (3). Bu nedenle tavşan üretiminin başından tüketimine kadar olan bütün aşamalarda hijyen önlemlerinin alınması gerekmektedir (2).

Bu çalışma ile tavşan etinin bozulmasının yanında infeksiyon ve intoksikasyonlara neden olabilecek bazı mikroorganizmalar yönünden analiz edilerek mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesi'nde kafes tipi sistemde yetiştirilen 40 adet Yeni Zelanda Beyaz Tavşan'ı kullanılmıştır. Kesim olgunluğuna gelen tavşanların 20 adedi Burdur Güç Birliği Mezbahası'nda asılarak, 20 adedinin ise yerde kesimi yapılmıştır. Aseptik koşullar altında her birinden yaklaşık 200'er g alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örnekler; aerob mezofil genel canlı (AMGC), mikrokok ve stafilokok, koagulaz pozitif stafilokok, enterobakteriler, koliform bakteriler, enterokok, maya ve küf, pseudomonas ve *Salmonella* yönünden incelenmiştir.

Aerob mezofil genel canlı, mikrokok ve stafilokok, pseudomonas aranmasında damla plak (drop plating) tekniği; enterobakteriler, koliform bakteriler, enterokok, maya ve küf aranmasında yayma plak tekniği kullanılmıştır (4). Koagulaz pozitif stafilokoklar Baird-Parker agarda üreyen tipik ve atipik kolonilerden tüpte koagulaz testi yapılarak saptanmıştır (5). *Salmonella* izolasyonu ise 25 g alınan örnekte ön zenginleştirme, selektif zenginleştirme, selektif katı besi yerine ekim, biyokimyasal ve serolojik testleri kapsayan yöntem gereğince yapılmıştır (7, 8).

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Mikroorganizma sayıları bakımından gruplar arasında farklılıkların önemli olup olmadığı istatistik programı (SPSS 10.0 Windows) ile hesaplanmış ve tablolar halinde belirlenmiştir.

BULGULAR

Analizi yapılan örneklerde aranılan mikroorganizmaların saptama oranı Tablo 1'de, pozitif örneklerdeki mikroorganizmaların minimal ortalama ve maksimal sayıları Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre tavşan etlerinde aerob mezofil genel canlı sayısı ortalama 10^2 - 10^6 kob/g arasında bulunmuştur. Kesimi yerde yapılan tavşanlardan alınan et örneklerinde aerob mezofil genel canlı sayısı %100'ünde ortalama 10^3 - 10^6 kob/g arasında, asılarak kesimi yapılan tavşan etlerinde ise %85'inde 10^2 - 10^4 kob/g arasında saptanmıştır ($p<0.05$).

Mikrokok ve stafilokoklar yerde kesimi yapılan tavşan et örneklerinin %100'ünde 10^2 - 10^5 kob/g, asılarak kesimi yapılan tavşan etlerinin ise %40'ında 10^2 - 10^4 kob/g düzeyinde saptanmıştır ($p<0.001$).

Koagulaz pozitif stafilokoklar tüm tavşan eti örneklerinde %50'sinde ortalama 10^2 - 10^4 kob/g düzeyinde saptanmıştır. Yerde kesimi yapılan tavşan etlerinde %95'inde, asılarak kesimi yapılan tavşan etlerinin ise %5'inde koagulaz pozitif stafilokoklar bulunmuştur ($p<0.001$).

Enterobakteriler tavşan eti örneklerinin %37.5'inde ortalama 10^2 - 10^4 kob/g, koliform bakteriler %22.5'inde ortalama 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde saptanmıştır. Yerde kesimi yapılan tavşan eti örneklerinde enterobakteriler %60'ında 10^2 - 10^4 kob/g, koliform bakteriler %40'ında 10^2 - 10^3 kob/g; asılarak kesimi yapılan tavşan etlerinde enterobakteriler %15'inde 10^2 - 10^3 kob/g, koliform bakteriler ise 20 örneğin sadece 1'inde (%5) 10^2 kob/g düzeyinde bulunmuştur ($p<0.001$).

Enterokoklar örneklerin %15'inde 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde saptanırken yerde kesimi yapılan tavşan etlerinde %10'unda, asılarak kesimi yapılan tavşan etlerinin ise %5'inde görülmüştür ($p>0.05$).

Pseudomonas örneklerin %87.5'inde 10^2 - 10^5 kob/g arasında bulunmuştur. Yerde kesimi yapılan tavşan etlerinde %100'ünde ortalama 10^2 - 10^5 kob/g arasında, asılarak kesimi yapılan tavşan etlerinde ise %75'inde 10^2 - 10^4 kob/g arasında saptanmıştır ($p<0.001$).

Salmonella'lar yerde kesimi yapılmış tavşan etlerinde %35, asılarak kesimi yapılan tavşan etlerinde %5 oranında izole edilmiştir ($p<0.05$).

SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada analiz edilen tavşan etlerinin yerde kesimi yapılanların mikrobiyolojik kalitesinin düşük olduğu ve özellikle *Salmonella* ve koagülaz pozitif stafillokoklar yönünden potansiyel halk sağlığı riski taşıdığı saptanmıştır.

Asılarak kesimi yapılan tavşanların postlarının çıkarılmasının oldukça kolay olduğu ancak yerde kesim uygulananlarda bu işlemin zor olduğu ve bu esnada kontaminasyonun şekillendiği belirlenmiştir.

Tavşan eti tüketiminden kaynaklanabilecek infeksiyon ve intoksikasyonlarının önlenmesi için; mezbaha koşullarında ve veteriner hekim denetimi yapılarak kesiminin gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Alasnier, C., Rémignon, H., Gandemer, G. (1996). Lipid characteristics associated with oxidative and glycolytic fibres in rabbit muscles. *Meat Science*, 43: 213-224.
2. Anon. (1991). Council Directive 91/495/EEC of 27 November 1990 concerning public health and animal health problems affecting the production and placing on the market of rabbit meat and farmed game meat. *Official Journal of The European Communities*, L228, 24/09/1991, 41-55.
3. Badr, H.M. (2004). Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. *Meat Science*, 67(4):541-548.
4. Baumgart, J. (1997). *Microbiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Behr's Verlag, Berlin und Hamburg, p.: 75-82.
5. Bergdoll, M.S. (1989). *Staphylococcus aureus*. In: M.P. Doyle (ed) *Foodborne bacterial pathogens*, pp 463-523. Marcel Dekker, Inc. NY.
6. Dalle Zote, A. (2002). Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science*, 75: 11-32.
7. FDA (1995). *Salmonella*. Bacteriological analytical manual. Chapter 5:1-20.
8. ISO (1993). International Standard. Microbiology-General guidance on methods for the detection of *Salmonella*. ISO 6579: 1993(E).
9. Koçak, Ç., Bayraktar, H. (1998). Et ve Post Tavşancılığının Geliştirilmesi Olanakları. 1. Bilimsel Kürk Hayvancılığı Sempozyumu. 19-20 Mart, Ankara.
10. Lang, J. (1981) the Nutrition of the Commercial Rabbits. 1. Physiology Digestibility and Nutrient Requirements. *Nutr. Abst. Rev.*, 51: 197-225.

Tablo 1: Tavşan eti örneklerinde incelenen mikroorganizmaların saptama oranları

Mikroorganizma	Yerde kesimi yapılmış tavşan eti örneği n:20		Asılarak kesimi yapılmış tavşan eti örneği n:20	
	Pozitif sayı	Pozitif örnek % si	Pozitif sayı	Pozitif örnek % si
AMGC	20	100	17	85
Pseudomonas	20	100	15	75
Mikrokok/Stafilokok	20	100	8	40
Koagülaz(+)Staf.	19	95	1	5
Enterobakteriler	12	60	3	15
Koliform Bak.	8	40	1	5
Enterokok	2	10	1	5
Maya	12	60	12	60
Küf	4	20	1	5
Salmonella	7	35	1	5

Tablo 2: Tavşan eti örneklerinde incelenen mikroorganizmaların sayısal değeri

Mikroorganizma	Değer	Yerde kesimi yapılmış tavşan eti örneği n:20	Asılarak kesimi yapılmış tavşan eti örneği n:20
AMGC	Min	3.6×10^3	2.0×10^2
	Ort	8.0×10^4	4.6×10^3
	Max	1.0×10^6	6.0×10^4
Pseudomonas	Min	4.0×10^3	2.0×10^2
	Ort	4.8×10^4	4.0×10^3
	Max	6.0×10^5	1.0×10^4
Mikrokok ve Stafilokok	Min	2.0×10^3	2.0×10^2
	Ort	2.8×10^4	2.4×10^3
	Max	3.6×10^5	2.4×10^4
Koagülaz (+) Stafilokoklar	Min	2.0×10^3	8.0×10^2
	Ort	6.0×10^3	8.0×10^2
	Max	5.6×10^4	8.0×10^2
Enterobakteriler	Min	2.0×10^3	6.0×10^2
	Ort	1.8×10^3	8.0×10^2
	Max	1.2×10^4	1.0×10^3
Koliform Bak.	Min	2.0×10^3	2.0×10^2
	Ort	8.0×10^3	2.0×10^2
	Max	8.0×10^3	2.0×10^2
Enterokok	Min	1.0×10^3	4.0×10^2
	Ort	2.0×10^3	4.0×10^2
	Max	2.6×10^3	4.0×10^2
Maya	Min	2.0×10^3	2.0×10^2
	Ort	6.0×10^3	1.0×10^3
	Max	7.4×10^4	8.0×10^3
Küf	Min	1.0×10^3	3.0×10^3
	Ort	2.0×10^3	3.0×10^3
	Max	1.0×10^3	3.0×10^3

TÜRKİYE'NİN ORTA KARADENİZ KIYILARINDAKİ BAZI BALIK TÜRLERİNDE AĞIR METAL DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

NİSBET, C*

TERZİ, G**

SARAÇ, N***

PİRGİR, O***

*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AbD, Samsun

** Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hij ve Tek AbD, Samsun

*** Samsun Bölge Hıfızısıhha Enstitüsü Müdürlüğü

ÖZET: Ağır metaller toksiteleri ve deniz canlılarında birikmeleri nedeniyle su çevresinde en önemli kirleticilerden biri olarak kabul edilmektedir. Denizlerdeki metal kirliliği gözle az görülebilir fakat deniz ekosistemi ve insanlar üzerindeki etkileri şiddetli ve çok kapsamlıdır. Bu çalışmada Orta Karadeniz'in Türk Kıyısından toplanan balık örneklerinin kas dokularında bazı ağır metallerin (Cu, Mn, Fe, Ni, Zn, Pb, Cd ve Hg) düzeyleri belirlenmiştir. 2005-2006 arasında Orta Karadeniz bölgesi örneklem istasyonlarından *Trachurus trachurus* (istavrit), *Alosa caspia* (tirsi), *Pomatomus saltatrix* (çinekop), *Mullus barbatus* (barbun), *Spicara smaris* (izmarit), *Engraulis encrasicolus* (hamsi), *Gobius cephalarges* (kayabalığı), *Sarda Sadra* (palamut), *Merlangius euxmus* (mezgıt) ve *Psetta maxima* (kalkan balığı) türleri arasından balık örnekleri seçilmiştir. Balık türlerinde Cu, Mn, Fe, Ni, Zn, Pb, Cd ve Hg düzeyleri, atomik absorpsiyon spektrometrisi ile kuru yakma sonrası belirlenmiş ve metal yoğunlukları farklı balık türlerinde karşılaştırılmıştır.

Anahtar kelimeler: Ağır metal, atomik absorpsiyon spektrofotometresi, balık.

DETERMINATION OF HEAVY METAL LEVELS IN SOME FISH SPECIES FROM TURKISH COAST OF THE MIDDLE BLACK SEA

ABSTRACT: Heavy metals are considered the most important form of pollution of the aquatic environment because of their toxicity and accumulation by marine organisms. Metal pollution of the sea is less visible but its effects on marine ecosystems and humans are intense and very extensive. In this study, concentrations of some heavy metals (Cu, Mn, Fe, Ni, Zn, Pb, Cd and Hg) were determined in muscle tissues of fish samples collected from the Turkish Coast of the Middle Black Sea. Certain fish species were chosen among *Trachurus trachurus* (horse mackerel), *Alosa caspia* (allis shad), *Pomatomus saltatrix* (medium-sized bluefish), *Mullus barbatus* (red mullet), *Spicara smaris* (sea bream), *Engraulis encrasicolus* (anchovy), *Gobius cephalarges* (rock fish), *Sarda Sadra* (bonito), *Merlangius euxmus* (whiting) and *Psetta maxima* (turbot) at middle black sea sampling stations from 2005 to 2006. Contents of Cu, Mn, Fe, Ni, Zn, Pb, Cd and Hg in fish species were determined by atomic absorption spectrometry after dry ashing and the metal concentrations were compared different fish species.

Key words: Heavy metal, atomic absorption spektrofotometre, fish.

GİRİŞ

Denizlerin kirlenmesinde evsel ve endüstriyel atıklar, elektrik üretimi amacıyla kurulan nükleer santraller, erozyonlar, yanlış sahil dolgu alanları, petrol türevlerinden kaynaklanan kirlenmeler ve deniz kazaları büyük önem taşımaktadır (18, 20, 23). Petrol türevleri, pestisit ve ağır metal gibi kimyasal kirleticiler deniz canlılarda akut ve kronik toksiteye neden olmaktadır. Son yıllarda Karadeniz'deki balık türleri sayısının 48'den 6'ya, avlanan balık miktarının da 400.000 tondan 50.000 tona gerilenmesinde kirleticiler ve bilinçsiz avlanmanın katkısı büyüktür. Karadeniz'in çevre ülkelerinden Tuna, Dinyeper, Don ve Kuban gibi nehirlerle petrol, gübre, ağır metal ve diğer endüstri atıkları taşınmakta ve bölge ekosisteminde geri dönülmez etkiler bırakmaktadır (4, 18).

Her yıl çevre ülkelerden Karadeniz'e yaklaşık 60 ton civa, 900 ton bakır, 1000 ton krom, 4.500 ton kurşun, 6.000 ton çinko, 60.000 ton fosfor, 340.000 ton azot ve 50.000 ton petrol akıtılmaktadır (4, 27). Bu durum ekonomik değeri olan bir çok balık türünün yok olmasına, balıkçılık sektörünün çökme noktasına gelmesine ve pek çok yöre insanının işsiz kalmasına yol açmaktadır. Bütün bu kirleticiler Karadeniz'deki biyolojik hayata zarar vermekte ve insan sağlığını dolaylı olarak bozmaktadır. Su ortamındaki ağır metaller bir taraftan balıklarda hücresel ve moleküler düzeyde yapısal tahribata yol açarak ekosistemde denge bozukluklarına neden olurken diğer yandan da besin zincirinin önemli halkasını oluşturan balıklar aracılığı ile insanlarda ağır metal toksitesine neden olmaktadır (9, 13, 16). Oldukça toksik bir ağır metal olan kadmiyum özellikle karaciğer ve böbrekte birikerek hücrelerde apoptozise ve aynı zamanda nekroza yol açmaktadır (10). Kanda kadmiyum miktarının artışı glomeruler filtrasyonu azaltmakta (1), plasenta yapısını bozarak gebeliği olumsuz yönde etkilemektedir (24). Kadmiyuma uzun süre maruz kalınması sonucu özellikle erkek ve dişi üreme sisteminde, böbrekler ve endokrin sistemde yapısal ve fonksiyonel bozukluklar meydana gelmektedir (15).

Deniz canlılarının doku ve organlarındaki ağır metal birikimi sulardaki kirliliğin önemli bir göstergesi olduğundan bu çalışmada Orta Karadeniz bölgesindeki balıklarda ağır

metal düzeyleri belirlenerek bölgedeki kirliliğin canlılar üzerine doğrudan ya da dolaylı etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

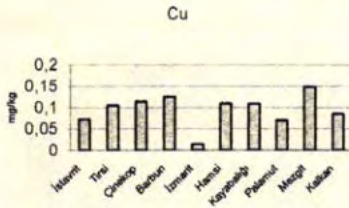
GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma materyali: Çalışmada 1650 adet balık örneği kullanıldı. Balıklar orta Karadeniz bölgesinde Samsun, Sinop, Ordu, Fatsa ve Terme'den 2005-2006 yılları arasında kış ve ilkbahar olmak üzere 2 mevsim toplandı. Her bir bölge için *Trachurus trachurus* (istavrit)(n=20), *Alosa caspia* (tirsi)(n=20), *Pomatomus saltatrix* (çinekop)(n=15), *Mullus barbatus* (barbun)(n=20), *Spicara smaris* (izmarit)(n=15), *Engraulis encrasicolus* (hamsi)(n=20), *Gobius cephalarges* (kayabalığı)(n=10), *Sarda Sarda* (palamut)(n=15), *Merluccius merluccius* (mezgit)(n=20) ve *Psetta maxima* (kalkan balığı)(n=10) olmak üzere 10 tür balık örnek olarak kullanıldı. Toplanan balık örnekleri soğuk zincir altında Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesine getirildi ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-18 °C) saklandı.

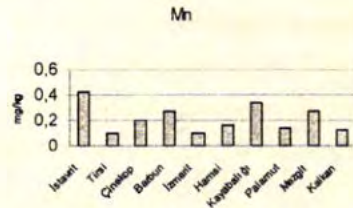
Analiz örneklerinin hazırlanması ve nicel ölçümleri: Çalışmada balık örneklerinin kas dokularındaki Cu, Mn, Fe, Ni, Zn, Pb, Cd ve Hg düzeyleri Vaidya ve Rantala (25) ile Tüzen ve ark. (22) tarafından bildirilen Atomik absorpsiyon spektrofotometresi esasına dayanan yöntemle yapıldı. Bu amaçla örneklerin sabit ağırlığa gelmesi için önce 105 °C de 24 saat kurutuldu. Kurutulan örnekler homojenize edildi. Elde edilen homojenizattan 1 g porselen krozelere alındı. Porselen krozeler kül fırınına konarak fırının sıcaklığı oda ısısından 450 °C'ye gelene kadar 1 saat yavaş olarak arttırıldı. Örnekler beyaz kül haline gelene kadar yaklaşık 14 saat yakıldı. Porselen krozeler desikatörde soğutuldu. Elde edilen kül üzerine 5 ml HNO₃ (%25 v/v) ilave edildi ve karıştırıldı. Bu karışım Whatman 40 filtre kağıdından 25 ml lik ölçülü flasklara süzülde. Süzüntü distile su ile 25 ml ye tamamlandı ve atomik absorpsiyon spektrofotometreye (Shimadzu AA-6701F) uygulandı (22).

BULGULAR

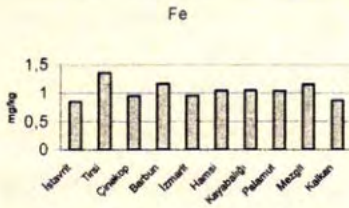
Balık örneklerinin kas dokularındaki ortalama ağır metal değerleri ve standart deviasyonları tablo 1 de verilmiştir. İstatistiksel analizler tek yönlü varyans analiz testi (oneway-ANOVA) ile yapılmıştır. Balıklarda ağır metal türleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Balık örneklerinin kas dokusunda ortalama ağır metal düzeyleri $Fe > Zn > Mn > Ni > Cu > Pb > Cd$ olarak bulunmuş ve elde edilen sonuçlar Şekil 1-7 de verilmiştir. Çalışmada balıklarda saptanan ağır metaller arasında Cu düzeyi $0.00-1.18 \mu g/g$ (ort. $0.10 \mu g/g$), Mn düzeyi $0.00-1.23 \mu g/g$ (ort. $0.23 \mu g/g$), Fe düzeyi $0.00-11.00 \mu g/g$ (ort. $1.04 \mu g/g$), Ni düzeyi $0.00-1.14 \mu g/g$ (ort. $0.13 \mu g/g$), Zn düzeyi $0.13-10.00 \mu g/g$ (ort. $1.04 \mu g/g$), Pb düzeyi $0.00-0.26 \mu g/g$ (ort. $0.03 \mu g/g$), Cd düzeyi $0.00-0.01 \mu g/g$ (ort. $0.0008 \mu g/g$) bulunmuştur. Hg ise balık örneklerinde saptama sınırlarının altında çıkmıştır (< 0.0001).



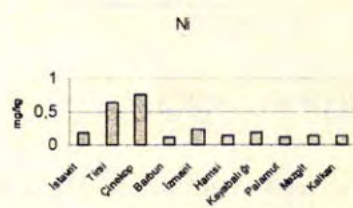
Şekil 1. Balık türlerinde ortalama Cu dağılımı



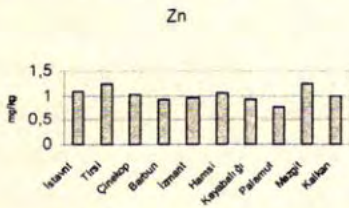
Şekil 2. Balık türlerinde ortalama Mn dağılımı



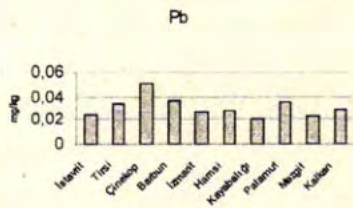
Şekil 3. Balık türlerinde ortalama Fe dağılımı



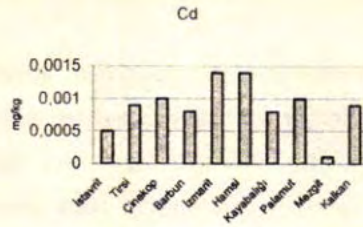
Şekil 4. Balık türlerinde ortalama Ni dağılımı



Şekil 5. Balık türlerinde ortalama Zn dağılımı



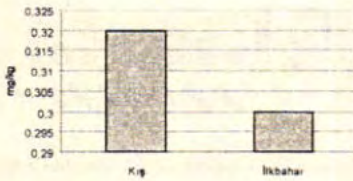
Şekil 6. Balık türlerinde ortalama Pb dağılımı



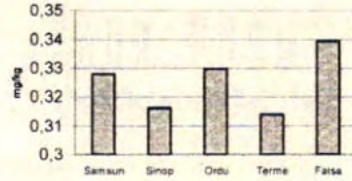
Şekil 7. Balık türlerinde ortalama Cd dağılımı

Avlanma zamanına bağlı olarak toplanan balıklarda ağır metal düzeyleri mevsimsel olarak incelendiğinde kış ve ilkbahar mevsimlerinde arasında istatistiksel olarak farklılığın önemsiz ($p>0.05$) olduğu bulunmuştur (Şekil 8).

Balıklarda ağır metal miktarları bölgesel olarak incelendiğinde Samsun, Sinop, Ordu, Terme ve Fatsa illeri arasında farklılık istatistiksel olarak önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur (Şekil 9).



Şekil 8. Ağır metal miktarının mevsimlere göre değişimi



Şekil 9. Ağır metal miktarının bölgelere göre değişimi

TARTIŞMA VE SONUÇ

Su ve deniz kirliliğinin önemli bir bölümü oluşturan ağır metaller çevre kirliliğinin ayrılmaz nedenleri arasında yer almaktadır. Bölgemiz Karadeniz kıyılarında ağır metallerin oluşturduğu kirliliğin deniz canlıları ve insan sağlığı üzerine oluşturabileceği riskleri ortaya koymak amacıyla Samsun, Sinop, Ordu, Fatsa ve Terme bölgelerinden yakalanan toplam on balık türü ile yaptığımız çalışmada metal birikim düzeylerinin balığın türüne bağlı olarak kas dokusundaki değişim miktarları araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarında Orta Karadeniz bölgesinde avlanan balık türlerinde saptanan ağır metaller içinde en yüksek miktarda Fe daha sonra Zn, Mn, Ni, Cu, Pb ve Cd bulunmuştur.

Yazkan ve ark. (26) tarafından yapılan çalışmada ise balık türlerinde en çok Zn saptandığı bildirilmiştir.

Çalışmada balıkların kas dokusunda belirlenen Cu düzeyi ortalama 0.10 $\mu\text{g g}$ olup, en yüksek değer mezgit (0.14 $\mu\text{g g}$), en düşük değer izmarit balığında (0.01 $\mu\text{g g}$) bulunmuştur. Araştırma bulgularından daha yüksek olarak Tüzen (23) balıklarda Cu düzeyini 1.28-2.93 $\mu\text{g g}$ arasında, Dugo ve ark. (7) 2.05-5.98 $\mu\text{g g}$, Yazkan ve ark. (26) 0.51-3.66 $\mu\text{g g}$ olarak bulmuşlardır. Türk Gıda Kodeksine (3) göre balıkta Cu için kabul edilebilir en yüksek değer 20 $\mu\text{g g}$ olup araştırma sonuçları limitlerin altında bulunmuştur. Çalışmada balıklarda saptanan Mn düzeyi ise ortalama 0.23 $\mu\text{g g}$ olup en yüksek istavrit (0.42 $\mu\text{g g}$), en düşük tirsi balığında (0.10 $\mu\text{g g}$) tespit edilmiştir. Yine bulunan değerlerden yüksek olarak Tüzen (23) balıklardaki Mn değerini 1.06-3.76 $\mu\text{g g}$ olarak bulmuştur.

Araştırma sonucunda balıklarda Fe düzeyi ortalama 1.04 $\mu\text{g g}$ olup en yüksek tirsi (1.35 $\mu\text{g g}$), en düşük istavritte (0.84 $\mu\text{g g}$) bulunmuştur. Çalışma bulgularında yüksek olarak Göksu ve ark. (11) aynalı sazanda Fe değerini 1.93 $\mu\text{g g}$, Tüzen (23) tirsidede Fe değerini 16.08 $\mu\text{g g}$, istavritte 32.40 $\mu\text{g g}$ olarak bulmuştur. Çalışmada Ni düzeyi ortalama 0.13 $\mu\text{g g}$ olup en yüksek çinekop (0.76 $\mu\text{g g}$), en düşük tirsi balığında (0.06 $\mu\text{g g}$) bulunmuştur. Zn düzeyi ortalama 1.04 $\mu\text{g g}$ olup en yüksek mezgit (1.25 $\mu\text{g g}$), en düşük palamutta (0.78 $\mu\text{g g}$) tespit edilmiştir. Bu değerlerden düşük olarak Göksu ve ark. (11) sudak balığında Zn değerini 0.54 $\mu\text{g g}$ bulmuşlardır. Çalışma bulgularından daha yüksek olarak ise Dugo ve ark. (7) balıklarda Zn değerini 4.56-6.90 $\mu\text{g g}$, Tüzen (23) 9.50-20.41 $\mu\text{g g}$, Yazkan ve ark. (26) 3.17-11.36 $\mu\text{g g}$ olarak bulmuşlardır. Türk Gıda Kodeksine göre (3) Zn için kabul edilebilir en yüksek değer 50 $\mu\text{g g}$ olup, araştırma sonucunda balıklarda tespit edilen değerler kabul edilebilir limitlerin altında çıkmıştır.

Çalışmada Pb düzeyi ortalama 0.03 $\mu\text{g g}$ olup en yüksek çinekop (0.05 $\mu\text{g g}$), en düşük kayabalığında (0.02 $\mu\text{g g}$) bulunmuştur. Çalışmada bulunan ortalama Pb değeri ile benzer şekilde Khansari ve ark. (14) tuna balığında Pb düzeyini 0.03 $\mu\text{g g}$ olarak bulmuşlardır. Bulunan değerlerden daha yüksek olarak ise Tüzen (23) balıklarda Pb

düzeyini 0.22-0.85 µg g, Dugo ve ark. (7) 0.42-0.60 µg g olarak bulmuşlardır. Çalışmada Pb için bulunan değerler Türk Gıda Kodeksinde (3) kabul edilebilir en yüksek değer olan 0.4 µg g'dan düşük çıkmıştır.

Balıklarda tespit edilen Cd düzeyi ortalama 0.0008 µg g olup en yüksek izmarit ve hamsi (0,0014 µg g), en düşük mezgitte (0,0001 µg g) bulunmuştur. Bulunan değerler Türk Gıda Kodeksinde (3) Cd için kabul edilebilir en yüksek değer 0.1 µg g den düşük bulunmuştur. Yine çalışma bulgularından yüksek olarak Khansari ve ark, (14) balıklarda Cd düzeyini 0.0223 µg g, Tüzen (23) tirsı balığında Cd düzeyini 0.35 µg g, hamside 0.20 µg g, istavritte 0.47 µg g, Dugo ve ark. (7) balıklarda Cd düzeyini 0.05-0.30 µg g, Yazkan ve ark. (26) 0.000-0.13 µg g bulmuşlardır. Khansari ve ark. (14) tuna balığında Hg düzeyini, 0.0117 µg g Altındağ ve Yiğit (2) kefalde Hg düzeyini 0.012 µg g, sazanda ise 0.022 µg g olarak bulmuşlardır. Türk Gıda Kodeksine göre (3) Hg için kabul edilebilir en yüksek değer 0.5-1 µg g olup, çalışmada balıklar Hg yönünden saptama sınırlarının altında (<0.0001 µg g) bulunmuştur.

Balıkların kas dokularındaki ağır metal konsantrasyonu istatistiksel olarak karşılaştırıldığında balık türleri arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Benzer şekilde Canlı ve Atlı (5) ile Kalay ve ark. (13) da yaptıkları çalışmalarda farklı balık türlerinde farklı düzeyde ağır metal tespit etmişlerdir. Aynı yaşam ortamında yaşayan balıkların içerdiği ağır metal düzeyleri arasındaki farklılığın balıkların yapısı ve yaşam şekillerine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Nitekim çalışmalarda balıklarda beslenme tipinin metal birikim düzeyi ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Diğer yandan balık türleri arasında metabolik aktivitelerin farklılığı, solungaçların oluşturduğu yüzey alan genişliği ve ekolojik ihtiyaçların farklılığına bağlı olarak balıklar farklı düzeyde ağır metal içermektedir (13). Balıklarda ağır metal yükündeki farklılığın diğer bir nedeni de Metalotionin (MT) düzeyidir. Metalotionin (MT), insan ve hayvanlarda ağır metal metabolizmasında rol oynayan, düşük moleküler ağırlıklı metalle bağlanan bir proteindir. Bu protein özellikle karaciğer ve böbrekte sentezlenir. Balıklarda Metalotionin (MT) sentez düzeyindeki farklılığa bağlı olarak türler arasında metal birikim düzeyleri de farklılık göstermektedir (12).

Balıklarda ağır metal düzeylerinin bölgelere göre verileri Şekil 9'de verilmiştir. Bu verilere göre Fatsa bölgesindeki ağır metal yükü Sinop ve Terme bölgesinden daha yüksektir. Fakat yapılan istatistiksel analizler sonucunda bölgeler arasındaki bu farklılığın önemsiz ($p>0.05$) olduğu görülmüştür. Buda bölgenin kirlilik düzeyinde genel kirleticilerin yanı sıra lokal kirleticilerin de önemli olduğunu vurgulamaktadır. Topcuoglu ve ark. (19) Karadeniz bölgesinde deniz alglerinde yaptıkları çalışmada ağır metal düzeylerinin bölgelere göre farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir.

Çalışmada kış mevsiminde (Ocak, Şubat, Mart) balıklarda ortalama ağır metal düzeyinin ($0.32 \mu\text{g g}$), ilkbahar mevsiminden (Nisan, Mayıs, Haziran) ($0.30 \mu\text{g g}$) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda ise bu farklılığın önemsiz ($p>0.05$) olduğu görülmüştür. Diğer taraftan Göksu ve ark. (11) Ocak, Şubat, Mart döneminde Fe ve Zn birikimlerinin yüksek olduğu bildirilmişlerdir. Yazkan ve ark. (26) tarafından da balık örneklerinin kas dokusundaki Cu miktarının Ocak ayından Mart ayına doğru belirgin bir düşüş gösterdiğini vurgulamışlardır. Tuncer ve Göksel (21) ise her mevsim balıklardaki ağır metal yükünün farklılık gösterdiğini belirtmiştir.

Çalışmada balık büyüklüğü ile içerdiği ağır metal yükü arasında negatif bir ilişki bulunmuştur. Kalkan balığında Cu, Mn, Fe, Ni, Zn ve Cd düzeyleri, hamsi balığından daha düşük çıkmıştır. Bu bulguları destekler şekilde Canlı ve Atlı (5), Nussey ve ark. (17) balığın büyüklüğü arttıkça ağır metal düzeyinin azaldığını vurgulamışlardır. Deniz canlılarında ağır metal birikiminde metabolik aktivite önemli bir rol oynamaktadır. Metabolik aktivitenin genç bireylerde yaşlılardan daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu yüzden metal birikimi gençlerde yaşlılardan daha fazla şekillenmektedir (6, 8, 17).

Sonuç olarak Orta Karadeniz bölgesinde incelenen balık türlerin tamamında analiz edilen ağır metal düzeyleri T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Türk Gıda Kodeksinde (3) belirtilen limitlerin altında olduğu gözlemlenmiştir. Karadeniz'in tüm kirlilik envanterinin çıkarılması için Karadeniz'e kıyısı olan tüm komşu ülkeler ile beraber koordineli ve çok yönlü çalışmaların yapılması gerekmektedir. Yapılacak bu çalışmaların çevre kirliliği ile mücadelede önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- 1) Agirdir, B.V., Bilgen, I., Dinç, O., Ozcaglar, H.U., Fisenk, F., Turhan, M. (2002). Effect of zinc ion on cadmium-induced auditory changes. *Biol Trace Elem Res.* 88(2):153-63.
- 2) Altındağ, A., Yiğit, S. (2005). Assessment of heavy metal concentrations in the food web of lake Beyşehir, Turkey. *Chemosphere* (Article in Pres).
- 3) Anon (2002). Gıda maddelerinde belirli bulaşanların maksimum seviyelerinin belirlenmesi hakkında tebliğ, T.C. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Türk Gıda Kodeksi. 16.10.2002, 24908 nolu Resmi Gazete.
- 4) Bahçekapılı, A. (2001). Çevre İçin Kurtuluş Savaşı, Hemen Şimdi. Çevre Sorunları, BRT Yayınları, İstanbul.
- 5) Canlı, M., Atlı, G. (2003). The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution.* 121:129-136.
- 6) Douben, P.E. (1989). Lead and cadmium in stone loach (*Noemacheilus barbatulus* L.) from three rivers in Derbyshire. *Ecotox. Environ. Safe.* 18: 35-58.
- 7) Dugo, G., Pera, L.L., Bruzzese, A., Pellicano, T.M., Turco, V.L. (2004). Concentration of Cd (II), Cu (II), Pb (II), Se (IV) and Zn (II) in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) tissues from Tyrrhenian Sea and Sicilian Sea by derivates stripped potentiometry. *Food Control* (Article in Press).
- 8) Elder, J.F., Collins, J.J. (1991). Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 122: 37-79.
- 9) Fulladosa, E., Deane, E., Ng, A.H., Woo, N.Y., Murat, J.C., Villaescusa, I. (2006). Stress proteins induced by exposure to sublethal levels of heavy metals in sea bream (*Sparus sarba*) blood cells. *Toxicol In Vitro.* 20(1):96-100.
- 10) Gallien, L., Caurant, F., Bordes, M., Bustamante, P., Miramand, P., Fernandez, B., Quellard, N. and Babin, P. (2001). Cadmium-containing granules in kidney tissue of the Atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*) off the Faroe Island. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 130:389-95.
- 11) Göksu, M.Z.L., Çevik, F., Fındık, Ö., Sarıhan, E. (2003). Seyhan baraj gölündeki aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) ve sudak (*Stizostedion lucio-perca* L., 1758)'larda Fe, Zn, Cd düzeylerinin belirlenmesi. *E.U. Su Ürünleri Dergisi.* 20(1-2):69-74.
- 12) Katsuragi, H., Hasegawa, A., Saito, K. (1997). Distribution of metallothionein in cigarette smokers and nonsmokers in advanced periodontitis patients. *J Periodontol.* 68:1005-1009.
- 13) Kalay, M., Koyuncu, C.E., Dönmez, A.E. (2004). Mersin Körfezi'nden Yakalanan *Sparus aurata* (L. 1758) ve *Mullus barbatus* (L.1758)'un Kas ve Karaciğer Dokularındaki Kadmium Düzeylerinin Karşılaştırılması. *Ekoloji.* 13(52):23-27
- 14) Khansari, F.E., Khansari, M.G., Abdollahi, M. (2004). Heavy metals content of canned tuna fish. *Food Chemistry* (Article in Pres).
- 15) Leonì, G., Bogliolo, L., Deiana, G., Berlinguer, F., Rosati, I., Pintus, P.P., Ledda, S., Naitana, S. (2002). Influence of cadmium exposure on in vitro ovine gamete dysfunction. *Reprod Toxicol.* 16(4): 371-7.
- 16) Levesque, H.M., Moon, T.W., Campbell, P.G.C., Hontela, A. (2002). Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of yellow perch (*Perca flavescens*) chronically exposed to metals in the field. *Aquatic Toxicology.* 60:257-267.
- 17) Nussey, G., Van Vuren, J.H.J., Du Preez, H.H. (2000). Bioaccumulation of chromium, manganese, nickel and lead in the tissues of the moggel, *Labeo umbratus* (Cyprinidae), from Witbank dam, Mpumalanga. *Water Sa.* 26, 269-284.
- 18) Shalovenkov, N. (2000). Scales of Ecological process and anthropogenous loads on the coastal ecosystems of the Black Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science.* 50:11-16.
- 19) Topcuoğlu, S., Güven, K.C., Kırbasoğlu, C., Güngör, N., Ünlü, S., Yılmaz, Y.Z. (2001). Heavy metals in marine algae from Şile in the Black Sea, 1994-1997. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 67, 288-294.
- 20) Topcuoğlu, S., Güven, K.C., Balkıs, N., Kırbasoğlu, Ç. (2003). Heavy metal monitoring of marine algae from the Turkish coast of the Black Sea, 1998-2000. *Chemosphere.* 52:1683-1688
- 21) Tuncer, S., Göksel, H. (1993). Trabzon kıyılarında avlanan Mezgit (*Merlangius euxinus*)'ta bazı ağır metal (Cu, Mn, Zn) birikimlerinin araştırılması. *KTÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü*, Trabzon, 1993.

- 22) Tüzen, M., Turkecul, I., Hasdemir, E., Mendil, D., Sarı, H. (2003). Atomic Absorption Spectrometric Determination of Trace Metal Contents of Mushroom Samples from Tokat, Turkey. *Analytical Letters*. 36(7): 1401-1410.
- 23) Tüzen, M. (2003). Determination of heavy metals in fish samples of middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*. 80:119-123.
- 24) Wier, P.J., Miller, R.K., Maulik, D., Di Sant'Agnes, P.A. (1990). Toxicity of cadmium in the perfused human placenta. *Toxicol Appl Pharmacol*. 105: 156-71.
- 25) Vaidya, O.C., Rantala, R.T (1996). A comparative study of analytical methods: determination of heavy metals in mussels (*Mytilus edulis*) from Eastern Canada. *International Journal of Environmental & Analytical Chemistry*, 63, 179-185.
- 26) Yazkan, M., Özdemir F., Gölükcü, M. (2002). Antalya körfezinde avlanan bazı balık türlerinde Cu, Zn, Pb ve Cd içeriği. *Turk J Vet Anim Sci*. 26:1309-1313.
- 27) Zaitaev, A. (1992). 1.st Black Sea Conference, 10-12 October, Odesa, Ukraine.

Tablo 1. Orta Karadeniz bölgesinden avlanan balıklarda ağır metal düzeyleri (µg g⁻¹).

Balık türü	Cu	Mn	Fe	Ni	Zn	Pb	Cd	Hg
İstavrit								
Ortalama	0.0781±0.0051	0.4288±0.0352	0.0846±0.0456	0.1872±0.0288	1.1082±0.0402	0.0242±0.0028	0.0005±0.0001	<0.0001
En az-En çok	0.01-0.18	0.07-1.23	0.46-1.60	0.04-1.14	0.70-1.82	0.00-0.09	0.00-0.00	<0.0001
Tirsi								
Ortalama	0.1051±0.0232	0.1003±0.0084	1.3514±0.3173	0.0642±0.0069	1.2348±0.2844	0.0346±0.0066	0.0009±0.0001	<0.0001
En az-En çok	0.02-0.79	0.01-0.22	0.10-11.00	0.01-0.17	0.59-10.00	0.00-0.21	0.00-0.00	<0.0001
Çinekop								
Ortalama	0.1145±0.0233	0.2059±0.0224	0.9526±0.0691	0.7650±0.0070	1.0207±0.0368	0.0505±0.0084	0.0010±0.0001	<0.0001
En az-En çok	0.01-0.98	0.00-0.51	0.00-2.10	0.00-0.13	0.47-1.77	0.00-0.23	0.00-0.00	<0.0001
Barbun								
Ortalama	0.1256±0.0125	0.2787±0.0420	1.1669±0.0874	0.1116±0.0068	0.9485±0.0285	0.0368±0.0048	0.0008±0.0001	<0.0001
En az-En çok	0.01-0.38	0.02-0.93	0.30-3.01	0.03-0.22	0.51-1.49	0.00-0.11	0.00-0.00	<0.0001
Izmarit								
Ortalama	0.0142±0.0040	0.1042±0.0057	0.9559±0.1227	0.2309±0.0172	0.9742±0.0784	0.0268±0.0041	0.0014±0.0001	<0.0001
En az-En çok	0.00-0.04	0.08-0.13	0.69-1.66	0.19-0.32	0.61-1.19	0.01-0.05	0.00-0.00	<0.0001
Hamisi								
Ortalama	0.1094±0.0085	0.1578±0.0305	1.0426±0.0857	0.1529±0.0150	1.0502±0.0671	0.0281±0.0030	0.0014±0.0002	<0.0001
En az-En çok	0.05-0.19	0.00-0.52	0.17-1.82	0.05-0.27	0.13-1.85	0.01-0.06	0.00-0.00	<0.0001
Kayabalığı								
Ortalama	0.1088±0.0279	0.3426±0.0582	1.0470±0.0540	0.1929±0.0317	0.9320±0.0404	0.0206±0.0041	0.0008±0.0003	<0.0001
En az-En çok	0.00-0.71	0.07-0.81	0.50-1.45	0.03-0.49	0.53-1.53	0.00-0.10	0.00-0.01	<0.0001
Palamut								
Ortalama	0.0698±0.0074	0.1415±0.0193	1.0387±0.1093	0.1219±0.0098	0.7820±0.0480	0.0362±0.0047	0.0010±0.0002	<0.0001
En az-En çok	0.00-0.14	0.00-0.42	0.19-2.68	0.06-0.20	0.30-1.33	0.01-0.10	0.00-0.00	<0.0001
Mezgit								
Ortalama	0.1489±0.0238	0.2768±0.0287	1.1537±0.0676	0.1472±0.0155	1.2539±0.0645	0.0235±0.0015	0.0001±0.0000	<0.0001
En az-En çok	0.00-1.18	0.06-0.70	0.04-2.00	0.01-0.42	0.68-2.09	0.00-0.04	0.00-0.00	<0.0001
Kalkan								
Ortalama	0.0852±0.0085	0.1307±0.0128	0.8691±0.0332	0.1393±0.0191	0.9934±0.0684	0.0293±0.0086	0.0009±0.0003	<0.0001
En az-En çok	0.00-0.16	0.02-0.32	0.55-1.19	0.03-0.32	0.20-1.82	0.00-0.26	0.00-0.01	<0.0001
Tüm balıklar								
Ortalama	0.1039±0.0059	0.2389±0.0120	1.0490±0.0386	0.1339±0.0063	1.0459±0.0320	0.0318±0.0018	0.0008±0.0001	<0.0001
En az-En çok	0.00-1.18	0.00-1.23	0.00-11.00	0.00-1.14	0.13-10.00	0.00-0.26	0.00-0.01	<0.0001

ÇİĞ KÖFTELERDE *L. MONOCYTOGENES*'İN YAŞAMSAL ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

U. Tansel ŞİRELİ¹

Muammer GÖNCÜOĞLU¹

Sevda PEHLİVANLAR²

¹ Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü. 06110. Dışkapı-Ankara

E-mail: tsireli@veterinary.ankara.edu.tr mgoncuoglu@hotmail.com

² Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi A.B.D. Hatay

Email: sevdapehlivanlar@hotmail.com

ÖZET: Geleneksel bir ürün olan çiğ köfte son yıllarda daha çok ticari önem kazanarak geniş bir tüketim alanına sahip olmuştur. Bu deneysel çalışma 4°C ve 25°C'lerde muhafaza edilen çiğ köftelerde *L. monocytogenes*'in yaşamsal etkinliğinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, çiğ köfte örnekleri 4 gruba ayrılarak, kontrol grubu dahil olmak üzere, 10³ kob/g, 10⁴ kob/g and 10⁵ kob/g düzeylerinde kontamine edilmiştir. Örnekler 0., 4., 8., 12. ve 24. saatlerde USDA/FSIS tarafından önerilen yöntem ile En Muhtemel Sayı/Most Probable Number (EMS/MPN) tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde 25°C'de bütün örneklerde ilk 8 saat içerisinde 1 logEMS/g oranında artış olduğu, 24 saat sonunda ise bu artışın 2-3 logEMS/g düzeyine ulaştığı belirlenmiştir. Çalışma bulgularında elde edilen sonuçlar ışığında üretim esnasında düşük düzeyde dahi olsa *L. monocytogenes* ile kontaminasyon durumunda çiğ köfteden kaynaklanabilecek ciddi halk sağlığı problemleri gerçekleşebilir. Bu nedenle, Türkiye'de hazır gıdalara yönelik yasal mevzuatın gözden geçirilerek yeni düzenlemeler yapılması ile halk sağlığı açısından yararlar sağlanabileceği görüşüne varılmıştır.

Anahtar kelimeler : *L. monocytogenes*, çiğ köfte, çiğ et, baharat

GROWTH OF *L. MONOCYTOGENES* IN ÇİĞ KÖFTE (RAW MEAT BALL)

ABSTRACT: Çiğ köfte (raw meat ball), a traditional food of Turkey, has become a commercial success in recent decades. This study was undertaken to determine the growth of *Listeria monocytogenes* in çiğ köfte at 4°C and 25°C. For this purpose çiğ köfte samples were divided into four groups and contaminated with 10³ cfu/g, 10⁴ cfu/g and 10⁵ cfu/g respectively. Also there was a control group for detecting the contamination of *L. monocytogenes*. Samples were analyzed at 0, 4, 8, 12 and 24 hours as recommendation of USDA/FSIS by using Most Probable Number (MPN) Technique. The results were shown that there was a 1 log MPN/g increase within 8 hours in samples which were incubated at 25°C and after 24 hours of incubation 2-3 log MPN/g were observed. The results of this study indicate that if the contamination occur during the production process of çiğ köfte with *L. monocytogenes*, çiğ köfte should be considered as an important source of public health problems, even its initial contamination level is low. As the lack of legislation on çiğ köfte, it is necessary to establish microbiological standards also hygienic measures must be taken to ensure a wholesome product.

Key words: *L. monocytogenes*, çiğ köfte, raw meat, spice

GİRİŞ

Çiğ köfte, çiğ yağsız sığır kıymasının ve bulgurun, değişik oranlarda baharat (kırmızıbiber, kimyon, karabiber ve yenibahar), tuz, salça (domates ve biber), ilavesiyle elle hazırlanarak, ısı işlemi uygulanmadan tüketime sunulan hazır bir et ürünüdür. Geleneksel bir gıda olan çiğ köfte, ticari bir nitelik kazanarak sokakta açıkta ve/veya marketlerin hazır gıda reyonlarında yenmeye hazır gıda (Ready-to-eat) olarak satılmaktadır. Çiğ köftenin hazırlandıktan sonra yaklaşık 1-2 saat içerisinde tüketilmesi uygun görülmesine rağmen, satış yerlerinde bu süre 24 saati bulabilmektedir (7,10,12).

Son yıllarda, tüketime hazır gıdalarda en büyük risk grubu patojenler içerisinde *L.monocytogenes* yer almaktadır. Genel olarak tüketime hazır gıdalardaki *L.monocytogenes*'den kaynaklanan riskin işlem sonrası kontaminasyondan (post-processing), ürüne katılan çiğ et ve sebzelerden, ürünün muhafaza süresi ve koşulları ile raf-ömürlerinin aşılmasından dolayı kaynaklandığı belirtilmektedir (4). Bir çok ülkede yapılan çalışmalarda genel olarak çiğ kıymaların % 39-100'ünün *Listeria* türleri ile, %15-80'inin de *L. monocytogenes* ile kontamine olduğu belirtilmekte (5,9,13,14,18), bu oranın işlem sonrası şekillenen kontaminasyonlar ile daha da artabileceği vurgulanmaktadır (8,16). Türkiye'de yapılan sığır kıymaları ile ilgili çalışmalarda *Listeria* spp. kontaminasyonunun %56-97 düzeyinde, *L. monocytogenes*'in ise % 23-40 oranında saptandığı belirtilmiştir (6,11,15,17).

Bu çalışmada *L. monocytogenes*'in tercih edilmesi; etkenin ubiquiter özelliği, buzdolabı sıcaklığında ve pH 5.0-9.6 aralığında gelişebilmesi ve özellikle *L. monocytogenes*'in 1/2a ve 4b serotipleri ile kontamine gıdaların tüketilmesinde % 30'lara varan mortaliteye sahip olmasıdır. Ayrıca Avrupa Birliği ülkeleri yanında birçok ülkede tüketime hazır gıdalara (ready-to eat) yönelik mikrobiyolojik kriterlerinde *L. monocytogenes* sıfır tolerans olarak istenmektedir (1,2).

Bu çalışmada, *Listeria* türleri ile yüksek kontaminasyon riskine sahip etlerden elde edilen ve çiğ olarak tüketime sunulan çiğ köftelerin deneysel olarak *L. monocytogenes*

ile değişik düzeylerde kontamine edilerek, farklı muhafaza sıcaklıklarındaki gelişim seyrinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Test suşu ve hazırlanması:

Çiğ köftelerin deneysel kontaminasyonun da kullanılan *L. monocytogenes* serotip tipl (NCTC-2167) Refik Hıfzıssıhha Merkezi'nden temin edilmiştir. Deneysel işlemlerde kullanılacak olan Liyofilize *L. monocytogenes* kültürü, Tryptone Soya Broth'a (Oxoid, CM 129) ekilerek, 37°C'de 24 saat aktifleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda kültür süspansiyonu homojenize edilerek, %0,1'lik steril peptonlu su ile 10^{-8} kadar desimal sulandırılmaları yapıldıktan sonra, Tryptone Soya Agar (Oxoid CM131) – Yeast Extract (Oxoid L21) (TSA-YE) ve Modified Oxford Agar'a (MOX) (Merck 1.07004) ekim yapılarak, plaklar 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda plaklar sayılarak, *L. monocytogenes* referans kültürünün 1 ml'deki düzeyi belirlenmiş olup, deneysel çiğ köfte gruplarına katılacak olan 10^3 , 10^4 ve 10^5 düzeyindeki kültür süspansiyon oranları hazırlanmıştır.

Deneysel çiğ köfte üretimi ve deney gruplarının hazırlanması: Laboratuvar koşullarında hammaddelerin *L. monocytogenes* içermediği öncelikle belirlendi. Çiğ köfte hamurunun hazırlanması için bulgur, diğer karışım maddeleri olan salça, tuz, soğan ve baharat steril su ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra yağsız kıyma ilave edilerek macun kıvamına gelene kadar yoğrularak, çiğ köfte hamuru hazırlandı. Bu hamur deneysel çalışma için aşağıda belirtilen 4 gruba ayrıldı.

- K Grubu: İçerisinde *L. monocytogenes* içermeyen çiğ köfte "kontrol grubu".
- A Grubu: Deneysel çiğ köfte hamurunun *L. monocytogenes* ile 10^3 kob/g düzeyinde kontamine edildiği grup.
- B Grubu: Deneysel çiğ köfte hamurunun *L. monocytogenes* ile 10^4 kob/g düzeyinde kontamine edildiği grup.
- C Grubu: Deneysel çiğ köfte hamurunun *L. monocytogenes* ile 10^5 kob/g düzeyinde kontamine edildiği grup.

Bu işlem sonunda 4 °C ve 25°C'deki *L. monocytogenes*'in yaşamsal seyrini belirlemek için inokulasyon işleminden itibaren çiğ köftelerden 0.,4.,8.,12. ve 24. saatlik süreler içerisinde örnekleri alınarak analizleri yapıldı. Aynı deneysel çiğ köfte üretimi ve analizleri belirtilen şekillerde 2 kez tekrar edildi.

***L.monocytogenes* izolasyon ve identifikasyonu:** *L.monocytogenes* 'in kontaminasyon düzeyi, United States Department of Agriculture (USDA) – Food Safety and Inspection Service (FSIS) tarafından önerilen yöntemle belirlenirken, sayısal değerlendirme Most Probable Number (MPN) tekniği kullanılarak saptandı. Bunun için çiğ köfte örneklerinin her birinden üçer adet 10: 1: 0.1..... g alınarak içerisinde sırası ile 90: 9: 10 ml ön zenginleştirme besi yeri bulunan üçlü tüplere ilave edilip, Modified University of Vermont *Listeria* Selective Enrichment Broth (Merck, 1.10824) (UVM), homojenize edildikten sonra 30 °C'de 20-24 saat süreyle inkübe edildi. Daha sonra her bir ön zenginleştirme homojenatından asıl zenginleştirme brothu olan Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth'a (Base) (Merck, 1.10398) (FB) 0.1'er ml aktarılıp tüpler 35 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda katı besiyerine Modified Oxford Agar'a (MOX) (Merck 1.07004) öze ile geçilerek plaklar 35 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu işlemi takiben MOX agarda üreyen tipik kolonilerden Gram boyama, SIM mediumda hareketlilik, katalaz testi ile hemoliz testleri yapılarak *L.monocytogenes* olduğu teyit edilen plaklardaki sayısal tespit MPN tablosu esas alınarak yapıldı (3).

İstatistiksel değerlendirme: Çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesi bulgulardan elde edilen verilere göre en uygun olan kübik regresyon modeline (üçüncü dereceden polinomial regresyon) göre yapıldı. Bu amaçla, grup A'nın belirtme katsayısı 0,997, grup B'nin 0,954 ve grup C'nin ise 0,927 olarak belirlendi (SPSS, 11.5 version, ref no: 651544.).

BULGULAR

Çalışmada, 25 °C'de muhafaza edilen çiğ köfte gruplarında sırasıyla 10^3 (A), 10^4 (B) ve 10^5 (C) kob/ml düzeylerinde *L. monocytogenes* inokule edilmiş ve 0, 4, 8, 12 ve 24' lük muhafaza süresince gelişim eğrisi Tablo 1'de verilmiştir. Muhafaza süresini takiben her

üç grupta da 24 saat süresince *L. monocytogenes*'in sayısal değerinde yaklaşık 2 logaritmik bir artış görülmüştür. *L. monocytogenes*'deki bu 2 logaritmik artış, A grubunda 24 saatte 2,97 logMPN/g'dan 5,66 logMPN/g, B ve C gruplarında sırasıyla 4,32 logMPN/g, 5,17 logMPN/g'dan 8'inci saat sonunda 6,17 logMPN/g, 7,04 logMPN/g düzeyine ulaşmıştır. İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede ise, istatistiksel olarak formüle edilen modellerde zamana göre eğrisel bir artışın olduğu görülmüştür. Belirleme katsayılarının yüksek oluşu zamana göre artışın model tarafından yeterli düzeyde açıklandığını göstermiştir.

Grup A $y=2,9528+0,2323 \times (\text{saat}) - 0,0193 \times (\text{saat}^2)+0,0006 \times (\text{saat}^3)$

Grup B $y=4,2402+0,0739 \times (\text{saat}) + 0,0224 \times (\text{saat}^2)-0,0009 \times (\text{saat}^3)$

Grup C $y= 5,0854+0,2235 \times (\text{saat}) - 0,0023 \times (\text{saat}^2)-0,0001 \times (\text{saat}^3)$

4° C'de muhafaza edilen çiğ köftelerde ise 24 saatlik muhafaza süresi sonunda her üç inokulasyon düzeyinde de logaritmik bir artışa rastlanmamıştır.(Tablo 1)

Tablo 1: Deneysel olarak kontamine edilen çiğ köftelerdeki *L. monocytogenes*'in gelişme düzeyleri (log MPN/g).

Saatler	4 °C'de örnekler			25 °C'de örnekler		
	A	B	C	A	B	C
0	2,97	4,32	5,17	2,97	4,32	5,17
4	2,87	3,85	4,97	3,55	4,55	5,63
8	2,85	3,58	4,97	3,96	6,17	7,04
12	3,32	3,55	4,58	3,96	6,66	7,04
24	2,55	3,55	5,38	5,66	6,66	7,30

Tüketime hazır bir gıda olan çiğ köftenin; her türlü kontaminasyona açık çiğ kıymadan hazırlanması ve tüketilmesi, uygun olmayan muhafaza koşulları, oda sıcaklığında (25° C'de) satışa sunulması, raf ömrü kısa bir ürün olması ve çoğu zaman bu süreye de uyulmaması ile önem arz ettiği düşünülmektedir. Bu çalışma bulguları; ürünün yapım sırasında ve sonrasındaki hijyenik koşulların yetersizlikleri sonucu *L. monocytogenes* ile düşük düzeyde de olsa kontamine olduğunda, çiğ köftenin büyük sağlık riskleri taşıyabileceğini göstermiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak tüketime hazır gıda olan çiğ köftenin satışlarının kontrol altına alınması ve soğuk zincirin mutlaka sağlanması, üretim ve tüketiminin her aşamasında Kritik Kontrol Noktaları ve Tehlike Analizleri (HACCP) gibi prosedürlerin uygulanması gerekmektedir. Bunun yanında, tüketime hazır gıdaların (örn. çiğ köfte) *L. monocytogenes* gibi önemli gıda patojenleri ile kontamine olabileceği göz önüne alınmalı, halk sağlığının korunması açısından tüketime hazır gıdalar için mevcut yasal düzenlemelerin revize edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Anonymus. Microbiological Reference Criteria for Food. Food Administration Manual, version 2. 1995.
2. Anonymus. Guidelines for the interpretation of results of microbiological analysis of some ready-to-eat foods sampled at point of sale. Food Safety Authority of Ireland, 2001.
3. Anonymus. 2002. Microbiology Laboratory Guidebook Notice of Change. United States Department of Agriculture – Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science. Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry, Egg and Environmental Samples.
4. Anonymus. WHO/FAO. Risk assessment of *L. monocytogenes* in ready-to-eat foods: Interpretative summary. Microbiological risk assessment series: no: 4. 2004
5. Breuer, V.J., Prandl, O. Nachweis von Listerien und deren vorkommen in hackfleisch und Mettwürsten in Österreich. Arch. Lebensmittelhyg. 39:28-30, 1988.
6. Çiftçioglu, G. Ugur, M. Kıyma, sucuk ve tavuk etlerinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonu. İst. Üniv. Vet. Fak. Derg. 18(2):33-44, 1992
7. Erol, İ., Mutluer, B., vatansever, L. A Tipi enterotoksin oluşturan staphylococcus aureus'un çiğ köfteye üreme ve toksin oluşturma yeteneğinin belirlenmesi. Gıda, 18(5): 315-318, 1993.
8. Farber, J.M. *Listeria monocytogenes* J. Assoc. Off. Anal. Chem., 74(4): 701-704, 1991.
9. Kleinlein, N., Untermann, F., Beissner, H. Zum Vorkommen von Salmonella und Yersinia Spezies sowie Listeria monocytogenes in Hackfleisch. Fleischwirtsch. 69(9): 1474-1476, 1989.
10. Küplülü, Ö., Sarımehtemoglu, B., Oral, N. The microbiological quality of çiğ köfte sold in Ankara. Turk J. Vet. Anim. Sci. 27: 325-329, 2003.
11. Nazlı, B., Çiftçioglu, G., Ülgen, M.T. Hazır kıymalarda *Listeria monocytogenes* ile koliform grubu mikroorganizmaların ilişkisinin araştırılması. Pendik Vet. Mikrobiol. Derg. 23(2): 133-145, 1992.
12. Sağun, E., Sancak, Y.C., Durmaz, H., Akaya, L. Van'da tüketime sunulan çiğ köftelerin hijyenik kalitesi üzerine bir araştırma. Yüzüncü Yıl Üniv. Sağ. Bil. Derg. 3(1): 64-67, 1997
13. Scanga, J.A., Grona, A.D., Belk, K.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.
14. Schmidt, U., Seeliger, H.P.R., Gleen, E., Langer, B., Leistner, L. Listerienfunde in rohen Fleischerzeugnissen. Fleischwirtsch. 68 (10): 1313- 1316, 1988.
15. Sharif, L. A. Survival of *Listeria monocytogenes* in ground beef or liver during storage at 4 and 25 °C. J.Food. Prot. 52(6):379-383, 1989.
16. Shelef, L.A. Survival of *Listeria monocytogenes* in ground beef or liver during storage at 4 and 25 °C. J. Food Prot. 52(6): 379-383, 1989.
17. Şireli, U.T., Erol, İ. Hazır kıymalarda *Listeria* türlerinin araştırılması. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 23. supp.(2): 373-380, 1999
18. Weis, V.J. Vorkommen von Listerien in Hackfleisch. Tierarztl. Umschau., 44: 370-375, 1989.

AFYONKARAHISAR İLİNDE SIĞIR KARKASLARINDA *ESCHERICHIA COLI* O157/O157:H7, *LISTERIA MONOCYTOGENES* ve *SALMONELLA SPP.*'NİN VARLIĞI

L. Akkaya^{a,*}

Z. Cetinkaya^b

M. Alisarlı^c

R. Telli^d

V. Gök^d

^aAfyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

^bAfyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

^cYüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van, Türkiye

^dAfyon Kocatepe Üniversitesi, Meslek Yüksek Okulu, Afyonkarahisar, Türkiye

Özet : *E. coli* O157/O157:H7, *L. monocytogenes* ve *Salmonella spp.* gıda kaynaklı önemli patojenlerdendir. Yapılan çeşitli çalışmalar *E. coli* O157/O157:H7, *L.monocytogenes* ve *Salmonella spp.*'in başlıca rezervuarının sığırlar olduğunu ortaya koymuştur.. Yapılan bu çalışmanın amacı kesim sonrası sığır karkaslarında *E. coli* O157/O157:H7, *L.monocytogenes* ve *Salmonella spp.* yaygınlığını belirlemektir. Bu çalışmada Afyonkarahisar'da 5 mezbaha 2005 Mart ve Ağustos sürecinde ziyaret edildi. Toplam 250 sığır karkasından her bir karkasın 4 farklı noktasından olmak üzere yüzeysel olarak swablar ile örnek alındı. 250 sığır karkasından alınan örneklerde *E. coli* O157/O157:H7, *L.monocytogenes* ve *Salmonella spp.*'nin varlığı Immuno Magnetic Separation (IMS) metoduyla belirlendi. *E. coli* O157/O157:H7, *L. monocytogenes* ve *Salmonella spp.* yaygınlığı sırasıyla %3.2, %0.8, %6.8, %10 olarak belirlendi. Elde edilen bu oranlar insanlarda görülen *E.coli* O157/O157:H7, *L.monocytogenes* ve *Salmonella spp.* enfeksiyonlarının sığır karkaslarından kaynaklanabileceğini göstermektedir. Mezbahalarda görülen *E. coli* O157/O157:H7, *L.monocytogenes* ve *Salmonella spp.* 'nin yaygınlığı etkili kontrol ölçümlerinin geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Sığır, Karkas, *E. coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*

**THE PREVALENCE OF *ESCHERICHIA COLI* O157/O157:H7, *LISTERIA MONOCYTOGENES* and *SALMONELLA* SPP. on BOVINE CARCASSES in
AFYONKARAHISAR PROVINCE, TURKEY**

L. Akkaya^{a,*}

Z. Cetinkaya^b

M. Alisarli^c

R. Telli^d

V. Gok^d

^a Department of Food Hygiene and Technology, Veterinary Faculty, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

^b Department of Microbiology, Medical Faculty, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

^c Department of Food Hygiene and Technology, Veterinary Faculty, Yüzüncü Yıl University, Van, Turkey

^d Food Technology Programme, Afyon Vocational School, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

Abstract : *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. are important food-borne pathogens. Several studies have demonstrated that cattle are a major reservoir of *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp.. The main purpose of this study was to evaluate the prevalence *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on slaughtered bovine carcasses. In this study, five abattoirs in Afyonkarahisar were visited between March and August in 2005 in the center of Afyonkarahisar Province, Turkey. A total of 250 bovine carcasses were sampled by surface swabbing the carcasses at four points. The presence of *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in samples collected from 250 cattle was determined with the application of the Immuno Magnetic Separation (IMS) method. Overall, the prevalence *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. was 3.2%, 0.8%, 6.8%, 10%, respectively. Our results demonstrate that bovine carcasses can also be a source for *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. infections for humans. The widespread occurrence of *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in slaughterhouses reinforces the need implementation of effective control measures.

Key words : Bovine; Carcasses; *E. coli* O157/O157:H7; *Listeria monocytogenes*; *Salmonella* spp.

**AFYONKARAHİSAR İLİNDEKİ SIĞIR MEZBAHALARININ ÇEVRESİNDE,
EKİPMANLARDA ve İŞÇİLERDE *ESCHERİCHİA COLİ* O157:H7/O157, *LİSTERİA*
MONOCYTOGENES VE *SALMONELLA* SPP.'NİN VARLIĞI**

L. Akkaya^a

Z. Cetinkaya^b

M. Alisarlı^c

R. Kara^a

R. Telli^d

^aAfyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

^bAfyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

^cYüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van, Türkiye

^dAfyon Kocatepe Üniversitesi, Meslek Yüksek Okulu, Afyonkarahisar, TÜRKİYE

Özet : *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. gıda kökenli önemli patojenler olup, bu patojenlerin varlığı çoğu ülkede rapor edilmiştir. Yapılan bu çalışmanın amacı *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. ekipmanlardan, işçilerden ve mezbaha çevresinden etlere bulaşma yollarını araştırmaktır. Yapılan bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinde 5 özel mezbahada, mezbaha çevresinden, mezbaha ekipmanlarından ve mezbahada çalışanlardan 19 farklı noktadan toplam 500 swap örneği alındı. *Escherichia coli* O157:H7/O157, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp' nin varlığı İmmunomanyetik Ayırma Yöntemi (IMS) ile kullanılarak belirlendi. Yapılan bu çalışma 5 mezbahadan alınan swap örneklerinde *Escherichia coli* O157:H7 çevreden,, ekipmandan, mezbaha çalışanlarından ve sudan sırasıyla % 0.31, % 1, % 1.42, ve % 0 oranlarında; *E. coli* O157 % 15, % 10, % 10, ve % 0 oranlarında; *Listeria monocytogenes* % 4.37, % 15, % 5.71, ve % 0 oranlarında; ve *Salmonella* spp. % 3.43, % 16, % 11.42, ve % 0 oranlarında tespit edildi. Çalışma prosedüründe kritik kontrol noktalarında tehlikeli analizleri mezbahalarda daha yüksek kontaminasyonu önlemede etkili olacaktır.

Anahtar kelimeler : Kontaminasyon, Mezbaha, *E. coli* O157/O157:H7; *Listeria monocytogenes*; *Salmonella* spp.

THE PREVALENCE OF *ESCHERICHIA COLI* O157/O157:H7, *LISTERIA MONOCYTOGENES* and *SALMONELLA* SPP. on BOVINE CARCASSES IN AFYONKARAHISAR PROVINCE, TURKEY

L. Akkaya^a

Z. Cetinkaya^b

M. Alisarli^c

R. Kara^a

R. Telli^d

^a Department of Food Hygiene and Technology, Veterinary Faculty, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

^b Department of Microbiology, Medical Faculty, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

^c Department of Food Hygiene and Technology, Veterinary Faculty, Yüzüncü Yıl University, Van, Turkey

^d Food Technology Programme, Afyon Vocational School, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

Abstract : *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. are important food-borne pathogens. Several studies have demonstrated that cattle are a major reservoir of *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp.. The main purpose of this study was to evaluate the prevalence *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on slaughtered bovine carcasses. In this study, five abattoirs in Afyonkarahisar were visited between March and August in 2005 in the center of Afyonkarahisar Province, Turkey. A total of 250 bovine carcasses were sampled by surface swabbing the carcasses at four points. The presence of *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in samples collected from 250 cattle was determined with the application of the Immuno Magnetic Separation (IMS) method. Overall, the prevalence *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. was 3.2%, 0.8%, 6.8%, 10%, respectively. Our results demonstrate that bovine carcasses can also be a source for *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. infections for humans. The widespread occurrence of *Escherichia coli* O157/O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in slaughterhouses reinforces the need implementation of effective control measures.

Key words : Bovine; Carcasses; Abattoir; *E. coli* O157/O157:H7; *Listeria monocytogenes*; *Salmonella* spp.

AFYONKARAHISAR'DA TÜKETİME SUNULAN ÇİĞ SÜT VE PEYNİRLERDE *E. COLI* O157:H7 VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Levent AKKAYA¹

Mustafa ALIŞARLI²

Recep KARA¹

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TÜRKİYE

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van/TÜRKİYE

leventakaya@aku.edu.tr

ÖZET: Bu çalışmada, Afyonkarahisar il merkezinde bulunan çeşitli bakkal ile marketlerden satın alınan 100 adet çiğ süt ve semt pazarlarından satın alınan 100 adet beyaz peynir örneğinde *E. coli* O157:H7 varlığı ve yaygınlığı araştırılmıştır. *E. coli* O157:H7'nin izolasyon ve identifikasyonu'nda İmmuno manyetik separasyon (IMS) metodu ile Amerikan Gıda ve İlaç Dairesinin (Food and Drug Administration/FDA) önerdiği metot kullanılmıştır. Analize alınan 100 adet çiğ süt örneğinden 3'ünde (%3) ve 100 adet peynir örneğinden 1'inde (%1) *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir. Sonuç olarak, çiğ süt ile beyaz peynirlerin *E. coli* O157:H7 ile bulaşmada kaynak olabileceği ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehdit oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

THE PREVALANCE OF *E. COLI* O157:H7 IN MILK AND CHEESE SAMPLES CONSUMED IN AFYON PROVINCE, TURKEY

SUMMARY: The purpose of this study was to identify the presence of *E.coli* O157:H7 and its prevalence in raw milk and white cheese for which 100 units of raw milk were bought from the shops and markets of Afyonkarahisar provincial center and 100 white cheese samples were bought from neighborhood and villages markets. *E. coli* O157:H7 isolation and identification was carried out using the Immunomagnetic separation (IMS) method and the method recommended by the American Food and Drug Administration (FDA). Out of the 100 raw milk samples, 3 (3%) samples and 1 (1%) of the cheese samples out of 100 were identified with having *E. coli* O157:H7. It is concluded that the presence of *E.coli* O157:H7 in raw milk and white cheeses can be a source of contamination and is a potential public health hazard.

GİRİŞ

E. coli O157:H7 insanlarda hemorajik kolit (kanlı diyare), hemolitik üremik sendrom (böbrek yetmezliği) ve trombesitonik purpuraya neden olup, ilk olarak 1982 yılında ABD’de kanamalı kolit ile seyreden iki salgından izole edilip patojen olarak tanımlanmıştır (24). *E. coli* O157:H7 suşlarının Verotoksin 1 ve 2 olarak isimlendirilen 2 şigatoksini ürettiği ve suşların bunlardan birini veya her ikisini birden üretebildiği bildirilmiştir (44). *E. coli* O157:H7 enfeksiyonları ve diğer STEC enfeksiyonları halen 30’dan fazla ülkede görülmekte (37) olup, etkenin minimal enfeksiyon dozu <10 ile <100 gibi çok düşük değerlerdedir (16). Bu enfeksiyon dozu *Salmonella*’ların da içinde bulunduğu diğer gıda kaynaklı patojenlerin sebep olduğu dozlardan çok daha düşüktür (7).

E. coli O157:H7’nin ana kaynağı sığır ve koyunların barsak sistemleridir ve dışkılarda % 0-10 ve genç hayvanlarda ise daha yüksek oranlarda izole edilebilmektedir (16, 22). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda dünyada sığır sürülerinin önemli bir kısmının *E. coli* O157:H7’yi dışkıları vasıtasıyla yaydığı bildirilmiştir (13, 15, 17, 31, 38, 45, 48, 53). *E. coli* O157:H7 salgınlarının çoğunluğu dışkı ile kontamine olmuş hayvan kökenli gıdalardan ve meyve ve sebze ürünlerinden kaynaklanmaktadır (36). Pek çok ülkede kontamine et ve et ürünleri (7, 11, 14, 47, 51, 54), fekal yollarla kirlenen içme suları ile kullanma suları (12, 23, 32), peynirler (10, 21), sütler ve yoğurtlara (39, 49) bağlı enfeksiyonlar meydana geldiği bildirilmiştir.

Türkiye’de süt ve süt ürünlerinde *E. coli* O157:H7’nin varlığını araştıran çok az çalışma yapılmıştır (5, 9, 29). Afyonkarahisar ilinde bu konuda daha önce yapılan çalışmalarda sığır etleri ile kıymalarında, tavuk etlerinde ve sığır dışkılarında *E. coli* O157:H7’nin varlığı belirlenmiş (2, 3, 4), yapılan literatür taramalarında süt ve peynirlerde *E. coli* O157:H7 üzerine bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışmanın amacı, *E. coli* O157:H7’nin bulaşmasında önemli bir vektör olan kontamine süt ve peynirlerin Afyonkarahisar ilindeki prevalansını belirleyerek halk sağlığını tehdit eden bir durum olup olmadığını araştırmaktır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada materyal olarak, Afyonkarahisar il merkezinde bulunan çeşitli bakkal ile marketlerden satın alınan 100 adet çiğ süt ve semt pazarlarından satın alınan 100 adet beyaz peynir örneği analiz edilmiştir. Aseptik koşullarda kasap ve marketlerden temin edilen çiğ süt ve beyaz peynir örnekler soğuk zincir altında (Ice box, 32 l, Selap) laboratuara getirilmiş ve aynı gün içinde analize alınmıştır.

E. coli O157:H7'nin İzolasyon ve İdentifikasyonu

Araştırmada kullanılan İmmuno manyetik separasyon (İMS) yönteminde işlemler üretici firmanın direktifleri doğrultusunda yapılmıştır (Dynal, Norway). Analizi yapılan her bir örnek, steril stomaher torbalarına 25'er gram tartılarak üzerine 225 ml modifiye triptik soya brot (mTSB with novobiocine; Merck, 1.09205) ilave edilip, stomacherde (Bagmixer, İnterscience) 2 dakika süreyle homojenize edilmiş ve 37 °C'de 18 saat aerob koşullarda inkübe edilmiştir.

İnkübasyondan sonra, modifiye triptik soya brot'dan 1'er ml ependorf tüplerine aktarılmış ve *E. coli* O157 bakterilerine karşı spesifik antikor bağlı bulunan manyetik partiküller içeren solüsyondan (Dynabeads anti-*E. coli* O157) 20 µl inoküle edilmiştir. Daha sonra ependorf tüpleri MPC (MPC-S-Dynal) ekipmanına bağlanan tüpler aşağı yukarı birkaç kez çevrilerek oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiş ve 3 dakika Mixerde (MX1-Dynal, 159.07) rotasyonu sağlanmıştır. İşlemi takiben % 0.05 Tween 20 içeren 100 µl phosphate buffered saline (PBS, Sigma) ile 2 kez yıkanmış ve pastör pipeti ile süpernatant ayrılarak, takibinde 100 µl PBS ile tekrar sulandırma işlemi yapılmıştır. Bu işlemi takinen 50 µl inokulum CT-SMAC (Oxoid-CM 813B +SR0172) agara geçilmiş ve takiben petriler 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyonu sonrası renksiz sorbitol negatif şüpheli kolonilerden rastgele 5 koloni seçilerek β-glukoronidaz aktivitesini belirlemek amacıyla 4-metyhlumbelliferyl B-D glucoronide (MUG, Oxoid BR071E) içeren Violet Red Bile Ağar (Oxoid, CM 107)

besiyesine geçilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra üreyen kolonilerin karanlık ortamda UV lambası ile (Camag, 4 W/366 nm) floresans verme özellikleri incelenmiştir. Florasans vermeyen koloniler β -glukoronidaz negatif olarak değerlendirilmiş ve bu koloniler daha sonra *E. coli* O157 latex aglütinasyon testi ile (Oxoid, DR 623 M) ile test edilmiştir. Aglütinasyon testinde pozitif reaksiyon veren izolatların, API 20E (BioMerieux Vitek, Hazel Wood, MO) testi ile *E. coli* oldukları doğrulandıktan sonra, cellobiose (Sigma, C 7252) ve H7 testleri (Denca Seiken, 211057) uygulanmıştır. Sellobioz negatif ve H7 pozitif reaksiyon veren izolatlar *E. coli* O157:H7 olarak değerlendirilmiştir (28).

BULGULAR

Yapılan bu çalışmada, analize alınan 100 adet çiğ süt örneğinden 3'ünde (%3) ve 100 adet peynir örneğinden 1'inde (%1) *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Çiğ Süt ve Beyaz Peynirlerde *E. coli* O157:H7 Varlığı

Örnek Tipi	Örnek Sayısı	<i>E. coli</i> O157:H7	
		n	%
Çiğ Süt	100	3	3
Beyaz Peynir	100	1	1

TARTIşMA ve SONUÇ

Süt çoğunlukla sıcaklık, birbiri ile rekabet eden mikroorganizmalar ve onların metabolik ürünlerine bağlı olarak, başta patojenler olmak üzere belli mikroorganizmalar için mükemmel bir kültür ortamıdır (30). Çiğ süt hamburgerden sonra *E. coli* O157:H7 enfeksiyonuna neden olan ikinci gıda olmuştur. Çiğ süt ile ilk *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu ABD'de 1986 yılında tespit edilmiştir (35). Benzer bir enfeksiyona Kanada'da çiğ süt içilen bir ocuk yuvasındaki çocuklarda rastlanmıştır (25). İskoçya'da *E. coli* O157:H7 ile kontamine pastörize süt 100 kişinin enfeksiyonuna neden olmuştur (49). Bunu yanı sıra peynirler vasıtasıyla da pek çok *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu görölmüştür (21, 31, 34, 47).

Süt ve ürünlerinin *E. coli* O157:H7 enfeksiyonuna neden olduğunun anlaşılmasından sonra pek çok çalışma yapılmıştır. Sütler üzerinde yapılan çalışmalarda; Padhye ve Doyle (42) 115 çiğ süt örneğinden 11 (%10)'ünde; Abdul-Raouf ve ark. (1) 50 adet çiğ süt örneğinden 3'ünde (%6); Wells ve ark. (52), 23 adet çiğ süt örneğinden 1'inde (%4.34); Aslantaş ve Yıldız (9) 100 çiğ süt örneğinden 2 (%2)'sinde; Aksu ve ark. (5) 100 çiğ süt örneğinin 2'sinde (%2) *E. coli* O157:H7'yi izole etmişlerdir. Peynirler üzerinde yapılan çalışmalarda, D' Aubert (20), 95 peynir örneğinden 3'ünde; Gönül (29) 30 peynir örneğinden 1'inde (%3.33); Aslantaş ve Yıldız (9) 100 beyaz peynir örneğinin 1'inde (%1); Aksu ve ark. (5) 50 salamura beyaz peynir örneğinin 1'inde (%2) *E. coli* O157:H7'yi izole etmişlerdir.

Patojen mikroorganizmalar süt içersine memeden direkt bulaşabileceği gibi hayvanın deri ve müköz membranlarından, sağıcılardan, kontamine sağımlarından, böcekler ve kemirgenlerden, kir ve dışkıdan da bulaşabilmektedir (30). Çiğ süttten peynir yapma alışkanlığının devam etmekte olduğu ülkemizde, pek çok işletmenin geleneksel usullerle üretim yapan, hijyen bilgisinden uzak küçük işletme olduğu göz önüne alınır, satış sonrası hizmetlerin de hijyenden uzak koşullarda yapıldığı düşünülürse, üretilen peynirlerin de halk sağlığı açısından ne kadar sakıncalı olduğu ortaya çıkmaktadır (50). Nitekim ülkemizde çiğ sütlerde (6, 26, 27, 33, 46, 55) ve peynirlerde (18, 19, 40, 41, 43) hijyen indeksi mikroorganizmalar üzerinde yapılan araştırmalarda çiğ süt ve peynirlerin mikrobiyolojik açıdan kötü durumda olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada, 3 adet çiğ süt örneğinde (%3) ve 1 adet taze beyaz peynir örneğinde (%1) *E. coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Tablo 1). Çiğ sütlerde bulunan bu değerler, Padhye ve Doyle (42) ile Abdul-Raouf (1)'un bulduğu değerlerden düşük; Wells ve ark. (52) bulduğu değerlere benzer; Aslantaş ve Yıldız (9) ile Aksu ve ark. (5)'nin bulduğu değerlerden yüksek olarak tespit edilmiştir. Peynirlerdeki bulgular açısından bakıldığında ise; D' Aubert (20), Gönül (29), Aslantaş ve Yıldız (9), Aksu ve ark. (5) bulduğu değerlerden düşük; Aslantaş ve Yıldız (9)'ın bulduğu değerlere benzer bulunmuştur. Yapılan araştırmaların sonuçlarında ortaya çıkan bu farklılıkta, sütlerde farklı mikroorganizma prevalansına neden olan tüm sağımlar periyodunu kapsayan değişkenlerin bulunması, çalışmalarda değişik izolasyon metotları kullanılması, mevsimsel değişiklikler, incelenen farklı bölgelerdeki üretimden satışa kadar olan tüm peynir

üretim proseslerinin prevalans değişiklikleri göstermeleri ve yukarıda sayılan pek çok faktör etkili olmuş olabilir.

Yapılan bu araştırma çiğ süt ve beyaz peynirlerin *E. coli* O157:H7 ile bulaşmada önemli bir kaynak olabileceğini göstermiştir. *E. coli* O157:H7'nin çiğ süt ve beyaz peynir örneklerinde düşük prevalans göstermiş olsa bile, minimal enfektif dozu düşük (37), hastalık oluşturma yeteneği ve çapraz kontaminasyon riski yüksek (13), asiditeye karşı tolerans gösteren (8) bu mikroorganizmanın hijyen ve halk sağlığı açısından tehdit edici boyutta olduğu değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak; çiğ sütte ahır hijyeninden başlayarak, özellikle dışkı bulaşmasına karşı özen gösteren, tüm sağım ve sağım sonrası prosesi kapsayıcı; peynir prosesinde de pastörizasyon, çiğ süttten peynir üretimi ve çapraz kontaminasyona özen göstermek başta olmak üzere üretimden satışa kadar olan tüm süreçte tehlike analiz ve kritik kontrol noktaları (hazard analysis and critical control point, HACCP) sistemi uygulanması, uygun teknolojik üretim tekniklerinin (good manufacture practis, GMP) kurallarına uyulması ve bu uygulamanın tüm aşamalarda eksiksiz yapılması halk sağlığı açısından vazgeçilmez önerilerdir.

KAYNAKLAR

1. Abdul-Raouf U M, Ammar M S, Beuchat L R (1996): Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from some Egyptian foods. *Int J Food Microbiol.* 29: 423-426.
2. Akkaya L, Alisharlı M, Atabay H, Kenar B (2005a): The prevalence of verocytotoxigenic *E. coli* O157:H7 in poultry meat sold in Afyon province p123, No: 16, 1st. Int Food and Nutrition Congress, 15-18 June 2005, İstanbul.
3. Akkaya L, Kenar B, Atabay H, Alisharlı M (2005b): The prevalence of verocytotoxigenic *E. coli* O157:H7 in minced meat and ground beef sold in Afyon province P52, 1st. Int Food and Nutrition Congress, 15-18 June 2005, İstanbul.
4. Akkaya L, Kenar B, Cetinkaya Z, Alisharlı M (2005c): The Prevalence of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Faeces from Cattle, in Afyon Province, Turkey (Unpublished Research Data).
5. Aksu H, Arun Ö Ö, Aydın A, Uğur M (1999): *Escherichia coli* O157:H7'nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı, *Pendik Vet Mikrobiyol Derg.* 30(2): 77-81.
6. Alisharlı M, Solmaz H, Akkaya L (2003): Süt ineklerinde meme başı derisinin ve çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesi, Bildiri No: P42, SEYES Süt Endüstrisinde Yeni Eğitilimler Sempozyumu, 22-23 Mayıs 2003, İzmir.
7. Armstrong G L, Hollingsworth J, Morris J G. (1996): Emerging food borne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol Rew.* 18: 29-51

8. **Arnold K W, Kapsar C W (1995):** Starvation-and stationary phase-induced acid tolerance in *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 2037-2039.
9. **Aslantaş Ö, Yıldız P (2002):** Kars yöresinde hayvansal kaynaklı gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu. *Vet Bil Derg.* 18, 1-2, 107-111.
10. **Beser R E, Lett S M, Weber J T, Doyle M P, Baret T S, Wells J G. (1993):** An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *J. Am. Med. Assoc.* 269: 2217-2220.
11. **Boyce T G, Swerdlow D L, Griffin P M (1995):** *Escherichia coli* O157 and the hemolytic-uremic syndrome. *New Engl. J. Med.* 33: 364-368.
12. **Brewster D H, Brown M I, Robertson D, Houghton G L, Brimson J, Sharp J C M (1994):** An outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with a children's paddling pool. *Epidem. Infect.* 112: 441-447.
13. **Burnens A P, Frey A, Lior H, Nicolet J (1995):** Prevalence and significance of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) isolated from cattle in herds with and without calf diarrhea. *Zentr. Veterin. (B).* 42: 311-318.
14. **Carter A O, Borczyk A A, Carlson J A K, Harvey B, Hockin J C, Karmali M A, Kriskna C, Korn D A, Lior H (1987):** A severe outbreak of *Escherichia coli* O157:H7-associated haemorrhagic colitis in a nursing home. *New Engl. J. Med.* 317: 1496-1500.
15. **China B, Pirso V, Mainil J (1998):** Prevalence and molecular typing of attaching and effacing *Escherichia coli* among calf populations in Belgium. *Vet. Microbiol.* 63: 249-259.
16. **Coia, J E (1998):** Clinical, microbiological and epidemiological aspects of *Escherichia coli* O157 infection. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 20: 1-9.
17. **Conedera G, Marangon S, Chapman P A, Zuin A, Caprioli A (1997):** Atypical strains of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in beef cattle at slaughter in Veneto region, Italy. 44: 301-306.
18. **Coşkun H (2000):** Bazı Süt İşletmelerinde Üretilen Beyaz ve Kaşar Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalite Kriterleri Yönünden İncelenmesi, Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, Ed. Demirci M. Rebel Matbaacılık, İstanbul.
19. **Çelik Ş, Özdemir C, Özdemir S, Sert S (1998):** Diyarbakır Yöresinde Tüketime Sunulan Salamura Beyaz Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, Geleneksel Süt Ürünleri, Ed. Demirci M. MPM Yayınları No: 621, Ankara.
20. **D' Aubert S, Cantoni C, Sarti A (1995):** Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in foods of animal origin. *Arch Vet Ital*, 46, 3, 67-72.
21. **Deschenes G, Casenave C, Grimont F, Desenclos J C, Benoit S, Collin M, Baron S, Mariani P, Grimont P A D, Nivet H (1996):** Cluster of cases of haemolytic uremic syndrome due to unpasteurised cheese. *Pediatr Nephrol.* 10(2): 203-205.
22. **Desmarchelier P M, Grau E H (1997):** *Escherichia coli*, p 231-236. In: A.D. Hocking, G., Arnold, L., Jenson, K., Newton, Shuterlan, P. (ed). *Food borne microorganisms of public health significance*. Australian Institute of Food Science and Technology Inc., Sydney, Australia.
23. **Dev V J, Mai M, Gould I (1991) :** Waterborne outbreak of *Escherichia coli* O157. *Lancet*, 337: 1412.
24. **Doyle M P (1991):** *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int J Food Microbiol.* 12 (4):289-301.
25. **Duncan L, Mai V, Carter A, Carlson J A K, Borczyk A, Karmali M A (1987):** Outbreak of gastrointestinal disease, Ontario. *Can. Dis. Weekly Rep.* 13(2): 5-8.
26. **Erdoğan A, Sert S (1988):** Erzurum piyasasında satılan çiğ sütlerin antibiyotik ve mikrobiyolojik yönden incelenmesi, Doğu Anadolu Tarım Kongresi, 1677-1686.

27. Ergüllü E (1982) Çiğ sütlerde koliform grubu bakteri florası üzerinde araştırmalar. Gıda. 7(6):263-266.
28. Food and Drug Administration (2001): In: "Bacteriological Analytical Manual Online", .www.fda.gov.
29. Gönül Ş A (1997): Çiğ süt ve peynir örneklerinde Enterohemorajik *E. coli*'ye (O157:H7) rastlanma sıklığı. *Kökem Derg.* 20(2): 69-73.
30. Heescen W H (1998). "Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar", Çevirenler, Ö Kınık, S Gönç ve S Akalın, Bölüm 7, 97-114, Ege Üniv Zir Fak Yay No:527, İzmir.
31. Heuvelink, A E, Van Den Biggelaar F L, Zwartkruis-Nahuis J, Herbes R G, Huyben R, Nagelgerke N, Mechers W L, Monnens L A, Boer E (1988): Occurance of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 on Dutch dairy farms. *J. Clin. Microbiol.* 36: 3480-3487.
32. Jones I G, Roworth M (1996): An outbreak of *Escherichia coli* O157 and campylobacteriosis with contamination of a drinking water supply, *Pub. Health.* 110: 277-282.
33. Kıvanç M, Kunduhoğlu B, Ayaz B (1992): Eskişehir'de tüketilen çiğ sütlerin bakteriyolojik kalitesinin halk sağlığı açısından incelenmesi, *Gıda.* 17(5):327-333.
34. Kuntz T B Kuntz S T (1999): Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection, *Prim. Care Update Ob/Gyn* 6: 192-196.
35. Martin M L, Shipman L D Wells G J (1986): Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from dairy cattle associated with to cases of hemolytic uremic syndrome, *Lancett ii*, 1043.
36. McClure P (2000): The impact of *E. coli* O157 on the food industry. *World J Microbiol Biotechnol.* 16, 749-755.
37. Mead P S, Griffin P M (1998): *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet.* 352: 1207-1212.
38. Mechie S C, Chapman P A, Siddons C A, (1998): A fifteen month study of *Escherichia coli* O157:H7 in a dairy herd. *Epidem. Infect.* 118: 17-25.
39. Morgan D, Newman C P, Hutchinson, D N, Walker A M, Rowe B, Majid F. (1988): Verotoxin -producing *Escherichia coli* O157 infections associated with the consumption of yogurt. *Epidem. and Infect.* 111: 181-187.
40. Özalp E, Kaymaz Ş ve Akşehirli E. (1978): Erzincan Tulum Peynirlerinde Enterotoksijenik Stafilokok'lar ve Salmonella'lar Yönünden Araştırma, *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 25(11): 56-61
41. Özdemir S, Çelik Ş, Özdemir C ve Sert (1998): Diyarbakır'ın Karacadağ Yöresinde Mahalli Olarak Üretilen Örgü peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri, Geleneksel Süt Ürünleri, Ed. Demirci M, MPM Yayınları No: 621, Mert Matbaası, Ankara.
42. Padhye N V, Doyle M P (1992): *Escherichia coli* O157:H7 epidemiology pathogenesis and methods for detection in food, *J Food Prot.* 55(7): 555-565.
43. Patır B, Arslan A, Güven A (1995): Şavak Salamura Beyaz Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi, *Fırat Üni Vet. Bil. Derg.*, 11(1): 51-56.
44. Robinson R K, Batt C A, Patel P D (2000): Encyclopedia of Food Microbiology, Academic Press, London.
45. Sanz M E, Vians M R, Parma A E (1998): Prevalence of bovine verotoxin-producing *Escherichia coli* in Argentina. *J. Epidemiol.* 14: 399-403.
46. Sezgin E, Bektaş S (1988): Trabzon'da satılan sokak sütlerinin bazı nitelikleri üzerine araştırmalar, *Gıda.* 13(6):181-287
47. Sharp J C M, Coia J E, Curnow J, Reilly W J (1994): *Escherichia coli* O157 infections in Scotland. *J. Med. Microbiol.* 40: 3-9.
48. Sidjabat-Tambunan H, Bensink J C, (1997) Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* from the faeces of sheep, calves and pigs. *Aust. Vet.* 75: 92-293

49. Upon P, Coia J E (1994): Outbreak of *Escherichia coli* O157 infections associated with pasteurized milk supply. *Lancet*, 334: 1015.
50. Ünlütürk A (1998): Süt ve Süt Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar Ve Muhafaza Yöntemleri, Gıda Mikrobiyolojisi, Ed. Ünlütürk A. ve Turantaş F., 298-307, Mengi Tan Basım Evi, İzmir.
51. Watanabe H, Wada A, Inagaki Y (1996): Outbreaks of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 infection by two different genotype strains in Japan 1996. *Lancet*. 348: 831-832.
52. Wells J G, Shipman L D, Greene K D, Sowers E G (1991): Isolation *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga like toxin producing *E. coli* from dairy cattle, *J Clin Microbiol*, 29(5): 985-989.
53. Whipp S C, Rasmussen M A, Cray W C (1994): Animals as a source of *Escherichia coli* pathogenic for human beings. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 204: 1168-1175.
54. WHO. (1997): Prevention and control enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections: Report of a WHO consultation. Geneva.
55. Yalçın H, Gökalp H, Özdemir Y (1991): Çiğ inek sütlerinden izole edilen koliform grubu ve *S. aureus* bakterilerinin tanımlanması. *Gıda*. 16(2): 107-110.

AFYONKARAHİSAR'DA TÜKETİME SUNULAN YOĞURTLARDA AFLATOKSİN M₁ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

L. Akkaya^a

Y.O. Birdane^b

H. Oğuz^c

M. Cemek^d

^aAfyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

^bAfyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

^cSelçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

^dAfyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye

Özet : Aflatoxin M₁ (AFM₁), aflatoxin B₁ (AFB₁) ile kontamine yemler ile beslenen laktasyonda ki ineklerin sütlerinde, önemli derecede var olan AFB₁'in hidrolize olması ile oluşan bir metabolittir. laktasyonda ki ineklerin sütlerinde, önemli derecede var olan AFB₁'in hidrolize olması ile oluşan bir metabolittir. AFB₁ süt sığırları tarafından alınarak sindirim sisteminde biyotransformasyona uğrar ve sütlere AFM₁ olarak geçer ve insan sağlığına zarara neden olur. Süt ürünlerinde özellikle yoğurtlarda AFM₁ içeriği hakkında Türkiye de yapılan çalışmalar yeterli değildir. Yapılan bu çalışmada 104 yoğurt, 21 meyveli yoğurt, 52 süzme yoğurt olmak üzere toplam 177 yoğurt örneği içerisinde AFM₁ analizi yapıldı. AFM₁ varlığı ve seviyeleri ELIZA(RIDASCREEN Aflatoxin M₁, no. R1101) tekniği kullanılarak saptandı. En yüksek AFM₁ miktarı süzme yoğurtlarda 150 ng/kg normal ve meyveli yoğurtlarda 100 ng/kg'dır. AFM₁ kontaminasyonu yoğurt örneklerinde %65.38 (68/104), meyveli yoğurtlarda % 33.33 (7/21) ve süzme yoğurtlarda %55.76 (22/52) oranlarında tespit edildi. Ek olarak, yoğurt örneklerinin %11.53'ü (12/104), meyveli yoğurtların %9.52'si (2/21) ve süzme yoğurtların %20.14'ü (11/52) Türk Gıda Kodeksinin bildirdiği kabul edilebilir AFM₁değerinden (50 ng/kg/yoğurt) yüksek çıktı.

Sonuç olarak, bu çalışmanın bulguları yoğurtlarda AFM₁'in rutin olarak izlenmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler : Aflatoxin M₁ Yoğurt,

OCCURANCE of AFM₁ in YOGURT SAMPLES FROM AFYON, TURKEY

L. Akkaya^a

Y.O. Birdane^b

H. Oğuz^c

M. Cemek^d

^a Department of Food Hygiene and Technology, Veterinary Faculty, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

^b Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

^c Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary, Selçuk University, Konya, Turkey

^d Department of Chemistry (Division Biochemistry), Faculty of Science, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey

Abstract : Aflatoxin AFM₁, a hydroxylated metabolite of aflatoxin B₁ (AFB₁) is an important toxin present in the milk of lactating animals fed with AFB₁ contaminated feeds. The ingestion of AFB₁ by dairy cattle leads to the biotransformation of that substance, which is eliminated via milk as aflatoxin M₁ (AFM₁), and also causes damage to human health. There is not enough study in Turkey about AFM₁ content of dairy products especially yogurt the present study aimed to analyze the presence of AFM₁ in a total of 177 yogurt samples consisting 104 yogurts, 21 fruity yogurts and 52 filtrated yogurts. The competitive ELISA (RIDASCREEN Aflatoxin M₁, no. R1101) was used to determine the presence and levels of AFM₁. The highest AFM₁ concentration was 150 ng/kg in stirred yogurt, 100 ng/kg in ordinary yogurt as well as in fruity yogurt. The incidence of AFM₁ contamination in yogurt samples were 65.38% (68/104) of all ordinary yogurt samples, 33.33% (7/21) of all fruity yogurt samples and 55.76% (22/52) of all stirred yogurt samples contained AFM₁. In addition, 11.53% of ordinary yogurt (12/104), 9.52% of fruity yogurt (2/21) and 20.14% of stirred yogurt (11/52) have higher AFM₁ levels than the acceptable levels of the Turkish Food Codex (50 ng/kg for yogurt).

In conclusion, the results of this study imply that more emphasis should be given to the routine AFM₁ inspection of yogurts.

Key words : Aflatoxin M₁, Yogurt.

ANTAKYA'DA TÜKETİLEN SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE LİSTERİA'LARIN BULUNUŞU¹

Osman Aygün

Sevda Pehlivanlar

M. K. Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 31034 - HATAY, E- posta: osmanaygun32@hotmail.com; sevdapehlivanlar@hotmail.com

Özet: Bu çalışmada Antakya'da satışa sunulan çiğ süt ve süt ürünlerinden (beyaz peynir, tereyağı, yoğurt) oluşan toplam 157 adet numunede *Listeria*'ların varlığı araştırılmıştır. *Listeria*'ların prevalansı çiğ süt örneklerinde %2.12, beyaz peynir örneklerinde ise %8.23 olarak saptanmıştır. Analiz edilen çiğ süt ve süt ürünleri içerisinde sadece iki peynir örneğinde (%2.35) *Listeria monocytogenes* saptanmıştır. Yoğurt ve tereyağı örneklerinde ise *Listeria*'lara rastlanmamıştır.

LISTERIA SPP. IN THE RAW MILK AND DAIRY PRODUCTS CONSUMED IN ANTAKYA, TURKEY¹

Abstract: In this study, the presence of *Listeria* spp. was investigated in a total of 157 raw milk and dairy product samples sold in Antakya. The prevalence of *Listeria* spp. in raw milk and Turkish White cheese samples was found to be 2.12% and 8.23%, respectively. *Listeria monocytogenes* was not isolated from raw milk and found in only two cheese samples (2.35%). No *Listeria* spp. were isolated in any of the butter and yoghurt samples.

¹ Bu çalışma, Mustafa Kemal Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 01 G 0201)

GİRİŞ

Listeria spp., genel olarak doğada (toprak, bitki, hayvan yemleri, su ve/veya lağım suları, fekal materyal) ve kontamine et, süt ve balık ürünleri ile bitkisel ürünlerde çok yaygın olarak bulunmaktadır (3, 12).

Listeriosis'in, insanlarda genellikle *Listeria monocytogenes*'in gıdalarla alınmasıyla ortaya çıktığı ve mortalite oranının da %20'den yüksek olduğu bildirilmektedir (3, 12). Türkiye'de 1987 - 2001 yılları arasında görülen listeriosis vakalarının 32 olduğu, mortalite oranının ise %33 düzeyinde olduğu rapor edilmiştir (6). Türk Gıda Kodeksi'ne göre, süt ürünlerinin 25 g'ında *L. monocytogenes*'in bulunmaması gerekmektedir (1).

Bu çalışmanın amacı, Antakya'da satışa sunulan çiğ süt ve süt ürünlerinde *Listeria* varlığını araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma kapsamında Antakya piyasasında toplanan 47 çiğ süt, 85 pastörize süttten üretilmiş ve olgunlaştırılmış beyaz peynir, 15 yoğurt ve 10 tereyağından oluşan toplam 157 adet süt ve süt ürünü örneği analiz edildi. Yoğurt ve tereyağı örnekleri pastörize süttten üretilmiş olup açık olarak satılan ürünlerden alındı.

Listeria'ların izolasyonu ve identifikasyonu, Hitchins'in (10) bildirdiği metoda göre yapıldı. Bunun için her örnekten 25 g ve/veya ml alındı, 225 ml Modified *Listeria* Enrichment Broth (Merck) ilave edilerek Stomacher (Interscience, France) ile 2-4 dk homojenize edildi ve 30 °C'de 48 saat inkube edildi. Bu homojenattan Modified Oxford Agar'a (Merck) çizme plak yöntemiyle ekildi ve 35 °C'de 48 saat inkube edildi. Kahverengimsi yeşil ve/veya siyah hale ile çevrilmiş tipik koloniler *Listeria* şüpheli olarak değerlendirildi. Bu kolonilerden 5 tanesi alınarak %0.6 Yeast Extract (Oxoid) ilave edilmiş Tryptic Soy Agar'a (Oxoid) ekim yapıldı ve 30 °C'de 24-48 saat inkube edildi. Üreyen kolonilere gram boyama, SIM medium'da (Merck) motilite, katalaz,

oksidaz, β -hemoliz, mannitol, ramnoz, ksiloz, salisin, dulsit, Methyl-Red, Voges-Proskauer, nitrat redüksiyonu ve CAMP testi uygulandı.

BULGULAR

Bu çalışmada elde edilen bulgular Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1
Çiğ süt ve süt ürünlerinin *Listeria* spp. ile kontaminasyonu

		Çiğ süt	Beyaz peynir	Tereyağı	Yoğurt	Toplam
Örnek sayısı (n)		47	85	10	15	157
<i>Listeria</i> spp.	n	1	7	N*	N*	8
	%	2.12	8.23			5.09
<i>L. monocytogenes</i>	n	-	2	-	-	2
	%		2.35			1.27
<i>L. ivanovii</i>	n	1	3	-	-	4
	%	2.12	3.52			2.54
<i>L. innocua</i>	n	-	3	-	-	3
	%		3.52			1.91
<i>L. seeligeri</i>	n	-	2	-	-	2
	%		2.35			1.27
<i>L. grayi</i>	n	1	-	-	-	1
	%	2.12				0.63

*: *Listeria* negatif

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sağun ve ark. (15) tarafından Van'da yapılan çalışmada 250 çiğ süt örneğinin %2.40'ı *Listeria* spp. bakımından pozitif bulunmuştur. Bu sonuç, bizim elde ettiğimiz sonuçla (%2.12) paralellik göstermektedir. Ancak, bizim elde ettiğimiz sonucun (%0) aksine, Van'da yapılan çalışmada çiğ süt örneklerinin %1.20'sinin *L. monocytogenes* ile kontamine oldukları belirlenmiştir (15). Soyutemiz ve ark. (16), 100 çiğ süt örneğinden sadece 3'ünde (%3) *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir. Erol ve Şireli (7) ise 80 çiğ süt örneğinin 8'inde (%10) *Listeria* spp. ikisinde (%2.5) ise *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir. Çiğ sütlerde bulunan *Listeria*'ların, fekal kontaminasyondan (8), sağım, depolama ve nakil ortamlarının kontaminasyonundan, süt çiftliklerinde bulunan enfekte

hayvanlardan ve kalitesiz silajlardan kaynaklandığı belirtilmektedir (3). Antakya'da üretilen çiğ sütlerin muhtemelen sağım, depolama ve nakil sırasında yetersiz hijyenik koşullardan dolayı *Listeria* spp. ile kontamine olduğu söylenebilir.

Bu çalışmada, *Listeria*'larla kontamine olan peynir örneği oranının (%8.23), Çeçil peynirleri (9) için bulunan sonuçla (%7.5) benzerlik gösterdiği, olgunlaştırılmış beyaz peynirlerin sonucundan (%0) yüksek, olgunlaştırılmamış beyaz peynirlerin kontaminasyon oranından (%15) ise düşük olduğu saptanmıştır. Sağun ve ark.'nın (15) yaptıkları çalışmada, Van otlı peynirlerinin %5.11'inin *Listeria* spp. ile kontamine olduğu saptanmıştır. Bu oran ise, bu çalışmada saptanan değerden (%8.23) biraz düşük olduğu tespit edilmiştir. Gülmez ve Güven (9), olgunlaştırılmamış beyaz peynirlerde ve Çeçil peynirlerinde *L. monocytogenes*'in prevalansını da sırasıyla %5 ve %2.5 olarak saptamışlardır. Van otlı peynirlerinin ise %3.93'ünde *L. monocytogenes*'e rastlandığı bildirilmiştir (15). Antakya'da yaptığımız bu çalışmada ise beyaz peynir örneklerinin sadece 2'sinde (%2.35) *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Peynirlerin, *Listeria* spp. ile genellikle olgunlaşma sırasında (14) olmak üzere üretim esnasında veya sonraki aşamalarda kontamine olduğu, aynı zamanda mandıralarda veya satış esnasında çapraz kontaminasyonlara maruz kaldığı (14, 15) belirtilmektedir. Ayrıca *L. monocytogenes*'in, peynir yapım aşamasında ve sonunda uzun süre yaşayabildiği rapor edilmektedir (8). Bu çalışmada, çiğ süt örneklerine göre daha fazla peynir örneğinin *Listeria* spp. ile kontamine olması, peynirlerin üretim sırasında ve/veya sonrasında kontamine olmasına veya çapraz kontaminasyonlara bağlanabilir.

Bu çalışmada analiz edilen yoğurt ve tereyağı örneklerinde *Listeria* türlerine rastlanmamıştır. Yoğurt örneklerinde elde ettiğimiz bu sonuç, McLauchlin ve ark. (11) ile Pak ve ark.'nın (14) yaptıkları çalışmalarda saptadıkları sonuçlarla uyumluluk göstermektedir. Erol ve Şireli (7), pastörize edilmemiş 40 tereyağı örneğinin %15'inde *Listeria* spp., %5'inde ise *L. monocytogenes* tespit etmişlerdir. Olsen ve ark. (13), *L. monocytogenes*'in 4 °C ve 13 °C'lerde %1.2 tuz içeren tereyağında üreme yeteneğinde olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda, Finlandiya'da *L. monocytogenes*'le kontamine tereyağının tüketilmesi sonucu listeriosis vakalarının ortaya çıktığı da rapor edilmiştir (12). *L. monocytogenes*'in yoğurtta yaşayabilmesinin ise asiditeye bağlı olduğu, pH'nın

3.5'a düştüğü durumlarda mikroorganizmanın canlılığını yitirdiği bildirilmiştir (5). Ayrıca laktik asit bakterileri tarafından salgılanan bakteriyosinlerin de mikroorganizmanın yoğurt ve peynirdeki sayısında bir düşüşe yol açtığı bildirilmektedir (2, 4). Bu çalışmamızda yoğurt ve tereyağı örneklerinde *Listeria*'ların bulunmaması, örneklerin asiditesi ile ilgili olabilir.

L. monocytogenes'in çiğ süt örneklerinde bulunmamasından ve peynirde ise çok düşük düzeyde bulunmasından dolayı, süt ürünlerinin Antakya'da tüketici sağlığı üzerinde Listeriosis bakımından ciddi bir risk taşımadığı söylenebilir. Ancak, *Listeria* türlerinin çiftliklerde ve gıda işletmelerinde her zaman bulunabileceği ve enfeksiyonun mortalitesinin yüksek olduğu göz önüne alındığında, süt ve süt ürünlerinin bu mikroorganizma ile kolaylıkla kontamine olabileceği gözardı edilmemelidir. Bundan dolayı, süt ve süt ürünlerinde *L. monocytogenes* kontaminasyonunun en aza indirilmesi için bu ürünlerin üretiminden tüketimine kadar hijyenik koşulların sağlanması veya HACCP kurallarına uyulması gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Anonim, (2001). Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği Resmi Gazete, 02.09.2001 / 24511, Tebliğ No: 2001-19.
2. Arques, J. L., Rodriguez, E., Gaya, P., Medina, M., Nunez, M. (2005). Effect of combinations of high-pressure treatment and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on the survival of *Listeria monocytogenes* in raw milk cheese. *Int Dairy J.*, 2005, 15, 893-900.
3. 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. *Prevent. Vet. Med.*, 37, 129-145.
4. Benkerroum, N., Oubel, H., Sandine, W. E. (2003). Effect of nisin on yogurt starter, and on growth and survival of *Listeria monocytogenes* during fermentation and storage of yogurt. *Internet J. Food Safety*, 1, 1-5.
5. Cottin, J., Picard-Bonnaud, F., Carbonnelle, B. (1990). Study of *Listeria monocytogenes* survival during the preparation and the conservation of two kinds of dairy product. *Acta Microbiol. Hung.*, 37 (1), 119-122.
6. Doganay, M. (2003). Listeriosis: clinical presentation. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 35, 173-175.
7. Erol, İ., Şireli, U. T. (2002). Occurrence and contamination levels of *Listeria* spp. in milk and dairy products in Ankara. *FEMS Symposium on the Versatility of Listeria Species*. Izmir, Turkey, October 10-11, 2002.
8. Griffiths, M. W. 1989; *Listeria monocytogenes*: Its importance in dairy industry. *J. Sci. Food Agric.*, 47, 133-158.
9. Gülmez, M., Güven, A. (2001). Beyaz ve Çeçil Peynirlerinde *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria* türlerinin araştırılması. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 7(2), 155-161.
10. Hitchins, A. D. (1992) *Listeria monocytogenes*, Chapter 10. In: *FDA Bacteriological Analytical Manual*, 7th ed. AOAC Int., Arlington VA, p. 148.
11. McLauchlin, J., Greenwood, M. H., Pini, P. N. (1990). The occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese from a manufacturer associated with a case of listeriosis. *Int. J. Food Microbiol.*, 10(3-4), 255-262.

12. McLauchlin, J., Mitchell, R.T., Smerdon, W.J., Jewell, K. (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. Int. J. Food Microbiol., 92, 15-33.
13. Olsen, J.A., Yousef, A.E., Marth, E.H. (1988). Growth and survival of *Listeria monocytogenes* during making and storage of butter. Milchwiss., 43, 487-489.
14. Pak, S. I., Spahr, U., Jemmi, T., Salman, M. D. (2002). Risk factors for *L. monocytogenes* contamination of dairy products in Switzerland, 1990-1999. Prevent. Vet. Med., 53(1-2), 55-65.
15. Sağun, E., Sancak, Y. C., İsleyici, O., Ekici, K. (2001). Van ve çevresi süt ve otlu peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 25, 15-19.
16. Soyutemiz, E., Çetinkaya, F., Özakin, C., Gedikoğlu, S. (2001). Batı Anadolu Bölgesi çiğ sütlerinde *Listeria monocytogenes*'in Araştırılması. Enfeksiyon Dergisi, 15 (1), 5-9.

BAĞIRSAK SİROKETOSİSİ VE GIDA HİJYENİ AÇISINDAN ÖNEMİ

Sine ÖZMEN TOĞAY

Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendiliği Bölümü

Beytepe ANKARA E-mail: sinevet@hacettepe.edu.tr

Özet: Bağırsak spiroketosisi, Gram-negatif bakterilerden *Brachyspira aalborgi* ve *B. pilosicoli*'nin neden olduğu insan ve hayvanlarda görülen kolon yangısıdır. Spiroketal tutunma ve bağırsak epitel hücrelerinin hasarıyla karakterize olan hastalıkta kronik ishal, rektal kanama ve karın krampları gibi semptomlar görülmektedir.

B. pilosicoli insanlar ve çeşitli hayvanlarda, *B. aalborgi* ise sadece insan ve maymunlarda hastalığa neden olmaktadır. İnsanlarda görülen bağırsak spiroketosisi gelişmekte olan ülkelerde yaygın olmakla beraber endüstrilemiş ülkelerde de bağırsak sistemi baskılanmış ve/veya yoksul bireylerde görülebilmektedir. Domuz ve tavuklarda görülen bağırsak spiroketosisi ishale, yemden zayıf yararlanıma ve yavru veriminde azalmalara neden olduğundan hayvan yetiştiriciliğinde büyük ekonomik öneme sahiptir. Kanatlılarda bağırsak spiroketosisinin yaygınlığı ve dolayısıyla da ekonomik kayıplar tam olarak fark edilememektedir.

İnsanlardan izole edilen *B. pilosicoli* suşlarının morfolojik, biyokimyasal ve genetik karakteristikleri hayvanlardan izole edilen *B. pilosicoli* suşlarıyla benzerlik göstermektedir.

B. pilosicoli'nin hayvanlardan insanlara bulaşabilme özelliğinden dolayı zoonoz olarak değerlendirilmektedir. *B. pilosicoli*'nin insanlara bulaşmasında enfekte hayvanlar ve bunların dışkılarıyla temas önemli bir kaynak olabilmektedir. Bulaşmada ayrıca enfekte hayvan etlerinin işlenmesi, tüketimi, insandan insana temas da önemli yer tutmaktadır. İşlenmemiş hayvan dışkısının gübre olarak kullanıldığı ya da dışkıyla kontamine olmuş suyla sulanan topraklarda yetişen ürünler de enfeksiyon kaynakları olarak belirtilmektedir. *B. aalborgi*'nin insana bulaşısı ise enfekte bireyler tarafından işlenen gıdaların tüketimi ya da insandan insana temas yoluyla olmaktadır.

B. aalborgi ve *B. pilosicoli*'nin kültürel yöntemlerle izolasyon ve tanımlanması güç ve zaman alıcı olduğundan, PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) gibi moleküler biyolojik tekniklerin kullanılması tercih edilmektedir. *B. pilosicoli* suşları arasındaki benzerlik ise MLEE (Multilokus enzim elektroforesi) tekniği kullanılarak belirlenebilmektedir.

B. aalborgi ve *B. pilosicoli*'nin gıda, çevre ve konakçıda canlı kalış oranları, stress faktörlerine verdiği yanıt, toksin oluşturup oluşturmadığı, konakçının enfeksiyona karşı oluşturduğu immün yanıt gibi konuların araştırılmasına gereksinim duyulmaktadır.

Bu zoonozların hüresel ve genetik yapıları ile insan-hayvan-çevre-gıda ilişkisindeki rolleri hakkında daha fazla bilgi edinilmesiyle yukarıdaki soruların yanıt bulabileceği ve insan ve hayvanlardaki enfeksiyon risklerinin azaltılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *B. aalborgi*, *B. pilosicoli*, spiroketosis, gıda, hijyen.

INTESTINAL SPIROCHETOSIS AND ITS IMPORTANCE IN FOOD HYGIENE

Abstract: Intestinal spirochetosis is an inflammation of colon in humans and animals caused by Gram-negative *Brachyspira aalborgi* and *Brachyspira pilosicoli*. It is characterized by spirochetal attachment and damage to intestinal epithelial cells. Disease is characterized by spirochetal attachment and intestinal epithelial cell damage. Chronic diarrhea, rectal bleeding and stomach cramps are the typical symptoms.

B. pilosicoli causes disease in humans and animals whereas *B. aalborgi* only in humans and higher primates. Human intestinal spirochetosis is common in developing countries and immunocompromised and/or indigent individuals in industrialized countries. Intestinal spirochetosis in pigs and chickens can cause diarrhea, poor feed conversion and reduced productivity. Prevalence and economic importance of intestinal spirochetosis has not recognized in poultry industry.

Morphological, biochemical and genotypic characteristics of *B. pilosicoli* stains isolated from humans are similar to those isolated from animals.

B. pilosicoli is evaluated as a zoonotic agent can be transmitted from animals to humans. Contact with infected animals and their manure might be an important source of transmission of *B. pilosicoli* to humans. Handling or ingesting meat from infected animals, person-to-person contact, raw vegetables fertilized with untreated animal manure or irrigated with fecally contaminated water may be infection source. Humans become contaminated by *B. aalborgi* from foods handled by an infected individual or by person-to-person contact.

Isolation, identification and strain similarity of *B. aalborgi* and *B. pilosicoli* can be determined the molecular techniques such as PCR and MLEE (Multilocus enzyme electrophoresis).

It is necessary to investigate survival rates of *B. aalborgi* and *B. pilosicoli* in foods, environment, animal and human, and their response to various stress, production ability of toxins and the host's immune response.

Obtaining knowledge on cellular and genetic structures of these bacteria and their roles in human-animal-environment-food contamination chain would help answering above questions and reducing the infection risks in hosts.

Key words: *B. aalborgi*, *B. pilosicoli*, spirochetosis, food, hygiene.

GİRİŞ

Bağırsak spiroketosisi, insan ve hayvanlarda görülen, spiroketal tutunma ve bağırsak epitel hücrelerinin hasarıyla karakterize, kronik ishal, rektal kanama ve karın krampları gibi semptomlarla seyreden kolon yangısıdır (6).

Spiroketlerin kolon epiteline yoğun etkileri sonucunda ishal oluşmaktadır. Ancak bazen herhangi bir semptom görülmeden de insanlarda bağırsak spiroketosisi oluşabilmektedir (3). İnsanlarda ilk olarak 1800'lü yılların sonunda belirlenen bağırsak spiroketosisinin hastalık oluşturma kapasitesi halen tam olarak anlaşılmış değildir (1).

Hastalığa Gram-negatif bakterilerden *Brachyspira aalborgi* veya *B. pilosicoli* neden olmaktadır. *B. pilosicoli* insanlar ve çeşitli hayvanlarda, *B. aalborgi* ise sadece insan ve maymunlarda hastalık oluşturmaktadır (6).

MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL KARAKTERİSTİĞİ

Spiroketler üç filogenetik gruba ayrılmaktadır. *Spirochaetaceae* familyası içinde *Borrelia*, *Spirochaeta*, *Spironema*, *Treponema*; *Leptospiraceae* familyası içinde *Leptonema* ve *Leptospira* ve *Brachyspiraceae* familyası içinde de *Brachyspira* (*Serpulina*) yer almaktadır (1).

Brachyspira aalborgi ve *B. pilosicoli* tek hücreli, Gram-negatif, hareketli, her bir uca 4-6 perioplazmik flagellaya sahip, heliks yapısında bakterilerdir. Kanlı Trypticase soy agarda 38 °C'de anaerobik koşullarda (% 95 H₂ ve %5 CO₂) üreyebilmekte ancak aerotolerant özellik de göstermektedirler. Zayıf β-hemolitik, indol negatif, eskulin pozitif özelliktedir. Fruktoz, galaktoz, glukoz, laktoz, maltoz ve mannozu fermente edebilmektedirler. β-galaktozidaz ve eser miktarlarda esteraz, asit fosfataz, fosfoamidaz enzimlerine sahiptirler (3, 6).

B. aalborgi ve *B. pilosicoli* üretimleri güç, anaerob bakterilerdir. İnkübasyon süreleri yaklaşık olarak *B. pilosicoli* için 6 gün, *B. aalborgi* için ise 2 haftaya kadar çıkabilmektedir. *B. aalborgi*'nin yapay besiyerlerinde geliştirilmesinin oldukça güç olduğu belirtilmektedir (1).

İNSANLARDA BAĞIRSAK SİROKETOSİSİ

İnsanlardaki bağırsak spiroketosisi gelişmekte olan ülkelerde yaygın olmakla beraber gelişmiş ülkelerde de bağışıklık sistemi baskılanmış ve/veya yoksul bireylerde görülebilmektedir. Gelişmiş ülkelerde bağırsak spiroketosisi yüksek oranda homoseksüel erkeklerde ve HIV (Human Immunodeficiency Virus) ile enfekte bireylerde görülmektedir. Bunun yanı sıra diğer yetişkinlerde ve çocuklarda da hastalığa rastlandığı belirtilmektedir (1, 6).

Gelişmiş ülkelerde *B. aalborgi* yaygın olarak, *B. pilosicoli* ise daha az oranda insan bağırsak spiroketosisine neden olmaktadır. *Brachyspira* enfeksiyonlarında en önemli risk faktörünün *B. aalborgi* ya da *B. pilosicoli* ile enfekte aile bireyleri ile temas olduğu belirtilmektedir (6).

B. aalborgi, insan dışkısında oda sıcaklığında ve anaerobik koşullarda 3 aydan daha fazla canlı kalabilmektedir. Bu yüzden *B. aalborgi* ya da *B. pilosicoli* içeren dışkı ile kontamine olmuş çevrenin insanlar için enfeksiyon kaynağı olabileceği belirtilmektedir (6).

B. aalborgi ya da *B. pilosicoli* enfeksiyonlarının çoğu sadece bakterinin dışkı ile atılması şeklinde görülmekte ve asemptomatik seyretmektedir. Kronik ishal, rektal kanama, şişkinlik, karın krampları, kolit ve kabızlık hastalığının tipik semptomlarıdır (6).

B. pilosicoli'nin hayvanlardan insanlara bulaşabilme özelliğinden dolayı zoonoz olarak değerlendirilmektedir. *B. pilosicoli*'nin insanlara bulaşmasında enfekte hayvanlar ve bunların dışkılarıyla temas önemli bir kaynak olabilmektedir. Bulaşmada ayrıca enfekte

hayvan etlerinin işlenmesi, tüketimi, insandan insana temas da önemli yer tutmaktadır. İşlenmemiş hayvan dışkısının gübre olarak kullanıldığı ya da dışkıyla kontamine olmuş suyla sulanan topraklarda yetişen ürünler de enfeksiyon kaynakları olarak belirtilmektedir. *B. aalborgi*'nin insana bulaşısı ise enfekte bireyler tarafından işlenen gıdaların tüketimi ya da insandan insana temas yoluyla olmaktadır (6).

HAYVANLARDA BAĞIRSAK SPIROKETOSİSİ

Hayvanlardaki bağırsak spiroketosisi domuz, tavuk, köpek, yabani kanatlılarda, kemirgenlerde ve maymunlarda görülmektedir. Domuz ve tavuklarda görülen bağırsak spiroketosisi ishale, yemden zayıf yararlanıma ve yavru veriminde azalmalara neden olduğundan hayvan yetiştiriciliğinde büyük ekonomik öneme sahiptir.

İnsanlardan izole edilen *B. pilosicoli* suşlarının morfolojik, biyokimyasal ve genetik karakteristikleri hayvanlardan izole edilen *B. pilosicoli* suşlarıyla benzerlik göstermektedir.

Domuzlardaki bağırsak spiroketosisi, *B. pilosicoli* tarafından oluşturulan ve düşük mortalite ile seyreden ishale karakterize bir hastalıktır. Hastalık, taşıyıcı domuzlardan etkenin dışkı ile atılması ve dışkı-ağız yoluyla enfekte olmamış domuzlarca alınması yoluyla taşınmaktadır. Domuzların bakımında kullanılan alet ve ekipmanların, bakıcı kıyafetlerinin, ağılın, yemlerin ve suların kontamine olması hastalık riskini arttırmaktadır. Diğer olası kontaminasyon kaynakları ise köpek, kanatlı, ve insan dışkısıdır. Yapılan çalışmalarda *B. pilosicoli*'nin insan suşunun deneysel olarak domuzlarda hastalık oluşturabildiği belirlenmiş bu yüzden de insanlardan domuzlara çapraz enfeksiyonun mümkün olduğu belirtilmiştir (6).

Tavuklardaki bağırsak spiroketosisi yumurta veriminde düşüş, kronik ishalin neden olduğu ıslak altlık oluşumu ve yumurtaların dışkı ile bulaşısı, yemden yararlanımda azalma, büyümede yavaşlama gibi belirtilerle karakterizedir. Bu nedenlerle bağırsak spiroketosisi kanatlı endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Kanatlılarda bağırsak spiroketosisi yaygın olmakla beraber hastalığın yaygınlığı ve ekonomik önemi tam olarak fark edilmemektedir.

Spiroket taşımayan yumurta tavuklarına *B. pilosicoli*'nin insan suşunun inokule edilmesiyle yapılan bir çalışmada deney grubunun kontrol grubundan vücut ve yumurta ağırlığı, yumurta üretim miktarı bakımından hiç bir farkının olmadığı ancak deney grubunun aşırı miktarda sulu dışkı oluşturduğu belirlenmiştir (4). Sulu dışkı ve ıslak altlık kanatlı endüstrisinde yumurta kabuğunun dışkı ile bulaşısı, kümeslerin temizliğinde zorluklar, kötü koku oluşumu gibi sorunlara neden olmaktadır. Ayrıca sulu dışkı çalışanların kıyafet ve çizmeleri yoluyla diğer kümeslere de etkenin taşınmasında büyük rol oynamaktadır (6).

On haftalıktan daha genç kanatlıların dışkı örneklerinden kültürel yöntemlerle spiroket varlığı belirlenemediği, enfeksiyonun prevalansının yaşla arttığı tespit edilmiştir (7).

B. pilosicoli'nin tavuklardan izole edilen suşunun yaygın olarak kullanılan dezenfektanlarla (alkali tuzlar, kuarterner amonyum bileşikler, hidrojen peroksit vb.) çok çabuk inaktive olabildiği belirtilmektedir. Ayrıca bu bakterinin tavuk dışkılarındaki canlı kalma süresi, domuzlardan izole edilen suşlara göre oldukça kısadır. Etkenin maksimum canlı kalma süresi 4 °C'de 72-84 saattir. Uygun dezenfektanlar kullanılarak kanatlı sektöründe *B. pilosicoli*'nin inaktivasyonunun mümkün olduğu belirtilmektedir (5).

Yaban ördeği, keklik, sülün gibi av kuşları ve yabani su kuşlarının dışkı örneklerinden de *B. pilosicoli* izole edilmiştir. Kanatlı ve domuz çiftliklerinin yakınlarında yaşayan yabani kanatlılar *B. pilosicoli*'nin çiftlik hayvanlarına taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Çeşitli su kaynakları ve göl suları su kuşları aracılığı ile *B. pilosicoli* ile kontamine olabilmektedir. *B. pilosicoli*, bu bakteri ile enfekte av kuşlarının avlanması, iç organlarının çıkartılması ve pişirilmesi sırasında insanlara bulaşabilmektedir (6).

B. pilosicoli ile enfekte olmuş evcil köpekler, özellikle yavru olanlar bakterinin insanlara, özellikle de küçük çocuklara ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireylere bulaşmasında büyük risk oluşturmaktadır. Köpeklerin bakteriyi insanlara ve diğer hayvanlara bulaştırma potansiyelinden dolayı *B. pilosicoli*'nin rezervuarı olabileceği belirtilmektedir (6).

Deneyssel olarak bu bakteri ile enfekte edilen farelerin semptom göstermediği halde bağırsak dokusunun histolojik incelemesinde etken bakteri ve doku hasarı teşhis edilmiş ve dolayısıyla farelerin *B. pilosicoli*'nin rezervuarı olabileceği belirtilmiştir (6).

İZOLASYON VE TANIMLAMA YÖNTEMLERİ

İnsan bağırsak spiroketosisinin teşhisi bağırsak dokusu biyopsi materyalinin hematoxilen-eozin ile boyanarak histolojik incelemesi sonucu bağırsak epiteline tutunmuş spiroketlerin görülmesi ve biyopsi dokusunun ve dışkı içeriğinin kültürasyonu şeklinde yapılmaktadır (1, 6).

B. aalborgi, *B. pilosicoli*'ye kıyasla daha yavaş üreyen ve izolasyonu zor olan bir bakteridir. *B. aalborgi* ve *B. pilosicoli*'nin izolasyonu için bazı agarlı besiyerleri önerilmektedir. Koyun ya da sığır kanı içeren, spektinomisin ve diğer antibiyotiklerin ilavesi ile hazırlanan agarlı besiyerleri (Trypticase soy agar, Brain heart infusion agar, Tryptose soy agar vb.) anaerobik koşullarda (% 94 N₂ (ya da H₂) ve % 6 CO₂) 37 °C'de 21-24 gün inkübasyon uygulanarak spiroketlerin izolasyonunda kullanılabilir. (2, 6).

B. aalborgi ve *B. pilosicoli*'nin direkt teşhisinde ya da doğrulanmasında PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu), floresans hibridizasyon tekniklerinden ve elektron mikroskobu gibi araçlardan da yararlanılmaktadır. *B. pilosicoli* suşları arasındaki benzerlik ise MLEE (Multilokus enzim elektroforezi) tekniği kullanılarak belirlenebilmektedir (2, 6).

SONUÇ

B. pilosicoli ve *B. aalborgi* insanlarda ve ekonomik önemi olan hayvanlarda bağırsak spiroketosisine neden olmaktadır. *B. pilosicoli*'nin zoonoz karakterde, *B. aalborgi*'nin ise insan ve maymunlar için patojen olduğu belirtilmektedir.

B. pilosicoli'nin insanlara bulaşmasında enfekte hayvanlar ve bunların dışkılarıyla temas, enfekte hayvan etlerinin işlenmesi, tüketimi, insandan insana temas, işlenmemiş hayvan

dışkısının gübre olarak kullanıldığı ya da dışkıyla kontamine olmuş suyla sulanan topraklarda yetişen ürünler önemli rol oynamakta. *B. aalborgi*'nin insana bulaşısı ise enfekte bireyler tarafından işlenen gıdaların tüketimi ya da insandan insana temas yoluyla olmaktadır. Ayrıca enfekte olmuş köpeklerin ve kemirgenlerin de bu bakterinin rezervuarı olabileceği dikkate alındığında bu bakterilerin insan ve hayvan sağlığı açısından önemi daha iyi anlaşılabilecektir.

Araştırmalarda; *B. aalborgi* ve *B. pilosicoli*'nin gıda, çevre ve konakçıda canlı kalış oranları, stress faktörlerine verdiği yanıt, toksin oluşturup oluşturmadığı, konakçının enfeksiyona karşı oluşturduğu immun yanıt gibi konuların daha kapsamlı ele alınıp incelenmesine gereksinim duyulmaktadır (6).

Bu zoonozların hücresel ve genetik yapıları ile insan-hayvan-çevre-gıda ilişkisindeki rolleri hakkında daha fazla bilgi edinilmesiyle yukarıdaki soruların yanıt bulabileceği ve insan ve hayvanlardaki enfeksiyon risklerinin azaltılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Erlandson, K. M., Klingler, E. T., 2005. Intestinal Spirochetosis: Epidemiology, Microbiology, and Clinical Significance. Clinical Microbiology Newsletter Vol. 27, No. 12.
2. Hampson, D.J., Oxberry, S.L., La, T., 2006. Potential for Zoonotic Transmission of *Brachyspira pilosicoli*. Emerging Infectious Diseases, Vol 12, No. 5.
3. Hovind-Hougen, K., Birch-Andersen, A., Henrik-Nielsen, R., Orholm, M., Pedersen, J.O., Teglbjaerg, P. S., Thaysen, E. H., 1982. Intestinal Spirochetosis: Morphological Characterization and Cultivation of the Spirochete *Brachyspira aalborgi* gen. nov., sp. nov. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 16, No. 6, p. 1127-1136.
4. Jamshidi A., Hampson, D. J., 2003. Experimental infection of layer hens with a human isolate of *Brachyspira pilosicoli*. Journal of Medical Microbiology 52, 361-364.
5. Phillips, N. D., La, T., Hampson, D. J., 2003. Survival of intestinal spirochaete strains from chickens in the presence of disinfectants and in faeces held at different temperatures. Avian Pathology 32(6), 639-643.
6. Smith, J.L., 2005. Colonic Spirochetosis in Animals and Humans. Journal of Food Protection, Vol. 68, No. 7, pages 1525-1534.
7. Stephens, C. P., Hampson, D. J., 1999. Prevalence and disease association of intestinal spirochaetes in chickens in eastern Australia. Avian Pathology 28, 447-454.

İNCİ KEFALİNDE (*Chalcalburnus tarichi*, PALLAS 1811) *LISTERIA* TÜRLERİNİN VARLIĞI VE YAYGINLIĞI

Hakan SANCAK

Emrullah SAĞUN

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
65080 Van,hsancak100@yahoo.com

ÖZET: Bu araştırmada, Van piyasasında tüketime sunulan inci kefalinde (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811) *Listeria* türlerinin varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla Haziran 2003-Mayıs 2004 tarihleri arasında 12 ay süreyle 160 defa alınan örnekler incelenmiştir. *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyunda United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service (USDA/FSIS) tarafından önerilen metot kullanılmıştır. İncelenen inci kefali örneklerinin 20'sinde (%12.50) *Listeria* türleri belirlenmiştir. *Listeria* izole edilen örneklerin 10'unda (%6.25) *L. innocua*, 8'inde (%5.00) *L. welshimeri* ve 2'sinde (%1.25) *L. ivanovii* identifiye edilmiştir. Bu araştırma ile inci kefalinde *Listeria* türlerinin varlığı ilk olarak ortaya konmuş olmakla birlikte, hiçbir örnekte *L. monocytogenes* belirlenememiş olması bu balıkların listeriozis yönünden bir halk sağlığı riski oluşturmadığının göstergesi olarak değerlendirilebilir. Sonuç olarak, gerek *L. monocytogenes* ve diğer patojen mikroorganizmaların halk sağlığı riski oluşturmaması ve gerekse balıkların bozulmasının önlenerek ekonomik kayıpların önüne geçilmesi için avlanan balıkların nakil, depolama ve pazarlamasının hijyenik şartlarda ve soğukta yapılmasının gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Balık, İnci kefali (*Chalcalburnus tarichi*), *Listeria* spp.

PRESENCE AND PREVALENCE OF *LISTERIA* SPECIES IN THE INCI KEFALI (*Chalcalburnus tarichi*, PALLAS 1811)

SUMMARY: This study was conducted to determine the presence and prevalence of *Listeria* spp. in the inci kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811) consumed in Van province. In the study a total of 160 fish samples obtained between June 2003 and May 2004 during twelve month periods were used. The method suggested by United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service (USDA/FSIS) was used for the isolation and identification of *Listeria* spp. *Listeria* spp. were isolated in twenty (12.50%) out of 160 fish samples investigated. Of these twenty samples, *L. innocua* in 10 samples (6.25%), *L. welshimeri* in 8 samples (5.00%) and *L. ivanovii* in 2 samples (1.25%) were identified. *L. monocytogenes* was not detected in any of the samples. However the

presence of *Listeria* spp. in the inci kefalı was first determined, by this study except *L. monocytogenes* in any of the samples. Thus, these fish should not cause any risk for public health. As a result; transportation, storage and marketing of these fish should be under hygienic and cold-chain condition to avoid the risk of public health resulted from *L. monocytogenes* and other pathogen mikroorganizms and economical lost due to decay of fish.

Key words: Fish, İnci kefalı (*Chalcalburnus tarichi*), *Listeria* spp.

1. GİRİŞ

İç sulardaki balık üretiminde *Cyprinidae* familyasına ait olan inci kefalı (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811) (47) sazanadan sonra ikinci sırayı almaktadır (60). Van Gölü yüksek derecede alkali (pH 9,8 ve tuzluluk %0,21) suyu ile hem deniz hem de tatlı su balıkları için elverişli bir ortam olmadığından (9), gölde sadece inci kefalı yaşamaktadır (60). Endemik bir tür olan inci kefalı, esas yaşam alanı olan Van Gölü'nden üremek amacıyla Nisan-Temmuz ayları içinde sürüler halinde akarsulara göç eder ve buralara yumurtalarını bırakan balıklar tekrar göle dönerler (17).

Balıklar, gıda zehirlenmelerine sebep olan birçok patojen mikroorganizmayı bünyelerinde bulundurlar (12). Yapılan araştırmalarda, değişik balık türlerinin patojen mikroorganizmalarla kontamine olduğu belirlenmiştir (1, 18, 26, 33, 38, 49, 54, 69, 70).

Listeria cinsi (*L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, *L. murrayi*), Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'nin 1994 baskısında (40) düzenli, sporsuz ve Gram pozitif çomaklar bölümünde yer almaktadır. *L. monocytogenes* insanlarda ve hayvanlarda listeriozis olarak bilinen hastalığı meydana getirdiğinden dolayı (43, 63) son yüzyılın en önemli gıda patojenlerinden birisi olarak kabul edilmektedir (27). Listeriozis daha çok hamile kadınlarda, bebeklerde, alkol ve ilaç

bağımlılarında, yaşlı insanlarda ve immün sistemi baskılanan kişilerde görülür (7, 27, 52, 56, 62) ve hastalığın genel klinik görüntüsü meningitis veya sepsisemiye benzer (63).

Listeria türleri: çevre, toprak, dışkı, kanalizasyon, su, bitki, hayvan yemleri ve besin maddeleri gibi birçok ortamda bulunmaktadır (7, 8, 11, 14, 28, 40, 63). Listeriozis vakalarında etkenin insanlara bulaşarak hastalık oluşturmada daha çok enfekte gıdaların tüketilmesiyle olmaktadır (7, 11, 56, 62). Gıdalara bağlı olarak meydana gelen listeriozis vakalarında çevresel bulaşmanın yanı sıra, *L. monocytogenes*'in soğukta muhafaza edilen gıdalarda canlılığını koruması halk sağlığı açısından önemli riskler oluşturmaktadır (20, 71). *L. monocytogenes*'ten kaynaklanan salgınlara kaynağı olarak ilk başta lahana salatası (61), pastörize süt (29) ve Meksika tipi yumuşak peynirler (50) sorumlu tutulmuştur.

L. monocytogenes'in insanlar için patojen bir mikroorganizma olduğu bilinse de, 1980'de Yeni Zelanda'da görülen bir epidemik prenatal listeriozisin taze balık ve deniz kabuklularının tüketimine bağlı olduğunun ifade edilmesine (49) ve Facinelli ve ark. (25)'nin az pişirilmiş balıkların tüketilmesine bağlı olarak meydana gelen sporadik listeriozis vakası rapor etmelerine kadar, su ürünlerinin listeriozis vakalarında pek etkili olmadığı düşünülmekteydi. *L. monocytogenes*'in insanlara bulaşmasında su ürünlerinin de rol oynadığı belirlendikten sonra, dünyanın çeşitli bölgelerinde deniz suyu, sediment, balık ve diğer su ürünlerinde *Listeria* türlerinin varlığı, yaygınlığı ve değişik ortamlarda üreme yetenekleri birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (2, 13, 14, 18, 22, 26, 30, 32, 42, 44, 51, 53, 54, 69, 72).

Van'da tüketime sunulan çeşitli gıdalar üzerine yapılan araştırmalarda, *Listeria* türleri değişik oranlarda izole edilmiştir (10, 19, 35, 41, 58, 59). Ancak, inci kefalinde *Listeria* türlerinin varlığı üzerine yapılan bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu araştırma, bölgede önemli bir ticari kaynak ve yöre insanının beslenmesinde vazgeçilmez bir unsur olan inci kefalinde mevsimlere göre *Listeria* türlerinin varlığını ve yaygınlığını tespit ederek; bu balıkların halk sağlığı açısından bir risk oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırmada, Van piyasasından Haziran 2003-Mayıs 2004 tarihleri arasında 12 ay süreyle toplam 160 defa alınan inci kefalı (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811) örneği materyal olarak kullanılmıştır. Aseptik şartlarda steril kavanozlara alınan örnekler soğuk zincirde (+4°C) laboratuvara getirilmiş ve en kısa sürede analizlere başlanmıştır (34). Araştırmada kullanılan test mikroorganizmalarından *S. aureus* ve *R. equi* Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir. Her analiz için balıklardan en az beş adedinin dorsal kasları ile derisinden birlikte parçalar alınmıştır. Bu parçalar ince bir şekilde doğranarak iyice karıştırılmış ve bu karışımdan analiz için örnek alınmıştır. İnci kefalı örneklerinde *Listeria* türlerinin belirlenmesinde, United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service (USDA/FSIS) tarafından önerilen metot kullanılmıştır (15).

Ön zenginleştirme: 25±1 g örnek + 225±5 ml Listeria Primary Selective Enrichment Supplement (Oxoid SR142) katkılı Listeria Enrichment Broth Base (Oxoid CM863) (UVM) (stomacherde (IUL, 2373/400, Barselona, İspanya) 2 dk homojenizasyon) (steril cam kavanozlarda 30±2°C'de 22±2 saat inkübasyon) (5, 15).

Selektif zenginleştirme: 0.1±0.02 ml homojenizat + 10±0.5 ml Fraser Broth Supplement (Oxoid SR156) katkılı Fraser Broth (FB) Base (Oxoid CM895) (35±2°C'de 26±2 saat inkübasyon) (tüplerde eskulin hidrolizine bağlı olarak bir siyahlaşmanın olmadığı durumlarda 48 saate kadar inkübasyon) (5, 15).

Selektif besiyerine ekim ve saflaştırma: 0.1 ml FB'dan Listeria Selective Supplement (Oxoid SR140) katkılı Listeria Selective Agar (LSA) (Oxoid CM856)'a çizme yöntemiyle ekim ve 35±2°C'de 24 saat inkübasyon (1 mm çapında ve etrafı siyah haleli tipik koloniler, *Listeria* şüpheli koloni) (*Listeria* şüpheli kolonilerden, %0.6 Yeast Extract (YE) (Oxoid L21) katkılı Tryptone Soya Agar (TSA) (Oxoid CM131)'a (TSA+YE) çizme yöntemiyle ekim ve 35°C'de 24-48 saat inkübasyon) (5, 15).

Biyokimyasal testler: Saf kolonilere Gram boyama (37, 66), oksidaz (5, 37), Sülfür-İndol-Motility (SIM) Medium'da üreme (8, 63, 66), katalaz, üre, indol, Metil Red/Voges Proskauer (MR/VP) ve karbonhidrat (glikoz, sorbitol) fermentasyon testleri (37) uygulanarak bu kolonilerin *Listeria* cinsine ait olup olmadıkları belirlenmiştir. *Listeria* spp. olarak izole edilen kolonilere de: β -hemoliz (37, 63, 66), CAMP (8, 39), nitrat (4, 37) ve karbonhidrat (ramnoz, ksiloz, mannitol) fermentasyon testleri (37) uygulanarak bu kolonilerin tür tespitleri yapılmıştır.

pH değerinin belirlenmesi: pH-metrede (Hanna, pH 2T1) belirlenmiştir (68).

Tablo 4. *Listeria* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu şeması (15, 40, 63)

25±1 g örnek + 225±5 ml **Listeria Enrichment Broth Base (UEM)** (2 dakika stomaherde homojenizasyon)

30±2°C 22±2 saat inkübasyon

0.1±0.02 ml **UEM I** + 10±0.5 ml **Fraser Broth** (vortekste homojenizasyon)

35±2°C 26±2 saat inkübasyon

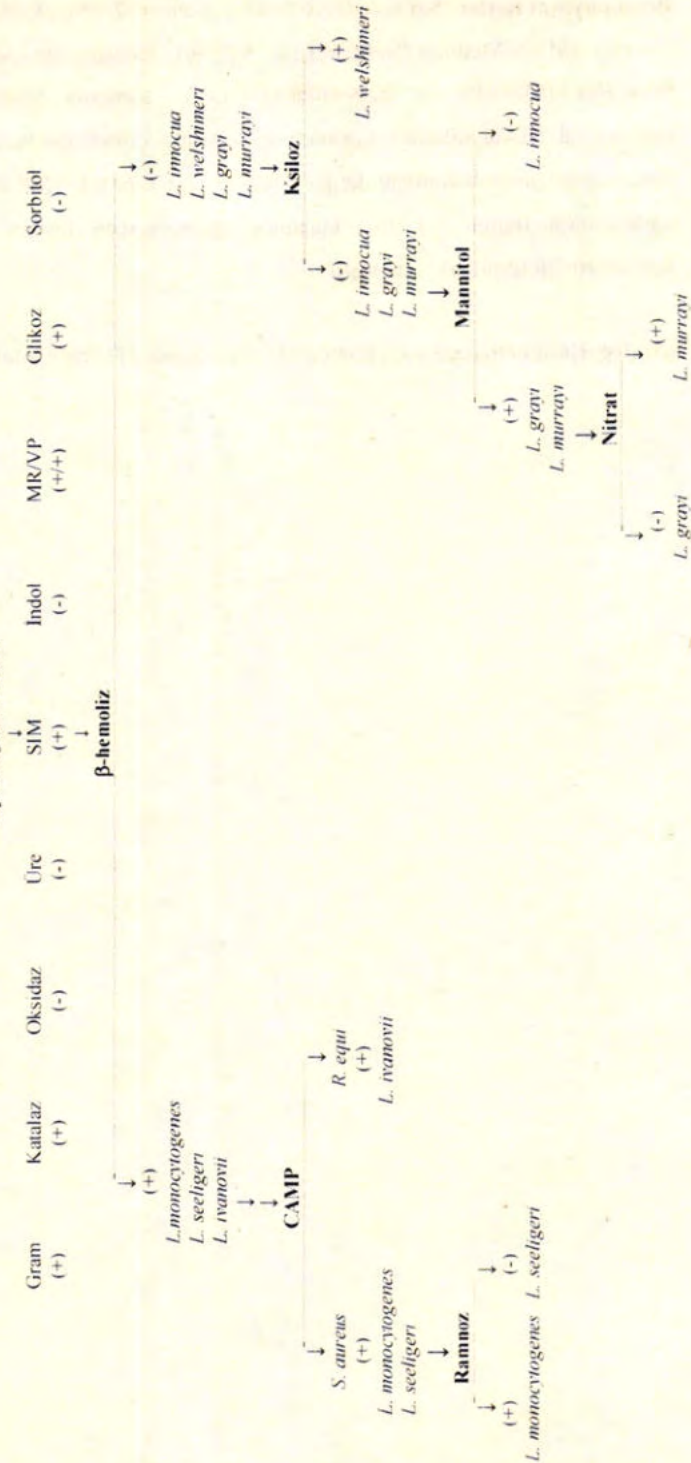
Listeria Selective Agar (Oxford formulation)'a geçiş

35±2°C 24 saat inkübasyon

TSA+YE'a geçiş

35°C 24-48 saat inkübasyon

Biyokimyasal Testler



3. BULGULAR

Tablo 5. İnci kefalı örneklerinde belirlenen *Listeria* türleri

Numune sayısı	<i>Listeria</i> spp		<i>L. innocua</i>		<i>L. ivanovii</i>		<i>L. welshimeri</i>	
n	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
160	20	(12.50)	10	(6.25)	2	(1.25)	8	(5.00)

Tablo 6. Mevsimlere göre *Listeria* türlerinin dağılımı

Mevsim	n	<i>Listeria</i> spp	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. welshimeri</i>
Yaz	40	1	1	-	-
Sonbahar	40	2	-	1	1
Kış	40	8	3	1	4
İlkbahar	40	9	6	-	3
Toplam	160	20	10	2	8

Tablo 7. Mevsimlere göre inc kefalı örneklerinde belirlenen pH değerleri

Mevsim	En düşük	En yüksek	Ortalama
Yaz	6.66	8.07	7.33
Sonbahar	6.60	7.65	6.98
Kış	6.45	7.30	6.95
İlkbahar	6.00	6.83	6.31
1 yıl	6.00	8.07	6.70

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnci kefalinde *Listeria* türlerinin %12.50 oranında belirlenmesi, balıkların avlandıktan sonra hijyenik olmayan koşullarda nakledilmesi ve satışa sunulması sırasındaki kontaminasyonlardan kaynaklanmış olabilir. Nitekim balıklar bidon ve kasalara doldurularak çoğu seyyar satıcı olan kişilere dağıtılmakta ve el arabası, üç tekerlekli bisiklet, bidon ve leğenlerde ortam ısısında satışa sunulmaktadır.

Embarek ve ark. (22) ile Pullela ve ark. (57) inceledikleri balık örneklerinde *Listeria* türlerinin izole edilemediğini bildirmelerine rağmen, bir çok araştırmacı balıklarda çeşitli *Listeria* türlerinin izole edildiğini bildirmişlerdir (2, 13, 18, 26, 32, 51, 53, 69, 70).

Bu araştırmadaki *Listeria* izolasyon oranı, bazı araştırmacıların (32, 53) balıklarda tespit ettikleri izolasyon oranlarından yüksek bulunurken, bazı araştırmacıların (2, 51) bulgularıyla benzerlik göstermektedir. İnci kefalindeki *Listeria* izolasyon oranının, bazı araştırmacıların (13, 26, 30, 69, 72) çeşitli su ürünlerinde bildirdikleri izolasyon oranlarından düşük olması, bu balığın yaşadığı Van Gölü'nün mikroorganizmaların yaşaması için uygun bir ortam olmamasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim, Embarek (21) *Listeria* türlerinin tatlı su balıklarında doğal olarak bulunabileceğini, fakat açık denizlerde veya temiz tuzlu sulardaki balıklarda bulunmasının pek muhtemel olmadığını bildirmiştir. Su ürünlerinde *Listeria* türlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan araştırmalarda farklı sonuçlar alınması, örnek alım zamanı ve şartlarına, bölgesel farklılıklara ve çevresel kontaminasyon düzeylerinin farklılığına bağlı olabilir. Ayrıca, kullanılan metodlar ile örnek sayısının bulguların farklı olmasına neden olacağı bildirilmiştir (27).

Yapılan bazı araştırmalarda (6, 32), tavuk etlerinde su ürünlerinden daha fazla *Listeria* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir. Elibol (19)'un Van'da tüketime sunulan tavuk etlerinde belirlediği %53.33 oranındaki *Listeria* türlerinin, bu araştırmada balık örneklerinde belirlenen orandan (%12.50) yüksek bulunması bunu destekler mahiyettedir.

İncelenen örneklerde bütün mevsimlerde de farklı sonuçların alınması, aynı laboratuvarda farklı mevsimlerde değişik sonuçlar alınabileceğini bildiren Karunasagar ve Karunasagar (45)'in ifadeleri ile uyumludur. Yaz ve sonbahar aylarında izolasyonun az olması, ortam ısısında satışa sunulan balıklardaki mezofil mikroorganizmaların *Listeria* türlerinin üremesini baskılaması veya izolasyonu zorlaştırmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim, Guyer ve Jemmi (36) ile Varabioff (67) ortamda bulunan mikrofloranın *Listeria* türlerinin gelişimi üzerine önemli rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Colburn ve ark. (14) inceledikleri tatlı sularda %81, tuzlu sularda %33 ve sediment örneklerinde %30.4 oranında *Listeria* türlerini belirlemişlerdir. Bu farklılığın örneklerdeki rekabetçi floranın ve balıkların yaşadığı suyun tuz oranlarının farklı olması ile çevredeki hayvanların ve şehirleşmenin etkisinden kaynaklanabileceğini belirtmişler ve özellikle tatlı su örneklerinin alındığı yerlerin yakınında evcil çiftlik hayvanlarının *Listeria* insidensine katkıda bulunmuş olabileceğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada, en yüksek *Listeria* izolasyon oranının ilkbaharda çıkması, bu mevsimde yumurtlamak üzere akarsulara doğru göç eden balıkların çevrede bulunan hayvanların dışkıları ile kontamine olduğu düşünülen ve *Listeria* türleri için Van Gölü'nden daha uygun bir ortam olan akarsulardan avlanmış olabileceği ihtimalini güçlendirmektedir. Avlanmanın gölden yapıldığı kış mevsiminde de izolasyon oranının yüksek çıkması ise *Listeria* türlerinin balıklara avlandıktan sonraki aşamalarda çevresel kaynaklardan bulaşmış olabileceğini düşündürmektedir.

İnci kefalinde en fazla *L. innocua* (%6.25)'nin belirlenmiş olması, et ve su ürünlerinde *L. innocua*'nın dominant tür olarak tespit edildiğini bildiren araştırmacılar (23, 24, 30, 31, 32, 53, 69, 72) ile Türkiye'de *L. innocua*'nın daha baskın olarak bulunabileceğini ifade eden Şireli ve Erol (65)'un görüşleri ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca, Petran ve Swanson (55), *L. innocua*'nın UVM ve FB'da *L. monocytogenes*'ten daha fazla ürediğini ve buna bağlı olarak da izolasyon amacıyla ekim yapılan selektif besiyerindeki koloniler içinde *L. innocua*'nın predominant tür haline geldiğini bildirmişlerdir. Araştırmacıların kullandıkları brothların bu çalışmada kullanılan brothlar ile aynı olması, bu çalışmada *L. innocua*'nın daha yüksek oranda izole edilmesine sebep olmuş olabilir. Bazı araştırmacılar da (31, 64),

et ürünlerinde *L. innocua*'nın *L. monocytogenes*'e göre 2-3 kat daha fazla bulunduğunu bildirmişler ve bunu *L. innocua*'nın generasyon süresinin *L. monocytogenes*'ten daha kısa olması ile açıklamışlardır.

İncelenen örneklerde en fazla izole edilen tür *L. innocua* olmakla birlikte, *L. monocytogenes* hiçbir örnekte izole edilmemiştir. Bu durum *L. innocua*'nın generasyon süresinin *L. monocytogenes*'ten daha kısa olduğunu ve ortamda *L. innocua* varken *L. monocytogenes*'in izolasyonunun daha düşük olacağını bildiren Curiale ve Lewus (16)'ın görüşleri ve inceledikleri balıklarda *L. monocytogenes* izole edilmediğini bildiren araştırmacıların (30, 51) bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Boynukara ve ark. (9), Van Gölü'nün toplam aerob mezofilik mikroorganizma sayısının yerleşim yerlerine yakın olan bölgelerde 0.6×10^1 ile 4.35×10^4 kob/ml arasında ve yerleşim yerlerine uzak olan bölgelerde 0 ile 2.0×10^3 kob/ml arasında olduğunu bildirmişlerdir. Van Gölü'nün suyunun mikroorganizmaların yaşaması için pek uygun bir ortam olmaması ve özellikle yerleşim yerlerine uzak olan bölgelerdeki suyun çok az mikroorganizma içermesi, inci kefalinden izole edilen *Listeria* türlerinin balıklara gölden avlandıktan sonra tüketiciye ulaşmaya kadar geçen aşamalarındaki çevresel kaynaklardan bulaşmış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, her yerde bulunan mikroorganizma olan *Listeria* türlerinin (43) suda yaşayan hayvanlardaki kaynağının çevre olduğunu tahmin edildiğini bildiren Karunasagar ve Karunasagar (45)'in görüşleri, bu çalışmada da *Listeria* türlerinin balıklara çevreden bulaşmış olabileceğini destekler mahiyettedir.

Andre ve Genicot (3), *L. welshimeri*'nin aslında çevresel kaynaklarla, nadiren de hayvansal kaynaklarla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. İnci kefalinde *L. innocua*'dan (%6.25) sonra en fazla *L. welshimeri*'nin (%5.00) izole edilmiş olması, kontaminasyonun çevresel kaynaklardan olabileceği ihtimalini kuvvetlendirmekte, ayrıca *L. welshimeri*'nin nispeten et ve deniz ürünlerinde yaygın bir kontaminant olduğunu belirten Buchanan ve ark. (13)'nin görüşleri ile de benzerlik göstermektedir.

Bu araştırmada incelenen örneklerin ortalama pH değeri (6.70), Seeliger ve Jones (63)'in bildirdikleri *Listeria* türlerinin üreyebildikleri pH değerleri (6.0-9.0) arasında tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu araştırmada belirlenen ortalama pH değeri, bazı araştırmacıların (46, 48) inci kefalinde bildirdikleri pH değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak; Van'da tüketime sunulan inci kefalinde *Listeria* türlerinin varlığı belirlenmiş olmakla birlikte, insanlar için patojen tür olan *L. monocytogenes* hiçbir örnekte belirlenmemiştir. Bu araştırmada örneklerin hiçbirinde *L. monocytogenes*'in belirlenmemiş olması, inci kefalinin listeriozis yönünden halk sağlığı riski oluşturmadığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Gölden avlanan inci kefalindeki gerçek kontaminasyon düzeyini belirlemek için bu balığın tüketildiği diğer yerleşim yerlerinde de *Listeria* türlerinin özellikle *L. monocytogenes*'in varlığı araştırılmalıdır. Ayrıca, *L. monocytogenes* ve diğer patojen mikroorganizmaların halk sağlığı riski oluşturmaması ve balıkların bozulmasının önlenerek ekonomik kayıpların önlenmesi için avlanan balıkların nakil, depolama ve pazarlanmasının hijyenik şartlarda ve soğukta yapılması için gerekli önlemler alınmalıdır.

5. KAYNAKLAR

- 1 Abeyta CJR (1983) Bacteriological quality fresh seafood products from Seattle retail markets, J. Food Prot., 46 (10), 901-909.
- 2 Adesiyun AA (1993). Prevalence of *Listeria* spp., *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp. and toxigenic *Escherichia coli* on meat and seafoods in Trinidad, Food Mic., 10, 395-403
- 3 Andre P ve Genicot A (1987) First isolation of *Listeria welshimeri* from human beings, Zentralbl. Bacteriol. Parasiten-kdo Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig., Reihe A, 263, 605-606
- 4 Anonymous (1991) Reagents Diagnostic Microbiology, Merck, Federal Republic of Germany
- 5 Anonymous (1995) The Oxoid Manual, 7th Ed., Unipath Ltd., Hampshire, England
- 6 Baek SN, Lim SN, Lee DH, Min KH ve Kim CM (200) Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* from domestic and imported foods in Korea, J. Food Prot., 63 (2), 186-189
- 7 Bahk J ve Marth EH (1990) Listeriosis and *Listeria monocytogenes*, Chapter 18, in "Foodborne Diseases, 247-257", Ed. DO Cliver, Academic Press, Inc., San Diego, California
- 8 Bortolussi R, Schlech III WF ve Albritton WL (1985). *Listeria*, Chapter 19, in "Manual of Clinical Microbiology, 205-208", Ed. EH Lennette, 4th Ed., American Society for Microbiology, Washington, DC, USA
- 9 Boynukara B, Sancak YC, Baydaş B, Sancak H ve Berktaş M (1995) Van Gölünün mikrobiyolojik kirliliği ve halk sağlığı açısından değerlendirilmesi, Veterinarium, 6 (1-2), 37-39
- 10 Bozkurt ENN (2002) Et ve et ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in izolasyonu, Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Univ. Sağlık Bil. Enst., Van
- 11 Brackett RE (1988) Presence and persistence of *L. monocytogenes* in food and water, Food Tech., 4, 162-164

- 12 Bryan FL (1980). Epidemiology of foodborne diseases transmitted by fish, shellfish and marine crustaceans in the United States, 1970-1978, J. Food Prot., 43, 859-876
- 13 Buchanan RL, Stahl HG, Bencivengo MM ve Corral FD (1989) Comparison of Lithium Chloride-Phenylethanol-Moxalactam and Modified Vogel Jhonson Agars for detection of *Listeria* spp in retail-level meats, poultry, and seafood, Appl Environ. Mic., 55 (3), 599-603
- 14 Colburn KG, Kaysner CA, Abeysa CJR ve Wekell MM (1990). *Listeria* species in a California coast Estuarine environment, Appl. Environ. Mic., 56 (7), 2007-2011
- 15 Cook LV (1998) Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry, Egg and Enviromental Samples, in: "USDA/FSIS Microbiology Laboratory Guidebook", Chapter 8, 3rd Ed., USA
- 16 Cunal MS ve Lewus C (1994). Detection of *L. monocytogenes* in samples containing *L. innocua*, J. Food Prot., 57 (12), 1048-1051
- 17 Danulat E ve Selcuk B (1992). Life history and environmental conditions of the anadromous *Chalcalburnus tarichi* (Cyprinidae) in the highly alkaline lake Van, Eastern Anatolia, Turkey, Arch. Hidrob., 126 (1), 105-125.
- 18 Davies AR, Capell C, Jehanno D, Nychas GJE ve Kirby RM (2001) Incidence of foodborne pathogens on European fish, Food Control, 12, 67-71
- 19 Elibol C (2003). Van'da çiğ olarak tüketilen tavuk etlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine araştırmalar, Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniv. Sağlık Bil. Enst., Van
- 20 El-Kest SE, Yousef AE ve Marth EH (1991) Fate of *Listeria monocytogenes* during freezing and frozen storage, J. Food Sci., 56, 1068-1071
- 21 Embarek PKB (1994) Presence, detection and growth of *L. monocytogenes* in seafood, areview, Int. J. Food Mic., 23, 17-34
- 22 Embarek PKB, Hansen LT, Enger O ve Huss HH (1997). Occurence of *Listeria* spp. in farmed Salmon and during subsequent slaughter: comparison of ListerestTM Lift and the USDA method, Food Mic., 14, 39-46.
- 23 Erol İ ve Şireli UT (1999). Donmuş broiler karkaslarında *Listeria monocytogenes*'in varlığı ve serotip dağılımı, Tr. J. Vet. Animal Sci., 23 (4), 765-770
- 24 Erol İ, Şireli UT ve Gündüş B (1999). Piliç parça et ve iç organlarında *Listeria* türlerinin varlığı ve kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi, Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 46, 179-188
- 25 Facinelli B, Varaldo PE, Toni M, Casolari C ve Fabio U (1989). Ignorance about *Listeria*, 299, 738
- 26 Farber JM (1991). *Listeria monocytogenes* in fish products, J. Food Prot., 54 (12), 922-924, 934
- 27 Farber JM ve Peterkin PI (1991). *L. monocytogenes*, a food-borne pathogen, a review, Mic. Rev., 55, 476-511
- 28 Fenlon DR (1985). Wild birds and silage as reservoirs of *Listeria* in the agricultural environment, J. Appl. Bacteriol., 59, 537-543
- 29 Fleming DW, Cochi SL, MacDonald KL, Brondum J, Hayes PS, Plikaytis BD, Holmes MB, Audurier A, Broome CV ve Reingold AL (1985). Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis, The New England J. Med., 312 (7), 404-407
- 30 Fuchs RS ve Surendran PK (1989). Incidence of *Listeria* in tropical fish and fishery products, Lett. Appl. Mic., 9, 49-51
- 31 Genigeorgis CA, Dutulescu D ve Garayzabal JF (1989). Prevalence of *Listeria* spp. in poultry meat at the supermarket and slaughterhouse level, J. Food Prot., 52 (9), 618-624, 630
- 32 Gohil VS, Ahmed MA, Davies R ve Robinson RK (1995). Incidence of *Listeria* spp. in retail foods in the United Arab Emirates, J. Food Prot., 58 (1), 102-104
- 33 Gonzales CJ, Lopez-Diaz TM, Garcia-Lopez ML, Prieto M ve Otero A (1999). Bacterial microflora of Wild brown trout (*Salmo trutta*), Wild pike (*Esox lucius*), and aquacultured Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), J. Food Prot., 62 (11), 1270-1277
- 34 Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y ve Zorba O (1995). Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu, 2. Baskı, Atatürk Üniv. Zir. Fak. Ofset Tesisi, Erzurum

- 35 Gökmen M (2003) Van ilinde tüketime sunulan kıymaların patojen bakteriler yönünden incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Univ. Sağlık Bil. Enst., Van.
- 36 Guyer S ve Jemmi T (1991). Behavior of *Listeria monocytogenes* during fabrication and storage of experimentally contaminated smoked Salmon, Appl Environ Mic., 57 (5), 1523-1527
- 37 Harrigan WF (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology, 3rd Ed., Academic Press, London, UK
- 38 Heimitz ML ve Johnson JM (1998). The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish, J Food Prot., 61 (3), 318-323.
- 39 Hitchins AD (1998). *L. monocytogenes*, in: "FDA Bac. Analytical Manual", Ch. 10, 8th Ed., Revision A, USA
- 40 Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT ve Williams ST (1994) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, USA
- 41 İşleyici Ö, Sancak YC, Sağın E ve Ekiçi K (2004) Çiğ köftede *Listeria* türlerinin varlığı, "1. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, Bildiri Kitabı, 139-146", Ankara
- 42 Jeyasekaran G, Karunasagar I ve Karunasagar I (1996). Incidence of *Listeria* spp. in tropical fish, Int. J. Food Mic., 31, 333-340.
- 43 Jones D ve Seeliger HPR (1992) The Genus *Listeria*, Chapter 71, in "The Prokaryotes, 1595-1616" Ed., A Balows, HG Trüper, M Dworkin, W Harder ve KH Schleifer, 2nd Ed., Vol. 2, Springer-Verlag, New York, USA.
- 44 Kamat AA ve Nair PM (1994). Incidence of *Listeria* species in Indian seafoods and meat, J Food Safety, 14, 117-130.
- 45 Karunasagar I ve Karunasagar I (2000) *Listeria* in tropical fish and fishery products, Int. J. Food Mic., 62, 177-181
- 46 Kılınççeker O ve Küçüköner E (2003) Tuzlanmış İnci kefalı (*Chalcalburnus tarichi*) balığında fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal değişimlerin saptanması, Yüzüncü Yıl Univ. Zır Fak. Tar. Bil. Derg., 13 (1), 55-59
- 47 Kuru M (1985) Omurgalı Hayvanlar Sistematığı, Hacettepe Univ. Fen Fak. Yay., Ders Kitapları Dizisi 7, 2. Baskı, Hacettepe Univ. Fen Fak. Basımevi, Beytepe, Ankara
- 48 Küçüköner E, Yurt B ve Genççelep H (2001) Van Gölü havzasında yaşayan İnci kefalı (*Chalcalburnus tarichi*)'nin bazı kimyasal özelliklerinin araştırılması, Gıda, Ocak, 90-91
- 49 Lennon D, Lewis B, Mantell C, Becroft D, Dove B, Farmer K, Tonkin S, Yeates N, Stamp R ve Mickleson K (1984). Epidemic perinatal listeriosis. Pediatr. Infect. Dis., 3, 30-34.
- 50 Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May S, Salminen C, Hird DW, Yonekura ML, Hayes P, Weaver R, Audurier A, Plikaytis BD, Fannin SL, Kleks A ve Broome CV (1988) Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. The New England J Med., 319 (13), 823-828
- 51 Manoj YB, Rosalind GM, Karunasagar I ve Karunasagar I (1991) *Listeria* spp. in fish and fish handling areas, Mangalore, India, Asian Fish Sci., 4, 119-122
- 52 Marth EH (1988) Disease characteristics of *Listeria monocytogenes*, Food Technol., 165-168
- 53 Nitcheva L, Yonkova V, Popov V ve Manev C (1990) *Listeria* isolation from foods of animal origin, Acta Mic Hungarica, 37 (2), 223-225
- 54 Norrung B, Andersen JK ve Schlundt J (1999) Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark, Int. J. Food Mic., 53, 195-203
- 55 Petran RL ve Swanson MJ (1993) Simultaneous growth of *L. monocytogenes* and *L. innocua*, J. Food Prot., 56 (7), 616-618
- 56 Pinner RW, Schuchat A, Swaminathan B, Hayes PS, Deaver KA, Weaver RE, Plikaytis BD, Reeves M, Broome CV ve Wenger JD (1992) Role of foods in sporadic listeriosis. II-Microbiologic and epidemiologic investigation, JAMA, 267 (15), 2046-2050
- 57 Pullela S, Fernandes CF, Flick GJ, Libey GS, Smith SA ve Coale CW (1998) Indicative and pathogenic microbiological quality of aquacultured finfish grown in different production systems, J Food Prot., 61 (2), 205-210

58. Sağun E, Sancak YC, İşleyici Ö ve Ekici K (2001). Van ve çevresi süt ve Otlı peynirlerinde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma, Tr. J. Vet. Animal Sci., 25, 15-19
59. Sancak YC, İşleyici Ö, Elibol C ve Ekici K (2003) Van'da tüketime sunulan kremalı pastalarda *Listeria* türlerinin varlığının belirlenmesi, Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak. Derg., 13 (1-2), 8-11
60. Sarı M (2001) Van Gölü İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*, PALLAS 1811) Stok Miktarının Tahmini ve Balıkçılık Yönetim Esaslarının Belirlenmesi, 1. Baskı, Sena Ofset, İstanbul.
61. Schlech III WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, Allen AC, Haldane EV, Wort AJ, Hightower AW, Johnson SE, King SH, Nicholls ES ve Broome CV (1983) Epidemic listeriosis - evidence for transmission by food, The New England J. Med., 308 (4), 203-206.
62. Schuchat A, Deaver KA, Wenger JD, Plikaytis BD, Mascola L, Pinner RW, Reingold AL, Broome CV (1992). Role of foods in sporadic listeriosis, I-Case-control study of dietary risk factors, JAMA, 267 (15), 2041-2045.
63. Seeliger HPR ve Jones D (1986). Genus *Listeria*, in "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 1235-1245", Ed. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG, Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore
64. Skovgaard NC ve Morgen A (1988). Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds and raw foods of animal origin, Int. J. Food Microbiol., 6, 229-242.
65. Şireli UT ve Erol I (1999) Hazır kıymalarda *Listeria* türlerinin araştırılması, Tr. J. Vet. Animal Sci., 23 (2), 373-380
66. Temiz A (1996). Genel Mik. Uyg. Tek., 2. Baskı, Hatiboğlu Yay. 96, Yük. Diz. 29, Şahin Mat., Ankara
67. Varabioff Y (1990) Incidence and recovery of *Listeria* from chicken with a pre-enrichment technique, J. Food Prot., 53, 555-557
68. Varlık C, Uğur M, Gökçü N ve Gün H (1993). Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri, Gıda Tek. Der. Yay. No. 17, İstanbul
69. Vaz-Velho M, Duarte G ve Gibbs P (2001). Comparison of two pre-enrichments broths for recovering *Listeria* spp. from Salmon (*Salmo salar*) and Salmon-trout (*Oncorhynchus mykiss*), Food Control, 12, 357-359.
70. Vaz-Velho M, Duarte G ve Gibbs P (2001). Evaluation of enhanced haemolysis agar for detection of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* from production lines of fresh to cold-smoked fish, J. Mic. Methods, 46, 157-163
71. Walker SJ, Archer P ve Banks JG (1990) Growth of *L. monocytogenes* at refrigeration temperatures, J. Appl. Bacteriol., 68, 157-162
72. Weagant SD, Sado PN, Colburn KG, Torkelson JD, Stanley FA, Krane MH, Shields SC ve Thayer CF (1988) The incidence of *Listeria* species in frozen seafood products, J. Food Prot., 51 (8), 655-657

HAYVANSAL PROTEİN TÜKETİMİNE BAĞLI ALLERJİLER

Yeliz YILDIRIM

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

E-mail: yeliz_yildirim@mynet.com

Özet: Gıda alerjisi, vücudun zararlı olarak algıladığı gıdalara karşı bir immün sistem yanıtı, anormal bir tepkidir. Bazen gıdaya karşı oluşan bu yanıt gıda alerjisi değil farklı bir başka reaksiyon olan "gıda intoleransı" olarak adlandırılmaktadır. Özellikle inhalantlara karşı şekillenen tepkilerde IgE yer almaktadır. Sorumlu tutulan gıdanın çok az miktarları bile sıklıkla solunum, sindirim sistemi ve deride reaksiyonlara sebep olmaktadır. Süt, yumurta, balık, deniz kabukluları, fındık, buğday ve soya fasulyesi gıda alerjilerinin %90'ından sorumlu tutulan gıda veya gıda gruplarıdır. Gıda alerjileri için günümüzde bir tedavi bulunmamakla birlikte gıda alerjisi bulunan bireylerin sorumlu gıdaları tüketmemesi gerekmektedir. Gıda alerjilerinin oluşumunda genetik yatkınlık önemli bir unsur olarak karşımıza çıkmaktadır. Gıdalara karşı gelişen alerjik reaksiyonlar ciddi hastalıklara ve bazen de ölümlere neden olabilmektedir. Bu nedenle bu derlemede hayvansal protein tüketimine bağlı alerjiler tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hayvansal proteinler, Alerji, Gıda intoleransı

ALLERGIES RELATED TO ANIMAL PROTEIN INTAKE

Abstract: A food allergy is an immune system response to a food that the body mistakenly believes is harmful. It is an abnormal response to a food triggered by the body's immune system. Sometimes a reaction to food is not an allergy but another type of reaction called "food intolerance". IgE was involved in many allergic reactions, especially those to inhalants. Small amounts of the offending substance trigger the reactions, which commonly occur in the respiratory tract, digestive system, or skin. Milk, eggs, fish, crustacean shellfish, peanuts, wheat, and soybeans are major foods or food groups account for 90% of food allergies. At present there is no cure for food allergies but a food allergic consumer must avoid the food to which the consumer is allergic. Heredity is often cited as a cause of food allergies, and certainly plays a role since a recessive gene has been identified as being linked to IgE-mediated food allergies. Allergic reactions to food can cause serious illness and in some cases death. Thus the allergies caused by foods of animal protein origine are reviewed in this article.

Key Words: Animal proteins, Allergy, Food intolerance

1.GİRİŞ

Özellikle gelişmiş ülkelerde hayvansal proteinlerin diyetle fazla miktarda yer almasına bağlı olarak oluşan alerjilerin, popülasyonun %15-30'unda yaygın bir hale geldiği görülmektedir. Gıda alerjilerinin genellikle 3 yaşın altındaki çocuklarda, ürtiker, egzema, gastrointestinal kanamalar, astım, rinit ve yaygın deri kabarcıkları şeklindeki semptomlarla gözlemlendiği, fakat genellikle birkaç yıl sonrasında tolerans geliştiği, özellikle yumurta ve süt proteinlerine karşı tolerans gelişme süresinin de genellikle ilk reaksiyonun şiddeti ile doğru orantılı olduğu öne sürülmektedir. Duyarlı çocuklara ilk defa uygulanan gıdaların diğer gıdalarla karışım halinde veya muameleye tabi tutularak uygulanmasının daha iyi tolere edilmesine katkıda bulunacağı bildirilmektedir. Yüksek düzeyde alerjik olan çocuklarda deniz ürünleri, yumurta ve süt tüketiminin anafilaksiye neden olabileceği, sorumlu gıdanın tekrar alınmasıyla da hayati tehlikenin söz konusu olabileceği vurgulanmaktadır (2,29).

Alos, değişiklik; ergos, iş-eylem anlamındadır ve açıkça antijen karşısında organizmanın bağışıklık yerine değişik bir tepkime vermesi kastedilmektedir (10).

Klinik allerjistlere göre antijenin semptom meydana getirebilme veya deri reaksiyonları oluşturma kapasitesi olarak açıklanırken, immunolojistler açısından immunojenitenin ilginç bir tipi (proteinlerin IgE seviyesini artırma kapasitesi) veya basitçe IgE'ye bağlanma kapasitesi olarak nitelendirilmektedir. Alerjenitede rol oynayan protein yapısı ile ilgili özellikler; protein çözünabilirliği, stabilitesi, ölçüsü ve protein sarmalının kompakt yapısıdır. Gıda alerjenleri için sindirilebilme, hava yolu ile alınan alerjenler içinse büyüklük ve çözünbilme özelliklerinin önemli olduğu vurgulanmaktadır (1).

"Adverse gıda reaksiyonu" ise alınan herhangi bir gıda veya gıda katkısına karşı oluşan anormal klinik tepkiler için kullanılan genel bir terimdir. Adverse gıda reaksiyonları, toksik veya non toksik gıda reaksiyonları sonucu oluşmaktadır. Toksik reaksiyonlar, kişide örneğin sembroid gıda zehirlenmesinde histamin alımı gibi, gerekli dozun alınması durumunda oluşur, non toksik reaksiyonlar ise immün (alerji veya aşırı duyarlılık) veya nonimmün (intoleransı) mekanizmaları sonucu kişinin duyarlılığına bağlı olarak gelişir (12, 30, 35, 39)

Aile geçmişinde gıda alerjisi bulunan bireylerin gıda alerjisine yatkın oldukları bununla birlikte bebeklik döneminde bazı alerjenlere maruz kalınmasının da alerji riskini artırıcı bir unsur olduğu kaydedilmektedir. Erken çocukluk döneminde alerji insidensinin yaklaşık % 1.3, yetişkinlerde ise % 0.3 olduğu (13) yapılan bir diğer çalışmada ise çocuklarda gıda alerji prevalansının %0.3-7, yetişkinlerde %2 olduğu kaydedilmektedir (29). Çizelge 1'de 1994-1998 yılları arasında 15 yaşın altındaki 3205 hastada gıda alerji prevalansı gösterilmektedir.

Çizelge 1: 1994-1998 yılları arasında 15 yaşın altındaki 3205 hastada gıda allerjenlerinin prevalansı (29)

Gıda	Vaka	%
Yumurta	1017	31.7
Fındık	474	14.8
İnek sütü	450	14.0
Balık	408	12.7
Taze meyve	322	10.0
Baklagil	252	7.9
Crustacea ve yumuşakçalar	208	6.5
Sebzeler	204	6.4
Et	170	5.3
Hububat	35	1.1
Diğer	3	0.1

3.Mukozal Bariyer

Bağırsaklarda bulunan lenfoid doku, (Gut associated lymphoid tissue: GALT) zararlı maddelere karşı hızlı ve etkili bir yanıt vermesi gibi oldukça önemli bir sorumluluğa sahiptir. Bir antijenin oral yolla alınmasıyla ilk olarak IgA-B hücre prokürsörleri aktive olur.T ve B hücreleri stimule edildiğinde peyer plaklarını terk ederek, bağırsak, solunum sistemi ve derinin (laktasyondaki dişilerde meme bezlerinin) lenfoid kompartımanına göç ederler.Bebeklerde ince bağırsaklarda proteolitik aktivitenin düşük olması, müsin kompozisyonunun olgunlaşmaması ve mikrovillus membranlarının tam gelişmemiş olması mukozal bariyerin özelliklerini azaltabilir (12,35).

Gıda antijenlerinin ince bağırsak, kolon ve rektumdan çok kolay emilebilirken, ösefagus ve midede daha yavaş emildiği, mide asit artışının, bağırsaklarda diğer gıdaların

varlığının antijen absorpsiyonunu azalttığı ancak mide asidinin düşmesi ve alkol alınımı gibi faktörlerin antijen absorpsiyonunu artırdığı ortaya konmuştur (12).

Anne sütü ile beslenmenin; 1) yabancı proteinlere maruz kalmayı önlediği 2) anne sütü Ig A'sının yabancı proteinlere karşı pasif koruma sağladığı 3) anne sütünün içerdiği çözünebilen faktörlerin bağırsak bariyerinin şekillenmesini ve immun yanıtın daha erken gelişebilmesini sağladığı bildirilmektedir (37).

4.Gıda Alerjenleri

En önemli gıda alerjenleri 10000 ile 60000 dalton arasında değişen, suda eriyebilen glikoproteinler olarak tanımlanmaktadır. Bunlar, ısı, asit ve proteaz uygulamalarına dayanıklıdır (2).

Çocuklarda süt, yumurta, fındık, soya ve buğday alerjik reaksiyonların yaklaşık % 90'ından sorumlu tutulurken, yetişkinlerde meydana gelen alerjik reaksiyonların yaklaşık% 85'inden ise fındık, balık, yer fıstığı ve deniz kabukluları sorumlu tutulmaktadır (35,36).

Çeşitli gıdalarda yer alan gıda antijenleri Çizelge 2'de gösterilmektedir.

5.İnek Sütü Alerjileri

İnek sütü genellikle yeni doğanların karşılaştığı ilk yabancı proteinlerden biridir. Sütte en az 20 protein komponentinin antikor üretimine neden olabileceği bildirilmektedir. Rutin pastörizasyon derecesi bu proteinlerin yıkımlanması için yeterli değildir. Yüksek sıcaklığın sütte yeni alerjenlerin oluşumuna yol açtığı ifade edilmiştir (12).

Isı uygulamalarının bir çok açıdan faydalı olmasına karşın gıdaların alerjik komponentleri üzerinde büyük değişikliklere yol açarak, neoalerjenlerin oluşumuna sebep olduğu bildirilmektedir. Proteinlerin amino grubu ile şekerler arasında oluşan reaksiyonlar bu değişikliklere örnek gösterilmektedir (14).

İnek sütüne karşı gelişen Adverse gıda reaksiyonları; oluşan immun mekanizmanın tipine göre IgE vasıtalı (TipI) reaksiyonlar, IgE vasıtalı olmayan tip II (sitotoksik) reaksiyonlar, tip III (immunkompleksleri) ve tipIV (hücre vasıtalı) reaksiyonlar şeklinde ya da enzim yetersizlikleri, emilim bozuklukları farmakolojik reaksiyonlar veya infeksiyöz reaksiyonları içeren, immunolojik reaksiyonlarla herhangi bir ilgisi olmayan adverse gıda reaksiyonları olarak açıklanmaktadır (38).

Çizelge 2: Gıda antijenleri (12)

Protein	Yaklaşık % protein	Molekül ağırlığı
İnek sütü		
Kazeinler	76-86	19.000-24.000
a-kazein	53-70	27.000
as-kazein	25-35	23.000
k-kazein	25-35	24.000
g-kazein	3-8	19.000
Serum proteinleri	14-24	21.000
B-laktoalbumin	7-12	36.000
Alfa-laktoalbumin	2-5	14.000
Serum albuminleri	0.7-1.3	69.000
İmmun globülinler	1.3-2.3	
IgG	1-2	150.000
IgM	0.1-0.2	900.000
IgA	0.05-0.1	400.000
Pepton	2-6	4.100-20.000
Tavuk yumurta beyazı		
Ovalbumin	54	45.000
Ovomukoid	11	28.000
Ovotransferin	12-13	77.000
Lizozim	3.4	14.300
İmmun globülinler	4	49.000
Yer fıstığı		
Ara h-I	-	63.000
Ara h-II	-	17.000
Soya fasulyesi		
Soya fasulyesi inhibitörü	-	20.500
Balık		
Alerjen M	-	12.328
Istakoz		
Antijen I	-	42.000
Antijen II	-	38.000

Yapılan farklı çalışmalarda süt alerji prevalansının %0.5-10 arasında değiştiği bildirilmesine karşın genel olarak %2'nin altında olduğuna inanılmaktadır (3,5, 21,22)

Semptomların özellikle 3-4 aylık yaşlarda % 50-70 oranında deri semptomları; atopik dermatit, ürtiker, egzama, damar ödemi, konjunktivit, % 50-60 oranında gastrointestinal semptomlar; kusma, ishal, kolit ve % 20-30 oranında solunum semptomları; rinit, nezle, solunum güçlüğü şeklinde görüldüğü bildirilmektedir. Anafilaksi gibi şiddetli semptomların bu tip rahatsızlığı bulunan çocukların % 9'unda gözlemlendiği belirtilmektedir. İnek sütü intoleransı şüpheli durumlarda 18 ay veya 2 yıl süreyle inek sütünün diyetten çıkarılması gerektiği bildirilmektedir (3,5,38,39). Çocuklarda genellikle serum proteinlerine karşı yetişkinlerde ise peynir tüketiminden dolayı kazein alerjilerinin daha çok gözlemlendiği kaydedilmektedir (41).

Büyük protein moleküllerinin hidrolize formül üretimi için enzim hidrolizasyonu ile küçük peptid moleküllerine parçalanarak (proteolitik enzimler, ısı, ve ultrafiltrasyon ile) alerjenitelerinin azaltıldığı, protein kaynağı olarak hayvan veya bitki proteinlerinin (kazein, süt serumu, soya ve sığır kollajeni) kullanabileceği belirtilmektedir. Amerika Pediatri Akademisinin Beslenme Komitesi (The Committee on Nutrition of the American Academy of Pediatrics) bir ürünün hipoalerjenik olabilmesi için süt alerjisi olan bebeklerde % 90 oranında tolere edilebilmesi gerektiğini bildirmektedir (5,11).

Annelerin bebeklerini 6 aydan daha uzun süre anne sütüyle beslemeleri yönünden teşvik edilmeleri gerektiği, yüksek risk grubunda bulunan çocuklarda, annelerin laktasyon süresince yüksek düzeyde alerjenik gıdalar tüketmesinin engellenmesi gerektiği bildirilmektedir. Aile geçmişinde gıda alerjisi bulunan çocuklarda özellikle ilk 6 aylık yaşa kadar inek sütü ile besleme yapılmamalı, hidrolize veya aminoasit formülasyonları tercih edilmelidir (5, 8, 9, 18, 32, 33, 34, 38).

6.Tavuk Yumurtası Alerjileri

Yumurta alerjisinin en iyi bilinen patojenik mekanizmaları, ani, tip I ve IgE vasıtalı aşırı duyarlılık olgularıdır. Yüksek düzeyde protein içermesi, hayatın ilk yıllarında diyet katılması ve yaygın şekilde tüketilmesi nedeniyle, çocuklarda en yaygın gıda aşırı duyarlılığı sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir (4).

Yumurta alerjilerinin genellikle 2 yaşın altındaki çocuklarda geliştiği (prevalans; %3 ile 7) ve vakaların %55'inin 6 yaşa kadar kaybolduğu belirtilmektedir. Yumurta alerjisi olan çocukların genellikle yumurta beyazına daha çok reaksiyon gösterdikleri, yumurta beyazının 24 farklı antijenik protein fraksiyonu içerdiği ortaya konmuştur. Ovoalbumin, ovomukoid, ovotransferrin ve lizozim önemli yumurta beyazı alerjenleri olarak bildirilmektedir (16, 20, 31).

Lizozimin bakterisidal özelliğinden dolayı birçok ilaçta katkı maddesi olarak kullanıldığı kaydedilmektedir. Ovom sin, ovoflavoprotein, avidin ve ovoinhibit r gibi diğer proteinlerin de antijenik özelliklerinin bulunduğu kaydedilmektedir. Yumurta sarısını oluşturan apovitellenis, fosvitins ve livitins gibi proteinlerin de alerjenik olabileceği belirtilmektedir (6).

Kabakulak, kızamık, kızamıkçık ve grip gibi bazı aşıların çok az miktarlarda da olsa yumurta içerdiği fakat yumurta alerjisi bulunan bireylerin çoğunun bunları tolere edebildiği; şüpheli durumlarda aşının dilue miktarlarının deri testleri şeklinde kullanılarak denemeler yapıldıktan sonra kontrollü koşullar altında uygulanması önerilmektedir (2).

Semptomların gelişimi, sorumlu antijen tüketimini takiben bir ak dakika ila iki saat sonra hızlı bir şekilde olur. Klinik belirtiler eritem, ürtiker, damar ödemi abdominal sancı, mide bulantısı, kusma, diyare rino-konjunktivit, laringeal  dem, astım ve anafilaksi şeklinde ortaya çıkmaktadır (4). Yüksek risk grubunda bulunan çocuklarda ilk kez yumurta alınımindan önce deri testi yapılması önerilmektedir (40).

8. Balık Eti Alerjileri

Bu alerjiler balığın kendisine veya kontaminantlarına, bakteriyel toksinlere ve nadiren de balığın hazırlanması sırasında kullanılan baharatlara karşı gelişebilmektedir (25).

Balığa alerjisi olan çoğu bireyin aynı zamanda birçok gıdaya alerjisi olabileceği kaydedilmektedir. Çocukların çoğunda balık duyarlılığına ilişkin semptomların 6 yaştan sonra kaybolduğu belirtilmektedir (15).

Abdominal kramplar, mide bulantısı, kusma, diyare, ürtüker, pruritus, ödem, astım gibi semptomların alerjen alımının ardından genellikle 4-6 saat sonra şekillenebileceği belirtilmektedir. Semptomların gelişmesinde etkene maruz kalma süresinin ve etken yoğunluğunun oldukça büyük önem taşıdığı kaydedilmektedir (19, 23, 25, 28).

Balıklarda bulunan histamin gibi biyogen aminlerin, anisakis gibi paraziter etkenlerin ve balık sperminde bulunan düşük moleküler ağırlıklı protaminlerin de alerjik reaksiyonlara sebep olabileceği belirtilmektedir. Özellikle morina balığında Gad cl alerjeni ve kas proteinlerinden parvalbüminlerin, deniz kabuklularında ise tropomiyozinlerin önemli alerjenler olduğu kaydedilmektedir (26).

Balık alerjenlerinin yanı sıra diğer bazı deniz ürünlerinin de yüksek düzeyde alerjenik etkileri olabileceği, karides, yengeç, kerevit ve istakoz alerjenleri arasında da çapraz reaksiyonlar gözlemlendiği belirtilmektedir (27).

9.Et Alerjileri

Et alerji insidensinin genel popülasyonda % 0.3 olması dolayısıyla çok az rastlanan bir alerji türü olduğu ifade edilmektedir (20). Sığır etine alerjisi olan çocukların diğer et türlerine de duyarlı olabileceği, bu bireyler için hiçbir et ve süt türünün hipoalerjik olarak nitelendirilemeyeceği vurgulanmaktadır (17).

Bovine Serum Albumin (BSA) başta olmak üzere Bovine Gamma Globulin'in (BGG) sığır etinde bulunan en önemli alerjenler oldukları bunun yanında kas ve serum proteinlerinin alerjen etki yaratabildikleri belirtilmektedir (7,20). Kas proteinleri arasında tropomiyozinin oldukça zayıf bir alerjen olduğu, alerjenik olabilecek diğer et proteinlerinin ise aktin ve bazen miyogloblin olduğu belirtilmektedir(7). Kuru dondurma ve homojenizasyon gibi uygulamaların, etin duyarlı bireylerin diyetine katılmasına imkan verdiği vurgulanmaktadır (17).

Hindi eti alerjileri oldukça nadir rastlanılan olgulardır. Olguların hiçbirinde anflaksi ölümleri rapor edilmemiştir. Herhangi bir kanatlı etine alerjisi olduğu bilinen bireylerin,

Çapraz reaksiyon verebilen reaksiyonlar içermeleri dolayısıyla diğer kanatlı etlerine de alerjenik olabileceği kaydedilmektedir (24).

10.Sonuç

Gıda alerjilerinin en temel tedavisi sorumlu gıdanın diyetten çıkarılmasıdır. Hazır gıda t uketen duyarlı bireylerin gıda etiketlerini içerik yönünden dikkatlice incelemeleri gerekmektedir. Daha önce gıda t uketimine bağlı anafilaktik çok ya amı  bireyler yanlarında enjektabl epinefrin ta ımalı ve nasıl kullanıldığını bilmelidirler.

Alerji   phesinin doğrulanması için genellikle ticari ve taze gıda ekstraktları kullanılarak yapılan deri testlerinden veya RAST veya CAP testlerinden yararlanılmaktadır. Şüpheli gıda diyetten çıkarıldığında semptomların yok olması, tekrar diyetle katıldığında semptomların yeniden ortaya çıkması şüpheli gıdanın sorumlu olduğunu bildirmektedir .

Alerjilerin çoğunun okul öncesi ve okul dönemindeki çocuklarda ortaya çıktığı belirtilerek, okullarda duyarlı çocukların belirlenip, her türlü riskin minimize edilmesi gerektiği bildirilmektedir. Gıda alerjilerinde erken epinefrin uygulamalarının hayati önem taşıdığı göz önünde bulundurularak, okullarda bu konuda uzman ve her an müdahaleye hazır en az iki görevlinin bulundurulması gerektiği belirtilmektedir.

11.Kaynaklar

1. Aalberse, R.C., 2000. Structural biology of allergens. *J. Allergy, Clin. Immunol.* 106:228-238
2. Anderson, J.A., 1997. Milk, eggs and peanuts: Food allergies in children. *Am. Fam. Physician* 56(5):1365-1374.
3. Anon 1993. Cows milk allergy. *Nursing Times* 89(37):61-64.
4. Aragones, M.A., Calvo, B.J. Garcia Ara, M.C., Falco, N.S., Martin, P.A.M., 2001 Allergy to egg proteins. *Allergol. Immunopathol.* 29(2):84-95.
5. Arshad, H., 2001 Food allergen avoidance in primary prevention of food allergy. *Allergy* 56: Suppl. 67:113-116.
6. Asero, R., Mistrello, G., Rocarolo, D., 1999 Unusual egg allergy in an adult. *Allergy* 54(12):1335-1336.
7. Ayuso, R., Lehrer, S.B., Lopez, M., Reese, G., Ibanez, M.D., Esteban, M.M., Ownby, D.R., Schwartz, H., 2000. Identification of bovine IgG as a major crossreactive vertebrate meat allergen. *Allergy* 55:348-354.

8. Bahna, S.L., 1991. Breast milk and special formulas in prevention of milk allergy. *Adv. Exp. Med. Biol.* 310:445-451.
9. Bertino, E., Coscia, A., Martano, C., Fabri, C., Monti, G., Conti, A., 2000. IgE cross-reactivity between human and cow's milk proteins in atopik breast-fed infant. *J. Pediatr.* 136(3): 421-423.
10. Bilgehan, H., 1987. Aşırı duyarlılık tepkimeleri. *Temel Mikrobiyoloji ve bağışıklık Bilimi. Barış Yayınları* 447-456.
11. Boissieu, D., Matarazzo P., Dupont, C., 1997. Alergy to extensively hydrolyzed cow milk proteins in infants: Identification and treatment with an amino acid-based formula. *J. Pediatr.* 131:744-747.
12. Burks, W.A., Sampson, H., 1993. Food allergies in child. *Current problems in pediatrics* 23:230-252.
13. Chandra, R.K., 1997. Food hypersensitivity and allergenic disease: a selective review. *Am. J. Clin. Nutr.* 66(2):526-29.
14. Davis, P. J., Smales, C.M., James, D.C., 2001. How can thermal processing modify the allergenicity of proteins? *Allergy* 56 Suppl 67: 56-60.
15. De Martino, M., Peruzzi, M., De Luca, M., Amato, A.G., Galli, Lega, L., Azzari, C., Vierucci, A., 1993. Fish allergy in children. *Ann. Allergy.* 71:159-165.
16. Eggesbo, M., Botten, G., Halvorsen, R., Magnus, P., 2001. The prevalence of allergy to egg: a population-based study in young children. *Allergy* 56(5):403-411.
17. Fiocchi, A., Reatani, P., Riva, E., 2000. Beef allergy in children. *Nutrition.* 16:454-457.
18. Galant, S.P., 1993. Treatment and prevention of milk allergy. *West. J. Med.* 158(6):612-613.
19. Gamboa, P.M., Barber, D., Jauregui, I., Urriria, I., Gonzalez, G., Antepara, I., 2000. Allergy rhinitis to turtle food. *Allergy.* 55:405-419.
20. Han, G.D., Matsuno, M., Ito, G., Ikeuchi, Y., Suzuki, A., 2000. Meat allergy: Investigation of potential allergenic proteins in beef. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64(9): 1887 - 1895.
21. Hide, D.W., 1993. Cow's milk allergy. *Clin. Exp. Allergy.* 23(2):79-80.
22. Jarvinen, K.M., Suomalainen, H., 2001. Development of cow's milk allergy in breast-fed infants. *Clin. Exp. Allergy.* 31(7):978-987
23. Jeebhay, M.F., Robins, T.G., Lehrer, S.B., Lopata, A.L., 2001. Occupational seafood allergy. *Occup. Environ. Med.* 58(9):553-562
24. Kelso, J.M., Cockrell, G.E., Helm, R.M., Burks, A.W., 1999. Common allergens in avian meats. *J. Allergy Clin. Immunol.* 104:202-204.
25. Lehrer, S.B., Helbling, A., Dau, C.B., 1992. Seafood allergy: Prevalence and treatment. *J. Food Safety.* 13:61-76.
26. Leung, P.S., Chen, Y.C., Chu, K.H., 1999. Seafood allergy. *Microbiol. Immunol. Infect.* 32(3):143-154.
27. Musmand, J.J., Daul, C.B., Lehrer, S.B., 1993. Crustacea allergy. *Clin. Exp. Allergy* 23():722-732.

28. O'neil, C., Arthur, A.H., Lehrer, S.B., 1993. Allergic reactions to fish. *Clin. Rev. In Allergy*. 11:183-200.
29. Pascual, C.Y., Crespo, J.F., Perez, P.G., Esteban, M.M., 2000. Food allergy and intolerance in children and adolescents, an update. *Eur. J. Clin. Nut.* 54(1):75-78.
30. Polanco, I., 1992. Current status of digestive intolerant food protein. *J. Pediatr.* 121:s108-110.
31. Poulsen, L.K., Hansen, T.K., Norgaard, A., Vestergaard, H., Stahl Skov, P., Bindslev-Jensen, C., 2001. Allergens from fish and egg. *Allergy* 56Suppl. 67:39-42.
32. Riva, E., Fiocchi, A., Fiori, L., Giovannini, M., 2001. Prevention and treatment of cow's milk allergy. *Arch. Dis. Child.* 84(1):91.
33. Saarinen, K.M., Savilahti, E., 2000. Infant feeding affect the subsequent immunological features in cows milk allergy. *Clin. Exp. Allergy*. 30:400-406.
34. Saarinen, K.M., Backman, K.J., Jarvenpaa, A.L., Kuitunen, P., Lope, L., Renlund, M., Siivola, M., Savilahti, E., 1999. Supplementary feeding in maternity hospitals and the risk of cow's milk allergy: A prospective study of 6209 infants. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 104:457-461.
35. Sampson, H., 1999. Food Allergy. Part I: Immunopathogenesis and clinical disorders. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 103(5):717-728.
36. Sicherer, S.H., Sampson, H.A., 1999. Food hypersensitivity and atopic dermatitis: pathophysiology, epidemiology, diagnosis and management. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 104:114-122.
37. Smith, K.M., Eaton, A.D., Finlayson, L.M., Garside, P., 2000. Oral tolerance. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 162(4 Pt 2): 175-178.
38. Sprickelman, A.B., Heymans, H.S.A., Van Aalders, W.M.C., 2000. Development of allergic disorders in children with cows milk protein allergy or intolerance in infancy. *Clin. Eur. Allergy* 30:1358-1363.
39. Stricker, T., Braegger, P.C., 1998. Constipation and intolerance to cow's milk. *Engl. J. Med.* 339:1100-1104.
40. Vautrin, M.D.A., Sainte-Laudy, J., Kanny, G., 2001. Ulcerative colitis possibly due to hypersensitivity to wheat and egg. *Allergy*. 56(5):458-459.
41. Wuthrich, B., Johansson, S.G.O., 1995. Allergy to cheese produced from sheep's and goat's milk but not to cheese produced from cow's milk. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 96(2):270-273.

PROBİYOTİKLERİN İNSAN SAĞLIĞI AÇISINDAN ÖNEMİ

Yeliz YILDIRIM¹ Nurhan ERTAŞ¹ Ahmet H. DİNÇOĞLU²

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Kayseri TÜRKİYE

²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Urfa TÜRKİYE

E-Posta: yeliz_yildirim@erciyesu.edu.tr nurhan.ertas@hotmail.com

Özet: Sağlıklı ve iyi olma durumu insanların kalın bağırsaklarının mikroflora içeriği ile yakından ilişkilidir. Probiyotikler ağız yoluyla alındıklarında konağın sağlık ve fizyolojisini pozitif yönde etkileyen, patojen olmayan mikroorganizmalardır. Genellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinden oluşan probiyotikler, bağırsağın doğal florasında bulunurlar. İç ekosistemi veya immun sistemi düzenlemek suretiyle bağırsak fizyolojisini direk veya indirek olarak etkileyebilirler. Bu yüzden, probiyotik içeren ürünlerin sağlık açısından önemi, tüketicilerin tercihlerini etkileyen ve dolayısıyla bu tip ürünlerin pazar paylarının da hızla yükselmesine neden olan anahtar faktör olma yolundadır. Son zamanlarda elde edilen veriler oral probiyotik uygulamalarının bazı hastalıkların önlenmesinde ve gastrointestinal sistemde normal floranın tekrar inşa edilmesinde terapötik nitelikte olabileceğini savunmaktadır. Bu derleme, probiyotiklerin bağırsak mikroekolojisine nasıl katkıda bulundukları ve insan sağlığı açısından önemi konusunda bilgi vermektedir.

Anahtar kelimeler: Probiyotikler, Prebiyotikler, Bağırsak florası, Laktik asit bakterileri

IMPORTANCE OF PROBIOTICS FOR HUMAN HEALTH

Abstract: Health and well-being is closely in relation with the microflora components of the human large intestine. Probiotics are nonpathogenic microorganisms that positively effect the health and physiology of host when ingested. The successful probiotic strains which are mainly the members of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, naturally found in the intestinal tract. They can directly or indirectly influence intestinal physiology either through modulation of endogenous ecosystem or immun system. Thus the importance of probiotic containing products for health is becoming a key factor affecting consumer choice resulting rapid growth of the market for such products. Current evidence supports the concept that oral administration of probiotics may be therapeutic in preventing some disease and in reestablishing normal flora in the gastrointestinal tract. This article provides an overview of how probiotics contribute the gut microecology, with emphasis on their importance for human health.

Key Words: Probiotics, Prebiotics, Gut flora, Lactic acid bacteria

1.Giriş

Probiyotik kelimesi, Latince kökenli olup, "yaşam için" manasına gelmektedir. Probiyotikler, konakçının bağırsaklarında, patojen bakterilere karşı antagonist etki göstererek bağırsak flora dengesine yararlı etkilerde bulunan, çoğu laktik asit üreten, canlı bakteri suşlarını içeren ürünlerdir. Probiyotikler hakkında en çok kullanılan, bilimsel olarak da geçerli olan Fuller (1989)'in yapmış olduğu tanımdır. İnsan beslenmesinde bu tanım sağlığa yararlı canlı mikrobiyel gıda unsurları olarak ifade edilmiştir.Bu mikroorganizmalar genellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri gibi laktik asit üreten bakterileri kapsamaktadır (27,35).

Probiyotiklerin gelişebilmesi için prebiyotik adı verilen substratlarla kullanılması gerekmektedir. Prebiyotikler; bulundukları konağın kolonunda bir veya sınırlı miktardaki bakteri türlerinin gelişmesini, aktivitesini veya her ikisini birden stimüle ederek konağa yararlı etkileri olan sindirilemeyen gıda unsurları olarak tanımlanmaktadır. Bir gıdanın prebiyotik olarak sınıflandırılabilmesi için:

- 1.Gastrointestinal sistemin üst kısımlarında hidrolize veya absorbe olmaması,
2. Kolonda bir veya sınırlı sayıdaki yararlı kommensal bakteriler için selektif substrat görevi görüp bu bakterilerin gelişimini, metabolik aktivitelerini artırması,
- 3.Kolon mikroflorasını daha sağlıklı bir kompozisyona getirmesi,
- 4.İnsan sağlığına yararlı sistematik etkileri teşvik etmesi gerekmektedir (24,10).

Sindirilemeyen karbonhidratların kolondaki fermentasyondan ortaya çıkan kısa zincirli karboksilik asitler, ozmotik etkileri sonucu minerallerin çözünebileceği sıvı miktarını artırarak özellikle Ca^{2+} ve Mg^{2+} gibi minerallerin emilimini kolaylaştırmaktadır. Bu yolla inulin tipi fruktanların osteoporozis riskini azaltabileceği bildirilmektedir (27). İnulin tipi şekerler, buğday, soğan, muz, sarımsak ve pırasa gibi sebze, meyve ve hububatlarda bol miktarda bulunmaktadır. Probiyotik ve prebiyotiklerin tek bir gıda ürününde birleşmesi ile probiyotik bakterilerin, gastrointestinal sistemin üst kısımlarından canlı olarak geçerek kolonik mikroorganizmalara etki etme özelliklerinin kuvvetlenebileceği bildirilmektedir (18).

2. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

Probiyotik, prebiyotik ve simbiyotiklerin ortak örnekleri Tablo 1'de gösterilmektedir (5,35).

Tablo 1. Probiyotik, Prebiyotik ve Simbiyotik Örnekleri

<i>Lactobacillus</i> spp.	Gram pozitif koklar	<i>Bifidobacterium</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Propionibacterium</i> spp.	<i>Bacteroides</i> spp.	Mantarlar	Mayalar	Prebiyotikler	Simbiyotikler
<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. brevis</i> <i>L. cellobiosus</i> <i>L. curvatus</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. salivarius</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> <i>Streptococcus intermedius</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Pedococcus acidilactici</i> <i>P. cerevisiae</i> <i>P. damnosus</i> <i>P. penicillatus</i>	<i>B. bifidum</i> <i>B. adollescens</i> <i>B. animalis</i> <i>B. infantis</i> <i>B. longum</i> <i>B. thermophilum</i> <i>B. breve</i> <i>B. lactis</i>	<i>Bacillus coagulans</i> <i>Bacillus lentus</i> <i>Bacillus</i> <i>luceniformis</i> <i>Bacillus pumilus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>	<i>B. amylophilus</i> <i>B. capillosus</i> <i>B. rummocoila</i> <i>B. stans</i>	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces boulardii</i> <i>Torulopsis</i>	<i>FOS</i> <i>Inulin</i> <i>GOS</i>	<i>Bifidobacterium</i> spp. <i>FOS</i> <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Lactitol</i>

3. Bağırsak florası

Doğumu takiben ilk birkaç saat içinde yeni doğanların bağırsak sistemi sterildir fakat ilk beslenme ile çeşitli bakteriler kolonize olurlar. Yeni doğanların gastrointestinal sistemi öncelikle annenin vajinası, dışkısı ve çevreden kaynaklanan organizmalar tarafından oluşturulur (19,8,5).

Mide ve ince bağırsağın üst kısımları az miktarda mikroorganizma içerirken, kolona yaklaşıldığında mikroorganizma sayısı artarak, 10^{10} - 10^{11} kob/ml'ye ulaşır. Bağırsak florasının %99'u anaerobik bakterilerden oluşmaktadır. Normalde mide yaklaşık 2 dolaylarındaki düşük pH'sı nedeniyle maksimum 10^3 kob/ml düzeyinde mikroorganizma içermekte, bunlar da çoğunlukla gıda, içecekler ve burun yoluyla alınmaktadır (29,6).

Bağırsak mikroflorası, bağırsak hareketleri ve epitellerden salgılanan müsin, patojenlerin inhibisyonunu gerçekleştirmek veya bağırsak epitellerine tutunmalarını engellemek için sinerjik olarak non-spesifik bir savunma sistemi teşkil etmektedir (16,18). İnsan kalın bağırsağında bulunan bakteriler ve bulunma olasılıkları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2. İnsan kalın bağırsağında bulunan bakteriler ve bulunma olasılıkları (19).

Bakteri	Bağırsakta Bulunma Olasılığı (%)
<i>Bacteroides fragilis</i>	100
<i>Bacteroides melaninogenicus</i>	100
<i>Bacteroides oralis</i>	100
<i>Lactobacillus</i>	20-60
<i>Clostridium perfringens</i>	25-35
<i>Clostridium septicum</i>	5-25
<i>Clostridium tetani</i>	1-35
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	30-70
<i>Staphylococcus aureus</i>	30-50
<i>Enterococcus faecalis</i>	100
<i>Escherichia coli</i>	100
<i>Salmonella enteritidis</i>	3-7
<i>Salmonella typhi</i>	0.00001
<i>Klebsiella species</i>	40-80
<i>Enterobacter species</i>	40-80
<i>Proteus mirabilis</i>	5-55
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3-11

4. Probiyotiklerin etki mekanizmaları

Etki mekanizmalarının muhtemelen spesifik mikroorganizmalara, çevre faktörlerine, türler ve konakçının fiziksel kondisyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir (22).

Probiyotiklerin muhtemel etki şekilleri (4,9,21);

1. Bakteri sayısının baskılanması

- a. Besinler için diğer mikroorganizmalar ile rekabet
- b. Bazı enteropatojenlerin inhibisyonu için asit üretimi
- c. Bakteriyosin veya inhibitör metabolit üretimi
- d. İntestinal mukozaya yapışmak için rekabet

2. Mikrobiyel metabolizmanın değiştirilmesi

- a. Enzim aktivitesinin yükseltilmesi veya azaltılması

3. İmmunitenin uyarılması

- a. Antikor seviyesinin yükseltilmesi
- b. Makrofaj aktivitesinin yükseltilmesi

5. Probiyotik seçiminde kriterler

Probiyotiklerden istenilen etkiler; patojenlere karşı aktiviteleri, bağırsak mukozal bariyerinin güçlendirilmesi, bağışıklık sisteminin desteklenmesi, anti-allerjik etkileri, anti-mutajenik ve anti-tümörojenik aktiviteleri ve besinsel katkılarıdır (34,15).

Etkili bir probiyotik:

- İnsan orijinli olmalı
- Bağırsak sisteminin normal bir üyesi olmalı
- Düşük pH'ya, mide asidine, sindirim enzimlerine, peristaltığe, safraya, lokal immün mekanizmalarına, organik asitlere, diyet değişikliklerine, oksijene ve diğer bakteriyel etkileşimlere dayanıklı olmalı
- Anti-mikrobiyel madde üretme yeteneğinde olmalı
- Ürün işleme ve depolamaya dayanıklı olmalı
- Patojen ve toksik özellikte olmamalı

- Yüklü miktarda yaşayabilir hücrelerden oluşmalı
- Bağırsakta canlı kalabilme, kolonize olabilme ve metabolize olma yeteneğine sahip olmalı
- Uygulandığında normal bağırsak florasına adapte olmalı
- Fermentasyondan sonra iyi bir çeşni ve aroma sağlamalı
- Depolanma sırasında uygun asitliği sağlamalı
- Kuru dondurma ve diğer dondurma metotlarından sonra stabiliteyi korumalı
- Uygun dozlarda kullanıldığında istenen etkiler elde edilmelidir.

6. Probiyotiklerin Faydaları

Kailasapathy ve Chin (2000) teropatik yararların gözlenebilmesi için haftada 400-500gr 1.0×10^6 kob/g *Bifidobacterium* türleri ve *L. acidophilus* içeren probiyotik yoğurdun düzenli olarak tüketiminin gerekli olduğunu ortaya koymuşlardır. Probiyotiklerin B vitaminlerinden bazılarının yapımında da etkili olduğu belirtilmektedir (13).

Probiyotiklerin faydaları arasında;

1.Patojenlerin gelişimi ve üremesini engellemek (28)

- *Cl. difficile* enfeksiyonlarını engellemek (2,25)
- Rotaviral enfeksiyonların diyarel fazının kısaltmak
- IBD (Inflammatory Bowel Disease)'e karşı tedavi etmek(32)
- Seyahat ishallerinden korumak
- Yeni doğanların ishallerini önlemek (14)
- *Helicobacter pylori* gastroenteritislerini baskılamak (1,17)

2.Bağıışıklık sistemini aktive etmek (7)

3.Antibiyotik tedavisinin ardından bağırsak ve ürogenital sistem florasını dengelemek ve yeniden yapılanmasını sağlamak (12)

4.Laktoz maldigesyonunu hafifletmek

5.Serum kolesterol seviyesini azaltmak (23)

6.Kolon kanserlerini önlemek (3, 26, 28)

- Fekal enzim ve mutajeniteyi azaltmak

7.Sirozlu hastalarda hemodinamik değişiklikler meydana getirmek (31)

8. Gıda allerjilerini engellemek (20)
9. Hepatik ensefalopatinin yan etkilerini azaltmak
10. Ürogenital sistem enfeksiyonlarını engellemek
11. Üst gastrointestinal sistem hastalıklarının oluşumunu engellemek
12. Konstipasyonu tedavi etmek
13. Bağırsağın mukozal bariyerinin devamlılığını sağlamak
14. Osteoporozisin engellenmesi(5,11).

7.Süte Kültürler Ekleyerek Pazar Değerinin Arttırılması

Kültür eklemek, fermentasyon veya her ikisinin birden kullanımı ile süt ürünlerinde değişik tat ve tekstür sağlanabilmektedir. Enterokoklar, Laktobasiller ve Bifidobakteriler gibi arzu edilen klinik etkileri olan probiyotikler; yoğurt, kahvaltılıklar, çeşitli içecekler, dondurulmuş tatlılar, peynirler, soğuk tatlılar ve fermente olmayan taze sültere ve diğer bazı süt ürünlerine katılarak kullanılmaktadır (4).

Bağırsak orijinli olmamaları ve bağırsakta kolonize olma yeteneklerinin olmaması dolayısıyla yoğurt mikroorganizmaları probiyotik olarak nitelendirilememekte, fakat yüksek laktaz aktivitelerinden dolayı laktöz maldigesyon şikayetleri ve özellikle probiyotik kültürlerin canlılığını sürdürebilmesi için önerilmektedir (30). Ticari ürünlerde sıklıkla kullanılan probiyotiklerin, günde 100ml dozunda ve her gramında 10^6 kob bulunacak şekilde düzenli olarak tüketilmeye devam edildiğinde dışkıda 10^6 kob/g saptanabileceği bildirilmektedir (4). Ticari olarak kullanılan probiyotik kültürler ve kaydedilen yararları Tablo 3'de gösterilmektedir.

Japonya'da Fermente Süt ve Laktik Asit İçecekleri Birliği (The Fermented and Lactic Acid Beverages Association), bir süt ürününde Bifidobakterlerin teropatik etkilerinin gözlenebilmesi için, mililitresinde en az 10^7 canlı hücre bulunması gerektiğini bildirmiştir. İsviçre gıda tüzüğü de Uluslararası FIL/IDF (Food additives Intake Level) Standardı, bu tür ürünlerde Bifidobacterium türlerinin en az 10^6 kob/g düzeyinde bulunması gerektiğini belirtmektedir (33).

Tablo:3 Ticari olarak kullanılan probiyotikler ve yararları(4)

TÜRLER	KAYDEDİLEN FAYDALARI
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LC1	Bağıışıklığın artırılması, aşı adjuvantı, gastrointestinal sistemde mikrobiyel denge sağlanması
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NFO1748	Fekal enzimlerin azaltılması, diyare ve konstipasyon tedavisi
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	Fekal enzimlerin azaltılması
<i>Lactobacillus acidophilus</i> L1	Serum kolesterol seviyesinin azaltılması,
<i>Lactobacillus acidophilus</i> DDS1	Serum kolesterol seviyesinin azaltılması, bağışıklığın artırılması, kanserin önlenmesi
<i>Lactobacillus johnsonii</i> LA1	Bağıışıklığın artırılması, adjuvant olarak kullanımı ve gastritisin tedavisi
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	Bağıışıklığın artırılması, diyare tedavisi veya önlenmesi, Crohn's hastalığı ve dental karies, romatizmal artrit oluşumlarında
<i>Lactobacillus casei</i>	Bağıışıklığın artırılması, gastrointestinal sistem mikroflorasının dengelenmesi, fekal enzimlerin azaltılması, idrar kesesinin süperfisiyal kanserlerinin tedavisi
<i>Lactobacillus gasseri</i> ADH	Fekal enzimlerin azaltılması
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Bağıışıklığın artırılması
<i>Enterobacter faecium</i> GA10	Serum kolesterol seviyesinin azaltılması
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Rotaviral diyarelerin tedavisi, gastrointestinal sistem mikroflorasının dengelenmesi
Yoğurt Kültürleri	Laktöz maldigesyon semptomlarının hafifletilmesi, immün sistemin modülasyonu

8.Sonuç

Gastrointestinal bölgede bulunan kompleks mikrobiyel flora, hastalıklara karşı etkin bir direnç sağlar, fakat bu koruyucu flora, alınan diyet veya çevresel faktörlerin etkisiyle zarar görerek hastalıklara karşı hassasiyeti artırılabilir. Probiyotik tedavileri ile zarar gören bu doğal ortamın yeniden düzenlenerek insan ve hayvanların normal beslenme, gelişme ve sağlık koşullarına kavuşmaları sağlanmaktadır.

Son yıllarda klinik çalışmalara uyum sağlayabilen, aktif, canlı kalabilme yeteneği yüksek iyi kalite probiyotiklerin geliştirilmesi konusunda önemli ilerlemeler sağlanmıştır. Probiyotik ve simbiyotiklerin, çeşitli sağlık sorunlarına karşı tedavi ve profilakside kullanımının ucuz, ve güvenli olması ve kolay uygulanabilmesi kullanımını yaygınlaştırmaktadır. Belirtilen yararlarının kesin bir şekilde ortaya konması, mekanizmalarının belirlenmesi ve gıda endüstrisinde kullanım alanlarının daha iyi anlaşılabilmesi için iyi planlanmış kontrollü çalışmalar sürdürülmelidir.

10. KAYNAKLAR

1. Aiba Y, Suzuki N, Kabir AM, Takagi A, Koga Y. 1998. Lactic acid mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am J Gastroenterol.* 93: 2097-2101.
2. Bennet RG, Gorbach SL, Goldin BR. 1996. Treatment of relapsing *Clostridium difficile* diarrhea with *Lactobacillus GG*. *Nutrition Today.* 31: 35-8.
3. Brady LJ, Gallaher DD, Busta FF. 2000. The role of probiotic cultures in prevention of colon cancer. *J Nutr.* 130:410-414.
4. Chandan RC. 1999. Enhancing market value of milk by adding cultures. *J Dairy Sci.* 82:2245-2256.
5. Collins MD, Gibson GR. 1999. Probiotics, prebiotics and synbiotics approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr.* 69:1052-1057.
6. Conway P. 1995. Microbial ecology of the human large intestine. *CRC Press*, 1-24.
7. Cunniffham-Rundles S, Ahne S, Bengmark S, Johann-Liang R, Marshall F, Metakis L, Califano C, Dunn AM, Grassey C, Hinds G, Cervia J. 2000. Probiotics and immun response. *Am J Gastroenterol.* 95:22-25.
8. Dai D, Walker WA. 1999. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Adv Pediatr.* 46:353-382.
9. Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol.* 66: 365-378.
10. Gibson GR, Roberfroid MB. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 125: 1401-1412.
11. Gilliland SE. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Mic Reviews.* 87:175-188.
12. Gionchetti P, Rizello F, Matteuzzi D. 1998. Microflora in the IBD pathogenesis. Possible therapeutic use of probiotics. *Gastroenterol Internat.* 11:108-110.
13. Gorbach S L. 2000. Probiotics and gastrointestinal health. *Am J Gastroenterol.* 95 (Suppl.) 2-4.
14. Guarino A, Canani RB, Spagnuolo MI, Albano F, Di Benedetto L. 1997. Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea. *J Pediatric Gastroenterol Nutr.* 25:516-519.
15. Guarner F, Schaafsma GJ. 1998. Probiotics. *Int J Food Microbiol.* 39:237-238.
16. Hove H, Norgaard H, Mortensen PB. 1999. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract. *Eur J Clin Nutr.* May;53(5):339-350.
17. Kabir AM, Aiba Y, Takagi A, Kamiya S, Miwa T, Koga Y. 1997. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut.* 41: 49-55.
18. Kailasapathy K, Chin J. 2000. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol Cell Biol.* 78(1): 80-88.
19. Levy J. 2000. The effects of antibiotic use on gastrointestinal function. *Am J Gastroenterol.* 95(1):1-10.
20. Majamaa H, Isolauri E. 1997. Probiotics: A novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 99:179-185.
21. Mishra C, Lambert J. 1996. Production of anti-microbial substances by probiotics. *Asia Pacific J Clin Nutr.* 5:20-24.
22. Montes AJ, Pugh DG. 1993. The use of probiotics in food animal practice. *Veterinary Medicine.* March. 282-288.
23. Nicola M, Martijn BK. 2000. Effects of probiotics bacteria on diarrhea, lipid metabolism and carcinogenesis: a review of paper published between 1988 and 1999. *Am J Clin Nutr.* 71:405-411.
24. Park SF, Kroll RG. 1993. Expression of listeriolysin and phosphatidylinositol specific phospholipase C is repressed by the plant derived molecule cellobiose in *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol.* 8:653-661.
25. Pochapin MMD. 2000. The effect of probiotics on *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Gastroenterol.* 95(Suppl.):11-13.
26. Reddy BS. 1999. Possible mechanisms by which pro- and prebiotics influence colon carcinogenesis and tumor growth. *J Nutr.* Jul;129(7 suppl):1478-82.
27. Roberfroid MB. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr.* 71:162-168.

28. Roos NM, Katan MB. 2000. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis. *Am J Clin Nutr.*, Feb;71(2):405-411.
29. Saloff-Coste CJ. 1997. The gastrointestinal microflora and fermented milks. Danone World Newsletter, N° 14 May. 1-13.
30. Samona A, Robinson RK. 1994. Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. *J Soc Dairy Technol.*, 47:58-60.
31. Santis AD, Famularo G, Simone CD. 2000. Probiotics for the hemodynamic alterations of patients with liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol.*, 95(1): 323-324.
32. Schultz M, Sartor RB. 2000. Probiotics and Inflammatory Bowel Diseases. *Am J Gastroenterol.*, 95(Suppl.) 19-21.
33. Shin HS, Lee JH, Petska JJ, Ustunol Z. 2000. Viability of Bifidobacteria in commercial dairy products during refrigerated storage. *J Food Prot.*, 63(3): 327-331.
34. Vaughan EE, Mollet B. (1999). Probiotics in the new millennium. *Nahrung.* 43(3):148-153
35. Yurtalan, S., Ateş, M. (1995). Probiyotikler. *Hayvancılık Araştırma Dergisi.* 5(1-2):99-106.

STARTER KÜLTÜR KULLANIMININ MANDA PASTIRMASININ BAZI KALİTE NİTELİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Zafer GÖNÜLALAN¹

Yeliz YILDIRIM¹

Nurhan ERTAŞ¹

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı-Kayseri

Özet: Bu araştırma, deneysel olarak üretilen manda pastırmasında, *Staphylococcus carnosus* ve *Staphylococcus carnosus*+*Lactobacillus pentosus* ticari starter kültürlerinin bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu kalite özelliklerine olan etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Toplam 9 adet sağlıklı aynı ırk, yaş grubunda ve aynı üreticiye ait mandaların kontrfile kası materyal olarak kullanıldı. *Staphylococcus carnosus* ve *Staphylococcus carnosus*+ *Lactobacillus pentosus* ticari starter kültürleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda sırasıyla birinci ve ikinci grupta yer alan kaslara enjeksiyon yöntemiyle uygulandı. Kültür bakterilerinin homojen dağılımını sağlamak amacıyla 30 dakika vakumlu tamburlama işlemi uygulandıktan sonra geleneksel yöntemlerle pastırma imalatı gerçekleştirildi. Üretimi takiben pastırma örnekleri vakumlanarak +4 °C' de muhafazaya alındı. Pastırma örnekleri, kimyasal olarak; pH, rutubet, mikrobiyolojik olarak; koliform grubu, *staphylococcus micrococcus*, *lactobacillus psychrotrophic*, maya-küf, *halophylic*, toplam mezofilik aerobik mikroorganizma yükü bakımından analiz edildi. Pastırma örneklerinin duyu kalite nitelikleri (tekstür, renk ve aroma) hedonik tip skala ile değerlendirildi.

Anahtar Kelimeler: Pastırma, Starter kültür, Kalite nitelikleri.

EFFECTS OF STARTER CULTURE USE ON SOME QUALITY CHARACTERISTICS OF PASTRAMI MANUFACTURED FROM WATER BUFFALO MEAT

Abstract: The present work was carried out to investigate the effects of commercial starter culture (*Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus carnosus*+*Lactobacillus pentosus*) use on some chemical, microbiological and sensorial characteristics of pastрами manufactured from buffalo meat. Total of 9 sirloin muscles of healthy water buffalo from same herd, breed and age were used as material. *Staphylococcus carnosus*

and *Staphylococcus carnosus*+ *Lactobacillus pentosus* commercial starter cultures were injected to muscles of first and second groups respectively according to the manufacturer recommendations. All groups were vacuumed and tumbled during 30 min. to ensure the homogeneous distribution of starter cultures and traditional methods were applied for pastırma manufacture. Pastrami samples were vacuum packed and preserved at +4 °C. Pastrami samples were analysed for chemical (pH, moisture) and microbiological (coliform groups, *staphylococcus micrococcus*, *lactobacillus*, *psychrotrophic*, *halophylic*, total aerobic mesophilic microorganisms and yeasts and mold) profile. Sensorial properties (texture, colour and flavour) were evaluated with a hedonic type scala.

Key Words: Pastrami, Starter culture, Quality characteristics.

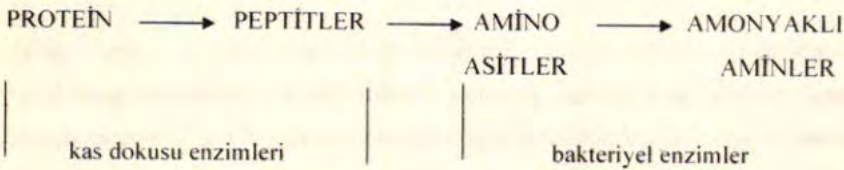
GİRİŞ

İlk kez Orta Asya Türkleri tarafından üretilen pastırma, parça halindeki etlerin tuzlanması, kurutulması sürecinden sonra çemenlendikten sonra ince dilimler halinde kesilerek çiğ ya da pişmiş olarak tüketilmektedir. Pastırma üretimi Türklerin Anadolu'ya gelmesinden sonra Kayseri'de günümüze kadar uzanan geleneksel bir sanat halini almıştır (15,28). Pastırma, Mısır ve Ermenistan'da da tanınan bir et ürünü olmakla birlikte Güney Amerika'da charque, Nijerya ve Batı Afrika'da kilishi, Etiyopya ve Doğu Afrika'da qwanta, Somali'de odka, Güney Afrika'da biltong adı verilen et ürünleri de parça halindeki etlerden hazırlanan geleneksel ürünlerdir (13).

Türk Standartları Enstitüsü Pastırma Standardında, pastırma, sığır veya manda gövde etlerinden, usulüne göre ayrılan parçaların belirli teknik işlemlerden geçirilerek kurutulması ve sonra çemenlenmesiyle elde edilen bir et ürünü olarak tanımlanmaktadır (7). Gelişimini tamamlamış mandanın, yeterli hijyen ve sanitasyon uygulamalarının gerçekleştirildiği modern mezbahalarda kesilmesi ve işlenmesi halinde kaliteli ve uzun ömürlü ürünlere dönüştürülebileceği bildirilmektedir (30). Manda karkasından sağlanan et yeterli kas gelişimi ve son derece az yağlı olması nedeni ile yüksek kalitelidir (25). Pastırma yapımında genellikle besi durumu iyi 3-6 yaşlarındaki inek, tosun (1.5-4 yaş arasındaki kısırlaştırılmış erkek sığır) ve toksa (kısırlaştırılmış erkek manda) etleri kullanılır (28). Ülkemizde 2000 yılı toplam manda sayısı 146.000 olarak verilirken aynı

yıl üretilen toplam manda eti miktarı 4.047.000 kg civarında olduğu bildirilmiştir (9). İtalya, Mısır, Bulgaristan, Avustralya, Venezuela gibi ülkelerde manda hayvansal et kaynağı olarak büyük önem taşımakta, bazı alanlarda manda eti tüketimi sığır eti tüketimini geçmektedir. Hindistan'da da hakim olan inanç gereğince sığır kutsal sayılıp eti yenilmez iken sığır etinin yerini manda eti almıştır (13). İtalya'da yapılan bir araştırmada (21), sığır etinden tuzlama ve kürlenme yöntemlerinin birlikte kullanılması ile imal edilen Bresaola isimli ürünü manda eti kullanarak üretmişler, sonuç olarak, manda etinden imal edilecek farklı kürlenmiş ürünlerle ayrı bir piyasa oluşturulabileceğini ifade etmişlerdir.

Türkiye'de pastırma üretiminde temel sorun standart ürün imal edilmesindeki güçlükler olmakla birlikte, iklimik şartların üretime uyarlanması, kürlenme yöntemleri, katkı maddeleri, kurutma ve presleme şartları, imalatta starter ve koruyucu kültürlerin kullanımına ilişkin çalışmaların önem taşıdığı ifade edilmektedir (8). Fermente et ürünlerinin tipik lezzetini katkı maddeleri ve uygulanan işlemlerin yanı sıra lipoliz ve proteoliz sonucu oluşan aminoasitler, serbest yağ asitleri, karboniller ve uçucu lezzet bileşikleri oluşturmaktadır (14). Et dokusunda, proteinlerin degradasyonunda kas hücresinde bulunan cathepsin D benzeri enzimler ilk etkiyi oluşturmakta diğer parçalanma basamaklarında bakteriyel enzimler daha önemli rol oynamaktadır ve oligopeptidlerin tam hidrolizinin gerçekleşmesi için endojen ve mikroorganizmal peptidazların birlikte bulunması ve etki etmesi gerektiği bildirilmektedir (19,23).



Kürlenmiş parça haldeki et ürünlerinin tipik starter kültürlerini duyuşal niteliklerin geliştirilmesine yardımcı olan ve mikrobiyal açıdan güvence sağlayan laktik asit bakterileri (LAB) ile *Micrococcaceae* familyasına bağlı türler oluşturmaktadır (18). Starter kültür mikroorganizmalarından *Staphylococcus carnosus* leucine aminoasitini katabolize ederek yüksek düzeylerde oluşturduğu 3-methyl butanoic asit ile fermente etlerde aroma oluşturma kabiliyetine sahip önemli mikroorganizmalardan

birisi kabul edilirken, laktik asit bakterilerinin leucini katabolize etme yeteneğinin olmadığı bildirilmektedir (17). *Staphylococcus carnosus* ve *Staphylococcus xylosus*' un bir çok aminoasiti katabolize etme yeteneğinin olduğu aynı zamanda nitrata etkili bir şekilde indirgeme özellikleri dolayısı ile starter kültür olarak kullanıldığı kürlenmiş etlerde hemen bütün önemli uçucu lezzet bileşenlerini oluşturma özelliğinin bulunduğu belirtilmiştir (20,26,27). Laktik asit bakterileri de proteolitik enzimleri vasıtası ile meydana getirdikleri amino asitler dolayısı ile aroma, tekstür gibi kalite niteliklerini geliştirirken, laktik asit, antimikrobiyal peptidler, bakteriosinler ve diğer düşük molekül ağırlığına sahip bileşikler üretmek suretiyle de probiotik ve biokoruyucu kültürler olarak fermente et ürünlerinin imalatında kullanılabilmektedirler (22, 24, 29.).

Türkiye'de pastırma imalatında starter kültür kullanımına ilişkin olarak yapılan çalışmalarda pastırma imalatında starter kültür kullanımının son ürün özellikleri üzerine olan etkisi (2), potasyum nitrat ve starter kullanılarak üretilen pastırmaların bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri (3), farklı kürleme yöntemleri ve starter kültür kullanılarak pastırma üretimi (4), ticari starter kültür preperatlarının pastırma üretiminde kullanım imkanları (5) araştırılmıştır. Bununla birlikte Türkiye'de manda etinden pastırma yapımına ilişkin bir literatür bilgiye rastlanılmaz iken; Mısır'da geleneksel yöntemlerle yaklaşık 3 haftada üretilen manda eti pastırmaları, iç sıcaklığı elektrikli fırında 71 °C'ye kadar çıkarılarak kısmi kuruma sağlanan etler 6 günde olgunlaştırılabilmiş ve bu yöntemle üretilen pastırmaların, geleneksel yöntemlerle üretilen pastırmalara göre mikrobiyel yük bakımından daha güvenli olduğunu açıklamıştır (16).

Bu araştırma, manda pastırması imalatında kullanılan *Staphylococcus carnosus* (Bactoferm™ C-P-77) ve *Staphylococcus carnosus*+*Lactobacillus pentosus* (C-P-77S Bactoferm™) ticari starter kültürlerinin son ürünün bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal niteliklerine olan etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, özel bir kombinadan temin edilen, 2 yaşlı ve aynı sürüye ait erkek mandaların kontrfile kasları kullanıldı. Toplam 9 adet kontrfile +4 °C'de 1 gün dinlendirildikten sonra 3 gruba ayrıldı. Birinci grup (A Grubu) ete *Staphylococcus*

carnosus (Bactoform™ C-P-77), ikinci grup (B Grubu) ete ise *Staphylococcus carnosus* + *Lactobacillus pentosus* (C-P-77S Bactoform™) ticari starter kültürleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandıktan sonra enjeksiyon yöntemi ile uygulandı. Üçüncü grup et ise kontrol grubu olarak starter kültür enjeksiyonu yapılmadan pastırma imalatında kullanıldı. Kültürlerin etlere uygulanmasından sonra mikroorganizmaların homojen dağılımını sağlamak amacıyla 30 dakika vakumlu (20 milibar, 3dk vakum 1dk dinlenme) tamburlama işlemi uygulandı (Suhner Massager, Tender-Vac VT-300, AGCH 5620). Tamburlama işlemi, her gruba ayrı olarak ve her uygulama sonunda tambur temizlenip dezenfeksiyonu sağlandıktan sonra gerçekleştirildi. İki grupta kültürlerin tamburlama işlemi ile ete homojen dağılımı sağlandıktan sonra geleneksel yöntemlerle pastırma imalatına geçildi.

Pastırma Üretim Aşamaları:

- | | |
|--|---|
| 1. Etin hazırlanması, şaklanması ve tuzlanması | 7. II. kurutma (3 gün) |
| 2. İstif (24 saat) | 8. Sıcak denkleme (1.0 kg/cm ² , 2 saat) |
| 3. Döndürüp istifleme (12 saat) | 9. III. Kurutma (3 gün) |
| 4. Yıkama (2 dakika) | 10. Çemende yatırma (3 gün) |
| 5. I. kurutma (3 gün) | 11. Çemenli kurutma (2 gün) |
| 6. Soğuk denkleme (1.0 kg/cm ² , 12 saat) | |

Üretimi tamamlanan pastırmalar 250 gr.lık porsiyonlara ayrılarak P.V.C. ambalajlarda vakumlanarak buzdolabı sıcaklığında (+4 °C'de) muhafazaya alındı.

Analize alınan örnekler, kimyasal olarak; pH, rutubet içerikleri (10), mikrobiyolojik olarak; *koliform* grubu, *staphylococcus micrococcus*, *lactobacillus psychrotrophic*, maya-küf, *halophylic*, toplam mezofilik aerobik mikroorganizma yükü bakımından analiz edildi (11,12).

Pastırma örneklerinin duyuşal değerlendirilmesinde, 9 puanlık hedonic bir skala ile tekstür, renk, aroma ve genel beğeni kriterleri değerlendirildi (6).

İstatistiksel metot; İki tekrarlı yapılan analizler sonucunda elde edilen verilere gruplar için analiz dönemleri arasındaki farkın önemini belirlemek amacıyla t testi uygulandı. Grup içi dönemler arası farklar LSD testi ile kontrol edildi. Analiz dönemlerinde gruplar arası farklılığı belirlemek amacıyla one way ANOVA testi uygulandı. Gruplar arası farkların önemliliği Duncan testi ile kontrol edildi (1).

BULGULAR

Pastırmalık etlerin başlangıç pH ile rutubet, tuz içeriği, protein, yağ ve kül değerleri (%) sırasıyla 5.62 ± 0.09 , 71.02 ± 0.15 , 0.54 ± 0.11 , 21.04 ± 0.11 , 2.25 ± 0.29 , 5.63 ± 0.30 olarak, başlangıç mikroorganizma içerikleri ise *koliform* grubu, *staphylococcus micrococcus*, *lactobacillus spp.*, *psychrotrophic* mikroorganizma, maya-küf, *halophylic*, toplam mezofilik aerobik yönünden sırası ile ($\log_{10}$ kob/g), 2.68 ± 1.05 , 3.73 ± 0.40 , 3.71 ± 0.12 , 3.72 ± 0.24 , <1 , 3.35 ± 0.10 , 5.56 ± 0.02 olarak tespit edildi. Koliform grubu mikroorganizma sayısı pastırma üretim işlemlerini takip eden 1. günden itibaren saptanabilir limitin altında olarak belirlenirken, tuz içeriği, protein, yağ ve kül bileşenlerinin miktarları (%) sırasıyla 4.61 ± 0.26 , 32.15 ± 0.20 , 6.21 ± 0.32 , 7.23 ± 0.27 olarak belirlenmiştir.

Pastırma gruplarında 60 günlük muhafaza periyodu sonunda elde edilen pH (Tablo1), rutubet (Tablo 2) değerleri, *staphylococcus micrococcus* grubu mikroorganizma sayısı (Tablo 3), laktik asit bakterilerinin sayısı (Tablo 4), *psychrotrophic* mikroorganizma sayısı (Tablo 5), maya- küf sayısı (Tablo 6), *halophylic* mikroorganizma sayısı (Tablo 7), mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı (Tablo 8) ve duyu analizi sonuçları (Tablo 9) sırasıyla tablolar halinde sunulmaktadır.

Tablo 1. Pastırmalarda saptanan pH değerleri*

Gruplar	1.Gün X±SE	7.Gün X±SE	15.Gün X±SE	30.Gün X±SE	60.Gün X±SE
Kontrol	$5.56^{Cb} \pm 0.07$	$5.60^{Bb} \pm 0.06$	$5.63^{Ba} \pm 0.05$	$5.70^{Aa} \pm 0.04$	$5.75^{Aa} \pm 0.02$
A grubu	$5.69^{Aa} \pm 0.08$	$5.63^{Ba} \pm 0.01$	$5.55^{Cb} \pm 0.01$	$5.52^{Cb} \pm 0.01$	$5.50^{Cb} \pm 0.03$
B grubu	$5.55^{Ab} \pm 0.06$	$5.54^{Ac} \pm 0.08$	$5.50^{Bc} \pm 0.06$	$5.41^{Cc} \pm 0.06$	$5.40^{Cc} \pm 0.04$

Tablo 2. Pastırma örneklerinde saptanan rutubet değerleri (%)*

Gruplar	1.Gün X±SE	7.Gün X±SE	15.Gün X±SE	30.Gün X±SE	60.Gün X±SE
Kontrol	52,29 ^b ± 0.17	52,40 ^b ± 0.23	52,80 ^b ± 0.12	52,43 ^b ± 0.15	52,15 ^b ± 0.09
A grubu	53,50 ^a ± 0.21	53,25 ^a ± 0.19	53,45 ^a ± 0.20	53,10 ^a ± 0.10	52,85 ^a ± 0.12
B grubu	52,49 ^b ± 0.19	52,38 ^b ± 0.11	52,40 ^b ± 0.12	52,21 ^b ± 0.13	52,20 ^b ± 0.16

Tablo 3. Pastırmalarda *staphylococcus/micrococcus* grubu mikroorganizma sayısı (log₁₀ kob/g)*

Gruplar	1.Gün X±SE	7.Gün X±SE	15.Gün X±SE	30.Gün X±SE	60.Gün X±SE
Kontrol	4,69 ^{Dc} ± 0.07	4,75 ^{Cc} ± 0.12	4,70 ^{Bc} ± 0.11	4,71 ^{Bc} ± 0.05	5,04 ^{Ac} ± 0.21
A grubu	5,99 ^{Ds} ± 0.12	6,01 ^{Ds} ± 0.13	6,05 ^{Cs} ± 0.16	6,58 ^{Bs} ± 0.12	6,95 ^{As} ± 0.22
B grubu	5,65 ^{Eb} ± 0.24	5,73 ^{Ds} ± 0.09	5,84 ^{Cb} ± 0.10	6,17 ^{Bs} ± 0.14	6,75 ^{Ab} ± 0.14

Tablo 4. Pastırmalarda saptanan laktik asit bakterilerinin sayısı (log₁₀ kob/g)*

Gruplar	1.Gün X±SE	7.Gün X±SE	15.Gün X±SE	30.Gün X±SE	60.Gün X±SE
Kontrol	3,25 ^{Ac} ± 0.21	3,17 ^{Bc} ± 0.08	3,08 ^{Cc} ± 0.12	3,07 ^{Dc} ± 0.09	3,00 ^{Ec} ± 0.20
A grubu	3,90 ^{Ab} ± 0.17	3,95 ^{Ab} ± 0.07	3,83 ^{Bs} ± 0.14	3,80 ^{Bs} ± 0.19	3,43 ^{Cb} ± 0.09
B grubu	5,04 ^{Ds} ± 0.25	5,33 ^{Cs} ± 0.04	5,64 ^{Bs} ± 0.13	5,62 ^{Bs} ± 0.18	5,74 ^{As} ± 0.05

Tablo 5. Pastırmalarda saptanan *psychrotrophic* mikroorganizma sayısı (log₁₀ kob/g)*

Gruplar	1.Gün X±SE	7.Gün X±SE	15.Gün X±SE	30.Gün X±SE	60.Gün X±SE
Kontrol	4,76 ^{Bc} ± 0.14	4,39 ^{Dc} ± 0.21	4,56 ^{Cc} ± 0.14	4,98 ^{Ac} ± 0.10	4,73 ^{Bs} ± 0.14
A grubu	5,35 ^{Cb} ± 0.16	5,39 ^{Bs} ± 0.14	5,42 ^{Ab} ± 0.09	5,44 ^{Ab} ± 0.11	5,46 ^{As} ± 0.08
B grubu	5,60 ^{Cs} ± 0.20	5,96 ^{As} ± 0.22	5,73 ^{Bs} ± 0.05	5,53 ^{Ds} ± 0.17	5,48 ^{Es} ± 0.20

Tablo 6. Pastırmalarda saptanan maya- küf sayısı (log₁₀ kob/g)*

Gruplar	1.Gün X±SE	7.Gün X±SE	15.Gün X±SE	30.Gün X±SE	60.Gün X±SE
Kontrol	2,10 ^{Ds} ± 0.06	2,31 ^{Cb} ± 0.14	2,40 ^{Bc} ± 0.09	2,53 ^{Ab} ± 0.25	2,56 ^{As} ± 0.12
A grubu	2,15 ^{Cs} ± 0.22	2,50 ^{Bs} ± 0.09	2,62 ^{As} ± 0.11	2,61 ^{As} ± 0.06	2,52 ^{Bs} ± 0.16
B grubu	2,08 ^{Eb} ± 0.06	2,39 ^{Cb} ± 0.19	2,57 ^{Ab} ± 0.15	2,44 ^{Bc} ± 0.14	2,30 ^{Ds} ± 0.10

Tablo 7. Pastirmalarda saptanan *halophytic* mikroorganizma sayısı (log₁₀ kob/g)*

Gruplar	1.Gün	7.Gün	15.Gün	30.Gün	60.Gün
	X±SE	X±SE	X±SE	X±SE	X±SE
Kontrol	5.47 ^{Ab} ± 0.15	5.38 ^{Ba} ± 0.25	5.10 ^{Cb} ± 0.15	4.95 ^{Db} ± 0.17	4.86 ^{Ec} ± 0.10
A grubu	5.38 ^{Ca} ± 0.12	5.29 ^{Cb} ± 0.19	5.92 ^{Ba} ± 0.21	5.99 ^{Aa} ± 0.16	6.06 ^{Aa} ± 0.23
B grubu	4.78 ^{Cc} ± 0.26	4.96 ^{Bc} ± 0.28	4.73 ^{Cc} ± 0.20	5.00 ^{Bb} ± 0.17	5.30 ^{Ab} ± 0.09

Tablo 8. Pastirmalarda saptanan mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı (log₁₀ kob/g)*

Gruplar	1.Gün	7.Gün	15.Gün	30.Gün	60.Gün
	X±SE	X±SE	X±SE	X±SE	X±SE
Kontrol	6.24 ^{Eb} ± 0.09	6.40 ^{Dc} ± 0.11	6.72 ^{Cc} ± 0.12	6.79 ^{Bc} ± 0.18	6.90 ^{Aa} ± 0.23
A grubu	7.80 ^{Ba} ± 0.26	7.19 ^{Db} ± 0.05	7.33 ^{Cb} ± 0.15	7.85 ^{Bc} ± 0.22	7.96 ^{Ab} ± 0.19
B grubu	7.74 ^{Ba} ± 0.12	7.55 ^{Ea} ± 0.12	7.94 ^{Ca} ± 0.09	8.21 ^{Ba} ± 0.17	8.61 ^{Aa} ± 0.25

Tablo 9. Pastirmalarda saptanan duyuşsal analiz sonuçları*

Gruplar	1.Gün	7.Gün	15.Gün	30.Gün	60.Gün
	X±SE	X±SE	X±SE	X±SE	X±SE
Kontrol	7.20 ^{Ac} ± 0.09	7.17 ^{Ab} ± 0.12	7.19 ^{Ab} ± 0.21	7.15 ^{Ac} ± 0.14	7.00 ^{Bc} ± 0.09
A grubu	7.95 ^{Db} ± 0.11	8.20 ^{Ca} ± 0.10	8.60 ^{Ba} ± 0.28	8.90 ^{Aa} ± 0.15	9.10 ^{Aa} ± 0.13
B grubu	8.32 ^{Ba} ± 0.16	8.44 ^{Aa} ± 0.20	8.53 ^{Aa} ± 0.13	8.42 ^{Ab} ± 0.21	8.12 ^{Cb} ± 0.15

* P<0.05 ; Satırda farklı büyük harf (A-E) taşıyan değerler ile sütunda farklı küçük harf (a-c) taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir.

TARTIŞMA

Çalışma sonucunda elde edilen veriler pH açısından değerlendirildiğinde; gruplarda muhafaza süresi boyunca ölçülen pH değerlerinin Kontrol grubu için 5,56- 5,75; A grubu için 5,69- 5,50 ve B grubu için ise 5,55-5,40 arasında değişiklik gösterdiği, muhafaza süresinin 60. gününde her üç grupta ölçülen pH değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Starter kültür içermeyen kontrol grubunda pH değeri 60. gün sonunda, 1. güne oranla önemli oranda artış gösterirken, adece *Staphylococcus carnosus* (A grubu) ve *Staphylococcus carnosus* + *Lactobacillus pentosus* (B grubu) içeren gruplarda pH değeri muhafaza süresi sonuna kadar kademeli bir şekilde düşme eğilimi göstermiştir. Çalışma gruplarında ölçülen rutubet değerleri

pastırma örneklerinin muhtemelen vakum paketlenmiş olmasından dolayı her bir grup için muhafaza süresi boyunca değışiklik göstermemiştir.

Muhafaza süresi sonunda üç grup arasında *staphylococcus/micrococcus* grubu mikroorganizma sayısı açısından belirlenen farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Bütün çalışma gruplarında muhafaza süresinin sonunda başlangıç değerine göre önemli artışlar gözlenmesinin yanı sıra starter kültür içeren A ve B gruplarında muhafaza süresinin ilk gününden başlayarak kademeli artışlar gözlenmiştir. Laktik asit bakterileri sayılarının ise kontrol ve A gruplarında muhafaza süresi boyunca azaldığı, B grubunda ise *Lactobacillus pentosus* içermesinden dolayı artış gösterdiği belirlenmiştir. *Psychrotrophic* mikroorganizma sayısında Kontrol grubunda muhafaza süresi sonunda başlangıç değerine göre önemli bir değışiklik görülmezken, A grubunda meydana gelen artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur. B grubunda ise başlangıç değerine göre önemli bir azalma meydana gelmiştir. Maya küf sayısı açısından Kontrol, A ve B gruplarının herbirinde muhafaza süresi sonunda başlangıç değerlerine göre önemli artışlar saptanmıştır. *Halophylic* mikroorganizma sayısı açısından Kontrol grubunda 60. günün sonunda 1. güne oranla önemli bir azalma kaydedilirken, A ve B gruplarında 1. ve 60. gün arasında meydana gelen artış istatistik olarak önemli bulunmuştur. Mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı açısından bakıldığında her üç grupta da başlangıç değerine göre muhafaza süresi sonunda önemli artışlar meydana geldiği gözlemlenmiştir. Pastırma üretimi ve pazarlanması açısından en önemli kriter olan duyuşal nitelik açısından ise Kontrol grubunda başlangıç değerine oranla önemli bir azalma belirlenirken, A ve B gruplarında muhafaza süresi sonunda meydana gelen artışın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Duyuşal analiz sonuçları açısından muhafaza süresi sonucunda ölçülen değerlerin gruplar arasındaki farkı da istatistiki açıdan kayda değer bir fark olarak karşımıza çıkmaktadır.

SONUÇ

Çalışma süresince ticari starter kültür içeren ve içermeyen gruplar arasında muhafaza süresi boyunca duyuşal nitelikler ve pH gelişimi açısından önemli farklılıklar meydana gelmiş, starter kültür içeren gruplarda duyuşal kalite niteliklerinde belirgin bir artış kaydedilmiştir. Ayrıca ticari starter kültür kullanımı, pastırmaların mikrobiyolojik

özelliklerine de önemli katkılarda bulunmuştur. Çalışmada *Lactobacillus pentosus* içeren B grubunda laktik asit bakteri sayısının 60. gün sonunda önemli artışlar göstermesi de pastırmanın probiyotik bakterilerin insanlar tarafından tüketilmesi açısından iyi bir taşıyıcı olabileceğini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. Akgül, A. 2003. Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri "SPSS" Uygulamaları. 2. Basım Ankara, Emek Ofset Ltd. Şti ISBN: 975-96359-2-5.
2. Aksu Mİ ve Kaya M. 2001. Pastırma Üretiminde Starter Kültür Kullanımının Son Ürün Özellikleri Üzerine Etkisi. *Türk J Vet Anim Sci* 25 (6), 847-854.
3. Aksu Mİ ve Kaya M. 2002 (a). Farklı Kütleme Yöntemleri ve Starter Kültür Kullanarak Pastırma Üretimi. *Türk J Vet Anim Sci* 26, 909-916.
4. Aksu Mİ ve Kaya M. 2002 (b). Potasyum Nitrat ve Starter Kültür Kullanılarak Üretilen Pastırmaların Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri, *Türk J Vet Anim Sci* 26, 125-132.
5. Aksu Mİ ve Kaya M. 2002 (c). Ticari Starter Kültür Preperatlarının Pastırma Üretiminde Kullanım İmkanları. *Türk J Vet Anim Sci* 26, 917-923.
6. AMSA. 1978. *Guidelines for Cookery and Sensory Evaluation of Meat*. (24p). Chicago, IL. American Meat Science Assoc. and National Live Stock and Meat Board.
7. Anon. 1983. *Türk Standartları Enstitüsü*. Pastırma. T.S. No. 1071, TSE, Ankara.
8. Anon. 1998. 8. Beş Yıllık Kalkınma Planı. Gıda Sanayi Özel İhtisas Raporu. Et ve Et Ürünleri Sanayi Alt Komisyon Raporu, Ankara pp 24.
9. Anon. 2004. http://www.istanbul-tarim.gov.tr/haberler/master/h_uretim.htm ; Erişim tarihi: 13.06.2004.
10. AOAC. 1990. *Official Methods for the Analysis*, 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington Washington, DC.
11. APHA. 1992. *Compendium for the Microbiological Examination of Foods* 3rd Ed. Edwards Brothers, Ann Arbor, MI, ISBN 0-87553-173-3, Washington.
12. BAM. 1998. *Bacteriological Analytical Manual*. 8th Ed., Gaithersburg, MD, USA.
13. Bender A. 1992. Meat and meat products in human nutrition in developing countries. F.A.O. Food And Nutrition Paper 53. Rome. Pp.13.
14. Fadda S, Vignolo G., Holgado APR, Oliver G. 1998. Proteolytic activity of *Lactobacillus* strains isolated from dry fermented sausages on muscle sarcoplasmic proteins. *Meat Science*. 49, 11- 18.
15. Gönülalan Z. ve Köse A. 2003. Kayseri'de Pastırma. *Erciyes Univ. Sağlık Bil. Enst. Dergisi*. 12(3). 80-83.
16. Ibrahim HMA. 2001. Acceleration of Curing Period of Pastrami Manufactured from Buffalo Meat: Chemical and Microbiological Properties. *Nahrung Food*. 45, 293-297.
17. Larrouette C, Ardaillon V, Pepin M and Montel MC. 2000. Ability of meat starter cultures to catabolize leucine and evaluation of the degradation products by using an HPLC method. *Food Microbiology*, 17, 563-570.
18. Lücke FK. 1986. Microbiological processes in the manufacture of dry sausage and raw ham. *Fleischwirtschaft* 66, 1505-1509.
19. Molly K, Demeyer D, Johansson G, Raemaekers M, Ghistelinck M, Geenen I. 1997. The importance of meat enzymes in ripening and flavour generation in dry fermented sausages. First results of a European project. *Food Chemistry* 59, 539- 545.
20. Montel MC, Reitz J, Talon R, Berdagué JL and Rousset-Akrim S. 1996. Biochemical activities of *Micrococcaceae* and their effects on the aromatic profiles and odours of a dry sausage model. *Food Microbiology*. 13, 489-499.
21. Palcari MA, Beretta G, Colombo F, Foschini S, Bertolo G and Camisasca S. 2000. Buffalo meat as a salted and cured product. *Meat Science* 54, 365-367.

22. Pennacchia C, Ercolini D, Blaiotta G, Pepe O, Mauriello G and Villani F. 2004. Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat Science*, 67, 309–317.
23. Scannella AGM, Kenneally P and Arendt EK. 2004. Contribution of starter cultures to the proteolytic process of a fermented non-dried whole muscle ham product *International Journal of Food Microbiology* 93, 219–230
24. Silvina F, Graciela V, Aida P, Holgado R and Guillermo O. 1998. Proteolytic Activity of *Lactobacillus* Strains Isolated from Dryfermented Sausages on Muscle Sarcoplasmic Proteins. *Meat Science*, Vol. 49, No. 1, 11–18.
25. Solomon MB, West RL and Carpenter JW. 1985. Fiber Types in the *Longissimus* Muscle from Water Buffalo and Selected Domestic Beef Breeds. *Meat Science*, 13, 129–135.
26. Stahnke LH. 1999. Volatiles Produced by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* during Growth in Sausage Minces Part I. Collection and Identification. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 32, 357–364
27. Talon R, Walter D, Chartier S, Barriere C and Montel MC. 1999. Effect of nitrate and incubation conditions on the production of
28. Tekinşen OC, Doğruer Y. 2000. Her yönüyle Pastırma. Selçuk Üniv. Basımevi. Konya.
29. Työppönen S, Petajaa E and Mattila-Sandholm T. 2003. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. Review. *International Journal of Food Microbiology*, 83, 233–244
30. Yashoda KP, Sachindra NM, Sakhare PZ and Narasimha Rao D. 2000. Microbiological quality of hygienically processed buffalo carcasses. *Food Control*, 11, 217–224.

DETECTION OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM TISSUES AS BSE SPECIFIED RISK MATERIAL IN PROCESSED AND RAW MEAT PRODUCTS IN TURKEY

M. KALE^{1*}, Ö. KURŞUN² and F. PEHLİVANOĞLU³

Akdeniz University, Faculty of Veterinary Medicine, Dept. of Virology ^{1}, Food Hygiene & Technology ² and Microbiology ³ 15100, Burdur, Turkey.*

ABSTRACT: Spinal cord and brain tissues have the highest importance to transfer bovine spongiform encephalopathy (BSE) to human. European Union issued complete removal of spinal cord and brain tissues from meat products (Commission Decision 2000/418/EC). In Turkey, regulation on meat products [Turkish Food Code, Regulation on Meat Products. Official Journal No: 23960, 10 Feb. 2000] is applied by their government veterinarians. But there are some questions on the effective application of the regulation especially in some private slaughterhouses. This study was designed to reveal the mixing of these tissues to meat products sold in Akdeniz region of Turkey. For this purpose, a total of 471 meat product samples were tested. Two semi-quantitative ELISA kits (Ridascreen Risk Material and Risk Material 10/5), which detect glial fibrillary acidic protein (GFAP) as marker, were used. In the tests, Standard Controls 0, 0.2%, 1%, 2% and 0, 0.1%, 0.2%, 0.5% were practiced as respectively. Of the 220 processed meat sampled, 33 samples (15.0%) gave an optical density equal or higher than Standard 0.2%. Of the 251 raw meat sampled, 54 samples (21.51%) gave an optical density equal or higher than Standard 0.1%. It is concluded that mixing of central nervous system tissue to the meat products still happens and more effective control measurements need to be developed and applied in Turkey.

Key words: CNS tissues, SRM, Meat products, Turkey

TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN ET VE ET ÜRÜNLERİNDE BSE RİSK MATERYALİ OLAN MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ DOKULARININ KONTROLÜ

ÖZET: *Bovine spongiform encephalopathie (BSE) hastalığının insana geçişinde spinal kord ve beyin dokuları en etkili faktörlerdir. Avrupa Birliği ülkelerinde (Komisyon Kararı 2000/418 EC) et ve et ürünleri içerisinde spinal kord ve beyin dokularının bulunması istenmemektedir. Türkiye'de et ürünleri hakkındaki düzenlemeler (Türk Gıda Kodeksi, Et ve Et Ürünleri Hakkında Tebliğ, Resmi Gazete No: 23960, 10 Şubat, 2000) hükümet veteriner hekimleri tarafından uygulanmaktadır. Ancak, özellikle bazı özel mezbahanelerde et ürünleri hakkında çıkarılmış olan düzenlemelerin uygulama aşamasında problemler yaşanmaktadır. Bu çalışma, Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde satılmakta olan et ve et ürünlerinde merkezi sinir sistem (MSS) dokularının varlığını ortaya koymak için yapılmıştır. Bu amaçla, toplam 471 adet et ve et ürünü test edildi. Et ve et ürünlerinde MSS dokularının varlığını göstermekte kullanılan gliyal fibriler asidik protein (GFAP)'leri belirlemek amacı ile 2 yarı-kantitatif ELISA (Ridascreen Risk Material and Risk Material 10/5) kitleri kullanıldı. İşlenmiş et ürünlerinde kite ait 0, %0.2, %1, %2 standart kontroller ve çiğ etlerde kite ait 0, %0.1, %0.2, %0.5 standart kontroller kullanıldı. 220 adet işlenmiş et ürününün 33 (%15.0) adedinde optikal dansitite, standart kontrol %0.2'nin üzerinde ve 251 adet çiğ etin 54 (%21.51) adedinde optikal dansitite, standart kontrol %0.1'in üzerinde bulundu. Bu çalışma sonucunda, Türkiye'de et ve et ürünlerinde hala MSS dokularının yer aldığını ve daha etkili kontrollerin geliştirilmesi ve uygulanması gerektiği kanaatini taşımaktayız.*

Anahtar kelimeler: MSS dokuları, SRM, Et ürünleri, Türkiye

INTRODUCTION

Bovine spongiform encephalopathy (BSE) has been one of the most interesting subjects of science since 1986. It was estimated by Anderson *et al.* (3) that the approximate number of the infected animals which were entered to human food chain was between 840,000–1,250,000. Tissues of central nervous system (CNS) such as brain and spinal

cord which are classified as specified risk materials (SRM) are regarded to be the main source of infection and carry up to 95% of the total infectivity (23).

Contamination of beef with central nervous system tissue has raised food safety concerns because of potential transmission of BSE to humans (21). Etiologically linked to BSE, the recent new variant Creutzfeldt-Jakob disease (nvCJD) in human is thought to be associated with the consumption of beef derived from BSE infected animal (7).

Particular risks are associated with those elements of the bovine CNS which are most closely linked with BSE (the brain and spinal cord) and their potential for contamination of abattoir workers, carcass meat and the abattoir environment during the slaughter of BSE infected animals (4). Current slaughter methods may allow brain and spinal cord tissue to contaminate the carcass and enter the food chain (15). Potential human exposure routes include consumption of brain (26% of the total on average), contaminated advanced meat recovery (AMR) product (67%), beef on bone (11%), intestine (2%), and spinal cord (5%) (8).

European Union has banned SRM from food production (9). Before that, UK government had prohibited the use of specified bovine offal in human foods (25). In Turkey, the regulation on meat products (TR, 2000/4) which not allows the presence of CNS tissues in the meat products is strictly applied by the government veterinarians in the official slaughterhouses. But there are some questions on well application of that regulation in some private slaughterhouses and meat processing plants. This study was planned to receive certain data on the subject.

At present, two commercial test kits are available for detection of CNS tissue in meat and meat products. Depending on the manufacturer, it is based on the detection of either neuron-specific enolase (NSE) or glial fibrillary acidic protein (GFAP) as markers (26). This paper reports the presence of CNS tissues in the meat products manufactured in Turkey.

MATERIAL AND METHODS

Meat Products and Sampling

A total of 471 meat product samples, which were submitted for microbiological analyses, were simultaneously tested for presence of CNS tissue. The processed (sausages, salami) and raw (ground meat/meat ball) meat products, which are commonly consumed in Turkey, were included in this study. Number of products tested was as follow: 120 salami, 100 sausages, and 251 ground meat/meat ball (Table 1 and 2). It was not possible to define what amounts of products had reached the market. All samples were checked by species identification ELISA kits (10, 11) before the use of the Ridascreen Risk Material and Risk Material 10/5 tests. All products tested were confirmed to be produced from cattle meat. To test, each of 471 samples were sampled from three different regions of the original package and homogenised in a mixer.

Extraction of Samples

The extraction and test steps were performed as described by the commercial kit producers.

Processed meat samples: Briefly, 10 ml of extraction buffer was added to 2 g of homogenised sample in a capped glass tube, shaken vigorously, and heated at 100 °C for 15 min. After chilling down, the sample was centrifuged at 3500 g for 10 min at 10 °C. Upper fat layer was removed and supernatant was diluted in dilution buffer (1:20). The samples were extracted daily and the extracts were stored at -20 °C until test application.

Raw meat samples: The samples were stored at -70 °C upon receipt at the laboratory. In preparation for testing, the meat selected for analysis was gradually thawed by transferring it from the -70 °C freezer into a -20 °C unit, then to 4 °C for 24 h. The samples were prepared for this analysis by dipping a Dacron[®] fiber-tipped, sterile swab (Fisher Scientific, Houston, TX) five times into the sample while rotating the swab. The

swab, containing approximately 50 mg of meat, was removed, and squeezed in a test tube containing 1 ml sample buffer.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Processed Meat Samples

A commercially available enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Ridascreen risk material, R-biofarm GmbH, Germany) which detects glial fibrillary acidic protein as marker was used. At the first step, 50 μ l sample extracts or standards were left to separate wells. Four standards (0%, 0.2%, 1%, 2%) were used as controls. After adding 50 μ l of conjugate (peroxidase conjugated antibody to GFAP) to the each well, the test plates were incubated at room temperature for 30 min. Three times washing and tapping followed addition of 100 μ l of substrate/chromogen solution (tetramethylbenzidine). After second incubation at room temperature for 30 min in the dark, 100 μ l of stop solution (1 N sulphuric acid) was added to each well and optical densities (OD) were measured at 450 nm.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Raw Meat Samples

A commercially available enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Ridascreen risk material 10/5, R-biofarm GmbH, Germany) which detects glial fibrillary acidic protein as marker was used. At the first step, 50 μ l sample of extracts or standards were left to separate wells. Four standards (0%, 0.1%, 0.2%, 0.5%) were used as controls. After adding 50 μ l of conjugate to the each well, the test plates were incubated at room temperature for 10 min. Three times washing and tapping followed addition of 100 μ l of substrate/chromogen solution. After second incubation at room temperature for 5 min in the dark, 100 μ l of stop solution was added to each well and optical densities (OD) were measured at 450 nm.

RESULTS

As offered in the Ridascreen risk material test prospectus, the samples having absorbance equal or more than absorbance of standard 0.2% were accepted positive, and

we determined the cut off value as 0.200. According to the results, 33 of 220 samples (15.0%) were decided to be positive at total processed meat samples. The salami samples had the higher positivity rate (17.5%) than the sausage samples (Table 1). For the Ridascreen risk material 10/5, the samples were accepted positive if the absorbance was equal or more than the absorbance of standard 0.1%, and we determined the cut off value as 0.100. According to the results, 54 of 251 raw meat samples (21.51%) were decided to be positive. The results showed that the raw meat samples (ground meat/meat ball) had higher positivity rate than the processed meat samples (Table 2). As a conclusion, we found the highest positivity rate for CNS tissues presence in the salami, sausage and raw meat products at moderate level (Table 3 and 4).

DISCUSSION

The studies on development of detection method of BSE in living animals are still continuing (5). Because it is not possible to identify the infected animals, protection of consumers from risk of the infection can be succeeded by avoiding the consumption of specified risk materials. For that purpose, European Union (9) issued complete removal of these tissues from the meat products. Turkish Food Code, regulation on meat products (TR, 2000/4) prohibits mixing of CNS tissues to the meat products. Previous studies of Lucker *et al.* (16) and Agazzi *et al.* (1) reported that mixing the meat products with CNS tissues causes moderate increase in risk level in Germany. We determined in our study that the highest positivity rate of mixing the CNS tissues to the salami, sausage and raw meat products is at moderate level. In contrast, Hajmeer *et al.* (14) showed lower calculated levels of risk material than the stated limit of detection (0.1%) of the test kit in all raw samples. Novak *et al.* (19) tested 258 sausage samples with commercial ELISA and found nine (3.5%) positive samples for CNS tissue. Additionally, they reported the presence of CNS tissue in these positive samples to be between 0.23 to 0.30%.

In this study, most of the positives were detected amongst the raw meat samples (21.51%) rather than the salami (17.5%) and sausage (12.0%) samples. Also, various investigators reported that raw meat samples had higher positivity (6, 18). Particularly,

the result of Lückner *et al.* (17) [17-32%], shows higher similarity to our findings. We estimated that presence of CNS tissues at quantitatively high levels may represent unwillingly contamination in the meat processing plants or in splitting of the carcasses in our slaughterhouses. Contaminated equipments, surfaces, workers and carcasses were very effective on SRM's distribution (20). Helps *et al.* (15) have used enzyme-linked immunosorbant assays (ELISAs) to detect CNS-specific glial fibrillary acidic protein (GFAP) and S-100 β protein. Both assays showed the presence of CNS material on the carcass after splitting with a conventional band saw. This contamination was still present after the carcass had been washed or steam-vacuum cleaned.

The salami samples had the higher positivity rate than the sausage samples in this study. Yeşilbağ and Kalkan (27) notified similar results in their study. Schmidt *et al.* (22) previously showed that detection of GFAP could be inhibited by over heating. In their study, the presence of normal sausage ingredients or heating the product to 80°C for 60 min did not affect the detection of GFAP. They found that heating the product to 115°C for 100 min eliminated the detectability of GFAP. Thus, over heating of sausages may be a reason for low level of positivity detected in that kind of products. Scientists (24) have reported that heating or certain meat manufacturing process could cause conformational and chemical changes in the reactive sites of the antigen, whereby the antibody fails to recognize the altered antigen. On the other hand, Agazzi *et al.* (2) investigated the quantification of tissues of the central nervous system (CNS) in processed meat products by using an enzyme linked immunosorbent assay with glial fibrillary acidic protein as marker for CNS and they concluded that the quantification of CNS tissue can be difficult when the degree of heat treatment of the meat products is not known.

The reports indicate that the GFAP is a major part of the glial filaments in astrocytes that are restricted to CNS tissue such as spinal cord and higher levels of the GFAP are found in spinal cord, 55-220 $\mu\text{g}/\text{mg}$, relative to brain, 9-55 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (12, 21). The standards provided with the Ridascreeen® assay are based on GFAP concentrations in spinal cord (2000 ng GFAP/mg) and brain (600 ng GFAP/mg) combined. Based on that information, the test used has a sensitivity of 0.03% spinal cord versus 0.1% brain (13).

GFAP is a highly specific marker for CNS tissues, because being at least 1000 times over in CNS tissue than peripheral nerves (21).

Ridascreen risk material and Ridascreen risk material 10/5 test kits used in this study were practiced as a quick and easy method, but these methods could not define the origin of CNS as bovine, ovine or porcine. For this reason, we used two ELISA kits for the qualitative detection of species content in raw meat and processed meat products. But, this way is time consuming and expensive. The companies may apply this easy ELISA procedure to their own products for self-control of processing plants.

According to the results derived from this study it is concluded that mixing of CNS tissues to the meat products were found high in Turkey. This is the second report on detection of CNS tissues in the meat products in Turkey. The results of this present study suggest that current all private processing plants and slaughter conditions and procedures may result in widespread dissemination of specified risk material (SRM) within abattoir environments, contaminating equipment, surfaces and operatives destined for human consumption. We suggest that the most efficient measure for preventing contamination of the food and feed chain with the BSE agent is the removal and destruction of specified risk materials in combination with post mortem BSE testing in all private processing plants and slaughterhouses in Turkey. These applications must be compulsory.

[†]Address for correspondence to Mehmet KALE DVM, PhD., Department of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, Akdeniz University, 15100, Burdur-Turkey, e-mail: drmkalex@yahoo.com

REFERENCES

1. AGAZZI, M.E., BARRERO MORENO, J.M., LUCKER, E., VON HOLST, C. and ANKLAM, E. 2002. Performance comparison of two analytical methods for the detection of tissues of the central nervous system in sausages: Results of an interlaboratory study. *European Food Research and Technology*, 215, 334-339.
2. AGAZZI, M.E., MORENO, J.B., VON HOLST, C., LEUCKER, E. and ANKLAM, E. 2004. Quantitative analysis of tissues of the central nervous system in food products by GFAP-ELISA test kit. Results of an interlaboratory study. *Food Control*, 15, 297-301.
3. ANDERSON, R.M., DONELLY, C.A., FERGUSON, N.M., WOOLHOUSE, M.E., J., UDY, H.J., MC WHINNEY, S., DUNSTAN, S.P., SOUTHWOOD, T.R.E., WILESMITH, J.W., RYAN, J.B.M.,

- HOINVILLE, L.J., HILLERTON, J.E., AUSTIN, A.R. and WELLS, G.A.H. 1996. Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. *Nature*, 382, 779-788.
4. ANIL, M.H., LOVE, S., HELPS, C.R. and HARBOUR, D.A. 2002. Potential for carcass contamination with brain tissue following stunning and slaughter in cattle and sheep. *Food Control*, 13, 431-436.
5. ANONYMOUS 2001. Test for early detection of BSE. vCJD on horizon? Available: <http://www.cma.ca/cmaj/vol-165/issue-2/0199a.asp>.
6. BREIDENBACH, E., SCHWEMMER, H. and STÄRK, K.D.C. 2004. Assessment of beef carcass contamination with spinal cord tissue and/or infectious BSE spinal cord tissue and exposure of the Swiss population. 5th World Congress Foodborne Infections and Intoxications, 7 - 11 June, Berlin, Germany, 74.
7. BROWN, P., WILL, R.G., BRADLEY, R., ASHER, D.M. and DETWILER, L. 2001. Bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease: background, evolution and current concerns. *Emerging Infect. Dis.* 7, 6-16.
8. COHEN, J.T., DUGGAR, K., GRAY, G.M., KREINDEL, S., ABDELRAHMAN, H., HABTEMARIAM, T., ORYANG, D., TAMERU, B. 2001. *Evaluation of the potential for bovine spongiform encephalopathy in the United States*, pp. 87. Harvard Center for Risk Analysis Harvard School of Public Health, Massachusetts.
9. COMMISSION DECISION 2000/418/EC 29 June 2000. Regulating the use of material presenting risk as regards transmissible spongiform encephalopathies and amending Decision 94/747/EC. *Official Journal L* 158/76.
10. ELISA-TEK™ 2002. Instruction manual for Cooked Meat Speciation Kits.
11. ELISA-TEK™ 2002a. Instruction manual for Raw Meat Speciation Kit.
12. ENG, L.F. and LEE, Y.L. 1995. Intermediate filaments in astrocytes. In *Neuroglia*, (X. Kettenmann, & X. Ransom, eds.) pp 650-667, Oxford University Press, New York.
13. HAJMEER, M., CLIVER, D.O. and PROVOST, R. 2003. Spinal cord tissue detection in comminuted beef: comparison of two immunological methods. *Meat Science*, 65, 757-763.
14. HAJMEER, M., CLIVER, D.O. and MARSDEN, J.L. 2006. Central nervous system tissue detection in meat from advanced meat recovery systems. *Meat Science*, 72, 656-659.
15. HELPS, C.R., HINDELL, P., HILLMAN, T.J., FISHER, A.V., ANIL, H., KNIGHT, A.C., WHYTE, R.T., O'NEILL, D.H., KNOWLES, T.G. and HARBOUR, D.A. 2002. Contamination of beef carcasses by spinal cord tissue during splitting. *Food Control*, 13, 417-423.
16. LUCKER, E., HORLACHER, S. and EINGENBRODT, E. 2001. Brain in human nutrition and variant Creutzfeldt-Jakob disease risk (vCJD): Detection of brain in retail liver sausages using cholesterol and neuron specific enolase (NSE) as markers. *British Journal of Nutrition*, 86, 115-119.
17. LUCKER, E., SCHLOTTERMULLER, B. and MARTIN, A. 2002. Studies on contamination of beef with tissues of the central nervous system (CNS) as pertaining to slaughtering technology and human BSE-exposure risk. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 115, 118-121.
18. NATIONAL CATTLEMAN'S BEEF ASSOCIATION 2002. Presence of central nervous system (CNS) tissue in advanced meat recovery (AMR) products. www.beef.org
19. NOVAK, B., MUEFFLING, T.V., KUEFEN, A., GANSEFORTH, K. and SEYBOLDT, C. 2005. Detection of bovine central nervous system tissue in liver sausages using a reverse transcriptase PCR technique and a commercial enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Food Protection*, 68, 2178-2183.
20. PRENDERGAST, D.M., SHERIDAN, J.J., DALY, D.J., MCDOWELL, D.A. and BLAIR, I.S. 2003. Dissemination of central nervous system tissue from the brain and spinal cord of cattle after captive bolt stunning and carcass splitting. *Meat Science*, 65, 1201-1209.
21. SCHMIDT, G.R., HOSSNER, K.L., YEMM, R.S., GOULD, D.H. and O'CALLAGHAN, J.P. 1999. An enzyme linked immunosorbent assay for glial fibrillary acidic protein as an indicator of presence of brain or spinal cord in meat. *Journal of Food Protection*, 62, 394-397.
22. SCHMIDT, G.R., YEMM, R.S., CHILDS, K.D., O'CALLAGHAN, J.P. and HOSSNER, K.L. 2001. The detection of central nervous system tissue on beef carcasses and in comminuted beef. *Journal of Food Protection*, 64, 2047-2052.
23. SSC (Scientific Steering Committee) 1998. Opinion on the human exposure risk (HER) via food with respect to BSE. Available: <http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/ssc/out67-en.html>
24. TERSTEEG, M.H.G., KOOLMEES, P.A. and VAN KNAPEN, F. 2002. Immunohistochemical detection of brain tissue in heated meat products. *Meat Science*, 61, 67-72.
25. UK. 1989. The bovine offal (prohibition) regulations. United Kingdom S1 No.2061.

26.WEYANDT, R.G. 2001. Detection of BSE—risk materials. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 371, 574-575.

27.YEŞİLBAĞ, K. and KALKAN A. 2005. Detection of central nervous system tissues as BSE specified risk material in meat products in Turkey. *Food Control*, 16, 11-13.

LEGENDS OF THE TABLES

TABLE 1.
NUMBER OF PROCESSED MEAT PRODUCT SAMPLES TESTED AND PERCENTAGES OF POSITIVES

	Salami	Sausages	Total
Number of samples	120	100	220
Number of positives	21(17.5%)	12(12.0%)	33(15.0%)

TABLE 2.
NUMBER OF RAW MEAT PRODUCT SAMPLES TESTED AND PERCENTAGES OF POSITIVES

Raw Meat (Ground meat/meat ball)	
Number of samples	251
Number of positives	54(21.51%)

TABLE 3.
A SUMMARY OF RIDASCREEN RISK MATERIAL DETECTION OF CNS TISSUE POSITIVE SAUSAGES AND SALAMIS

Sample	The number of CNS positive sample and %	Standards (%)	Positivity degree
Sausages	2 (2.0%)	$\geq 0.2\%$	Low
	7 (7.0%)	$< 1\%$	Moderate
	3 (3.0%)	$< 2\%$	High
Salamis	4 (3.33%)	$\geq 0.2\%$	Low
	12 (10.0%)	$< 1\%$	Moderate
	5 (4.17%)	$< 2\%$	High

TABLE 4.
A SUMMARY OF RIDASCREEN RISK MATERIAL 10/5 DETECTION OF CNS TISSUE POSITIVE RAW MEATS

Sample	The number of CNS positive sample and %	Standards (%)	Positivity degree
Raw Meats	13 (5.18%)	$\geq 0.1\%$	Low
	23 (9.16%)	$> 0.2\%$	Moderate
	18 (7.17%)	$< 0.5\%$	High

KÖFTE (PIŞMEMİŞ), YAŞ PASTA VE LOKUMUN MİKROBİYOLOJİK ANALİZLERİ

Belgin SIRIKEN*

Özgür ÇADIRCI*

*Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kurupelit / Samsun, bsiriken@yahoo.com, ozgurcadirci@yahoo.com

Özet : Köfte (pişmemiş), yaş pasta ve lokum örneklerinin mikrobiyolojik kalitelerini ortaya koymak amacıyla toplam 63 örnek (25 köfte (pişmemiş), 17 yaş pasta, 21 lokum) analiz edildi. *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ve sülfid indirgeyen anaerob bakteri (SPS) sayılarını saptamak amacıyla yayma plak tekniği, diğer mikroorganizmaların izolasyonu amacıyla damla plak yöntemi kullanıldı. *Salmonella* spp. izolasyonu için ise iki aşamalı zenginleştirme işlemi uygulandı. Analiz bulguları çerçevesinde, köftelerin %48'inde ve yaş pastaların %35'inde aerob genel canlı sayısı (APC) sırasıyla $>10^6$ kob/g ve $>10^5$ kob/g, bir lokum örneğinde ise $>10^4$ kob/g düzeyinde belirlendi. *Psödomonas* köfte örneklerinin %8'inde $>10^2$ kob/g düzeyinde belirlendi. *Laktobasil* iki köfte ve bir yaş pasta örneğinde $>10^5$ kob/g olarak izole edildi. *Enterobacteriaceae* (VG) ve koliform (VL) köfte örneklerinin %8'inde ve yaş pasta örneklerinin %11.8'inde sırasıyla $>10^4$ kob/g, lokum örneklerinin %9.5'inde ise $>10^4$ kob/g düzeyinde belirlendi. Köfte örneklerinin %8'inden ve yaş pastanın %5.9'undan enterokok 10^4 kob/g düzeyinde izole edildi. Koagülaz pozitif stafilokok (CPS) köftelerin %20'sinde ve yaş pastaların %5.9'unda sırasıyla 10^4 and 10^2 kob/g düzeyinde, ve yaş pastaların %11.8'inde *B. cereus* 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde, *Salmonella* spp. köfte örneklerinin %4'ünden izole edildi. Maya/küf ise köfte örneklerinin %16'sında $\geq 10^5$, yaş pastaların %17.6'sında ve lokumların %9.5'üğünde sırasıyla 10^3 ve 10^4 kob/g düzeylerinde saptandı. Analiz edilen örneklerin hiçbirinden *Escherichia coli* (*E. coli*) ve SPS saptanamadı. Sonuç olarak, köfte örneklerinin %24'ünün [%20'si CPS ve %4'ü *Salmonella* spp. yönünden] ve lokum örneklerinin %9.5'i may/küf ve %4.7'si APC yönünden Türk Gıda Kodeksi'e (2001) uygun olmadığı belirlendi.

Anahtar kelimeler : Köfte, yaş pasta, lokum, mikrobiyolojik kalite

MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF MEATBALL (UNCOOKED), CREAM CAKE AND TURKISH DELIGHT

Abstract : To investigate the microbiological quality of meatballs, cream cake and Turkish delight samples, a total of 63 samples (25 raw meatballs samples, 17 cream cake samples and 21 Turkish delight samples) were analysed. While *B. cereus* and sulphite-reducing anaerobic bacterial (SPS) counts were carried out using spread plating technique, other microorganisms were detected in using drop plating technique. *Salmonella* spp., were carried out in two enrichment steps. According to analyses results, about 48% of meatball and 35 % of cream cake samples were found have aerobic plate counts (APC) of $>10^6$ cfu/g and $>10^5$ cfu/g, respectively. In one Turkish delight sample contained APC at level of $>10^4$ cfu/g. It was also found that 8% of meatball samples contained $>10^2$ *Pseudomonas*. Two meatball and one cream cake samples contained $>10^5$ cfu/g lactobacilli. Enterobacteriaceae (VG) and coliforms (VL) were detected in 8% and 11.8 % of the meatball and cream cake samples, respectively at the level of $>10^4$ cfu/g. In the Turkish delight samples, while VG was detected in 9.5% at the level of $>10^4$ cfu/g. Enterococci were detected in 10^4 cfu/g in 8.0% meatball and 5.9% cream cake samples. Coagulase positive staphylococci (CPS) were detected in 20% of meatball and 5.9% of cream cake samples at levels of 10^4 and 10^2 cfu/g, respectively. *B. cereus* was detected in 11.8% cream cake at level of 10^2 - 10^3 cfu/g. *Salmonella* spp. were detected in 5.9% cream cake sample at level of 10^3 cfu/g and 4% meatball samples, respectively. Yeast/mould was detected in 16% meatball, 17.5% cream cake and 9.5% Turkish delight samples at level of $\geq 10^5$ cfu/g, 10^3 and 10^4 cfu/g levels, respectively. *Escherichia coli* and SPS were not detected in all of the samples. As a results, 24 % meatball samples [20 % samples for CPS and 4% samples for *Salmonella* spp.] and 14.2% (9.5% for mould/yeast and 4.7% for APC) Turkish delight samples were found to be not suitable according to Turkish Food Codex Regulations (2001).

Key words meatballs, cream cake, Turkish delight, microbiologic quality

Giriş

İşletmelerde gıdaların içerdiği mikroorganizma mevcudiyeti ve düzeyleri GMP ve HACCP programı açısından oldukça önemlidir. Bu programlar halk sağlığını korumaya ve gıdaların raf ömrünü belirlemeye yönelik programlardır. Son ürünlerdeki mikroorganizma popülasyonu ve çeşitliliği gıda işletmelerine yol göstermesi ve bu ürünleri tüketen insanlarda gıda kaynaklı sağlık riski oluşturup oluşturmayacağını somut olarak ortaya koyması açısından büyük önem taşır (3, 4, 9) Bu çalışmada da ülkemizde büyük kitlelerce sevilerek tüketilen köfte (pişmemiş), yaş pasta ve lokumların mikrobiyolojik kalitelerini ortaya koymak ve halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturup oluşturmadığını ortaya koymak amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

25 köfte (pişmemiş), 17 yaş pasta ve 21 lokum olmak üzere toplam 63 örnek marketlerden satın alındı ve mikrobiyolojik yönden analiz edildi. Bu amaçla örnekler aerob genel canlı sayısı (APC), psödomonas, laktobasil, enterobacteriaceae (VG) ve koliform (VL), *E.coli*, enterokok, koagulaz pozitif stafilokok (CPS), maya/küf, *B. cereus*, *E. coli*, sülfite indirgeyen anaerob bakteri (SPS) sayıları ile *Salmonella* spp. yönünden analiz edildi. *B. cereus* ve SPS sayılarını saptamak amacıyla yayma plak tekniği, diğer mikroorganizmaların izolasyonu amacıyla damla plak yöntemi kullanıldı. *Salmonella* spp. izolasyonu için ise iki aşamalı zenginleştirme işlemi uygulandı.

Mikrobiyolojik analizler çerçevesinde, aseptik şartlar altında 10 g örnek steril stomacher poşetlerine tartıldı ve 90 ml peptonlu su (PW) (Oxoid CM 9, UK) ile sulandırılarak Stomacher'da ((Interscience-Bag Mixer 400) 2 dakika süreyle homojenize edildi. Desimal dilusyonlar % 0.01 PW ile yapıldı ve Tablo 1'de gösterilen spesifik besiyerlerine ekimleri yapıldı.

Koagulaz pozitif stafilokok izolasyonu için, Baird Parker agarda üreyen 5 tipik koloni (siyah veya gri renkte) seçilerek Brain Heart Infusion brotha (BHI-oxoid CM 225,UK)

geçildi. Tüpler 37 C°'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonu takiben, koagülaz test yapıldı (8).

E. coli izolasyonu için, VL agarda üreyen şüpheli kolonilerden biri seçilerek Endo Agar Base (EA, Oxoid CM 479, UK)'e geçildi ve petriler 37 C°'de 24-48 saat süreyle inkübe edildi. EA'da üreyen *E. coli* şüpheli kolonilerden biri seçildi ve daha sonra indole, methyl red, Voges Proskauer and Simmons citrate testleri (IMViC test) yapıldı.

Salmonella spp. izolasyonu amacıyla örneklerden 25 g aseptik şartlar altında tartılarak 225 ml Buffered Peptone Water (BPW) ilave edildi ve steril poşetler stomacherda 1-2 dakika süreyle homojenize edildikten sonra 37 C°'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı (ön zenginleştirme işlemi). Daha sonra ön zenginleştirme sıvısından 0.1 ml alınarak içersinde 10 ml of Rappaport Vassiliadis (RV) enrichment broth (Oxoid CM 669, Basingstoke, UK) içeren tüplere geçildi ve tüpler 43 C°'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı (selektif zenginleştirme) (12). İnkübasyonu takiben inokülat brilliant green (Modified) agara (Oxoid CM 329, Suppl. SR 87, Basingstoke, UK) geçildi ve petriler 37 C°'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Petrilerde üreyen *Salmonella* spp. şüpheli kolonilere Gram boyama ve Standart biyokimyasal testler (triple sugar iron agar-Oxoid CM277, UK, lysine iron agar-Oxoid CM381,UK, urease test -Oxoid CM53, UK and, Simmons citrate-Oxoid CM155, Basingstoke, UK) yapıldı. Doğrulama amacıyla kolonilere son olarak *Salmonella* antiserum (O and H-Vi polyvalan antiserum, Difco 2264-47-2) ile lam aglütinasyon yapıldı.

Bulgular

Mikrobiyolojik analiz bulguları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besiyerleri ve inkubasyon koşulları.

Microorganizmalar	Besiyeri	Inkubasyon Isısı °C	Inkubasyon Süresi (saat)	Anaerobic/Aerobic
Aerobic Plate Count	Plate Count Agar (Oxoid, CM 325, UK)	30 °C	48-72	Aerobic
Lactobacilli	MRS Agar (Oxoid CM 361)	30 °C	24-72	Anaerobic
Micrococci staphylococci	Baird Parker Agar (Oxoid CM 275, UK)	37°C	24-48	Aerobic
Enterobacteriaceae	Violet Red Bile Lactose Glucose Agar (Oxoid, CM 485, UK)	37°C	24-48	Anaerobic
Coliform	Violet Red Bile Agar (Oxoid CM 107)	37 °C	24-48	Anaerobic
<i>E. coli</i>	Endo Agar Base (Oxoid CM 479 UK)	37 °C	24-48	Aerobic
Enterococci	Slanetz and Bartley Medium (Oxoid CM 377)	37 °C	24-48	Aerobic
<i>B. cereus</i>	Bacillus Cereus Agar Base (Oxoid CM 617, suppl. SR 99)	30 °C	24-48	Aerobic
Mould and Yeast	Rose Bengal Chloramphenicol Agar (Oxoid CM 549, Suppl. SR 78)	25 °C	3-5 d	Aerobic
Sulphite-reducing anaerobic bacteria	Perfringens Agar Base (Oxoid CM 543), Supl. (A-SR 76, B SR 77)	37°C	24 h	Anaerobic
<i>Salmonella</i> spp.	TPS (DIFCO 1810-17-9), Rappaport-Vassiliadis Enrichment Broth (OXOID CM 669), Tetrathionate Broth Base (DIFCO 0104-17-6), Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (MERCK 7237)	37°C 43 °C 37 °C 37 °C	24 h 24 h 24 h 24 h	Aerobic Aerobic Aerobic Aerobic

Tablo 2: Köfte (Pismeniş), Yaş Pasta ve Lokumun Mikrobiyolojik Analiz Bulguları (Log₁₀ kob/g)

Örnekler (sayı)	Mikroorganizma düzeyleri	APC	MRS	BP	CPS	VG	VL	SB	CFC	RO	CSM	SPS	E. coli	Salmonella spp.
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Meat ball (n=25)	1	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	19 (76.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	25 (100.0)	25 (100.0)	Negative (n=25)	Positive (n=1) (4 %)
	2	0 (0.0)	13 (52.0)	3 (12.0)	1 (4.0)	11 (44.0)	11 (44.0)	4 (16.0)	2 (8.0)	8 (32)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	3	0 (0.0)	2 (8.0)	2 (8.0)	0 (0.0)	10 (40.0)	10 (40.0)	13 (52.0)	2 (8.0)	7 (28)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	4	0 (0.0)	4 (16.0)	17 (68.0)	5 (20.0)	2 (8.0)	2 (8.0)	6 (24.0)	0 (0.0)	6 (24)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	5	3 (12.0)	4 (16.0)	3 (12.0)	0 (0.0)	2 (8.0)	2 (8.0)	2 (8.0)	2 (8.0)	2 (8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	6	10 (40.0)	2 (8.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	7	6 (24.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	8	6 (24.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	9	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Cream cake (n=17)	<2	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	16 (94.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (11.8)	15 (35.2)	100 (100.0)	Negative (n=17)	Negative (n=25)
	2	0 (0.0)	12 (70.6)	5 (29.5)	1 (5.9)	13 (76.4)	12 (70.6)	5 (29.5)	0 (0.0)	12 (70.6)	1 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	3	0 (0.0)	2 (11.8)	7 (41.3)	0 (0.0)	2 (11.8)	3 (17.6)	8 (47.1)	0 (0.0)	3 (17.6)	1 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	4	5 (29.5)	2 (11.8)	1 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (17.6)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	5	6 (35.2)	0 (0.0)	3 (17.6)	0 (0.0)	2 (11.8)	2 (11.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	6	5 (29.5)	1 (5.9)	1 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	7	1 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Turkish delight (n=21)	<2	0 (0.0)	7 (33.4)	0 (0.0)	21 (100)	0 (0.0)	21 (100.0)	0 (0.0)	21 (100)	-	21 (100.0)	21 (100.0)	Negative (n=21)	Negative (n=21)
	2	8 (37.3)	14 (66.6)	20 (95.3)	0 (0.0)	16 (76.3)	0 (0.0)	19 (90.6)	0 (0.0)	15 (71.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	3	9 (42.8)	0 (0.0)	1 (4.7)	0 (0.0)	1 (4.7)	0 (0.0)	1 (4.7)	0 (0.0)	4 (19.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	4	3 (14.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (9.5)	0 (0.0)	1 (4.7)	0 (0.0)	2 (9.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	5	1 (4.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (9.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

Tartışma ve Sonuç:

Analiz bulguları çerçevesinde, köftelerin %48'inde ve yaş pastaların %35'inde aerob genel canlı sayısı (APC) sırasıyla $>10^6$ kob/g ve $>10^5$ kob/g, bir lokum örneğinde ise $>10^4$ kob/g düzeyinde belirlendi. Genel olarak APC sayısının yüksek olması üretim aşamasında hijyen eksikliği ile beraber, bu ürünlerin bileşimine giren maddelerin de APC düzeyinin yüksek olduğunu ve/veya üretim aşamalarında sıcaklık kontrolünün yapılamadığının bir göstergesidir.

Psödomonas gibi mikroorganizmalar genel olarak sağlık riski oluşturmamakla beraber (gıda enfeksiyonu ve intoksikasyonu) gıdaların bozulmasından ve ürünün raf ömrünün kısaltmasından sorumludur (6). Bu çalışmada, *Psödomonas* köfte örneklerinin %8'inde $>10^2$ kob/g düzeyinde belirlendi. Laktobasil iki köfte ve bir yaş pasta örneğinde $>10^5$ kob/g olarak izole edildi. Köfte örneklerinin %8'inden ve yaş pastanın %5,9'undan enterokok 10^4 kob/g düzeyinde izole edildi. Analiz edilen örneklerin hiçbirinden SPS saptanmadı.

Koagülaz pozitif stafilokok (CPS) köftelerin %20'sinde ve yaş pastaların %5,9'unda sırasıyla 10^4 and 10^2 kob/g düzeyinde saptandı. Eleftheriadou et al. (1) analiz ettikleri yaş pasta örneklerinin %23'ünde $>10^4$ kob/g düzeyinde *S. aureus*'u izole ettiklerini bildirmişlerdir. Yaş pastaların *S. aureus* ile kontamine olmasında ana kaynak kremadır. Özellikle çiğ krema bu açıdan büyük tehlike oluşturmaktadır (7). Bu nedenle yaş pasta üretiminde pastörize krema kullanılmalıdır. Yine köfte ve yaş pastaların hazırlanması sırasında bu mikroorganizma işçi ellerinden de bulaşabilir (1, 2). Yaş pastaların bileşimine giren yumurta da diğer bir kontaminasyon kaynağıdır. Bu nedenle çiğ yumurta yerine pastörize yumurta kullanılmalıdır.

Türk Gıda Kodeksi (11)'ne göre bütün gıdaların 25 g'da *Salmonella* spp. olmaması gerekir. Bu çerçevede, köftelerin %4'ü *Salmonella* spp. yönünden kodekse uygun değildir. Köftelerin *Salmonella* spp. ile kontaminasyonunu önlemek amacıyla üretim hattında kontrol önlemleri alınmalıdır; bu önlemlere bu mikroorganizmayı içermeyen ham madde seçimi, işletmede kontaminasyon kaynaklarının araştırılması ve son üründe bu mikroorganizma yönünden araştırılması gerekir (5).

Bu çalışmada ise analiz edilen pasta örneklerinden % 11,8'inde *B. cereus* 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde izole edilmiştir. Eleftheriadou et al. (1) analiz ettikleri pasta örneklerinde

B.cereus'u izole edemediklerini bildirmişlerdir. Maya/küf ise köfte örneklerinin %16'sında $\geq 10^5$ kob/g, yaş pastaların %17,6'sında ve lokumların %9,5'ünde sırasıyla 10^3 ve 10^4 kob/g düzeylerinde saptandı.

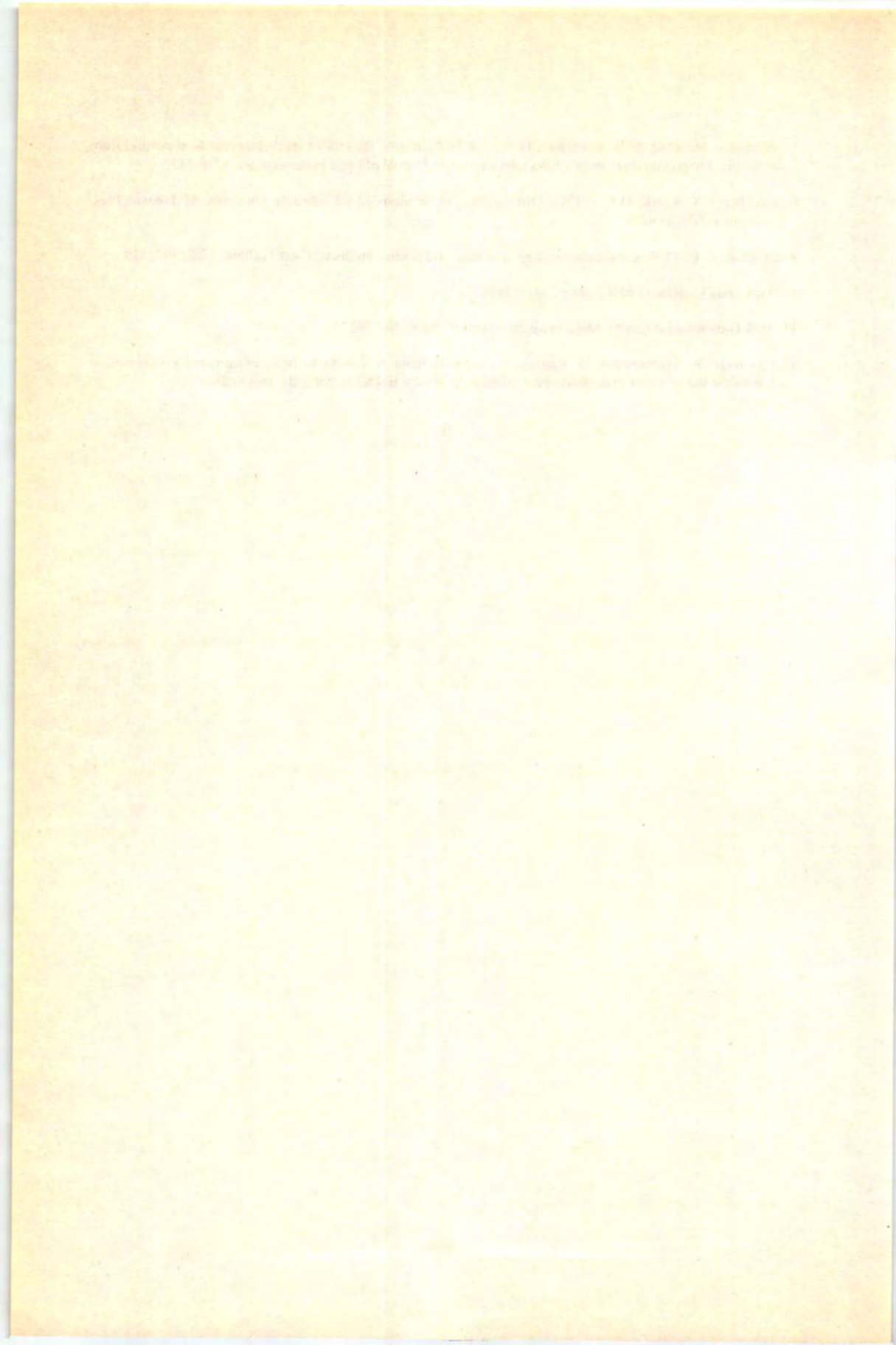
Gıdalarda koliform ve *E. coli* sayısının yüksek oluşu fekal kontaminasyonu ve üretim aşamasında sanitasyonun zayıf olduğunun bir göstergesidir. Gıdalardan *E. coli* 'nin özellikle 10^2 kob/g'in üzerinde oluşu ise bulaşmanın önemli boyutta olduğunu gösterir. Yüksek koliform ve *E. coli* sayısı genel olarak fekal orjinli gıda kaynaklı patojenlerin de yüksek oranda olduğunu gösterir (3, 9). Bu çalışmada, enterobacteriaceae (VG) ve koliform (VL) köfte örneklerinin %8'inde ve yaş pasta örneklerinin %11,8'inde sırasıyla $>10^4$ kob/g, lokum örneklerinin %9,5'inde ise $>10^4$ kob/g düzeyinde belirlendi. Bu çalışmada, analiz edilen 63 örneğinin hiçbirisinden *E. coli* izole edilmemiştir. Eleftheriadou et al. (1) ise çalışmasında analiz ettikleri 196 pasta örneğinin 30'undan *E. coli*'yi izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışma bulguları ışığı altında, toplam 6 (24 %) köfte (pişmemiş) örneği [5 (20 %) örnek CPS yönünden ve 1 (4%) örnek de *Salmonella* spp. yönünden] Türk Gıda Kodeksi'ne (11) uygun değildir. Analiz edilen lokumların büyük çoğunluğu mikrobiyolojik açıdan Türk Gıda Kodeksi (10)'ne uygun olmakla beraber, %4,7'si APC yönünden, %9,5'i maya/küf yönünden aynı kodekse uygun olmadığı görülmektedir. Yaş pastalardan *B. cereus* ve CPS izole edilmesi ise yaş pastalarında halk sağlığı yönünden potansiyel risk oluşturduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Eleftheriadou, M., Varnava-Tello, A., Meta-Loizidou, M., Nikolaou, Andri-Silvia and Akkelidou, D. (2002). The microbiological profile of foods in the Republic of Cyprus: 1991-2000. *Food Microbiology*, 19: 463-471
2. Jacob, M. (1989). *Safe Food Handling. A Training Guide for Managers of Food Service-Establishments*. 16 pp. World Health Organization
3. Jay, J.J. 1992. *Modern Food Microbiology*. Chapman Hall, New York.
4. Richardson, I.R., Stevens, A.M. (2003). Microbiological examination of ready to eat stuffing from retail premises in the North east to Englan. The 'Get Stuffed' survey. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 733-737.
5. Simonsen, B., F. L. Bryan, J. H. B. Christian, T. A. Roberts, R. B. Tompkin, J. H. Siliker (1987): Prevention and control of food-borne Salmonellosis through application of Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP). *International J. Food Microbiol.* 4, 227-247.
6. Siragusa, G.R., Dorsa, W.J., Cutter, C.N., Bennett, G.L., Keen, J.E., Koohmaraie, M. (1998). The incidence of *Escherichia coli* on beef carcasses and its association with aerobic mesophilic plate count categories during the slaughter process. *J. Food Protect.*, 61: 1296-1274.

7. Steward, C.M., Cole, M.B., Schaffner, D.W. (2003). Managing the risk of staphylococcal food poisoning from cream-filled baked goods to meet a food safety objective. *Journal of Food Protection*, 66: 1310-1325
8. Thatcher, F.S., Clark, D.S. (1978). *Microorganisms in foods* (2 nd Edition), University of Toronto Press, Toronto-Buffalo, London
9. Tompkin, R. B., (1983). Indicator organisms in meat and poultry products. *Food Technol.* 37(6):107-110.
10. Türk Gıda Kodeksi (1990). Lokum. No: 84444.
11. Türk Gıda Kodeksi (2006). Mikrobiyolojik kriterler tebliği. No: 26221
12. Vassiliadis, P., Trichopoulos, D., Pateraki, E., Papaiconomou, N. (1978). Isolation of salmonella from minced meat by the use of a new procedure of enrichment. *Zentralbl Bakteriol [Orig B]*. 166(1):81-6.



MIDYE DOLMALARDA *LISTERIA MONOCYTOGENES* TANISI İÇİN POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU VE KONVENSIYONEL METOTLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Ergün Ö. GÖKSOY¹, Şükrü KIRKAN², Osman KAYA², Serten TEKBIYIK²

¹ Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Işıklı- AYDIN

² Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Işıklı- AYDIN

Özet : Bu araştırmanın amacı, *Listeria monocytogenes* kaynağı olarak midye dolmaların rolünün varlığını ortaya çıkarmaktır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), *Listeria monocytogenes*'in identifikasyonu ve hızlı tanısında spesifite ve sensitivitesi yüksek bir metottur. Çalışmada, toplam 50 adet midye dolma örneği *Listeria monocytogenes* yönünden incelendi. Konvensiyonel metotlar ile *Listeria monocytogenes* identifiye edilemedi. Ancak, PZR'nda, *Listeria monocytogenes* yönünden 50 örneğin 5'inde pozitif amplifikasyon ürünleri görüldü. PZR pozitif ürünlerde, *Listeria monocytogenes* için spesifik, yaklaşık olarak 343 bp aralığındaki bant görüntüsü elde edildi.

COMPARISON OF POLYMERASE CHAIN REACTION AND CONVENTIONAL METHODS FOR THE DIAGNOSIS OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN THE COOKED STUFFED OYSTER

Ergün Ö. GÖKSOY¹, Şükrü KIRKAN², Osman KAYA², Serten TEKBIYIK²

¹ Adnan Menderes University, Faculty of Medicine, Department of Food Hygiene and Technology AYDIN - TURKEY

² Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology AYDIN - TURKEY

Abstract : The aim of this study was to evaluate the role of cooked stuffed oyster as a source of *Listeria monocytogenes*. Polymerase chain reaction is a rapid procedure with both sensitivity and specificity for quick detection and identification of *Listeria monocytogenes*. A total of 50 oyster samples were investigated for *Listeria monocytogenes*. *Listeria monocytogenes* was not identified by the conventional methods. However, PCR amplification products were demonstrated that 5 out of 50 samples showed positive reactions with *Listeria monocytogenes*. The PCR positive samples have shown specific amplification at approximately 343 bp fragment for *Listeria monocytogenes*.

HEAT TREATED TURKISH STYLE SUCUK: EVALUATION OF MICROBIAL CONTAMINATIONS IN PROCESSING STEPS

Seran TEMELLI*

Sahsene ANAR

Cem SEN

Devrim BEYAZ

Uludag University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Gorukle Kampusu, 16059, Bursa, TURKEY

**e-mail: seran@uludag.edu.tr*

Abstract: In this work, we determined the trends in contaminations for important microbial groups in heat treated Turkish style sucuk processing and verified the contamination routes for these groups. Samples were taken from deboned and cubed meat, post-blending and kneading, post-grinding, post-filling and from the final product after heat treatment. We also analysed samples of spices, casing, knife, meat cutting surface, batter vat, grinding machine, filling machine, workers' aprons, workers' hands, potable water used in the plant and production and cold room area air as possible origins for contamination and/or recontamination.

Statistical data revealed the following enlisted sources as primary agent(s) of contamination at indicated steps: knife (enterococci, $p < 0.001$), meat cutting surface and cold room area (total aerobic mesophilic bacteria, $p < 0.05$) in deboning; spices (enterococci, yeast and mold, $p < 0.01$) in post-blending; batter vat (yeast and mold, $p < 0.05$) and grinding machine (enterococci, $p < 0.001$) in post-grinding; filling machine (total aerobic mesophilic bacteria, $p < 0.05$; coliform, $p < 0.01$) and casing (coliform, $p < 0.01$; yeast and mold, $p < 0.001$) in post-filling. Workers' hands were very important contamination/recontamination sources in blending (enterococci, staphylococci, yeast and mold, $p < 0.05$), in grinding (enterococci, $p < 0.001$; staphylococci $p < 0.05$) and in filling (coliform, $p < 0.001$) steps.

Key Words: Sausage; Sucuk; Soudjouk; Processing steps, Microbiological contamination

ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ TÜRK SUCUĞU: ÜRETİM AŞAMALARININ MİKROBİYAL KONTAMİNASYON YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özet: Bu çalışmada, ısıt işlemler görmüş Türk sucuklarının üretimi sırasında önemli mikrobiyal grupların kontaminasyondaki yeri ve oranları belirlendi. Örnekler, kemiklerinden ayrılmış et, kuşbaşı et, karıştırma ve yoğurma sonrası, çekim işleminden sonra, dolum işleminden sonra ve ısıt işlemler sonrası son üründen alındı. Aynı zamanda olası kontaminasyon ve/veya rekontaminasyon kaynağı olarak baharatlar, barsak, bıçak, et parçalama tezgahı, hamur teknesi, kıyma makinesi, dolum makinesi, işçi önlüğü ve işçi elleri, işletmede kullanılan su ile üretim yeri ve soğuk deponun havasından alınan örnekler analiz edildi.

Belirtilen üretim aşamalarında istatistiksel verilere göre primer kontaminasyon kaynakları aşağıdaki şekilde tespit edildi: Kemiklerinden ayırma sırasında bıçak (enterokoklar, $p<0.001$), et parçalama tezgahı ve soğuk depo havası (toplam aerobik mezofilik bakteri, $p<0.05$); karıştırma ve yoğurma sonrasında baharatlar (enterokoklar, maya ve küf, $p<0.01$); çekim işleminden sonra hamur teknesi (maya ve küf, $p<0.05$) ve kıyma makinesi (enterokoklar, $p<0.001$); dolum işleminden sonra dolum makinesi (toplam aerobik mezofilik bakteri, $p<0.05$; koliform, $p<0.01$) ve barsak (koliform, $p<0.01$; maya ve küf, $p<0.001$). Ayrıca işçi ellerinin, yoğurma aşamasında (enterokoklar, stafilocoklar, maya ve küf, $p<0.05$), çekim aşamasında (enterokoklar, $p<0.001$; stafilocoklar $p<0.05$) ve dolum aşamasında (koliform, $p<0.001$) çok önemli kontaminasyon /rekontaminasyon kaynağı oldukları belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Sucuk, üretim aşamaları, mikrobiyal kontaminasyon

1. Introduction

Turkish style sausage (sucuk) is the most popular dry fermented meat product in Turkey, and similar products are known in most of the Middle Eastern countries and Europe (4). Sucuk is mostly produced by traditional methods in small scale plants by air-drying or in climatized rooms. This product, which is called "dry fermented sucuk"

in Turkey is prepared by mixing ground lean or semi lean beef and/or sheep meat, tallow fat, garlic, salt, nitrate, ascorbic acid, sucrose, spices (such as red pepper, black pepper, cummin, allspice) and then filling this batter into natural or artificial casings. Then, they are hung for fermentation and dried at ambient temperatures for 20 or 25 days (7, 10).

In recent years, some sucuk manufacturers started to prefer heat treatment of sucuks after a very short period of fermentation after the casing step (27). Primary aims of this type of production are: shortening of production time, elimination of pathogens during heat treatment, economical production. Due to the short fermentation period of this type of sucuks, nitrite is used instead of nitrate in the batter. Batter of this type of sucuk is incubated at 20 °C (ambient temperature) for 12 h in the casing, and then heat treated for 30 min after the core temperature reaches to 63 °C.

Economical losses related to texture and aroma deficiencies, and public health risks increase in manufacturing under improper and/or non-hygienic conditions (14, 24, 26). Several researchers have reported infections and intoxications as a result of consumption of raw or insufficiently heat treated or post-contaminated sucuks. To the best of our knowledge, despite the presence of many reports on dry fermented sucuk (1, 13) in Turkey, there is no study conducted related to heat-treated sucuks, which occupy a growing market share in our country.

In this study, we have evaluated the microbial status of heat treated Turkish style sucuk: we have determined the contamination sources and assessed the relationship of the routes of contamination by spesific microbial groups.

2. Materials and methods

2.1. Sucuk processing

Turkish heat treated sucuks were prepared in a local meat processing plant in Bursa, Turkey. Sucuk processing was performed between June and December 2004, and this was replicated 10 times (Figure 1).

Deboned lean beef meat, which was chilled at 4 °C for 24 h, was cubed by a grinder (Çağdaş Makina Co., İstanbul, Turkey) with a hole size of 1.2 cm diameter, and overnight chilled fat (at -5 °C) cubed at the same size (rendered from the kidney and from the sheep tallow) was added at the ratio of 15 % to the cubed meat. Then the other ingredients (2 % sodium chloride, 0.5 % ascorbic acid, 1 % garlic, 0.5 % sucrose, 1 % red pepper, 0.5 % black pepper, 1 % cummin, 0.5 % allspice and 150 ppm sodium nitrite) were added. Meat-fat cubes and all other ingredients were manually blended and kneaded thoroughly. This blended material was ground through a grinder with a hole size of 3 mm diameter and was kept at 4 °C for 12 h, in order to increase the penetration of ingredients into the meat. Then, sucuk batter was filled into natural casings (dried small intestine of cattle obtained from a private slaughterhouse in Bursa, Turkey) with a diameter of 36 mm, using a hydraulic filling machine (Yuneka Metal Co., Bursa, Turkey), and was kept at 20 °C for 12 h for fermentation. After fermentation, sucuks were heated in a steam chamber at 65 °C for 30 min (Yuneka Metal Co., Bursa, Turkey) with a core temperature of 63 °C. After heat treatment, sucuks were cooled below 10 °C. The temperature decline was carried out by spraying water on sucuks. Finished products were stored at 4 °C until retail sales.

2.2. Sampling procedure

Five hundred gram samples from the meat and/or production stages, namely deboned meat, cubed meat, post-blending and kneading, post-grinding, post-filling, after heat treatment, were taken aseptically by using sterile knives. Each sample was transferred into a sterile stomacher bag and transported to the laboratory at 4 °C in prechilled insulated containers with chiller packs and analysed within 1 h (32). Samples taken from spices and casings were placed into sterile stomacher bags and transported without refrigeration (20).

Sterile cotton swabs were used to sample a 10 cm² area from the processing lines and from the surfaces of the following processing equipment: knife, meat cutting surface, batter vat, grinding machine, filling machine, and workers' aprons. If the surface was dry, swabs were pre-moistened with 0.1 % sterile peptone water (OXOID, CM 9). Swabs were transported to the laboratory in tubes containing 10 ml of 0.1 % sterile

peptone water, were kept at 4 °C and analyzed on their arrival. All of the swab samples were taken during work hours (9).

Samples from the workers' hands were taken as follows: Workers were let to wear sterile latex gloves and 20 ml 0.1 % sterile peptone water was carefully pipetted into the gloves. Hands in gloves were massaged completely and the gloves were carefully taken off, tied at the top and were transferred laboratory at 4 °C in prechilled insulated containers with chiller packs, and analyzed in the laboratory upon arrival (8).

Approximately 200 milliliters of potable water samples were taken from the plant and transferred to the laboratory in pre-sterilized screw-capped bottles containing 5 % $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ at 4 °C, and analysed on their arrival to the laboratory (31).

Air samples were taken from production and cold room areas, by keeping specific agar plates open in designated places for 15 minutes, where there was normal air circulation during production (17).

2.3. Microbiological analyses

For microbiological analyses, 25 g samples were taken aseptically from each 500 g sample unit, added into 225 ml of sterile 0.1 % peptone water and homogenized in a stomacher (Seward Medical Head Office, BA 6020 Model, London, England) for 3 min at room temperature. Serial decimal dilutions were made using the same medium and then plated as duplicates for bacterial counts. The results were expressed as log cfu/g (4).

2.3.1. Enumeration of total aerobic mesophilic bacteria: Aerobic mesophilic bacteria were enumerated by spread plate method on Plate Count Agar (PCA, OXOID CM 325). All colonies were counted after aerobic incubation at 30 °C for 48 h (14).

2.3.2. Enumeration of coliforms: Coliform bacteria were enumerated by pour plate method in Violet Red Bile Agar (VRBA, OXOID CM 107), which was overlaid

with 5 ml of the same medium, after incubation at 37 °C for 24 h in aerobic conditions (16).

2.3.3. *Enumeration of Escherichia coli (E. coli)*: Typical colonies observed in VRBA (indicated above in 2.3.2.) were transferred to lactose broth (OXOID CM 137) and incubated at 37 °C for 48 h. From the cultures with gas and turbidity, sub cultures were made on Eosin Methylene Blue Agar (EMBA, OXOID CM 69) and incubated at 37 °C 24 h. *E. coli* isolates were biochemically characterized by IMViC tests (16).

2.3.4. *Enumeration of enterococci*: Enterococci were enumerated by spread plate method in Slanetz Bartley Medium (SB, OXOID CM 377), which was overlayed with 5 ml of the same medium after 24 h incubation at 37 °C (30).

2.3.5. *Enumeration of staphylococci*: Staphylococci were enumerated by spread plate method on Baird Parker Agar (BPA, OXOID CM 275) prepared by adding Sterile Egg Yolk Tellurite Emulsion (OXOID SR 54). All typical colonies were counted after aerobic incubation at 37 °C for 24 h (27).

2.3.6. *Enumeration of coagulase positive staphylococci*: Typical colonies which were observed in BPA (indicated above in 2.3.5.) were transferred to Brain Heart Infusion Broth (OXOID CM 225) and incubated at 37 °C for 24 h. Loopful of cultures were streaked on designated spots on the staphylase test kit card (OXOID DR 595) and coagulase test was performed. Counts were determined accordingly (30).

2.3.7. *Enumeration of lactic acid bacteria*: Lactic acid bacteria were enumerated by pour plate method in Mann Rogosa Sharpe Agar (MRS, OXOID CM 361) overlayed with 5 ml of the same medium, and incubated at 30 °C for 72 h in an anaerobic culture jar (11).

2.3.8. *Enumeration of yeast and molds*: Yeasts and molds were enumerated by spread plate method on Potatoe Dextrose Agar (PDA, OXOID CM 139), where plates were aerobically incubated at 20 °C for 4 to 5 d (30).

2.3.9. *Analysis of water*: For enumeration of total aerobic mesophilic bacteria, 0.1 ml from each water sample was pipetted and spread onto plate count agar (PCA, OXOID CM 325) and incubated at 30 °C 48 h. MPN method was used for the enumeration of coliforms and *E. coli* (2).

2.4. Statistical analysis

Statistical software SPSS and MINITAB for Windows were used for statistical analyses. Microbial levels at production stages were analysed by One Way Analysis of Variance (ANOVA), and Tukey-Kramer multiple comparisons tests were applied as post-test, when significant differences were determined (28). In addition, Regression Analyses were used to determine the effect of spices, casing, surfaces of various processing equipment, workers' hands and environmental factors on microbial load in production stages (21).

3. Results and discussion

Aerobic mesophilic bacteria counts in deboned meat and cubed meat in this study are similar to the counts reported in the previous studies (6, 20, 25), whereas other microbial counts from these meats were found to be higher than the counts indicated in other studies (20, 25) (Table 1). Reasons for these types differences could be due to variations in the hygienic quality of raw materials (related to pre and post mortem applications), and inadequate handling and storage practices. Statistics on deboned meat revealed that meat cutting surface was related to the increase in total aerobic mesophilic bacteria counts ($p<0.05$) and knife was related to increases in enterococci counts ($p<0.001$). Cubed meat statistical analysis results showed grinding machine ($p<0.05$) and worker's hands ($p<0.01$) had significant effected enterococci and yeast and mold counts, respectively.

There were meaningful increases in the numbers of all microbial groups in samples after manual post-blending and kneading ($p<0.05$) (Table 1). The total aerobic mesophilic

bacteria counts (10^6 log cfu/g) for post-blending and kneading samples are within the range of aerobic mesophilic counts (10^5 - 10^8 log cfu/g) in related studies (3, 4, 13, 19). Out of a total of 10 samples taken after blending and kneading, 4 of the samples (mean value = 3.92 log cfu/g) were found to harbor *E. coli*. Current literature indicate that increases in microbial counts in general had been related to the addition of spices and additives to the batter (6, 25). Therefore, we primarily performed statistical analysis on this suspect source as spices, and then as workers' hands to determine if they gave rise to microbial counts after blending and kneading in our processing. This analysis convinced us that spices had a significant effect on the increase of enterococci and yeast and mold counts ($p < 0.01$). Also, we determined that enterococci, staphylococci and yeast and mold counts inclined considerably due to possible contaminations from workers' hands ($p < 0.05$). Count for lactic acid bacteria, which was determined as approximately 10^6 log cfu/g in our study, was slightly higher than previously reported (3, 7, 19).

In post-grinding samples, counts were substantially higher than post blending and kneading of sucuk batter sample counts ($p < 0.05$). From statistical analyses of the possible suspect sources as batter vat, grinding machine and workers' hands, we have determined that all 3 of these sources caused increases in yeast and mold counts in post-grinding samples ($p < 0.05$). Workers' hands were found to be a significant contamination source for staphylococci ($p < 0.05$) and enterococci ($p < 0.001$) in this processing step.

Samples from post-filling, in general, yielded higher microbial counts than post-grinding (Table 1). These counts obtained from sucuk batter samples filled into natural casings were also found to be higher than the counts reported in other studies (6, 11, 24, 25). The filling machine's effect on the increase of the total aerobic mesophilic bacteria ($p < 0.05$) and coliform bacteria ($p < 0.01$) in samples from post-filling were found to be significant. From a total of 10 samples taken from the filling machine, 2 samples were found to harbor *E. coli*. Also we have recorded increases in coliform counts ($p < 0.01$), and yeast and mold ($p < 0.001$) counts in post-filling samples, which are related to

contaminations from natural casing. Another source for increase in the coliform counts were related to workers' hands ($p < 0.001$).

To summarize until this point, we have determined statistically significant increases due to ingredients, equipment, and workers' hands in the batter up to heat treatment. However, one should not rule out the considerable increases in the contaminated microbial groups of manually-blended and machine-ground meat at 4°C for 12 h.

In our study, we found that heat treatment reduced the numbers of all investigated microorganisms; particularly coliforms and yeast and molds. Calicioglu et al. (5) indicated that heat treatment of Turkish sucuk after fermentation and drying had decreased pathogen counts below detection levels by conventional methods. Parallel to this, *E. coli* and coagulase positive staphylococci could not be detected in the heat treated sucuks in this study. Also we have observed notable decline in microbial counts between post-filling and after heat treatment ($p < 0.05$) (Table 1). Relatively low reductions in the enterococci and lactic acid bacteria counts after heat treatment indicate their ability to survive this process (3, 12, 15).

As indicated in various parts of our results, hands of the personnel working in sucuk processing were critical contamination sources for various types of microorganisms tested in the study. We have to note here that we have detected coliforms and staphylococci in workers' hands at 1.11 and 4.49 log cfu/ml levels, respectively (Table 2), however no *E. coli* or coagulase positive staphylococci were identified. In addition, workers' aprons were important factors in the increase of lactic acid bacteria counts in the workers' hands ($p < 0.05$). These results indicate that hygienic practices were insufficient and the workers were possibly one of the sources for secondary contaminations (22, 29).

Since the water used for precooling had been reported as a source of contamination for the product (20), we investigated microbiological quality of the water by examining 10 samples from the processing plant. We determined the total aerobic mesophilic bacteria counts as 1.02 log cfu/ml, and did not detect any coliforms or *E. coli*. These results

show that the water used in the plant did not pose microbiological risk to sucuk processing.

Previous studies indicated that production area and cold room area as respective critical contamination and recontamination points accounting for shortening of shelf life (18, 23). In our study, total aerobic mesophilic bacteria and yeast and mold counts were 1.56 and 1.7 log cfu/plate in the production area, and 1.31 and 1.19 log cfu/plate in the cold room. Analysis of the effect of air from cold room area to increase the total aerobic mesophilic bacteria counts on deboned meat was found significant ($p < 0.05$). Also, production area air was found to have no negative effect on the total aerobic mesophilic bacteria and yeast and mold counts throughout the processing.

This study showed that heat treatment resulted in reduction of microbial counts in the final product, which should not be the sole step to be depended on for production of safe sucuk. Data analysed in this work revealed that there were various sources, which contribute to contamination and recontamination to the process or to the final product. These can be summarized as follows: total aerobic mesophilic bacteria increase due to contaminations from meat cutting surface, filling machine and cold room area; coliforms increase after filling, casing and wherever the workers' hands were introduced; enterococci counts incline with the addition of spices and also with workers' hands and equipment surfaces; spices, casing, batter vat and workers' hands contributed to increases in yeast and mold counts. Workers' hands were found to harbor staphylococci and were the primary contamination sources for this bacterium mainly in post-blending and kneading, and post-grinding samples.

For a high quality and safe sucuk, certified suppliers should be used to ensure the microbial safety in all raw material. Additionally, plant personnel should continuously be trained and assure the followings before, during and after the processing, both for their safety and the product's wholesomeness: apply good hygiene practices for the plant, take actions in processing and storage areas for cross, post or recontamination.

All given recommendations are to overcome the problems encountered in the production of heat treated Turkish style sucuk.

Acknowledgements

The authors would like to thank Aysegul Eyigor for critical comments and revision for English.

References

1. Aksu, M. I., & Kaya, M. (2004). Effect of usage *Urtica dioica* L. on microbiological properties of sucuk, a Turkish dry-fermented sausage. *Food Control*, 15, 591-595.
2. Andrews, W. H. (1992). *Manual of food quality control 4. Microbiological analysis* (Rev. 1). Washington, DC: FAO Consultant, Food and Drug Administration.
3. Borch, E., Nerbrink, E., & Svensson, P. (1988). Identification of major contamination sources during processing of emulsion sausage. *International Journal of Food Microbiology*, 7(4), 317-330.
4. Bozkurt, H., & Erkmen, O. (2002). Effects of starter cultures and additives on the quality of Turkish style sausage (sucuk). *Meat Science*, 61, 149-156.
5. Calicioglu, M., Faith, N.G., Buege, D.R., & Luchnsky, J.B. (2001). Validation of a manufacturing process for fermented, semidry Turkish Soudjouk to control *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*, 64(8), 1156-1161.
6. Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Rantsiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., & Cocolin, L. (2005). Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*, 69, 381-392.
7. Cosansu, S., & Ayhan, K. (2000). Survival of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 strain in Turkish soudjouk during fermentation, drying and storage periods. *Meat Science*, 54, 407-411.
8. De Wit, J.C., & Kampelmacher, E.H. (1988). Some aspects of bacterial contamination of hands of workers in food service establishments. *Zentralblatt für Bakteriologie Microbiologie und Hygiene B*, 186, 45-54.
9. Eisel, W. G., Linton, L. H., & Muriana, E. H. (1998). A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources and ground beef in a red meat processing plant. *Food Microbiology*, 14, 273-282.
10. Ekici, K., Şekeroğlu, R., Sancak, Y. C., & Noyan, T. (2004). A note on histamine in Turkish style fermented sausages. *Meat Science*, 68, 123-125.
11. Fista, G. A., Bloukas, J. G., & Siomos, A. S. (2004). Effect of leek and onion on processing and quality characteristics of Greek traditional sausages. *Meat Science*, 68, 163-172.
12. Giraffa, G. (2002). Enterococci from foods. *FEBS Microbiology Reviews*, 26, 163-171.
13. Gonulalan, Z., Yetim, H., & Kose A. (2004). Quality characteristics of doner kebab made from sucuk dough which is a dry fermented Turkish sausage. *Meat Science*, 67, 669-674.
14. González, B., & Diez, V. (2002). The effect of nitrite and starter culture on microbiological quality of "chorizo" - a Spanish dry cured sausage. *Meat Science*, 60, 295-298.
15. Houben, J. H. (2003). The potential of vancomycin-resistant enterococci to persist in fermented and pasteurised meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 11-18.
16. ICMSF (1982). International Commission of Microbiological Specifications for Foods. *Microorganisms in Foods. Their Significance and Methods of Enumeration*, 2nd ed. University of Toronto Press.
17. ISO (1986). International Standard Organization. *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.

18. Kure, C. F., Skaar, I., & Brendehaug, J. (2004). Mould contamination in production semi-hard cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 93, 41-49.
19. Mäkelä, P. M., Korkeala, H. J., & Laine, J. J. (1990). Raw materials of cooked ring sausages as a source of spoilage lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection*, 53, 965-968.
20. Metaxopoulos, J., Kritikos, D., & Drosinos, E. H. (2003). Examination of microbiological parameters relevant to the implementation of GHP and HACCP system in Greek meta industry in the production of cooked sausages and cooked cured meat products. *Food Control*, 14, 323-332.
21. MINITAB Inc. (1998). *MINITAB for Windows. Release 12.1*.
22. Nel, S., Lues, J. F. R., Buys, E. M., & Venter, P. (2004). The personal and general hygiene practices in the deboning room of a high throughput red meat abattoir. *Food Control*, 15, 571-578.
23. Nerbrink, E., & Borch, E. (1993). Evaluation of bacterial contamination at separate processing stages in emulsion sausage production. *International Journal of Food Microbiology*, 20 (1), 37-44.
24. Rantsiou, K., Iacumin, L., Cantoni, C., Comi, G., & Cocolin, L. (2005). Ecology and characterization by molecular methods of *Staphylococcus* species isolated from fresh sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 97, 277-284.
25. Sachindra, N. M., Sakhare, P. Z., Yashoda, K. P., & Narasimha Rao, D. (2005). Microbial profile of buffalo sausage during processing and storage. *Food Control*, 16, 31-35.
26. Samelis, J., & Metaxopoulos, J. (1999). Incidence and principal sources of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* contamination in processed meats and a meat processing plant. *Food Microbiology*, 16, 465-477.
27. Soyer, A., Ertaş, A. H., & Üzümcüoğlu Ü. (2005). Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucuks). *Meat Science*, 69, 135-141.
28. SPSS Inc. (1999). *SPSS for Windows. Release 10.0*.
29. Temelli, S., Dokuzlu, C., & Sen, M. K. C. (2006). Determination of microbiological contamination sources during frozen snail meat processing stages. *Food Control*, 17, 22-29.
30. The Oxoid Manual. (1998). 8th ed., 280. Oxoid Ltd.: Hampshire, England.
31. Turkish Standards Institute (TSE), No. 266. (1997). *Drinking and potable water*. Turkish Standards Institute, Ankara.
32. Turkish Standards Institute (TSE), No: 3135. (1998). *Sampling and preparations of meat and meat products samples for analysis. Part I-Sampling*. Turkish Standards Institute, Ankara.

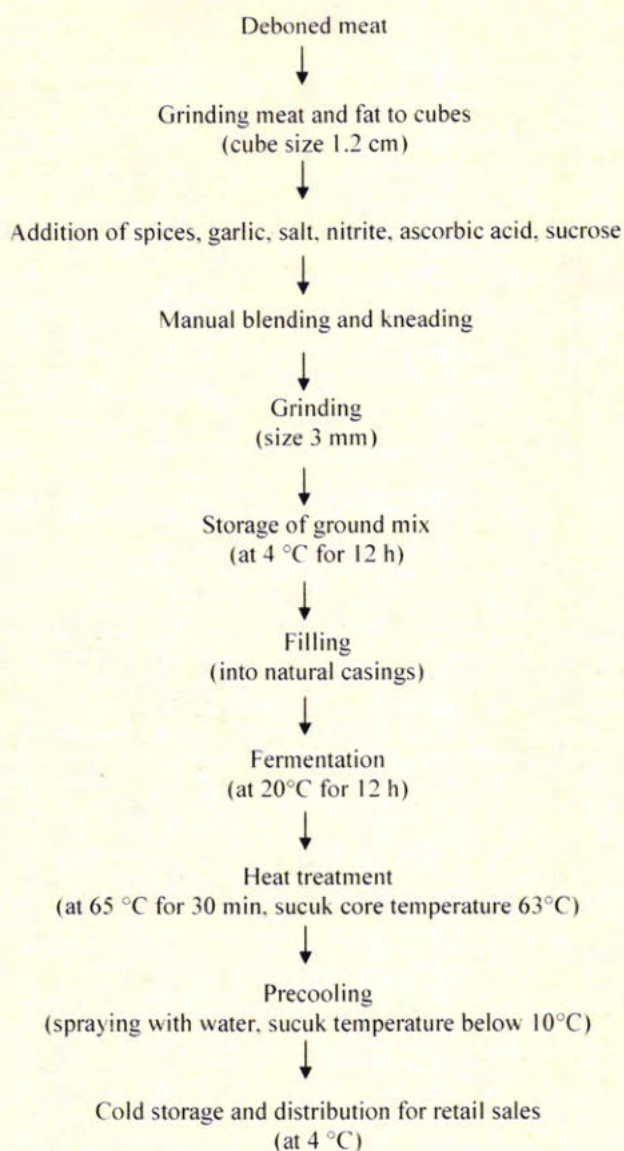


Figure 1. Flow diagram for Turkish heat treated sucuk processing

Table 1. Results of the microbiological analyses of the samples (n=10) collected during heat treated Turkish style sucuk processing steps.

Microorganism	Total aerobic mesophilic bacteria		Coliforms		Enterococci		Staphylococci		Yeast and molds		Lactic acid bacteria	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Samples												
Deboned meat ^a	5.47 CD ^b	0.47	3.57 D	0.13	3.80 BC	0.44	4.40 D	0.68	5.10 D	0.71	3.71 D	0.12
Cubed meat	5.81 CD	0.41	3.98 CD	0.40	3.94 ABC	0.44	4.80 CD	0.14	5.71 C	0.70	4.65 C	0.29
Post-blending and kneading	6.13 BC	0.42	4.32 BC	0.35	4.32 AB	0.40	5.14 BC	0.27	6.02 ABC	0.43	5.48 B	0.23
Post-grinding	6.60 B	0.56	4.68 AB	0.28	4.68 AB	0.22	5.41 AB	0.20	6.20 AB	0.56	5.73 AB	0.10
Post-filling	7.16 A	0.75	5.02 A	0.28	4.79 A	0.15	5.67 A	0.19	6.31 A	0.57	5.92 A	5.34
After heat treatment	4.60 E	0.27	0.46 E	0.76	1.32 D	1.53	3.70 E	0.43	2.85 E	0.82	4.43 C	0.31

^a log cfu/g

^b A-E: Differences between the processing stages demonstrated with different capital letters in the same column are significant (p<0.05)

Table 2. Results of the microbiological analyses of the samples (n=10) collected from spices, casing, equipment, workers' aprons, and hands during heat treated Turkish style sucuk processing steps.

Microorganism	Total aerobic mesophilic bacteria		Coliforms		Enterococci		Staphylococci		Yeast and molds		Lactic acid bacteria	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
<i>Samples</i>												
Spices ^c	5.89	0.65	1.94	0.68	3.62	0.27	5.28	0.72	3.74	0.38	5.70	0.20
Casing	5.66	0.24	3.16	0.47	3.42	0.29	4.87	0.13	4.11	1.00	4.45	0.28
Knife ^b	5.42	0.79	3.52	0.64	3.22	0.66	4.51	0.77	4.22	0.49	2.59	0.29
Meat cutting surface	5.37	0.69	3.18	0.52	1.83	1.67	4.16	0.47	3.68	0.74	3.67	0.19
Batter vat	4.69	0.64	3.42	0.27	1.41	1.83	3.03	0.48	4.04	0.76	2.66	0.22
Grinding machine	4.90	0.53	4.01	0.52	3.71	0.42	3.85	0.64	3.87	0.59	3.60	0.28
Filling machine	5.58	0.11	3.78	1.06	3.25	0.90	4.19	0.66	3.96	0.58	4.30	0.31
Workers' aprons	4.33	0.64	1.78	1.63	1.31	1.15	3.27	0.93	3.30	0.77	4.19	0.36
Workers' hands ^a	5.23	0.51	1.11	0.97	0.57	1.20	4.49	0.24	4.42	0.90	3.13	0.38

^a log cfu/g

^b log cfu/cm²

^c log cfu/ml

HİNDİ ETLERİNDEN HAREKETLİ *AEROMONAS* TÜRLERİNİN İZOLASYON VE İDENTİFİKASYONU

Çetin KOCA¹

Belgin SARİMEHMETOĞLU²

Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, 06110, Dışkapı-ANKARA¹

E-posta: bsuimel@vet.tu.ankara.edu.tr

K.H.O. Savunma Bilimleri Enst. Müd. Dikmen- ANKARA²

ÖZET: Bu çalışmada Ankara'nın değişik semtlerindeki marketlerden alınan paketlenmiş 40 göğüs kuşbaşı ve 40 but kuşbaşı örneğinden oluşan toplam 80 hindi eti *Aeromonas* spp. varlığı yönünden incelenmiştir. Hindi eti örneklerinde hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu Compendium of Microbiological Methods for the Analysis of Food and Agricultural Products'a göre yapılmıştır. Çalışma kapsamında incelenen, 40 hindi but örneğinin 25'inden (%62,50), 40 göğüs örneğinin 18'inden (%45,00) olmak üzere toplam 80 örneğin 43'ünden (%53,75) hareketli *Aeromonas* türleri izole edilmiştir.

Hareketli *Aeromonas* türleri ile kontamine olduğu saptanan 25 hindi but örneğinin, 14'ünden (%56,0) *A. hydrophila*, 8'inden (%32,0) *A. sobria* ve 3'ünden (%12,0) *A. caviae* identifiye edilmiştir. Hareketli *Aeromonas* spp. ile kontamine olduğu belirlenen 18 hindi göğüs örneğinin ise 11'inde (%61,1) *A. hydrophila*'ya 2'sinde (%11,1) *A. sobria*'ya ve 1'inde (%5,6) *A. caviae*'ya ayıca birden fazla *Aeromonas* türü identifiye edilen göğüs eti örneklerinin 2'sinde (%11,1) *A. hydrophila* ve *A. sobria*'ya, 1'inde (%5,6) *A. hydrophila* ve *A. caviae*'ya, 1'inde (%5,6) ise *A. sobria* ve *A. caviae*'ya birlikte rastlanmıştır. Pozitif örneklerden en fazla *A. hydrophila* türü izole edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında incelenen hindi etlerinin büyük bölümünün hareketli *Aeromonas* türleri ile kontamine olduğu saptanmış olup, bu durum halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, hindi eti üretiminde hijyen kurallarına titizlikle uyulması ayrıca buzdolabında mümkün olduğunca kısa süre muhafaza edilerek tüketilmesi önerilmektedir.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MOTILE *AEROMONAS* SPP. IN TURKEY MEATS

ABSTRACT: In this study a total of 80 turkey meat samples purchased from different supermarkets in Ankara including 40 leg and 40 breast prepacked meat samples were analysed for the presence of motile *Aeromonas* species. Isolation and identification of motile *Aeromonas* spp. in turkey meat samples were held using method according to "Compendium of Microbiological Methods for the Analysis of Food and Agricultural Products".

According to this study findings, 25 of 40 turkey leg samples (62.50 %) and 18 of 40 turkey breast samples (45.00 %) were found to be positive for motile *Aeromonas* spp. Totally 43 of 80 turkey samples (53.75 %) were determined as positive for motile *Aeromonas* spp. In 25 positive turkey samples, 14 samples were identified as contaminated with *A. hydrophila* (56 %), 8 were *A. sobria* (32 %) and 3 were contaminated with *A. caviae* (12 %) respectively. In 18 positive turkey breast samples, *A. hydrophila* was identified in 11 samples (61.1 %), *A. sobria* was identified in 2 samples (11.1%) and *A. caviae* was isolated in 1 samples (5.6 %). Also it is found that two different motile *Aeromonas* spp. were isolated in some breast samples; in 2 of these samples both *A. hydrophila* and *A. sobria* were identified (11.1 %), in 1 of these samples *A. hydrophila* and *A. caviae* were determined (5.6 %) and also in 1 of these samples *A. caviae* and *A. sobria* were identified (5.6 %) respectively. *A. hydrophila* was isolated as the most prevalent species from all of these positive samples.

As a result, most of the turkey meat tested in this study found to be contaminated with significantly at a higher level of motile *Aeromonas* spp. and it has been potential risk for public health. Consequently, it was suggested that hygienic precautions must be applied and turkey meat should be consumed after a short storage period in a refrigerator.

GİRİŞ

Hareketli *Aeromonas* türleri insanlarda gıda kaynaklı gastroenteritise ve aynı zamanda bağışıklık sistemi baskılanmış insanlarda yüksek mortalite ile seyreden sepsisemi, yara infeksiyonları, meningitis, endokarditis ve osteomyelitis gibi ekstraintestinal

infeksiyonlara neden olan etkenlerdir (7, 26). Etkenin sulara, insan ve hayvan dışkıında bulunması ve psikrotrofik özellikte olması, gıdalardan sıklıkla izole edilme nedeni olarak gösterilmektedir ve bu durum, *Aeromonas* türlerinden kaynaklanan gıda infeksiyonları riskini arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda, çoğunlukla nehir, göl, lagım, deniz suyu gibi ortamlardan ve klorlanmış içme suyundan (1, 3, 6, 10, 15, 16, 21) ayrıca perakende taze sebzelerden (22) ve deniz ürünlerinden (1, 2, 10), kırmızı et ve kıyma (5, 14, 17, 19, 25), çiğ ve pastörize süttten (13, 19, 24) ve çiğ süttten yapılan peynirden (23) izole edilmiştir. Tatlı sulardan avlanan balıklarda da yaygın olduğu bildirilmiştir (8,9, 18, 27).

Yapılan literatür taramalarında değişik ülkelerde hareketli *Aeromonas* türlerinin hindi etlerinde varlığının saptanmasına yönelik çok az sayıda çalışmaya rastlanmış, Türkiye'de ise bu konuda yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada Ankara'da marketlerde satışa sunulan paketlenmiş formda hindi but ve hindi göğüs eti örneklerinde hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığının saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gereç:

Bu çalışmada, Kasım-Aralık 2005 tarihleri arasında Ankara'daki marketlerde satışa sunulan 3 farklı firmaya ait paketlenmiş formda hindi kuşbaşı but ve paketlenmiş formda hindi kuşbaşı göğüs etlerinden (en az 200'er g) 40'ar adet olmak üzere toplam 80 örnek gereç olarak kullanıldı.

Test suşu: Kontrol olarak ATCC 7966 *Aeromonas hydrophila* (Oxoid C 1020 L) suşu kullanıldı.

pH metre: Örneklerin pH değerlerinin ölçülmesinde elektronik pH metre (Nel Elektronik, Ignold LOT 406-MG-DXK-57/25) kullanıldı.

Yöntem:

Aseptik koşullarda alınıp, soğuk zincir altında laboratuara getirilen en az 200'er gram paketlenmiş kuşbaşı hindi but ve hindi göğüs eti örnekleri Ankara Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü'nün laboratuvarlarında aynı gün *Aeromonas* türleri yönünden analize alındı. Yöntem gereğince hindi eti örneklerine zenginleştirme işleminden sonra spesifik katı besiyerine ekim yapılarak buradan şüpheli kolonilerin değerlendirilmesine geçildi. Şüpheli kolonilere biyokimyasal testler yapılarak tür identifikasyonu gerçekleştirildi (4, 20).

Hareketli *Aeromonas* Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu:

Parça hindi eti örneklerinden *Aeromonas* türlerinin izolasyonu zenginleştirme işlemini takiben katı besiyerine ekilerek gerçekleştirildi.

Zenginleştirme

Parça hindi eti örneklerinden 25 g alınıp steril numune poşetine konularak üzerine 225 ml %0,1'lik Alkali peptonlu su (pH 8,4 - 8,6; Oxoid CM 9) ilave edildi ve stomacher'de 2 dakika süre ile homojenize edildikten sonra 28 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı.

Katı Besiyerine Ekim ve Şüpheli Kolonilerin Değerlendirilmesi

İnkübasyon sonrası zenginleştirme sıvısından 1 öze dolusu alınarak, 5 mg/l Ampicillin (Oxoid SR 136) içeren *Aeromonas* Agara (Oxoid CM 833, supplement Oxoid SR 155) çizme yöntemi ile ekim yapıldı ve plaklar 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

Aeromonas Agarda inkübasyon süresi sonunda üreyen koyu yeşil merkezli yeşil opak koloniler şüpheli kabul edildi. Tipik kolonilerden en az 5'i seçilerek Tryptone soy agarda (Oxoid CM 131) 30°C'de 24 saat inkube edildi. Tryptone soy agarda üreyen kolonilerden sırası ile Gram boyama, oksidaz test, katalaz test, hareketlilik testi, Vibriostatik ajan O/129'a (2-4-diamino-6,7-diisopropylpteridine) dirençlilik, NaCl içermeyen ve %5 NaCl içeren Nutrient broth'da 35°C'de üreme sonucu hareketli *Aeromonas* olduğu belirlenen kültürlerden tür tayini yapıldı.

Hareketli *Aeromonas* Türlerinin İdentifikasyonları

Aeromonas olduğu belirlenen saf kültürlere Eskulin hidrolizasyonu, KCN broth'da üreme, Sisteinden H₂S oluşumu, D-glukozdan gaz oluşumu, L-arabinozdan asit oluşumu, D-mannitol ve salisin fermentasyonu, Metil Red- Voges Proskauer test, indol testleri yapılarak identifiye edildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamında incelenen 40 hindi but örneğinin 25'inden (%62,5), 40 göğüs örneğinin 18'inden (%45) olmak üzere toplam 80 örneğin 43'ünden (%53,75) hareketli *Aeromonas* türleri izole edilmiştir(Çizelge 1).Hareketli *Aeromonas* türleri ile kontamine olduğu saptanan 25 hindi but örneğinin, 14'ünden (%56,0) *A. hydrophila*, 8'inden (%32,0) *A. sobria* ve 3'ünden (%12,0) *A. caviae* identifiye edilmiştir. Hareketli *Aeromonas* spp. ile kontamine olduğu belirlenen 18 hindi göğüs örneğinin ise 11'inde (%61,1) yalnızca *A. hydrophila*'ya, 2'sinde (%11,1) yalnızca *A. sobria*'ya ve 1'inde (%5,6) yalnızca *A. caviae*'ya ayrıca birden fazla *Aeromonas* türü identifiye edilen göğüs eti örneklerinin 2'sinde (%11,1) *A. hydrophila* ve *A.sobria*'ya,1'inde (%5,6) *A. hydrophila* ve *A. caviae*'ya, 1'inde (%5,6) ise *A. sobria* ve *A. caviae*'ya birlikte rastlanmıştır. Pozitif örneklerden en fazla *A. hydrophila* türü izole edilmiştir(Çizelge 2).

Çizelge 1. Ankara'da marketlerde satılan hindi etlerinin hareketli *Aeromonas* türleri ile kontaminasyon düzeyi

Örnek Çeşidi	Örnek sayısı (n)	Pozitif örnek sayısı (n)	Yüzde değerleri(%)
Hindi but	40	25	62.5
Hindi göğüs	40	18	45.0
TOPLAM	80	43	53.75

Çizelge 2. Ankara'da marketlerde satılan hindi etlerinde hareketli *Aeromonas* türlerinin dağılımı.

Örnek Türü	Pozitif örnek sayısı	Tek Tür						Birden Fazla Tür					
		<i>A. hydrophila</i>		<i>A. sobria</i>		<i>A. caviae</i>		<i>A. hydrophila</i> ve <i>A. sobria</i>		<i>A. hydrophila</i> ve <i>A. caviae</i>		<i>A. sobria</i> ve <i>A. caviae</i>	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Hindi But	25	14	(56,0)	8	(32,0)	3	(12,0)	-	-	-	-	-	-
Hindi Göğüs	18	11	(61,1)	2	(11,1)	1	(5,6)	2	(11,1)	1	(5,6)	1	(5,6)
Toplam	43	25	(58,1)	10	(23,3)	4	(9,3)	2	(4,7)	1	(2,3)	1	(2,3)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Değişik araştırmacılar tarafından hindi etlerinde hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığının saptanmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu kapsamda; Kanada'da Singh (25) 4'er adet hindi kıyma ve piliç kıyma örneklerinin tamamından hareketli *Aeromonas* türlerini izole ettiğini ve hindi kıymalarındaki *Aeromonas* türlerinin dağılımının sırasıyla *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria* şeklinde olduğunu bildirmiştir. Hudson ve ark. (12) tüketime hazır hindi etinden üretilmiş 6 gıda örneğinin 5'inden (%83) *A. hydrophila* identifiye ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyon oranı daha düşük bulunmuştur. Bu durum örnek sayısının az olmasından kaynaklanmış olabilir. Hudson ve Lacy (11) hindi etinden üretilmiş 3 adet tüketime hazır gıdanın hiç birinden hareketli *Aeromonas* spp. izole edemediklerini bildirmişlerdir. Bu farklılığın yine örnek sayısının çok az olmasından, örneklerin üretildiği işletmelerin hijyenik koşulları ile muhafaza şartlarının farklılığından ve üretim aşamasından sonra kontaminasyonların söz konusu olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada örneklerin önemli bir bölümünün kontamine olduğu değerlendirildiğinde bu durumun toplum sağlığı açısından potansiyel bir risk teşkil edebileceği anlaşılmaktadır. Hindi eti ve ürünlerinin kontaminasyon oranının azaltılması amacıyla gıda ile ilgili işletmelerde, HACCP ve GMP sistemlerinin kurulması, satış noktalarında ve evlerde hindi eti ve ürünlerinin buzdolabında muhafaza süresinin kısa olmasına dikkat edilmesi ve tüketicilerin bilinçlendirilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- ABEYTA, C.Jr., CHARLES, A.K., WEKELL, M.M., SULLIVAN, J.J., STELMA, G.N. (1986). Recovery of *Aeromonas hydrophila* from oysters implicated in an outbreak of foodborne illness. *J.Food Prot.*, **49**: 643-646
- 2- ABEYTA, C., KAYSNER, C.A., WEKELL, M.M., STOTT, R.F. (1990). Incidence of motile aeromonads from United States west coast shellfish growing estuaries. *J.Food Protect.*, **53**: 849-852
- 3- ALBERT, J. M., ANSARUZZAMAN, M., TALUKDER, K.A., CHOPRA, A.K., KUHN, I. (2000). Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the environment. *J.Clin. Microbiol.*, **38**: 3785-3790

- 4- ANON. (2000). CCFRA Microbiological Methods Manual. In: *Compendium of Microbiological Methods for the Analysis of Food and Agricultural Products*. Published by AOAC International.
- 5- DOHERTY, A., SHERIDAN, J. J., ALIEN, P., MCDOWELL, D. A., BLAIR, I. S., HARRINGTON, D. (1996). Survival and growth of *Aeromonas hydrophila* on modified atmosphere packaged normal and high pH lamb. *Int.J.Food Microbiol.*, **28**: 379
- 6- GAVRIEL, A.A., LANDRE, J.R.B., LAMB, A.J. (1998). Incidence of mesophilic *Aeromonas* within a public drinking water supply in north-east Scotland. *J.Appl.Microbiol.*, **84**: 383-392
- 7- GOLD, W.L., SALIT, I.E. (1993). *Aeromonas hydrophila* infections of skin and soft tissue: report of 11 cases and review. *Clin.Infect.Dis.*, **16**: 69-74
- 8- GONZALEZ, C.J., LOPEZ-DIAZ, T. M., GARCIA-LOPEZ, M.L., PRIETO, M., OTERO, A. (1999). Bacterial microflora of wild brown trout, wild pike, and aquacultured rainbow trout. *J.Food Protect.*, **62**: 1270-1277
- 9- GONZALEZ, C.J., SANTOS, J.A., GARCIA-LOPEZ, M.L., GONZALEZ, N., OTERO, A. (2001). Mesophilic aeromonads in wild and aquacultured freshwater fish. *J.Food Protect.*, **64**: 687-691
- 10- HANNINEN, M.L., OIVANEN, P., HIRVELA-KOSKI, V. (1997). *Aeromonas* species in fish, fish-eggs, shrimp, and freshwater. *Int. J. Food Microbiol.*, **34**: 17-26.
- 11- HUDSON, J.A., DE LACY K.M. (1991). Incidence of motile Aeromonads in New Zeland retail foods. *J.Food Protect.*, **54**: 695-699
- 12- HUDSON, J.A., MOTT, S.J., DELACY, K.M., ELDRIDGE, A.L. (1992). Incidence and coincidence of *Listeria* spp., motile aeromonads and *Yersinia enterocolitica* on ready to eat fleshfoods. *Int.J.Food Microbiol.*, **16**: 99-108
- 13- JANDA, J.M., ABBOT, S.L. (1999). Unusual foodborne pathogens. *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* and *Edwardsiella* species. *Clin.Lab.Med.*, **19**: 553-582
- 14- JOSEPH, S.W., CARNAHAN, A. (1994). The isolation, identification and systematics of the motile *Aeromonas* species. *Annu.Rev.Fish.Dis.*, **4**: 315-343
- 15- KROVACEK, K., PARIS, A., MANSSON, I. (1991). Growth of and toxin production by *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* at low temperatures. *Int.J.Food Microbiol.*, **13**: 165-176
- 16- KUHN, I., ALBERT, J.M., ANSARUZZAMAN, M., BHUIYAN, N.A., ALABI S. A., ISLAM, M.S., NEOGI, P.K.B., HUYS, G., JANSSEN, P., KERSTERS, K., MOLLBY, R. (1997). Characterization of *Aeromonas* spp. isolated from humans with diarrhea, from healthy controls and from surface water in Bangladesh. *J.Clin.Microbiol.*, **35**: 369-373
- 17- KÜPLÜLÜ, Ö., SARIMEHMETOĞLU, B., KASIMOĞLU, A. (2000) Sığır Kıymalarından hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu. *Turk.J.Vet.Anim.Sci.*, **24**: 423-428
- 18- NEDOLUHA, P. C., WESTHOFF, D. (1993). Microbiological flora of aquacultured hybrid striped bass. *J.Food Protect.*, **56**: 1054-1060
- 19- PALUMBO, S.A., MAXINO, F., WILLIAMS, A.C., BUCHANAN, R.L., THAYER, D.W. (1985a). Starch-Ampicillin agar for the quantitative detection of *Aeromonas hydrophila*. *Appl Environ Microbiol.*, **50**: 1027-1030
- 20- PALUMBO, S., ABEYTA, C., STELMA, G. (1992). Chapter 30: *Aeromonas hydrophila* Group. In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Third edition, Ed.: C. Vanderzant, D.F. Splittstoesser. APHA. Washington D.C., p.: 497-515
- 21- PAVAN, M. E., ABBOTT, S.L., ZORZOPULOS J., JANDA, J.M. (2000). *Aeromonas salmonicida* subsp. *pectinolytica* subsp. nov., a new pectinase positive subspecies isolated from a heavily polluted river. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.*, **50**: 1119-1924
- 22- SAAD, S.M.I., LARIA, S.T., FURLANETIO, S.M.P. (1995). Motile *Aeromonas* spp. in retail vegetables from Sao Paulo, Brazil. *Rev. Microbiol.*, **26**: 22-27

- 23- SANTOS, J.A., LOPEZ-DIAZ, T.M., GARCIA-FERNANDEZ, M.C., GARCIA-LOPEZ, M.L., OTERO, A. (1996). Villalon, a fresh ewe's milk Spanish cheese as a source of potentially pathogenic *Aeromonas* strains. *J.Food Protect.*, **59**: 1288-1291
- 24- SARIMEHMETOĞLU, B., KÜPLÜLÜ, Ö., KAYMAZ, Ş. (1998). Ankara'da tüketime sunulan pastörize sütlerden hareketli *Aeromonas* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu. *Gıda.*, **23**: 141-145
- 25- SINGH, U. (1997). Isolation and identification of *Aeromonas* spp. from ground meats in Eastern Canada. *J.Food Protect.*, **60**: 125-130
- 26- STELMA, G.N. (1988). Virulence factors associated with pathogenicity of *Aeromonas* isolates. *J.Food Safety.*, **9**: 1-4
- 27- WANG, C., SILVA, J.L. (1999). Prevalence and characteristics of *Aeromonas* species isolated from processed channel catfish. *J.Food Protect.*, **62**: 30-34.

ESANSİYEL YAĞLARIN ÇİĞ KÖFTEDE *LISTERIA MONOCYTOGENES* VE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7' NİN İNAKTİVASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet ÇALICIOĞLU, O. İrfan İLHAK, Abdullah DİKİCİ

Fırat Üniversitesi ,Veteriner Fakültesi,Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
23119 ELAZIĞ TÜRKİYE

E-posta: mcalicioglu@firat.edu.tr

ÖZET:Bu çalışma bazı esansiyel yağların çiğ köfteye *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* O157:H7'nin yaşamları üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı. Lokal bir restoran tarafından hazırlanan çiğ köfteye yüksek seviyede ($\approx 7.00 \log_{10}$ kob/g) *E. coli* O157:H7 veya *L. monocytogenes*' in 5 suşundan oluşan karışım inokule edildi. İnokule edilen çiğ köfte 6 gruba ayrılarak her bir gruba %1.8 (v/w) oranında serum fizyolojik (kontrol), cineole, limonen, carvone, linalool veya eugenol ilave edilerek karıştırıldı ve 4 °C' de 3 saat muhafaza edildi. Esansiyel yağların uygulanmasından 30 dk ve 3 saat sonra her gruptan çift seri örnekler alınarak *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*' in sayılarının tespiti amacıyla sırasıyla SMAC ve PALCAM agara ekimler yapıldı. Deneyler 3 defa tekrarlandı. Sonuçlar örnekleme zamanına bağlı kalmaksızın *E. coli* O157:H7 sayısının linalool ve eugenol gruplarında, *L. monocytogenes* sayısının ise eugenole grubunda diğer gruplardan istatistiksel önemde daha düşük olduğunu gösterdi ($p<0.05$). Her iki patojen üzerinde en etkili antibakteriyel etkinin eugenol grubunda olduğu sonucuna varıldı ($p<0.05$). Eugenolün antibakteriyel etkisi üzerine konsantrasyonun etkisini belirlemek amacıyla yapılan ikinci bir deneyde *E. coli* O157:H7 veya *L. monocytogenes* ile inokule edilen çiğ köfte 4 gruba ayrılarak her gruba %0 (kontrol), %2, %2.25 veya %2.5 oranlarında eugenol ilave edildi. Uygulamadan 1 saat sonra gruplardan alınan çift seri örneklerde patojen sayıları tespit edildi. Kontrol, %2, %2.25, %2.5 oranında eugenol uygulanan çiğ köfte örneklerinde *E. coli* O157:H7 sayısı sırasıyla 7.31, 2.94, 1.77, 1.24 $\log_{10}$ kob/g, *L. monocytogenes* sayısı ise sırasıyla 7.73, 4.3, 3.95, 3.88 $\log_{10}$ kob/g olarak tespit edildi. Gruplar etki düzeylerine göre en yüksekte en düşüğe doğru %2.50=%2.25>%2.0>Kontrol şeklinde sıralandı ($p<0.05$). Bu çalışmanın sonuçları halk

sağlığını açısından riskli olan çiğ köfte veya benzeri gıdalarda, eugenol ve/veya linalool *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*' in inaktivasyonu amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Esansiyel yağlar, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, antimikrobiyel, çiğ köfte, kıyma, eugenol

EFFECTS OF ESSENTIAL OILS ON VIABILITY OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* AND *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 IN ÇİĞ KÖFTE

ABSTRACT: This study was undertaken to investigate the effects of some essential oils on viability of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in çiğ köfte. Çiğ köfte prepared by a local restaurant was inoculated with high levels (ca. 7.00 log₁₀ cfu/g) of 5-strain composite of *E. coli* O157:H7 or *L. monocytogenes*. The inoculated çiğ köfte was divided into 6 groups and each group was added with 1.8% (v/w) of normal saline (control), cineole, limonene, carvone, linalool or eugenol prior to mixing and storage at 4°C for 3 h. Duplicate samples were taken from each group 30 min and 3 h after the treatments. The samples were analyzed for enumeration of *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* by plating onto SMAC and PALCAM agars, respectively. The experiments were repeated 3 times. Results indicated that regardless of the sampling time, the numbers of *E. coli* O157:H7 in linalool and eugenol groups and the numbers of *L. monocytogenes* in eugenol group were found significantly ($p<0.05$) lower than those found in other treatment groups. It is concluded that the most effective antibacterial effect on both pathogens was in eugenol group ($p<0.05$). In a second experiment conducted to determine the effect of concentration on the antibacterial effect of eugenol, çiğ köfte inoculated with *E. coli* O157:H7 or *L. monocytogenes* was divided into 4 groups and each group was added with 0% (control), 2%, 2.25%, and 2.5% (v/w) eugenol. Numbers of the pathogens were determined in duplicate samples taken 1 h after treatment. *E. coli* O157:H7 numbers were found 7.31, 2.94, 1.77, 1.24 log₁₀ cfu/g in 0%, 2%, 2.25%, and 2.5% eugenol groups, respectively. The corresponding numbers for *L. monocytogenes* were 7.73, 4.3, 3.95, 3.88 log₁₀ cfu/g, respectively. Based on the antibacterial activities, the groups were ranked from the most effective to the lowest as 2.50%>2.25%>2.0%>0% ($p<0.05$). Results of this study revealed that eugenol and/or

linalool can be used for inactivation of *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* in foods presenting public health risks such as çiğ köfte or similar foods.

Key words: Essential oils, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, antimicrobial, çiğ köfte, ground beef, eugenol

GİRİŞ

Çiğ köfte'nin halk sağlığını tehdit eden pek çok mikrobiyolojik risk taşıdığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (1,12,13,16). Çiğ köftenin en önemli malzemesi olan kıyma, patojenik bakterilerin bulunması olasılığı yüksek bir üründür. Ülkemizde yapılan çalışmalarda perakende satış noktalarından elde edilen kıyma örneklerinin %28'inde *Listeria monocytogenes* ($0.79-2.9 \times 10^3$ MPN/g) olduğu bildirilmiştir (15). Ülkemizde satılmakta olan kıyma örneklerinde *Escherichia coli* O157: H7 serotipinin varlığı bildirilmiştir (2). *Salmonella*'nın, ülkemizde kıymalarda bulunma oranı %2-5 arasındadır (7,8,14). 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 (11). Yine İlarşan (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, hiçbir ısıtma işlemi tabi olmadan hazırlanan ve tüketilen çiğ köftenin, *E. coli* O157: H7 yönünden riskli olduğu ve hijyenik koşullara gerek seyyar satıcılarda gerekse lokantalarda yeterince uyulmadığı tespit edilmiştir (9). Yapılan bu çalışmaların, 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 uygun antimikrobiyel gıda katkı maddelerinin de kullanılması düşünülmelidir. Esansiyel yağlar, doğal olmaları, kendilerine özgü lezzet, aroma ve antimikrobiyel etki dahil geniş bioaktivite profiline sahip olmaları nedeniyle çiğ köftede kullanılabilecek önemli alternatiflerdendir (3,4,5,10). Et ürünlerinde antimikrobiyel olarak, tek yada diğer antimikrobiyellerle kombinasyon halinde kullanıldığında Eugenol'un bozulmaya neden olan bakteriler

üzerine etkili olduğu rapor edilmiştir (3). Daha önceki çalışmalarımızda çiğ köfteye %1.8 oranında ilave edilen bazı esansiyel yağların çiğ köfteye inokule edilmiş *Salmonella* sayısında önemli azalmalara neden olduğu belirlenmiştir (6). Bu çalışmada da antimikrobiyel özellikleri nedeniyle seçilmiş bitkisel kaynaklı esansiyel yağ izolatlarının, deneysel olarak *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 ile inokule edilmiş çiğ köftede, patojenlerin yaşamı üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

İnokulumun hazırlanması:

Refik Saydam Hıfzı Sıhha Enstitüsü kültür koleksiyonu ve American Type Culture Collection' dan (ATCC) temin edilen 5 farklı *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 suşu, ayrı ayrı 10 ml'lik nutrient sıvı besi yerinde 35°C de 24 saat büyütüldü ve santrifüjle supernatant uzaklaştırılıp, peletler steril serum fizyolojik ile yıkandı. Tekrar santrifüj edildi ve daha sonra her patojenin kendi suşlarını içeren peletler, %0.1 peptonlu suda süspansiyon haline birleştirilerek 17 ml'ye tamamlandı. Bu karışımındaki patojen yoğunluğu 10^9 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, *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 analizleri için örnekler alındı. Kalan miktara *L. monocytogenes* veya *E. coli* O157:H7 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 carvone (Sigma-Aldrich), cineole, eugenol, linalool, limonen (Merck) ve steril serum fizyolojik (kontrol) eklendi ve yoğurularak karıştırıldı. Örnek alınmadan önce çiğ köfteler 30 dk oda ısısında bekletildikten sonra 0. saat örnekleri alındı ve 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 *L. monocytogenes* veya *E. coli* O157:H7 için sırasıyla çift seri PALCAM (Oxoid) veya SMAC (Lab-M) agar plaklarına 0.1 ml yüzey yayma yöntemi ile ekimler yapıldı ve sırasıyla 30 °C de 24 saat veya 35 °C 24 saat inkübe edildi. Sayım yapılan plaklardan tesadüfen seçilen 3 koloni, *E. coli* O157:H7 için O157 antiserumu içeren Microscreen *E. coli* O157 (Microgen Bioproducts) lateks kit kullanılarak doğrulandı. *L. monocytogenes* için ise plaklardan tesadüfen seçilen 3 koloni *L. monocytogenes*' e spesifik primerler (LM1 (5'- CCT AAG ACG CCA ATC GAA - 3') ve LM2 (5'- AAG CGC TTG CAA CTG CTC - 3')) kullanılarak Polymerase Chain Reaction (PCR) ile doğrulandı. Patojen sayım tekniğinin duyarlılık seviyesi 10 kob/g'dır. Deneyler sonunda patojenler tespit edilebilir seviyenin altına düşmediğinden dolayı zenginleştirme işlemi yapılmamıştır.

Eugenolün minimum antimikrobiyel etki seviyesinin belirlenmesi:

İkinci bir deneyde, aynı yöntemle hazırlanan ve inoküle edilen çiğ köfte 5 gruba ayrılarak her gruba %2, %2.25, %2.5 ve %0 (kontrol) oranlarında eugenol eklendi. Bir saat sonra her gruptan 2'şer örnek alınarak *L. monocytogenes* veya *E. coli* O157:H7 sayısına bakıldı.

Diğer analizler:

Her tekrürde 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 her bakteri için 1'er hafta arayla 3 tekerrürden oluştu. $\log_{10}$ kob/g'a çevrilen veriler "tekerrür sayısı x örnekleme zamanı x test grupları x her test grubundan bir seferde alınan örnek sayısı" olacak şekilde $3 \times 4 \times 6 \times 2$ 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 *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7'ye rastlanmadı. Ortalama tuz oranı $\%2.86 \pm 0.56$ olarak bulundu. Esansiyel yağların etkileri Tablo 1 ve 2' de verilmiştir. İnokulasyon sonrası *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* sayısı sırasıyla ortalama 7.35 – 7.29 log seviyesine ulaşmıştır. Muhafaza süresine bağlı olmaksızın eugenol ve linalool gruplarında istatistiksel önemde azalma kaydedilmiştir. Farklı esansiyel yağ gruplarının muhafaza süresine bağlı patojen bakteri sayısı incelendiğinde, eugenol grubunda süreye bağlı olarak istatistiksel önemde bir azalma görülmektedir. Deneyde test edilen esansiyel yağlar, *E. coli* O157:H7 üzerine en etkilisinden başlayarak eugenol, linalool, carvone, cineole ve limonen şeklinde sıralanmıştır. Ancak *L. monocytogenes* için aynı sıralamayı yaptığımızda ise eugenol, linalool, cineole, limonen ve carvone şeklinde meydana gelmiştir. Tablo 3'de verilen pH ve aw değerleri, esansiyel yağ ilavesinin çiğ köfteadaki pH ve aw bariyerlerini önemli derecede değiştirmediklerini göstermektedir. Şekil 1'de ise, farklı düzeylerde (%2, %2.25, %2.5) eklenen eugenolün *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* üzerine inaktivasyonu verilmiştir. *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* sayıları eugenol uygulanmış tüm grupların, kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel önemde azaldığı bulunmuştur. En düşük seviye olan %2 seviyesindeki eugenol *E. coli* O157:H7 ve *L.*

monocytogenes'de sırasıyla 4.37 – 3.43 log₁₀ kob/g azalmalarına neden olurken, %2.5 düzeyinde ki eugenol ise 6.07 – 3.85 log₁₀ kob/g azalmaya neden olmuştur.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çiğ köfte, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* için bakteriostatik bir ortama sahiptir. Bu patojenler uzun bir süre, sayısında bir azalma meydana gelmeksizin çiğ köftede canlılığını devam ettirmektedirler. Tüketici sağlığını tehdit edebilecek bu riskin önlenmesi yada minimize edilmesi için, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'in yaşamı üzerine hızlı etkiye sahip antimikrobiyel katkı maddelerinden yararlanılabilir. Bu çalışmada, GRAS statüsünde olan eugenol ve linalool çiğ köftede *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'i inaktive etmek için kullanılabilecekleri ortaya konulmuştur. Eugenolun %1.8 oranında kullanıldığında *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* sayısında sırasıyla 3.75 – 3.03 log₁₀ kob/g 'ın üzerinde bir azalmaya neden olması, bu maddenin termal olmayan gıda işleme teknolojileri için etkili bir alternatif antimikrobiyel katkı maddesi olarak düşünülebileceğini göstermektedir. Ancak bu esansiyel yağların güçlü aromaya sahip olmalarından dolayı, çiğ köftede kullanımları tavsiye edilmeden önce ürünün duyuşal niteliklerine etkisi belirlenmelidir.

KAYNAKLAR

1. ARSLAN, A., GÜVEN, A., SALTAN, S. ve PATIR, B. (1992). Elazığ'da tüketime sunulan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi. *Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg.* No: 6 (1,2), 13-17.
2. Aksu, H., Arun, Ö.Ö., Aydın, A., Uğur, M. (1999) *Escherichia coli* O157:H7' nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı. *Pendik Vet. Mikrobiyol. Der.* 30 (2): 77-81.
3. BLASZYK, M., HOLLEY, R.A. (1998) Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms. *Int. J. Food. Microbiol.* 39:175-183.
4. CROWELL, P.L., KENNAN, W.S. AND HAAG, J.D. (1992). Chemoprevention of mammary carcinogenesis by hydroxylated derivatives of d-limonene. *Carcinogenesis*. 13(7), 1261-1264.
5. CROWELL, P.L. (1997). Monoterpenes in breast cancer chemoprevention. *Breast Cancer Research and Treatment*. 46, 191-197.
6. ÇALICIOĞLU, M., İLHAK, O.İ., DİKİCİ, A. , Esansiyel Yağların Çiğ Köfte Salmonella' nın İnaktivasyonu Üzerine Etkileri , *1. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi* , 129-137 , Ankara , Eylül,2004.
7. EROL, İ. (1999) Ankara'da tüketime sunulan kıymalarda *Salmonellaların* varlığı ve serotip dağılımı. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 23:321-325.
8. GÖKALP, H.Y., YETİM, 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.
9. İLARSLAN, N.(2002) İstanbul İlinde Satışa Sunulan Çiğ Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Bir Araştırma. *Trakya Üniv. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans tezi*
10. KALEMBA, D., KUNICKA, A. (2003) Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10: 813-829.
11. KÜPLÜLÜ, Ö., SARİMEHMETOĞLU, B. ve ORAL, N. (2003). The microbiological quality of çiğ köfte sold in Ankara. *Türk J Vet. Anim. Sci.* (27), 325-329.
12. 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
13. SAGUN, E., ALIŞARLI, M., DURMAZ, H. (2003) Farklı sıcaklıklarda muhafazanın çiğ köfte *Staphylococcus aureus*'un gelişimi ve enterotoksin üretimi üzerine etkisi. *Türk J Vet. Anim. Sci.* (27), 839-845.
14. SARIGÖL, C. (1982). Elazığ'da tüketilen kıymalarda *Clostridium* ve *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmaların varlığı üzerinde araştırmalar. *F.Ü. Vet. Fak. Dergisi* 7. 179-186.
15. Şireli U.T., Erol İ. (1999). Detection of *Listeria* Species in Minced Beef. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.* 23: 373-380.
16. UZUNLU, S. (2002) Çiğ köftenin mikrobiyolojik kalitesi ve farklı muhafaza sıcaklık ve sürelerindeki mikrobiyal değişimin incelenmesi. *Akdeniz Üniv. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans Tezi*.

Tablo 1. Esansiyel yağların (%1.8) çiğ köfteye inokule edilmiş olan *Escherichia coli* O157:H7 popülasyonu üzerine etkisi ($\log_{10}$ kob/g, N=3, n=2).

Zaman	Test grupları					
	Kontrol	Cineole	Limonen	Carvone	Linalool	Eugenol
0. saat	7.35 ^{Az}	6.66 ^{Az}	7.12 ^{Az}	6.15 ^{Az}	4.95 ^{Bz}	3.6 ^{Cz}
3. saat	6.98 ^{Az}	6.54 ^{ABz}	6.92 ^{Az}	5.47 ^{Bz}	4.3 ^{Bz}	2.82 ^{Cz}

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

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

Tablo 2. Esansiyel yağların (%1.8) çiğ köfteye inokule edilmiş olan *Listeria monocytogenes* popülasyonu üzerine etkisi ($\log_{10}$ kob/g, N=3, n=2).

Zaman	Test grupları					
	Kontrol	Cineole	Limonen	Carvone	Linalool	Eugenol
0. saat	7.29 ^{Az}	6.53 ^{ABz}	6.92 ^{ABz}	7.06 ^{ABz}	6.17 ^{Bz}	4.26 ^{Cz}
3. saat	7.40 ^{Az}	6.43 ^{ABz}	6.97 ^{ABz}	6.53 ^{ABz}	5.99 ^{Bz}	3.84 ^{Cz}

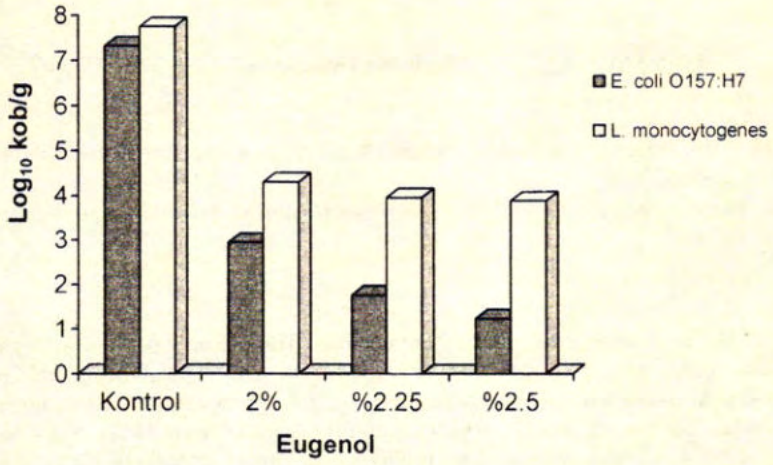
ABC: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0.05$).

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

Tablo 3. *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* 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	Linalool	Limonen
pH ¹⁰	4.88 ± 0.16	4.92 ± 0.14	4.89 ± 0.13	4.93 ± 0.13	4.94 ± 0.11	4.94 ± 0.12
a_w	0.875 ± 0.021	0.873 ± 0.019	0.906 ± 0.021	0.877 ± 0.020	0.883 ± 0.013	0.881 ± 0.016

Şekil 1. Farklı seviyelerdeki eugenolun çiğ köfteye *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes*'in inaktivasyonu üzerine etkisi (N=3, n=2)



LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS İLE PROBİYOTİK BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİ

Aylin Kasimoğlu^a

Muammer Göncüoğlu^b

Sadi Akgün^b

^aKırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 71451 Kırıkkale.

^bAnkara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 06110 Ankara.

Özet : İki ayrı paketlenme yöntemi uygulanan Türk beyaz peynirinin olgunlaşma periyodu esnasında, *Lactobacillus acidophilus*'un canlı kalabilirliği ile peynirin organoleptik nitelikleri, olgunlaşma süresi ve bileşimine etkileri incelenmiştir. Bu kapsamda, geleneksel beyaz peynir (kontrol, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*) ve probiyotik peynir (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* ve *Lactobacillus acidophilus* 593 N) olmak üzere iki grup beyaz peynir üretilmiştir. Üretilen peynir gruplarına hem vakum ambalajlama hem de salamuralı teneke ambalajlama uygulanarak, +4°C'de 90 gün olgunlaştırılmıştır. Peynir örnekleri olgunlaşma süresince mikrobiyolojik, kimyasal, organoleptik nitelikler ve proteoliz yönünden incelenmiştir. Olgunlaşma süresi sonuna kadar, vakum ambalajlı probiyotik peynir örneklerinde *L. acidophilus* sayısının, sağlık üzerine olumlu etkilerinin görülmesi için gerekli olan 10^7 kob g^{-1} düzeyinin üzerinde olduğu saptanmıştır. Protein, kuru madde, tuz içeriği ve asitlik değerleri yönünden, vakum ve salamura içerisinde olgunlaştırılan probiyotik peynir örnekleri arasında farklılıklar belirlenmiştir. Vakum ve salamurada olgunlaştırılan probiyotik peynirde belirlenen asitlik değerlerinin, kontrol grubundaki peynir örneklerinde belirlenen değerlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır. En yüksek proteoliz ve organoleptik değerlerin ise vakum ambalajlı probiyotik peynir örneklerine ait olduğu gözlenmiştir. Çalışma bulguları doğrultusunda, *L. acidophilus*'un beyaz peynirin daha kısa sürede tüketime sunulmasını sağlayabileceği, probiyotik beyaz peynirde vakum ambalajlama yönteminin tercih edilmesi gerektiği sonucu elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Lactobacillus acidophilus*, Beyaz peynir

PROBIOTIC WHITE CHEESE WITH *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

Abstract : The objective of the present study was to determine the effects of *Lactobacillus acidophilus* on the sensory attributes, ripening time, and composition of Turkish white cheese and to investigate the survival of *L. acidophilus* during ripening of the cheese stored in vacuum or in brine. Two types of white cheese, traditional cheese (control, made with *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* and *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*)

and probiotic cheese (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* and *Lactobacillus acidophilus* 593 N), were produced and ripened in vacuum pack or in brine at +4°C for 90 days. Cheese samples were assessed for microbiological and compositional properties, proteolysis, and sensory evaluation at different ripening stages. On ripening in vacuum pack, *L. acidophilus* survived to numbers $> 10^7$ cfu g⁻¹, which is necessary for positive effects on health. Protein, dry matter, salt content, and percentage of lactic acid in the vacuum-packed and brine-salted probiotic cheeses were significantly different. Also, the lactic acid content of probiotic cheeses was slightly higher than that of the controls for both vacuum- and brine-packed cheeses. Vacuum-packed probiotic cheese had the highest levels of proteolysis and the highest sensory scores of all cheeses. Consequently, *L. acidophilus* could be used for the manufacturing of probiotic white cheese to shorten ripening time and vacuum packing is the preferred storage format.

Key words *Lactobacillus acidophilus*, white cheese

1. Giriş

Probiyotikler, “sindirim yoluyla belirli sayıda alındıklarında sağlık üzerine pek çok faydalı etkilere sahip canlı mikroorganizmalar”dır (12). Probiyotik bakterileri içeren gıdalar “fonksiyonel gıdalar” kategorisinde yer almakta ve “sağlık üzerine pozitif etkilere sahip gıdalar” olarak tanımlanmaktadır (24). Fonksiyonel gıdaların sağlık üzerine pozitif etkilerinin görülebilmesi için, 1 gramında ya da 1 mililitresinde en az 10^7 kob probiyotik bakteri bulunması ve günde 100 g dan fazla tüketilmesi gerekmektedir (19). Probiyotik bakterileri içeren ürünler, sağlığa katkıları nedeniyle tüketicilerin ilk tercihi olmakta ve marketlerde sayıları hızla artmaktadır (27).

Pek çok probiyotik laktobasil ve bifidobakteri suşu, ticari olarak kullanılmaktadır. *Lactobacillus acidophilus*’un sağlığa faydalı etkileri ve gıda kaynaklı hastalık etkenlerini baskılayıcı aktivitesi iyi bilinmektedir (8). *L. acidophilus*, ticari gıdalarda ve diyet katkılarında bulunan probiyotik bir bakteridir. Fermente süt ve yoğurt gibi raf ömrü sınırlı olan pek çok probiyotik gıda, marketlerde yerini almıştır. Peynirin, fermente süt ve yoğurda kıyasla daha yüksek pH’ya, yağ içeriğine ve kuru madde oranına sahip olmasının, probiyotik bakterilerin canlı kalabilirliği bakımından diğer probiyotik ürünlere oranla daha avantajlı olabileceği bildirilmektedir (29).

Beyaz peynir, Orta Doğu'da ve Akdeniz Kıyıları boyunca yer alan ülkelerde üretilen yarı sert bir peynir tipidir (7). Üretildiği ülkeye göre Beyaz peynir, Brinza, Teleme, Feta, Danni, Domiati, Jibnah ve Bulgarian white olmak üzere farklı isimlerle anılmaktadır. Türkiye'de en çok tüketilen peynir çeşitleri arasında yer alan Türk beyaz peyniri, salamurada olgunlaştırılmasına rağmen, son yıllarda olgunlaştırılıp vakum paket içerisinde piyasaya sürülmektedir. Tüketim oranı göz önünde bulundurularak, çalışma probiyotik beyaz peynir üretimi üzerinde odaklanmıştır. *L. acidophilus*'un peynirlerde canlı kalma süresi ve peynir starterleri ile ilişkisine yönelik oldukça az sayıda çalışmaya rastlanabilmektedir (10, 11). Probiyotik peynir üretimine yönelik mevcut çalışmaların çoğu, ya sadece bifidobakterilerin ya da *Lactobacillus sake*'nin tek veya bifidobakterilerle ve laktobasil türleriyle miks kültürlerinin uygulamasına yöneliktir (1, 9, 26, 29).

L. acidophilus'un beyaz peynir üretiminde kullanımına ilişkin çalışmaya rastlanamamıştır. Bu çalışmada *L. acidophilus* ile beyaz peynir üretimi, peynirin üretim ve olgunlaştırılma aşamalarında *L. acidophilus*'un canlı kalma süresi, sayısı ve peynirin duyu nitelikleri, olgunlaşma süresi ve kimyasal bileşimi gibi özellikleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kültürler

Türk beyaz peyniri üretiminde Chr. Hansen R 707 peynir starter kültürü (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, Chr. Hansen's Lab, Horsholm, Denmark) kullanılmıştır. Liyofilize kültürler eşit konsantrasyonlarda (1:1) steril skim milke inokule edilerek 37°C'de 16–18 saat inkübe edilmişlerdir. *L. acidophilus* 593N, Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Enstitüsü'nden (Ankara, Turkey) temin edilmiştir. *L. acidophilus* MRS brota (De Man-Rogosa and Sharp-Oxoid, Basingstoke, England) inokule edilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

2.2. Peynir Üretimi

Peynirler, standart prosedüre göre üretilmiştir (15, 22, 36). Pilot ünite (Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara), kontrol grubu olarak geleneksel Türk beyaz peyniri (K) ve deneme grubu olarak probiyotik kültür ile üretilen Türk beyaz peyniri (P) olmak üzere, 2 grup peynir üretilmiştir. Peynir üretiminde, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden temin edilen, 200 litre antibiyotik rezidüsüz inek sütü (pH 6.8) kullanılmıştır. Platform testleri uygulanan süte, 72°C'de 2 dakikalık pastörizasyon işlemi uygulanarak, 32°C'ye soğutulmasını takiben, R 707 starter kültür (2 mL 100 mL⁻¹) ve CaCl₂ (20 g 100 L⁻¹) ilave edilmiştir. Daha sonra süt, 100'er litrelik miktarlarda 2 adet paslanmaz çelik peynir teknesine aktararak, teknelerden birine *L. acidophilus* (1 mL 100 mL⁻¹) inokule edilmiştir (P). Her iki tekneye kimozen (20 mL 100 L⁻¹; Mandra, Peyma Hansen, İstanbul, Türkiye) ilave edilerek, uygun kıvamda pıhtı oluşumu için 60 dakika beklenmiştir. Süre sonunda, pıhtının bıçak ile küçük küpler (2x2x2 cm³) halinde kesilmesiyle elde edilen teleme, peynir altı suyu içerisinde 5-10 dakika süreyle dinlendirilmiştir. Daha sonra cendere bezi ile süzülen teleme (pH 6.4) paslanmaz çelik kalıplara (43x50x50) aktararak, -20 dakika süreyle baskısız, 150±10 dakika baskı (40 kg ağırlık 100 L⁻¹ süt) uygulanarak süzölmüştür.

Süre sonunda ağırlıklar kaldırılarak, cendere bezleri açılmış ve tuzsuz peynir kitlesi (7x7x7 cm³) kalıplara kesilmiştir. Peynir kalıpları salamurada (% 13 NaCl, w/w) 13 saat bekletilmesini takiben, salamuradan çıkarılarak oda sıcaklığında (20°C) 6 saat bekletilmiştir. Her 2 grup peynir, kendi içerisinde 2 alt gruba ayrılarak, alt gruplardan birine vakum ambalajlama uygulanırken, diğeri salamura (% 13 NaCl, w/w) içeren laklı teneke kutular ile ambalajlanmıştır. Ambalajlama işlemi sonrasında, 2 grup vakum ambalajlı (KV ve PV) ve 2 grup salamuralı (KS ve PS) olmak üzere toplam 4 grup peynir, 4°C'de 90 gün olgunlaştırılmıştır.

Farklı peynir gruplarına ait kısaltmalar: KV, vakum ambalajda olgunlaştırılan geleneksel Türk beyaz peyniri (kontrol 1); KS, salamurada olgunlaştırılan geleneksel Türk beyaz peyniri (kontrol 2); PV, vakum ambalajda olgunlaştırılan probiyotik (*L. acidophilus*) Türk beyaz peyniri; PS, salamurada olgunlaştırılan (% 13 NaCl, w/w) probiyotik (*L. acidophilus*) peynir.

2.3. Örnekleme

Peynir üretimi esnasında, starter kültür ve *L. acidophilus* inokulasyonu sonrasında süt örnekleri, aerobik mezofilik bakteriler, *L. acidophilus*, starter lactokoklar ve koliform bakteriler yönünden incelenmiştir. Peynir örnekleri ise pH ölçümü, bakteriyel sayım, kimyasal analizler ve duyu nitelikler yönünden olgunlaşma periyodunun 1., 7., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde incelenmiştir.

2.4. Mikrobiyolojik analizler

Her peynir grubundan 10 g peynir, aseptik koşullarda steril poşetlere tartılarak 90 mL steril trisodyum sitrat solüsyonu (2 g 100 mL⁻¹) (31) ile 2 dakika süreyle Labblender 400 stomacher (Seward Laboratory, London, UK) kullanılarak homojenize edilmiştir. Steril peptonlu su (0.1 g 100 mL⁻¹) ile seri dilüsyonları hazırlanan örnekler, standard yöntemlerle (32) aerob mezofil bakteriler, *L. acidophilus*, starter laktokoklar ve koliform bakteriler yönünden incelenmiştir. Aerob mezofil bakteri sayımında Plate count agar (Oxoid, Basingstoke, England) kullanılarak, plaklar 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. *L. acidophilus* sayımı, MRS agarda (pH 5.4; Oxoid) anaerob koşullarda (GasPak System, Oxoid; 37°C'de 3 gün), starter laktokok sayımı aerob koşullarda M17 agarda (Oxoid; 37°C'de 48 saat), koliform bakteri sayımı ise, aerob koşullarda violet red bile agarda (Oxoid; 37°C for 48 saat) yapılmıştır.

2.5. Kimyasal analizler

Peynir örneklerinin kimyasal analizlerinde, tuz oranları için IDF (International Dairy Federation) standard metodu (17), yağ içerikleri için van Gulik'in bütiriometrik metodu (18), rutubet miktarları IDF standard metodu (16) uygulanmıştır. Örneklerin protein içerikleri, nitrojen analiz cihazı (LECO, FP-28 Protein/Nitrogen Analyser Version 1.2; LECO Corporation, St. Joseph, MI, USA) ile ölçülerek, nitrojenden protein hesaplanmasında faktör 6.38 kullanılmıştır. Titre edilebilir asitlik tayini ise British Standard 770 (5)'e göre yapılarak, yüzde laktik asit olarak hesaplanmıştır. Analizlerin tamamı iki kere tekrarlanmıştır.

2.6. Proteoliz analizi

Peynir gruplarının her birine ait suda eriyebilir ekstraktlar (pH 4.6) Kuchroo ve Fox (23) tarafından bildirilen yönteme göre hazırlanmıştır. Ekstraktların nitrojen içerikleri nitrojen analiz cihazı ile belirlenmiştir. Sonuçlar, suda eriyenilir nitrojenin toplam nitrojene oranı olarak ifade edilmiştir.

2.7. Duyusal muayene

Peynir  rnekleri, Türk Standartları 591 (31)'e göre yapılmıştır. Bu kapsamda lezzet 45 puan, yapı ve tekstür 30 puan, görünüm 15 puan, renk ise 10 puan üzerinden değerlendirilmiştir. Eşit miktarlarda alınan ve 20 C'de 1 saat bekletilen peynir örnekleri, 5 kişiden oluşan eğitimli bir panelist grubu tarafından değerlendirilmiştir.

2.8. İstatistiki analizler

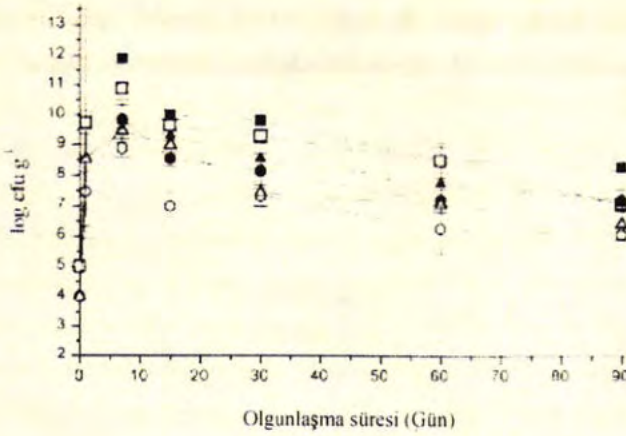
Peynir  retimi farklı tarihlerde ve farklı sütlerden 3 kere tekrarlanmıştır. Her tekrarda 4 peynir grubu (KV, KS, PV, PS)  retilmiştir.    tekrarın sonuçları, SPSS 10 istatistik programının (SPSS, 1999) Kruskal-Wallis test ve Man-Witney U test prosedürü ile değerlendirilmiştir.

3. Sonuçlar ve Tartışma

3.1. Mikrobiyolojik analizler

L. acidophilus'un vakum ambalajda ve salamurada olgunlaştırılan probiyotik peynirlerde olgunlaşma periyodu boyunca seyri şekil 1'de görülmektedir. *L. acidophilus*'un süte inokulasyonu sonrasındaki düzeyinin 4 log kob mL⁻¹ olduğu, fakat olgunlaşma periyodunun ilk 7 gününde hızla çoğalarak, PS ve PV'de sırasıyla 10⁹-10¹⁰ kob g⁻¹ düzeyine ulaştığı gözlenmiştir. *L. acidophilus* sayısındaki bu hızlı artış, starter laktokokların laktozu fermente ederek ortamın pH'sını düşürmesi ve laktobasillerin asidik koşullarda çok iyi üreme yeteneğine sahip olmalarından

kaynaklanabilir (20). Türk beyaz peynirinde tuz diffüzyonu $0.9 \text{ cm}^2 \text{ gün}^{-1}$ olarak bildirilmiştir (2). Bu nedenle, peynirin merkezindeki yüksek rutubet ve düşük tuz konsantrasyonu ilk 7 günde hem *L. acidophilus*'un hem de starter laktokokların üremelerini destekleyen bir diğer faktör olabilir (Şekil 1). Rutubet oranının azalmasına, tuz konsantrasyonunun artışı ve düşük depolama sıcaklığına (4°C) bağlı olarak, olgunlaşmanın 15. gününden itibaren *L. acidophilus* sayısında azalma kaydedilmiştir. *L. acidophilus* sayısının olgunlaşma periyodunun sonuna kadar azalma eğiliminde olmasına karşın, PV ve PS'de sırasıyla 10^7 ve 10^6 kob g^{-1} düzeyin altına düşmediği belirlenmiştir. Nitekim, bir ürünün "probiyotik gıda" olarak isimlendirilebilmesi için, üretimi ve raf ömrü süresince içerdiği probiyotik bakteri sayısının 10^7 kob g^{-1} 'in altına düşmemesi gerekmektedir (19). Farklı koşullarda olgunlaştırılan probiyotik peynir gruplarının *L. acidophilus* düzeyleri karşılaştırıldığında, PV'deki oranın PS'den daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Bu farklılığın PV ve PS gruplarının tuz konsantrasyonları arasındaki farklılıktan ileri geldiği düşünülmektedir. Gomes ve ark. (11) *Bifidobacterium lactis* ve *L. acidophilus* Ki suşunun yarı sert Gaouda peynirinde, farklı salamura koşullarındaki üreme ve canlı kalabilirliğini incelemişlerdir. Çalışmamızın bulguları, *L. acidophilus*'un üreme, redüksiyon ve canlı kalma oranı bakımından araştırmacılar (11) tarafından bildirilen sonuçlarla uyumludur. Yine, Gomes ve Malcata (10) *L. acidophilus* Ki suşu ve *B. lactis* ile keçi sütünden yarı sert bir peynir üreterek, *L. acidophilus*'un 6.0×10^7 kob g^{-1} düzeyine kadar üreyebildiğini, fakat bu düzeyin peynirin 70 günlük olgunlaşma süresi sonunda probiyotik etki için yeterli kabul edilen (10^6 kob g^{-1}) sayının üzerinde kaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışma (10) ile çalışmamız arasında *L. acidophilus*'un canlı kalma oranı bakımından paralellik olmasına karşın, her iki çalışma bulguları *L. acidophilus*'un üreme düzeyi yönünden farklılık göstermektedir. *L. acidophilus*'un daha az üremesi ise, Gomes ve Malcata (10) tarafından *L. acidophilus*'un *B. lactis* ile peynirdeki besin maddeleri ve enerji kaynakları için rekabet etmesi ile açıklanmıştır. Bir diğer çalışmada da (35) *L. acidophilus*'un, $>10^6$ kob g^{-1} düzeyinin üzerinde canlı kalabilirliği nedeniyle Arjantin Fresco peyniri üretiminde kullanılabileceği bildirilmiştir.

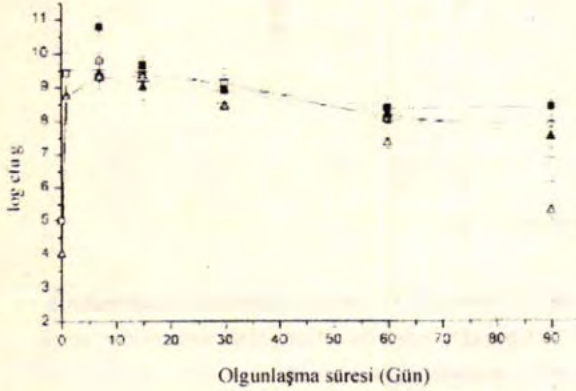


Şekil 1. Probiyotik kültür ile üretilen, vakum ambalajda (PV, içi dolu semboller) ve salamurada (PS, içi boş semboller) olgunlaştırılan Türk beyaz peynirinde mikrobiyolojik değişiklikler: aerob mezofil bakteri (■ □), *L. acidophilus* (● ○) ve starter laktokoklar (▲ △).

Olgunlaşma periyodu boyunca KV, KS, PV ve PS peynir gruplarında starter laktokok (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*) düzeyleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($P>0.05$) (Şekil 1 ve 2). Yine tüm peynir gruplarında belirlenen starter laktokok düzeyleri ve üreme oranları, olgunlaşma periyodunun farklı aşamalarında *L. acidophilus*'un seyrine paralellik göstermektedir ($P=0.05$). Starter laktokok düzeylerinde olgunlaşma periyodunun 7. gününde belirlenen azalmanın ise, laktokokların asidik koşullarda üreme yeteneklerinin sınırlı olmasından kaynaklanabilir (25).

Akgün (1), *Lactobacillus sake*'nin Türk beyaz peynirinin mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri üzerine etkilerini incelediği çalışmada, *L. sake* ile salamura Türk beyaz peyniri üreterek, geleneksel salamura Türk beyaz peyniri ile karşılaştırmıştır. Çalışmamızda yer alan KS gruba ait mikrobiyolojik analiz sonuçları, üretim ve olgunlaştırma koşullarının paralel olmasına bağlı olarak Akgün (1) tarafından bildirilen sonuçlarla uyum göstermektedir.

Çalışmamızda, aerob mezofil bakteri sayısı ile diğer bakteri grupları arasında korelasyon olduğu görülmektedir (Şekil 1 ve 2). Peynir örneklerinin hiçbirinde koliform bakteri belirlenmemiştir.



Şekil 2. Vakum ambalajda (KV, içi dolu semboller) ve salamurada (KS, içi boş semboller) olgunlaştırılan geleneksel Türk beyaz peynirinde mikrobiyolojik değişiklikler: aerob mezofil bakteri (■ □) ve starter laktokoklar (▲ △).

3.2. Kimyasal analizler

KV, KS, PV ve PS grubu peynirlere ait kimyasal analiz değerleri Tablo 1'de yer almaktadır. Beyaz peynire ait kabul edilebilir sınırlar, kuru madde (KM) için en az % 40 (w/w), kuru maddede tuz için ise en çok % 10 (w/w) olarak bildirilmektedir (31). KV ve PV grupları arasında protein miktarı, kuru maddede tuz (KMT) ve asitlik (LA) yönünden farklılık bulunamamıştır ($P>0.05$). Benzer şekilde, KS ve PS grupları arasında da protein, KMT ve LA değerleri arasında farklılık belirlenmemiştir ($P>0.05$). Bununla birlikte, 90 günlük olgunlaşma periyodunda KM ve tuz değerleri, KV ile KB ve PV ile PS arasında farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Kontrol (KV, KS) grupları ve probiyotik (PV, PS) grupları arasında, olgunlaşmanın ilk 7 gününde kuru madde oranı bakımından farklılık belirlenmiştir ($P<0.05$). Peynir gruplarının ambalajlama aşaması öncesinde, 20°C'de 6 saat süreyle dinlendirilmesi rutubet oranlarının azalmasına neden olmuştur (3, 14).

Table 1. Olgunlaşma periyodu esnasında (90 gün) vakum ambalajda olgunlaştırılan (KV) ve salamurada olgunlaştırılan (KS) geleneksel Türk beyaz peyniri ile probiyotik kültür (*L. acidophilus*) ile üretilerek vakum ambalajda olgunlaştırılan (PV) ve salamurada olgunlaştırılan (PS) Türk beyaz peynirine ait kimyasal analiz değerleri.^a

Kompozisyon (% w/w)	Olgunlaşma Süresi (gün)	Peynir Kodları ^b			
		KV	PV	KS	PS
LA ^c	0	1.92 ± 0.08	1.92 ± 0.11	1.92 ± 0.15	1.92 ± 0.11
	5	2.18 ± 0.08	2.13 ± 0.07	2.09 ± 0.02	2.18 ± 0.10
	10	2.26 ± 0.09	2.27 ± 0.24	2.07 ± 0.02	2.14 ± 0.20
	30	2.22 ± 0.11	2.05 ± 0.09	2.15 ± 0.10	2.21 ± 0.05
	60	2.28 ± 0.13	2.30 ± 0.08	2.28 ± 0.12	2.27 ± 0.12
KM	0	2.29 ± 0.10	2.30 ± 0.14	2.23 ± 0.24	2.18 ± 0.14
	5	45.35 ± 0.05	45.35 ± 0.02	45.35 ± 0.02	45.88 ± 0.05
	10	49.46 ± 0.55	48.90 ± 0.30	48.22 ± 0.31	48.70 ± 0.21
	30	48.18 ± 0.15	48.54 ± 0.49	48.58 ± 0.74	48.03 ± 0.42
	60	48.18 ± 0.12	48.60 ± 0.69	48.81 ± 0.43	48.24 ± 0.25
KMY ^c	0	45.14 ± 0.13	45.07 ± 0.56	45.14 ± 0.29	45.08 ± 0.44
	5	48.89 ± 0.44	48.14 ± 0.39	50.46 ± 0.30	47.80 ± 0.50
	10	48.14 ± 0.09	47.61 ± 0.18	47.14 ± 0.16	47.07 ± 0.13
	30	47.18 ± 0.43	47.15 ± 0.14	47.32 ± 0.10	47.51 ± 0.19
	60	47.34 ± 0.12	47.16 ± 0.47	47.19 ± 0.11	47.45 ± 0.29
KMT ^c	0	47.18 ± 0.48	47.21 ± 0.28	47.19 ± 0.65	47.26 ± 0.58
	10	47.45 ± 0.18	47.30 ± 0.98	47.29 ± 0.91	47.18 ± 0.85
	30	47.42 ± 0.09	47.17 ± 0.50	47.16 ± 0.85	47.54 ± 0.54
	5	47.36 ± 0.32	47.1 ± 0.41	47.35 ± 0.12	47.43 ± 0.11
	10	47.1 ± 0.33	47.0 ± 0.15	47.0 ± 0.43	47.10 ± 0.42
Probiyon	0	47.1 ± 0.4	47.0 ± 0.43	47.1 ± 0.45	47.1 ± 0.19
	10	47.0 ± 0.34	47.0 ± 0.41	47.1 ± 0.37	47.1 ± 0.34
	30	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34
	60	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34
	90	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34	47.1 ± 0.34

a Tabloda yer alan her değer 3 tekrarın ortalaması ve standart sapmalarıdır.

b KV: Vakum ambalajda olgunlaştırılan geleneksel Türk beyaz peyniri (kontrol grubu 1); PV: Probiyotik kültürle (*L. acidophilus*) üretilerek vakum ambalajda olgunlaştırılan Türk beyaz peyniri; KS: Salamurada olgunlaştırılan geleneksel Türk beyaz peyniri (kontrol grubu 2); PS: Probiyotik kültürle üretilerek salamurada olgunlaştırılan Türk beyaz peyniri.

c Kısaltmalar: LA, laktik asit; KM, kuru madde; KMY, kuru maddede yağ; KMT, kuru maddede tuz.

d Sütunlarda aynı superscript harf ile veya harfsiz ifade edilen değerler birbirinden farklıdır ($P > 0.05$).

Olgunlaşmanın 15-90. günleri arasında salamurada olgunlaştırılan gruplara ait (KS ve PS) kuru madde oranlarının, vakum ambalajda olgunlaştırılan gruplara (KV ve PV)

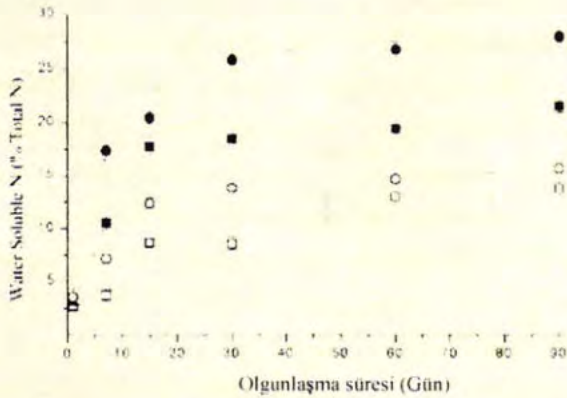
oranla daha yüksek olduğu görülmektedir. KS ve PS peynirlerin kuru madde oranlarının daha yüksek olması, olgunlaşma esnasında tuzun osmozu ve sinereze bağlanabilir. Tuzun salamuradan osmoz yoluyla peynire geçişi esnasında, peynirdeki suyun diffüzyonla uzaklaştığı bilinmektedir (2,13, 21).

Peynir gruplarının kuru maddede yağ (KMY; %40 w/w) ve total protein (%13.43 w/w) içerikleri Türk Standartları Enstitüsü (31) tarafından bildirilen limitler dahilindedir (Tablo 1). Olgunlaşma periyodu süresince kuru maddede yağ oranının vakum paketlenmiş peynirlerde (KV ve PV), salamura ambalajlı peynirlerden (KS ve PS) daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Yağ oranlarındaki bu farklılık, lipolize ve peynirdeki yağ asitlerinin salamuraya geçişinden kaynaklanabilir (4, 33). Peynir grupları arasında toplam protein yönünden farklılık belirlenememiştir ($P > 0.05$). KV ve PV gruplarının kimyasal bileşimleri, *L. sake* ile geleneksel beyaz peynir üretirek vakum ambalajda olgunlaştıran Özdemir (26)'in bulgularına paralellik gösterdiği, KS ve PS gruplarının ise Akgün (1) tarafından bildirilen değerlerle uyumlu olduğu görülmektedir.

3.3. Proteoliz

Probiyotik peynirlerde (PV ve PS) belirlenen suda eriyebilir azot miktarlarının, kontrol gruplarındaki (KV ve KS) değerlerden belirgin şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Şekil 3). Bu farklılık, peynir üretiminde kullanılan starter laktokokların ve *L. acidophilus*'un proteolitik özelliklerinin farklı olmasından ileri gelebilir (30). Benzeri bir farklılık, vakum ambalajlı gruplar ile (K ve PV) salamura gruplar (KS ve PS) arasında gözlenmektedir ($P < 0.05$). Türkiye'de, olgunlaşmış beyaz peynirin proteoliz değerine yönelik limit bulunmamaktadır (31). Türk beyaz peyniri temel olarak 90 gün olgunlaştırılır (15), fakat pratikte 60 günde, hatta olgunlaşmasını tamamlamadan daha kısa sürede piyasaya sürülmektedir. Çalışmamızda elde edilen proteoliz ve duyu analizi sonuçlarına göre, PV grubu beyaz peynirler diğer gruplara oranla daha kısa sürede (15 gün) piyasaya sürülebilir niteliktedir. KS ve PS grubu peynirlerdeki düşük proteoliz değerleri ise, bu peynirlerde belirlenen kuru maddede tuz değerlerinin relatif fazlalığından ileri gelebilir (6). Yüksek tuz konsantrasyonlarının *L. acidophilus* ile starter laktokokların üreme ve enzimatik aktiviteleri üzerine zıt etkileri, Gomes ve ark. (11) tarafından bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen proteoliz değerlerinin, diğer çalışmalarda (1, 26) bildirilen değerlerden daha yüksek olması, *L. acidophilus* ile diğer

çalışmalarda kullanılan starter laktokoklar ve test suşlarının (*L. sake*) aktiviteleri arasındaki farklılıktan ileri gelebilir.

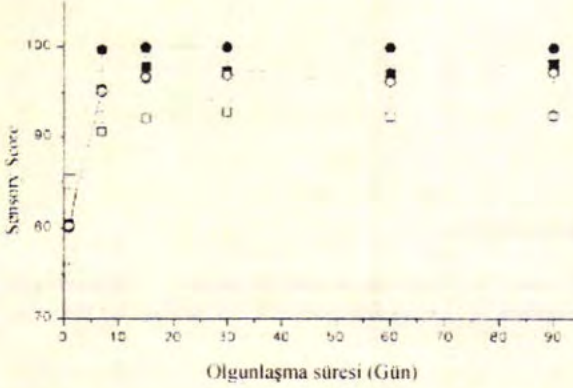


Şekil 3. Vakum ambalajda (KV, ■) ve salamurada (KS, □) olgunlaştırılan geneksel Türk beyaz peyniri ile probiyotik kültür ile üretilen (*L. acidophilus*) vakum ambalajda (PV, ●) ve salamurada (PS, ○) olgunlaştırılan Türk beyaz peynirinin proteoliz değerleri.

3.4. Duyusal değerlendirme

TSE (31) tarafından hazırlanan beyaz peynir duyusal değerlendirme puan kartına göre en yüksek değerler, yapı ve tekstür için 30 puan, görünüm için 15 puan, renk için 10 puan ve lezzet için 45 puan olarak bildirilmiştir. Olgunlaşma periyodu boyunca peynir gruplarına ait duyusal değerlendirme puanlarının ortalamaları Şekil 4'te görülmektedir. Olgunlaşmanın ilk gününde yapı ve tekstür (30 puan), görünüm (15 puan), renk (10 puan) ve lezzet (25 puan) değerlendirmesi, tüm gruplarda toplam 80 puandır. Olgunlaşmanın 7. gününden itibaren KV, KS, PV ve PS gruplarının lezzet puanlarında farklı oranlarda artış görülmüştür ($P < 0.05$) (Şekil 4). En yüksek duyusal puana (100) olgunlaşmanın 15. gününde PV grubu ulaşırken, periyodun sonunda (90 gün) diğer grupların ulaştığı puanlar KV, PS ve KS için sırayla 98.3, 97.3 ve 92.5 olarak belirlenmiştir (Şekil 4). Gruplara ait duyusal puanlar arasındaki farklılıkların ve puanların olgunlaşma periyodu süresince değişiminin, gruplara ait proteoliz eğrileriyle paralellik gösterdiği dikkati çekmektedir (Şekil 3 ve 4). Bu nedenle duyusal değerlerdeki değişiklik proteolize atfedilebilir. Türk beyaz peynirinde proteoliz, lipolizden daha önemlidir (15). Proteoliz, peynirin olgunlaşması esnasında kısa peptitler

ve serbest amino asitlerin ortaya çıkmasını sağlayarak lezzet oluşumunda önemli bir rol oynar (34, 37). Gomes ve Malcata (10), *B. lactis* ve *L. acidophilus*'un Ki suşu ile ürettikleri yarı sert keçi peynirine ait yüksek lezzet puanlarını, proteoliz değerlerinin yüksek olması ile açıklamışlar ve *L. acidophilus*'un peynirin duysal nitelikleri üzerine olumlu etkileri olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4 Vakum ambalajda (KV, ■) ve salamurada (KS, □) olgunlaştırılan geneksel Türk beyaz peyniri ile probiyotik kültür ile üretilen (*L. acidophilus*) vakum ambalajda (PV, ●) ve salamurada (PS, ○) olgunlaştırılan Türk beyaz peynirinin duysal değerlendirme puanları.

4. Sonuç

Bu çalışma, *L. acidophilus*'un probiyotik Türk beyaz peyniri üretiminde kullanılabileceğini ortaya koymuştur. *L. acidophilus*'un olgunlaşma periyodu sonunda beyaz peynirdeki sayısı, probiyotik peynir olarak kabul edilmesi ve sağlığa faydalı etkiler oluşturmaları için gerekli olan en düşük değerin (10^7 kob g^{-1}) (19) üzerindedir. *L. acidophilus*, Türk beyaz peynirinin lezzet ve tekstür özelliklerini olumlu yönde etkilerken, yüksek proteoliz oranı ile peynirin 15 gün gibi kısa sürede olgunlaşmasını sağlamıştır. Vakum pakette olgunlaştırılan probiyotik beyaz peynirin ise yüksek duysal puanlarıyla, salamurada olgunlaştırılan probiyotik gruptan daha üstün olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle, probiyotik Türk beyaz peynirinde ambalaj yöntemi olarak vakum ambalajlama yönteminin tercih edilmesi ve vakum ambalaj içerisinde olgunlaştırılması önerilebilir.

Teşekkür

Çalışma esnasında değerli yardımları ve teknik desteği nedeniyle Prof.Dr. Şerif KAYMAZ'a (Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı) minnettarız.

Kaynaklar

1. Akgün, S. (1995). Beyaz peynir üretiminde *Lactobacillus sake*'nin starter kültür olarak kullanılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 42, 271-279.
2. Akgün, S., Anar, Ş. (1991). Vakum paketlenmiş beyaz peynirlerde tuzun diffüzyonu üzerine araştırmalar. *Gıda-Yem Bilimi ve Teknolojisi Dergisi*, 1, 14-19.
3. Akgün, S., Mutluer, B. (1993). Beyaz peynirlerde vakumla ambalajlamanın olgunlaşma süresi üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 40, 346-360.
4. Alais, C. (1974). *Science du Lait. Principes des Techniques Laitières*. Paris: Sep Edition.
5. British Standards Organization (1963). *Methods for the chemical analysis of cheese*, BS 770. London: British Standard Inst.
6. Çakmakçı, S., Kurt, A. (1993). Salamura tuz oranı ve olgunlaşma süresinin CaCl_2 ve lesitin ilavesiyle üretilen Beyaz salamura peynir kalitesine etkisi. *Gıda*, 18, 21-28.
7. Davis, J. G. (1976). *Cheese Manufacturing methods*, vol. III (pp. 891-896). London: Churchill Livingstone.
8. Gilliland, S. E., Speck, M. L. (1977). Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *Journal of Food Protection*, 40, 820-823.
9. Gobetti, M., Corsetti, A., Smacchi, E., Zocchetti, A., De Angelis, M. (1998). Production of crescenza cheese by incorporation of bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 81, 37-47.
10. Gomes, A. M. P., Malcata, F. X. (1998). Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: Response surface analysis via technological manipulation. *Journal of Dairy Science*, 81, 1492-1507.
11. Gomes, A. M. P., Vieira, M. M., Malcata, F. X. (1998). Survival of probiotic strains in a cheese during ripening: Simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. *Journal of Food Engineering*, 36, 281-301.
12. Guarner, F., Schaafsma, G. J. (1998). Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 39, 237-238.
13. Guinee, T. P., Fox, P. F. (1987). Salt in cheese: Physical, chemical and biological aspects. In P.F. Fox (Eds.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, vol. I (pp. 251-297). London: Elsevier Applied Science.
14. Hardy, J. (1976). *Etude de la Diffusion du Sel Dans les Fromages à Pâte Molle de Type Camembert*. Thesis, University de Nancy, Nancy, France.

15. Hayaaloğlu, A. A., Güven, M., Fox, P. F. (2002). Review: Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish white cheese "Beyaz Peynir". *International Dairy Journal*, 12, 635-648.
16. International Dairy Federation (1958). *Determination of dry matter in cheese and processed cheese, Standard 4*. Brussels: International Dairy Federation.
17. International Dairy Federation (1988). *Determination of salt content, Standard 12 B*. Brussels: International Dairy Federation.
18. International Standards Organization (1975). *Determination de la teneur en matière grasse. Methode van Gulik. ISO-3433 Fromages*. Geneva: International Standards Organization.
19. Ishibashi, N., Shimamura, S. (1993). Bifidobacteria research and development in Japan. *Food Technology*, 47, 126-135.
20. Kandler, O., Weiss, N. (1986). *Lactobacillus*. In: P. H. A. Sneath, N.S. Mair, M. E. Sharpe, J. G. Holt (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (pp. 1209-1221). Los Angeles: Williams & Wilkins.
21. Killham, K., Firestone, M. K. (1984). Salt stress control of intracellular solutes in Streptomyces indigenous to saline soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 47, 301-305.
22. Kosikowski, F. (1977). *Cheese and fermented milk foods* (pp. 360-364). Ann Arbor: Edwards Brothers, Inc.
23. Kuchroo, C. N., Fox, P. F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese. Comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 331-335.
24. Lee, Y. K., Salminen, S. (1995). The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 241-245.
25. Mundt, J. O. (1986). *Streptococcus*. In: P. H. A. Sneath, N.S. Mair, M. E. Sharpe, J. G. Holt (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (pp. 1065-1066). Los Angeles: Williams & Wilkins.
26. Özdemir, E. (1998). *The survey of shelf-life in vacuum-packed white cheese producing with traditional process and using Lactobacillus sake*. Thesis, University of Ankara, Ankara, Turkey.
27. Ross, R. P., Fitzgerald, G., Collins, K., Stanton, C. (2002). Cheese delivering biocultures-probiotic cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57, 71-78.
28. SPSS (1999). *SPSS 10 for windows*. Chicago, IL: SPSS Inc.
29. Stanton, C., Gardiner, G., Lynch, P. B., Collins, J. K., Fitzgerald, G., Ross, R. P. (1998). Probiotic cheese. *International Dairy Journal*, 8, 491-496.
30. Tjwantan, P. S., Poolman, B., Konings, W. N. (1993). Proteolytic enzymes of *Lactococcus lactis*. *Journal of Dairy Research*, 60, 269-286.
31. Türk Standartları Enstitüsü (1995). *Beyaz peynir, TS 591*. Ankara: Türk Standartları Enstitüsü.

32. Vanderzant, C., Splittoeffer, D. F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, DC: American Public Health Association.
33. Veisseyre, R. (1975). *Technologie du Lait Constitution, Re'colte, Traitement et Transformation du Lait*. Paris: La Maison Rustique.
34. Vicente, M. S., Ibanez, F. C., Barcina, Y., Barron JR., L. (2001). Casein breakdown during ripening of Idiazabal cheese: Influence of starter and rennet type. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 210-215.
35. Vinderola, C. G., Prosello, W., Ghilberto, D., Reinheimer, J. A. (2000). Viability of probiotic *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* and nonprobiotic microflora in Argentinian Fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, 83, 1905-1911.
36. Yetişmeyen, A. (1995). *Süt teknolojisi*. Ankara: Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi yayınları.
37. Yvon, M., Thirouin, S., Rijnen, L., Fromenter, D., Gripon, J. C. (1997). An aminotransferase from *Lactococcus lactis* initiates conversion of amino acids to cheese flavor compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 414-419.

**AFYON'DA PAKETLENMEDEN SATILAN PİLİÇ KARKASLARINDA
TERMOFİLİK *CAMPYLOBACTER* TÜRLERİNİN SAPTANMASI VE *C.
JEJUNI* İZOLATLARININ PCR İLE DOĞRULANMASI**

Şebnem PAMUK*

**Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Ahmet Necdet Sezer Kampüsü,
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, AFYONKARAHİSAR
sebpam66@hotmail.com*

ÖZET

Afyon'da paketlenmeden (ticari olarak dökme şeklinde) satılan piliç karkaslarında termofilik *Campylobacter* türlerinin klasik kültür tekniği ile saptanarak, *C. jejuni* olarak belirlenen izolatların PCR ile doğrulanması amacıyla yapılan bu çalışmada, örneklerin izolasyon ve identifikasyonlarında ISO (ISO, 10272) yöntemi kullanıldı. Buna göre, 210 karkasın 141'inin (%67.1) termofilik *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğu saptandı. Kültür tekniği ile 141 piliç karkasından toplam 419 termofilik *Campylobacter* spp. izolatu elde edildi. Elde edilen 419 termofilik *Campylobacter* izolatının %57.0'sinin (239) *C. jejuni*, %40.50'sinin (170) *C. coli*, %2.30'ünün (10) *C. lari* olduğu belirlendi. Termofilik *Campylobacter* spp. izole edilen 141 karkasın 101'inden *C. jejuni* ile birlikte diğer termofilik türleri tanımlanırken, 40'ından sadece diğer termofilik *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. lari*) tanımlanıldı. Kültür tekniği ile toplam 101 karkastan elde edilen 239 *C. jejuni* izolatu arasından seçilen 101 izolata PCR işlemi uygulandı. Buna göre, 101 izolatın 62'si (%61.38) *C. jejuni* olarak doğrulanırken, 39'u (%38.61) doğrulanmadı.

**DETECTION OF THERMOPHILIC *CAMPYLOBACTER* SPP. IN
UNPACKAGED BROILER CARCASSES IN RETAIL MARKETS OF AFYON
AND CONFIRMATION OF *C. JEJUNI* ISOLATES
WITH PCR**

In this study, ISO method was used for isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* spp. in retail markets of Afyon province and *C. jejuni* isolates were confirmed by using PCR technique. Results indicated that 141 out of 210 (67.1%) carcasses were found to be contaminated with *Campylobacter* spp. Total of 419 *Campylobacter* spp. isolates were obtained from 141 broiler carcasses by conventional cultural technique. According to species distribution 57.0% of these strains were identified as *C. jejuni* (239), 40.50% (170) as *C. coli*, and 2.30% (10) as *C. lari*. In 101 of 141 thermophilic *Campylobacter* spp. contaminated broiler carcasses, *C. coli* or *C. lari* were isolated together with *C. jejuni* while in 40 samples only *C. coli* or *C. lari* were isolated. PCR confirmation were applied to 101 *C. jejuni* strains isolated and 62 were confirmed to be *C. jejuni*.

GİRİŞ

Son yıllarda kanatlı sektöründe görülen hızlı gelişmeye bağlı olarak, tüketimi artan kanatlı eti ve ürünlerinden kaynaklanan gıda infeksiyon ve intoksikasyonlarında artış gözlemlendiği kaydedilmiştir. Genellikle az pişmiş veya rekontamine kanatlı etinin tüketilmesi sonucu meydana gelen salmonellosis ve campylobacteriosis, üzerinde en çok durulan zoonoz hastalıklardır. Bu patojenlere ilişkin riskin oluşmasında, kanatlı eti işleme prosesinin ve pişirme işleminin etkili olduğu bildirilmiştir (7, 10).

Yapılan çalışmalarda, piliç etinin kesim işlemi sırasında sıklıkla bağırsak içeriği ile kontamine olduğu, marketlerde satılan kullanıma hazır kanatlı etlerinin neredeyse tamamında, termofilik *Campylobacter* türleri içerisinde en sık görülen tür olan *C. jejuni*'nin saptandığı belirtilmiştir (5, 41). Piliç eti ve ürünlerinden kaynaklanan termofilik *Campylobacter* infeksiyonlarında, piliç karkaslarına kesim işlemi sırasında bağırsak içeriğinin bulaşmasının (20, 21), gıda işleme aşamasında meydana gelen

Çapraz kontaminasyonların, yetersiz pişirme işlemleri ve hijyen eksikliğinin önemli rol oynadığı kaydedilmiştir (2, 3, 33). Termofilik *Campylobacter* spp.'nin neden olduğu infeksiyonlarda, kanatlı eti ve ürünlerinin risk grubu gıdaların başında yer aldığı, infeksiyona neden olan diğer risk grubu gıdalar arasında, çiğ süt ve kontamine içme sularının da bulunduğu bildirilmiştir (6, 13, 31, 37, 39).

GEREÇ VE YÖNTEM

Afyon'da değişik marketlerde paketlenmeden (ticarete dökme piliç olarak adlandırılan) açıkta satışa sunulan piliç karkaslarında termofilik *Campylobacter* spp.'nin saptanması ve *C. jejuni* olarak tanımlanan izolatların PCR ile doğrulanması amacıyla yapılan bu çalışmada, toplam 210 piliç karkası gereç olarak kullanılmıştır. Örneklerden termofilik *Campylobacter* spp.'nin izolasyon ve identifikasyonu ISO'nun (The International Organization for Standardization) yöntemine göre yapıldı (4). Piliç karkas örnekleri, steril rins po etlerine konularak 225 ml preston selektif zenginleştirme buyyonunda (Oxoid CM 67, Oxoid SR 232E, Oxoid SR 0117E, Oxoid SR 048) 1-2 dk. ovulup homojenize edildikten sonra, homojenizat örnek olarak kullanıldı. Yıkama sıvılarının inkübasyonu 42 C'de 24 saat mikroaerofilik ortamda (Campgen Oxoid CN 25) gerçekleştirildi (11, 22, 23, 28, 29). Zenginleştirme sıvısından 2  ze dolusu alınarak, *Campylobacter* Blood-free Selective Agara (CCD Agar-Oxoid CM 739, Oxoid SR 155)  izme yöntemiyle ekim yapıldı. Daha sonra 42 C'de 48-72 saat mikroaerofilik ortamda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra Charcoal Cefoperazone Deoxycholata Agarda üreyen yassı, gri rekli, nemli görünümlü şüpheli kolonilerden 5'i seçilerek kanlı agara (Oxoid CM 331, %5 koyun kanı)  izme yöntemiyle ekildi ve 42 C'de 24 saat mikroaerofilik ortamda inkübasyona bırakıldı. Kanlı agarda üreyen hemoliz negatif şüpheli kolonilerden Gram boyama, hareketlilik, katalaz, oksidaz, sodyum hippurat hidroliz testleri ile 25 C'de  reme, Müeller Hinton Agarda nalidiksik asit ve sefalotin antibiyotik duyarlılık testleri ile TSI Agarda H₂S oluşumuna bakıldı.

PCR yönteminde, öncelikle izolatların DNA ekstraksiyonu yapılarak PCR koşulları optimize edildi. Çalışmada kullanılan primer çiftleri (16) *ceuE* gen sekansını oluşturan oligonükleotid dizilimini [JE1 (5'CCTGCTACGGTGAAAGTTTTGC3')

JEJ2(5'GATCTTTTGTGCTGC3')] içerdi. PCR işlemi için %15 gliserol içeren Brucella Broth'ta -70°C'de muhafaza edilen *C. jejuni* izolatları aktive edilerek ekstraksiyonları yapıldı. DNA ekstre etmek amacıyla kaynatma metodu uygulandı (14). PCR işlemi; total volüm 25 µl olacak şekilde; 50 mM KCL, 10 mM Tris-HCl (10xPCR buffer) (pH 8.3), 1.5 µl MgCl₂, 0.5 µl dNTP mix, her bir primerden 0.25 µl, 0.2 µl Ampli Taq DNA polimeraz ve ekstraksiyonu yapılmış 2 µl hedef DNA'dan oluştu. Karışım mineral yağ ile kaplandıktan sonra örneklerin amplifikasyonu, Thermal Cycler'da 30 siklus üzerinden yapıldı. Herbir siklus, 94°C'de 3 dk ısıtma, 94°C'de 30 sn denatürasyon, 57°C 30 sn primer bağlanması ve 72°C 1 dk primer uzatılması olacak şekilde yapıldı. Son siklusu takiben ilave olarak 72°C 5 dk primer uzatılması işlemi uygulandı.

BULGULAR

Klasik kültür tekniği ile Mayıs- Ekim 2004 tarihleri arasında yapılan analiz sonucunda, toplam 210 piliç karkas örneğinin 141'inden (%67.1) termofilik *Campylobacter* spp. izole edilirken 69'undan (%32.9) izole edilemedi. Termofilik *Campylobacter* spp. izole edilen 141 karkasın 101'inden *C. jejuni* ile birlikte diğer termofilik türler identifiye edilirken, 40'ından sadece diğer termofilik türler identifiye edildi. Mayıs ve Haziran ayında alınan 35'er örnekten 25'inin, Temmuz ve Ağustos ayında alınan örneklerden 28'inin, Eylül ayında alınan örneklerden 19'unun, Ekim ayında alınan örneklerin ise 16'sının termofilik *Campylobacter* spp.'i ile kontamine olduğu saptandı. Elde edilen bulgular doğrultusunda, sıcak ayların başında (Mayıs-Haziran) kontaminasyon oranının %71.4 düzeyinde olduğu, yaz ayının ortalarında (Temmuz-Ağustos) bu oranın arttığı (%80), sonbahar mevsiminin ilk ayında (Eylül) %54.2, ikinci ayında (Ekim) ise %45.7 olduğu saptandı ve bu aylarda kontaminasyon oranının sıcak aylara göre azaldığı gözlemlendi. Yapılan identifikasyon testleri sonucunda toplam 210 piliç karkas örneğinden 419 termofilik *Campylobacter* spp. izolatu elde edildi. Elde edilen 419 termofilik *Campylobacter* spp. izolatının %57.04'ünün (239) *C. jejuni*, %40.57'sinin (170) *C. coli* ve %2.39'unun (10) *C. lari* olduğu belirlendi. Karkaslardan elde edilen 239 *C. jejuni* izolatu arasından seçilen 101 izolata PCR işlemi uygulandı. Buna göre, 101 izolatın 62'si (%61.38) PCR ile doğrulanırken, 39'u (%38.61) doğrulanmadı. *C. jejuni* olduğu

doğrulan 62 izolatın 28'inin (%45.16) antibiyotik duyarlılık testleri sonrasında, nalidiksik aside dirençli oldukları belirlendi. PCR işlemi sonucunda doğrulan 62 izolatın 10'unun daha önce yapılan ve koyu mavi renklerin pozitif olarak kabul edildiği hippurat hidrolizi testinde tanımlanan renkten ton olarak daha açık renk verdiği gözlenmiştir.

TARTIŞMA

ISO'nun (International Organization Standardization) önerdiği izolasyon ve identifikasyon yöntemine göre, Afyon'da marketlerde açıkta satışa sunulan 6-8 haftalık 210 piliç karkas örneğinin 141'inden (%67.1) termofilik *Campylobacter* spp. izole ve identifiye edilmiştir. Konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda (1, 21), kanatlı karkaslarının %84 ile %100 arasında değişen oranlarda termofilik *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğu kaydedilmiştir. Bulgularımız, birçok araştırmacının (1, 11, 15, 19, 21, 22, 34, 38, 42, 45) bulgularıyla uyum göstermektedir. Yıldız ve Diker'in (1992) çalışmalarında örnek olarak açıkta satılan, uzun süre soğukta muhafaza edilmiş, oksijene maruz kalmış ve yüzeyi kurumuş karkas değil de, kesimden hemen sonra satışa hazır karkas kullanmış olmalarından dolayı bulguları, bu çalışmanın bulgularından yüksektir. Bazı araştırmacıların (6, 12, 24, 40) bulgularının ise bu çalışmanın bulgularından düşük olduğu gözlenmiştir. Köksoy (2001), örneklerden 25 g alarak 225 ml tamponlanmış peptonlu suda homojenize ettikten sonra bu karışımdan direkt olarak *Campylobacter* Blood Free Agara ekim yapmıştır. Bulgularının düşük olması, zenginleştirme yöntemini kullanmamasının yanı sıra homojenize ettiği sıvının Preston broth olmaması da Preston broth'un tamponlanmış peptonlu suya üstünlük nedeni ile açıklanabilir. Atanassova ve Ring'in (1999) 1995-1997 yılları arasında yaptıkları çalışmada, sadece Kasım ve Aralık aylarında swab yöntemiyle örnek almış olmalarının, termofilik *Campylobacter* spp. oranını düşük bulmalarında etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak Cloak ve ark.'nın (2001), bulguları, aynı dönemde çalışmalarına rağmen örneklere zenginleştirme işlemi uygulamalarından dolayı Atanassova ve Ring'in (1999) bulgularından farklılık göstermektedir. Uyttendaele ve ark.'nın (1999) çalışmalarından elde ettikleri termofilik *Campylobacter* izolasyon oranının bu çalışmadan elde edilen orandan düşük olması, farklı yaş gruplarına ait piliç karkaslarını

gereç olarak kullanmalarının yanı sıra kesimin farklı bölgelerdeki kesimhanelerde yapılmış olması ve karkasların farklı bölgelerden sağlanmış olmasıyla açıklanabilir. Bu araştırmada ise, materyal olarak kullanılan piliçler farklı yaş gruplarına ait olmayıp 6-8 haftalık olmakla birlikte, piliçler sadece Afyon orijinli ve sürekli aynı mezbahada kesilmişlerdir. Dufrenne ve ark.'nın (2001) termofilik *Campylobacter* spp. izolasyonunda kullandıkları Most Probable Number (MPN) yöntemi, araştırmamızda kullanılan yöntemden farklıdır. Araştırmacı, zenginleştirme medyumunu olarak Preston broth'u kullandığını ve zenginleştirme sırasında piliç karkas ve parça piliç eti örneklerinin derilerinde bulunan baskın floranın termofilik *Campylobacter* spp. sayısını baskıladığını kaydetmiştir. Bu çalışmada 210 piliç karkasın 69'unda (%32.9) hiç termofilik *Campylobacter* spp. saptayamayarak diğer kontaminantların ürediği belirlenmiş olsa da, elde ettiğimiz toplam *Campylobacter* spp. oranının diğer çalışmalardaki oranların altına düşmediği gözlenmiştir. Bununla birlikte, bazı araştırmacıların (8, 25, 36, 40, 43, 46) bulgularında termofilik *Campylobacter* spp. düzeylerinin yüksek olması, gereç olarak tüm piliç karkas değil, parça piliç etlerini veya piliç iç organlarını kullanmalarına bağlanabilir. *C. jejuni*, *C. coli* ve *C. lari*'nin identifikasyon oranlarındaki farklılığın nedeni, kullanılan kanatlı sürülerinin kontaminasyon oranına, kanatlıların bulunduğu bölgedeki termofilik *Campylobacter* epidemiyolojisinin farklılığına, kanatlı sürülerinin kümeste yetiştiriliş şekline (yer veya kafes tavukçuluğu), sürünün yaşına, antibiyotik kullanımına, sürü ve kümesin bulunduğu çevredeki rodent ve evcil olmayan kanatlıların (güvercin, serçe, martı v.s) popülasyonuna bağlı olabileceği gibi, kesim tekniklerine, karkas saklama metotlarına, satış şartlarına, etkenin arandığı örnek çeşidine, izolasyonda kullanılan yöntem farklılıklarına ve mevsime bağlanabilir. Bu çalışmada elde edilen PCR bulgularında olduğu gibi, yapılan diğer çalışmalarda da (9, 17, 18, 26, 27, 35) klasik kültür tekniğinde pozitif, PCR tekniğinde negatif sonuçların elde edildiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, bunun nedeninin, klasik kültür tekniğindeki fenotipik identifikasyonlar sırasında meydana gelen çapraz reaksiyonlara, PCR işleminde kullanılan template DNA'nın ekstraksiyon metoduna ve template DNA miktarına, saf DNA hazırlama aşamasında meydana gelebilecek nonspesifik DNA ürünlerinden bazı PCR primerlerinin olumsuz etkilenmesine, kullanılan DNA polimerazın tipine, buffer

solüsyonunun reaksiyonuna bağlanabileceğini ve bunun gibi koşulların PCR'ı inhibe edebileceğini kaydetmişlerdir (9, 30, 32, 35).

SONUÇ

Afyon'da yetiştirilip kesilen ve açık olarak satışa sunulan 6 firmaya ait piliç karkaslarının çoğunluğunun termofilik *Campylobacter* spp. ile kontamine olduğu, açıkta satışa sunulan piliç karkaslarının halk sağlığı açısından potansiyel sağlık riski oluşturabileceği saptanmıştır. Bu bakımdan, piliç eti ve ürünlerinden kaynaklanabilecek *Campylobacter* infeksiyonlarının engellenebilmesinde, çiftlikten başlamak üzere, yetiştirme aşamasında, mezbahada ve son olarak da satış yerlerinde gıda güvenlik programları ve HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) sistemlerinin uygulanması önem arz etmektedir. Ayrıca, bu çalışma ve diğer çalışmalarda da belirlendiği üzere, klasik kültür tekniğinin önemli bir identifikasyon testi olan antibiyotik duyarlılık testlerinin son dönemlerde artan antibiyotik dirençli türlerin identifikasyonunda yetersiz kalmasından dolayı, klasik kültür tekniğindeki fenotipik identifikasyonlara tamamlayıcı olmak ve birbirine çok yakın olan türlerinin ayrımını kolaylaştırmak için PCR ile spesifik identifikasyon çalışmalarının klasik kültür tekniğine dayalı identifikasyonlarla paralel yürütülmesi gerektiği bir kere daha ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

1. AHO, M., HIRN, J. (1988). Prevalence of *Campylobacter* in Finnish broiler chicken chain from the producer to the consumer. *Acta. Vet. Scand.*, 29(3-4): 451-462.
2. ANNAN- PRAH, A., JANC, M. (1988a). Chicken to human infection with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: biotype and serotype correlation. *J. Food Prot.*, 51: 562-564.
3. ANNAN- PRAH, A., JANC, M. (1988b). The mode and spread of *Campylobacter jejuni* / *coli* broiler flocks. *J. Vet. Med.*, 35: 11-18.
4. ANON (1995). Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter*. The International Organization for Standardization- 10272.
5. ATABAY, H. I., CORRY, J. E. L. (1997). The prevalence of campylobacters and arcobacters in broiler chickens. *J. Appl. Microbiol.*, 83(5): 619-626.
6. ATANASSOVA, V., RING, C. (1999). Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry meat in Germany. *Int. J. Food Microbiol.*, 51: 187-190.
7. BERNDTSON, E., EMANUELSON, U., ENGVALL, A., DANIELSSON-THAM, M.L. (1996). A 1-year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farms. *Pre Vet. Med.*, 26: 167-185.
8. BERRANG, M. E., LADLEY, S. R., BUHR, R. J. (2001). Presence and level of *Campylobacter*, coliforms, *Escherichia coli* and total aerobic bacteria recovered from broiler parts with and without skin. *J. Food Prot.*, 64(2): 184-8.

9. BOLTON, F. J., SAILS, A. D., FOX, A. J., WAREING, D. R. A., GREENWAY, D. L. A. (2002). Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in foods by enrichment culture and polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Food Prot.*, **65**(5): 760-767.
10. 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.
11. CLOAK, O. M., DUFFY, G., SHERIDAN, J. J., BLAIR, I. S., MCDOWELL, D. A. (2001). A survey on the incidence of *Campylobacter* spp. and the development of a surface adhesion polymerase chain reaction (SA-PCR) assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in retail meat products. *Food Microbiol.*, **18**: 287-298.
12. DUFRENNE, J., RITMEESTER, W., DELFOU-VAN ASCH, E., VAN LEUSDEN, F., DE JONGE, R. (2001). Quantification of the contamination of chicken and chicken products in The Netherlands with *Salmonella* and *Campylobacter*. *J. Food Prot.*, **64**: 538-541.
13. EFFLER, P., IEONG, M. C., KIMURA, A., NAKATA, M., BURR, R., CREMER, E., SLUTSKER, L. (2001). Sporadic *Campylobacter* infections in Hawaii: associations with Prior antibiotic use and commercially prepared chicken. *J. Infect. Dis.*, **183**: 1152-1155.
14. ENGLE, M. D., CRAY, P. J. F. (2002). Evaluation of commercial diagnostic PCR for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Lett. Appl. Microbiol.*, **35**(4): 353-356.
15. FEDERIGHI, M., MAGRAS, C., PILET, M. F., WOODWARD, D., JOHNSON, W., JUGIAU, F., JOUVE, J. L. (1999). Incidence of thermotolerant *Campylobacter* in foods assessed by NF ISO 10272 standard: results of a two year study. *Food Microbiol.*, **16**: 195-204.
16. GONZALEZ, I., GRANT, K. A., RICHARDSON, P. T., PARK, S. F., COLLINS, M. D. (1997). Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. *J. Clin. Microbiol.*, **35**: 759-763.
17. HONG, Y., BERRANG, M. E., LIU, T., HOFACRE, C. L., SANCHEZ, S., WANG, L., MAURER, J. J. (2003). Rapid detection of *Campylobacter coli*, *C. jejuni* and *Salmonella enterica* on poultry carcasses by using PCR-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**(6): 3492-3499.
18. HOUNG, H. H., SETHABUTR, O., NIRDNOY, W., KATZ, D. E., PANG, L. W. (2001). Development of a *ceuE*-based multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay for direct detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Thailand. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **40**: 11-19.
19. HUDSON, J. A., NICOL, C., WRIGHT, J., WHYTE, R., HASELL, S. K. (1999). Seasonal variation of *Campylobacter* types from human cases, veterinary cases, raw chicken, milk and water. *J. Appl. Microbiol.*, **87**: 115-124.
20. IZAT, A. L., GARDNER, F. A., DENTON, J. H., GOLAN, F. A. (1988). Incidence and level of *Campylobacter jejuni* in broiler processing. *Poultry. Sci.*, **67**(11): 1568-1572.
21. JONES, F. T., AXTELL, R. C., RIVERS, D. V., SCHEIDLER, S. E., TARVER, F. R., WALKER, R. L., WINELAND, M. J. (1991). A survey of *Campylobacter jejuni* contamination in modern broiler production and processing systems. *J. Food Protect.*, **54**(4): 259-262.
22. JORGENSEN, F., BAILEY, R., WILLIAMS, S., HENDERSON, P., WAREING, D. R. A., BOLTON, F. J., FROST, J. A., WARD, L., HUMPHREY, T. J. (2002). Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *Int. J. Food Microbiol.*, **76**: 151-164.
23. JOSEFSEN, M. H., LÜBECK, P. S., AALBÆK, B., HOORFAR, J. (2003). Preston and Park-Sanders protocols adapted for semi quantitative isolation of thermotolerant *Campylobacter* from chicken rinse. *Int. J. Food Microbiol.*, **80**: 177-183.
24. KÖKSOY, A. G. (2001). Denizli yöresinde tüketime sunulan tavuk etlerinde ve iç organlarda *Campylobacter* türlerinin varlığı. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
25. KRAMER, J. M., FROST, J. A., BOLTON, F. J., WAREING, D. R. A. (2000). *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *J. Food Prot.*, **63**(12): 1654-1659.
26. KULKARNI, S. P., LEVER, S., LOGAN, J. M. J., LAWSON, A. J., STANLEY, J., SHAFI, M. S. (2002). Detection of campylobacter species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. *J. Clin. Pathol.*, **55**: 749-753.

27. LAWSON, A. J., SHAFI, M. S., PATHAK, K., STANLEY, J. (1998). Detection of campylobacters in gastroenteritis: comparison of direct PCR assay of faecal samples with selective culture. *Epidemiol. Infect.*, **121**: 547-553.
28. LEE, C. Y., TAI, C. L., LIN, S. C., CHEN, Y. T. (1994). Occurrence of plasmids and tetracycline resistance among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from whole market chickens and clinical samples. *Int. J. Food Microbiol.*, **24**: 161-170.
29. LILLARD, H. S. (1988). Comparison of sampling methods and implications for bacterial decontamination of poultry carcasses by rinsing. *J. Food Prot.*, **51**(5): 405-408.
30. MOHRAN, Z. S., ARTHUR, R. R., OYOFO, B. A., PERUSKI, L. F., WASFY, M. O., ISMAIL, T. F., MURPHY, J. R. (1998). Differentiation of *Campylobacter* isolates on the basis of sensitivity to boiling in water as measured by PCR detectable DNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**(1): 363-365.
31. NEAL, K. R., SLACK, R. C. B. (1997). Diabetes mellitus, anti-secretory drugs and other risk factors for *Campylobacter* gastro-enteritis in adults: a case-control study. *Epidemiol. Infect.*, **119**: 307-311.
32. ON, S. L. W., JORDAN, P. J. (2003). Evolution of 11 PCR assay for species level identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Clin. Microbiol.*, **41**: 330-336.
33. 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.
34. OSANO, O., ARIMI, S. M. (1999). Retail poultry and beef as sources of *Campylobacter jejuni*. *East African Med. J.*, **76**(3): 141-143.
35. SAILS, A. D., FOX, A. J., BOLTON, F. J., WAREING, D. R. A., GREENWAY, L. A. (2003). Areal-time PCR assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in foods after enrichment culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**(3): 1383-1390.
36. SAVAŞCI, M. (2005). Marketlerde satılan piliç parça etlerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı. Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
37. SCHORR, D., SCHMID, H., RIEDER, H. L., BAUMGARTNER, A., VORKAUF, H., BURNENS, A. (1994). Risk factors for *Campylobacter* enteritidis in Switzerland. *Zbl. Hyg Umweltmed.*, **196**: 327-337.
38. SHIH, D. Y. (2000). Isolation and identification of enteropathogenic *Campylobacter* spp. from chicken samples in Taipei. *J. Food Prot.*, **63**(3): 304-308.
39. SOLOMON, E. B., HOOVER, D. G. (1999). *Campylobacter jejuni*: a bacterial paradox. *J. Food Safety*, **19**: 121-136.
40. UYTENDAELE, M., DE TROY, P., DEBEVERE, J. (1999). Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J. Food Prot.*, **62**: 735-740.
41. WILLIS, W. L., MURRAY, C. (1997). *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. *Poultry Sci.*, **76**: 314-317.
42. WILSON, I. G. (2002). *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of raw retail chickens from different producers: a six year survey. *Epidemiol. Infect.*, **129**: 635-645.
43. YILDIRIM, R. (2005). Piliç karaciğerinde termofilik *Campylobacter* türlerinin varlığı. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
44. YILDIZ, A., DİKER, S. (1992). *Campylobacter* contamination in chicken carcasses. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **16**: 433-439.
45. ZHAO, C., GE, B., VILLENA, J. D., SUDLER, R., YEH, E., ZHAO, S., WHITE, D. G., WAGNER, D., MENG, J. (2001). Prevalence of *Campylobacter* spp. *Escherichia coli* and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork and beef from the greater Washington D.C.. Area. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**(12): 5431-5436.
46. ZORMAN, T., MOŽINA, S. S. (2002). Classical and molecular identification of thermotolerant campylobacters from poultry meat. *Food Technol.*, **40**(3): 177-184.

MARİNE HAMSI ÜRETİMİNDE KRİTİK KONTROL NOKTALARININ İZLENMESİ

Canan DOKUZLU*

Uğur GÜNŞEN**

Dilşad ÖZÖĞRETMEN***

* Uludağ Univ. Karacabey Meslek Yüksek Okulu, Karacabey Bursa / Türkiye.

** Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü, Bursa / Türkiye.

*** Kocaman Balıkçılık İhr. ve İth. Tic. Ltd. Şti., Bandırma / Balıkesir / Türkiye.

ÖZET: Bu çalışmada, önemli bir ihracat ürünü olan marine hamsi (yağla paketlenerek saklanan soğuk marinad) üretim aşamalarında daha önceden belirlenmiş olan kritik kontrol noktaları, toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam koliform bakteri, fekal koliformlar, koagülaz pozitif Stafilokoklar, *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus* ve *V. cholerae* yönünden analiz edildi. Çalışmanın sonucunda, marine hamsi üretim aşamalarında belirlenen kritik kontrol noktaları içerisinde hammaddenin primer, işçi eli ve kullanılan alet ve ekipmanın sekonder kontaminasyon kaynakları olduğu, bununla birlikte prosteşte uygulanan marinasyon aşamasının son ürünün mikrobiyolojik kalitesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ve güvenle tüketilebileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Marine hamsi, kritik kontrol noktaları, mikrobiyolojik kalite

MONITORİNG OF CRITICAL CONTROL POINTS IN THE PRODUCTION OF MARINATED ANCHOVY

ABSTRACT: In this study, critical control points, determined previously in the processing stages of marinated anchovy (cold marinate packaged with oil) which is an important export product were analysed for total aerobic mesophilic bacteria, total coliform bacteria, fecal coliforms, coagulase positive Staphylococci, *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus* and *V. cholerae*. As a result, it was seen that the raw material was primary contamination source and worker hands and equipments were secondary contamination sources among the critical control points in the processing stages of the marinated anchovy production. However, marination stage during processing was determined to have positive effects on the microbiological quality of the final product and it was put forward that it was consumed safely.

Key Words :Marinated anchovy, critical control points, microbiological quality

1. GİRİŞ

Günümüz toplumu gıda maddesinin hijyenik ve ekonomik olmasının yanı sıra protein, yağ, karbonhidrat, vitaminler ve mineral maddeleri de dengeli bir biçimde ve oranda içermesini istemektedir. Su ürünleri, bu isteğe cevap veren gıda maddeleri olup bu gıda grubu içinde de ön sırayı balık almaktadır. Balık eti, yüksek kalitede protein ve doymamış yağ asitlerini, vitamin ve mineralleri içermesi bakımından son derece değerli bir gıdadır. Enerji değeri de düşük olduğundan aynı zamanda diyetetik bir özellik taşımaktadır (24).

Artan dünya nüfusuyla birlikte bu mükemmel gıda maddesine olan talep de artmakta, bu talebin karşılanması için su ürünlerinin taze olarak tüketilmesi yanında dondurularak ve işlenerek tüketimi de sağlanmaktadır. Su ürünleri özellikle de balık eti, bozulmaya karşı son derece hassas bir besin maddesidir. Bu nedenle avlanmayı takiben kısa süre içinde tüketilmeli yada bunun mümkün olmadığı durumlarda çeşitli şekillerde işlenerek saklanmalıdır. Bu amaçla geliştirilmiş işleme teknolojilerinde amaç, mevcut kaliteyi değiştirmeksizin balığın yenilebilir durumunu uzun süre korumaktır (22).

Türkiye’de, insan gıdası olarak su ürünlerinin taze, soğutulmuş, dondurulmuş ve konserve şeklinde kişi başına tüketimi, 1991’de 5.375 kg iken bu rakam 1995’e kadar artan oranlarda 9.751 kg’a ulaşmıştır (5). Günümüzde su ürünleri, gelişen teknoloji ile birlikte işlenip paketlenerek tüketime hazır halde satılmaktadır. Marine ürünler de bu şekilde hazırlanan ürünlerden biridir. Taze, dondurulmuş veya tuzlanmış balık yada balık kısımlarının ısı etkisi olmadan sirke ve/veya diğer organik asitler ve tuz ile muamele edilerek, olgunlaştırılmasını sağlayan teknoloji, marinasyon olarak adlandırılır. Sirke ve tuz uygulamasıyla çiğ ürün tüketime hazır hale getirilir ve sınırlı bir prezervasyon sağlanır (7:21). Şekil 1.de, marine hamsi üretim akış şeması görülmektedir.

Marinat üretiminde en fazla ringa, hamsi ve sardalya balıkları kullanılmaktadır. Bu balıklarda mikrobiyal yükün düşük ve iyi kalitede olması istenir. Marinasyonda

kullanılan çözeltiler çok çeşitli olmakla birlikte en çok kullanılanları suda çözünmüş tuz, asetik asit (sirke) ve baharat karışımıdır (17).

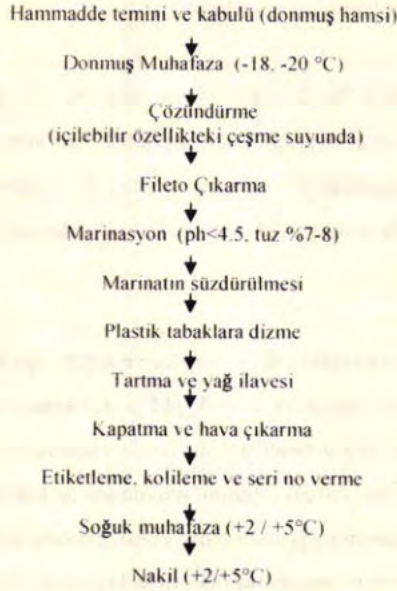
Marinat salamurası genelde % 4 - 4.5 asetik asit, % 7 - 8 tuz içermelidir (14). Olgunlaştırma işlemi sonunda balıkta ve salamuradaki asit konsantrasyonunun en az % 2-5 olması için balık / olgunlaştırma çözeltisi oranı 1.5 / 1 olmalıdır (3;19). Sirke / tuz oranı iyi ayarlanmadığında ürün ya çok yumuşak (çok sirke, az tuz) ya da çok sert (çok tuz, az sirke) olur (3).

Marinatın olgunlaşması sırasında sirke ve tuz balığın içerdiği enzimlerle birlikte balıktaki mevcut proteinleri denatüre ederek pH'yı 4.3 civarına düşürmekte olup, hoş aromatik koku ve lezzette ara ürünlerin oluşmasını sağlamaktadır (18). Olgunlaştırma salamurasına soğan, dere otu, hardal tohumu, maydanoz da katılarak daha iyi lezzet elde edilebilmektedir (23). Salamura suyunda balık etleri, protein denatürasyonundan dolayı parlak kırmızı rengini yitirir ve marinatin mat, tipik beyaz gri rengi oluşur (3).

Marinatlar; soğuk, pişmiş, kızartılmış marinatlarda şeklinde ayrılmaktadır (13). Soğuk marinat, asetik asit - tuz salamurasında taze balığın olgunlaştırılması ile elde edilmekte, olgunlaşan ürün ya salamurada ya da bitkisel yağla paketlenerek saklanmaktadır (23).

Bu çalışmada, önemli bir ihracat ürünü olan marine hamsi (yağla paketlenerek saklanan soğuk marinate) üretim aşamalarında tespit edilen kritik kontrol noktalarında, mikrobiyal kontaminasyon kaynaklarının araştırılması, üründe mikroorganizmalardan kaynaklanan bozulmalar sonucu şekillenen ekonomik kayıpların önlenmesi ile tüketiciye kaliteli ve güvenli bir ürün sunulması amaçlanmıştır.

Şekil 1. Marine hamsi üretim akış şeması.



2. MATERYAL VE METOD

Çalışmada, Bandırma / Balıkesir’de su ürünleri işleyen özel sektöre ait bir işletmeye farklı zamanlarda on defa yapılan ziyaretlerde elde edilen örnekler araştırma materyali olarak kullanıldı. Marine hamsi üretim aşamalarında, Dokuzlu (10) tarafından tehlike analizi yapılarak belirlenen kritik kontrol noktalarından (hammadde (donmuş hamsi), çözündürme, marine hamsi (pH 4), dizimden sonra tabaktan) ve ilave olarak hijyenik kalitesini görmek açısından son üründen aseptik şartlarda alınan örnekler, en kısa süre içerisinde laboratuara ulaştırılarak toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam koliform bakteri, fekal koliformlar, koagülaz pozitif Stafilokoklar, *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus* ve *V. cholerae* yönünden analiz edildi.

Aseptik koşullarda 25 g tartılan örnekler, steril poşetlerde 225 ml steril % 0,1 lik tamponlanmış peptonlu su (OXOID CM 509) ile stomacherde homojenize edilerek 10^{-1} dilüsyonlar elde edildi. *V. parahaemolyticus* varlığının belirlenmesinde, bu amaç için

%3 NaCl içeren, *V. cholerae* için ise alkalize edilmiş peptonlu su (OXOID-CM9) kullanılmıştır. Takiben 10^{-8} 'e kadar hazırlanan desimal dilüsyonlardan yüzey yayma plak yöntemi ve EMS teknikleri kullanılarak ekimler yapıldı (8; 11; 16).

2.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı :

Plate Count Agar'a (PCA, OXOID CM 325) hazırlanan dilüsyonlardan yüzey yayma yöntemi kullanılarak ekimler yapıldı ve 37 °C'de 24 saat aerobik olarak inkübe edilerek oluşan koloniler sayıldı (16).

2.2. Toplam Koliform Bakteri Sayımı :

Lauryl Sulphate Tryptose Broth (LST Broth, OXOID CM 451)'a inokülasyon yapılarak 37 °C'de 24 - 48 saatlik inkübasyon sonrasında gaz oluşturan tüplerden Brilliant Green Bile (% 2) Broth (BGLB Broth, OXOID CM 31)'a geçilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Gaz oluşturan tüpler, EMS tablosu kullanılarak değerlendirildi(4;15).

2.3. Fekal Koliformların Sayımı :

Brillant Green Bile (% 2) Broth'da gaz oluşturan tüplerden E.coli Broth (EC Broth, MERCK 10765)'a ekim yapılarak 45 ± 0.5 °C'de 24 - 48 saatlik inkübasyon sonrasında gaz oluşturan tüpler EMS tablosu kullanılarak değerlendirildi. Takiben bu tüplerden Eosine Methylene Blue Agar (EMBA)'da metalik röfle veren tipik kolonilere IMVIC testi uygulanarak sonuçlar *E.coli* açısından değerlendirildi (4; 15).

2.4. *Staphylococcus aureus* Sayımı :

Sterile Egg Yolk Tellurite Emulsion (OXOID SR 54) ilave edilerek hazırlanan Baird Parker Agar (BPA, OXOID CM 275)'a yüzey yayma yöntemi ile ekim yapıldı ve 37 °C'de 24 - 48 saatlik inkübasyon sonrası siyah - gri, parlak, düzgün, etrafında berrak zon bulunan tipik koloniler koagülaz testine tabi tutuldu (12).

2.5. *Salmonella* spp. Sayımı:

Öncelikle Buffered Peptone Water (OXOID CM 509)'da 37 °C'de 16 - 20 saatlik selektif olmayan ön zenginleştirme sonrası selektif zenginleştirme için Rappaport Vassiliadis Enrichment Broth (OXOID CM 669)'a transfer edilip 42 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Selektif katı besi yeri olan Bismuth Sulphite Agar (OXOID CM 201)'a çizme yöntemi uygulanarak 37 °C'de 24 - 48 saatlik inkübasyon sonrası metalik röfle veren kahverengi siyah zonla çevrili kahverengi - gri - siyah koloniler tipik olarak değerlendirildi (1).

2.6. *V.parahaemolyticus* ve *V. cholerae* Sayımı:

Alkalize edilmiş Peptonlu Water (OXOID CM 9)'da 37 °C de 24 saatlik ön zenginleştirmeyi takiben Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose (Oxoid-CM333)'a çizme yöntemi ile ekim yapılarak 35 - 37 °C de 18 - 24 saatlik inkübasyon sonucu oluşan koloniler tipik olarak değerlendirildi (4).

3. BULGULAR

Marine hamsi üretim akım şemasında belirlenen kritik kontrol noktalarında elde edilen sonuçlar Tablo 1.de görülmektedir.

Tablo 1. Marine hamsi üretim aşamalarına ait kritik kontrol noktalarında yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçları

Mikroorganizma	Toplam aerobik mesofilik bakteri (kob/g)	Koliform bakteriler (EMS/g)	Fekal koliformlar (EMS/g)	<i>S. aureus</i> (kob/g)	<i>V.parahaemolyticus</i> <i>V. cholerae</i> (kob/g)	<i>Salmonella</i> spp. (kob/25 g)
Örnekler						
Donmuş hamsi	$1.47 \times 10^2 \pm 34.37$	Üreme yok	Üreme yok	$1.4 \times 10^1 \pm 3.71$	Üreme yok	Üreme yok
Çözündürme	$3.34 \times 10^2 \pm 39.85$	Üreme yok	Üreme yok	$1.6 \times 10^1 \pm 5.20$	Üreme yok	Üreme yok
Marine hamsi	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	4 ± 2.21	Yapılmadı	Üreme yok
Dizimden sonra tabak	$5.83 \times 10^1 \pm 20.18$	Üreme yok	Üreme yok	7 ± 3.34	Yapılmadı	Üreme yok
Son ürün	$2.95 \times 10^1 \pm 4.31$	Üreme yok	Üreme yok	3 ± 1.52	Yapılmadı	Üreme yok

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Marine ürünlerin bozulmasında, yağ ve proteinlerdeki fizikokimyasal değişimler ile mikrobiyal kökenli reaksiyonlar etkili olmaktadır. Bu olayların oluşmasında işlem proseslerindeki hatalar, personel ve işletme hijyeni ile kullanılan materyalin kalitesi etkilidir (24).

Marine hamsi yapımında kullanılan dondurulmuş hamsilerin kalitesi son ürünün kalitesini önemli ölçüde etkiler. Dondurulmuş su ürünlerinde dondurma ve depolama işlemlerinin tekniğine uygun yapılmaması, taşıma sırasında paketleme materyalinin uygun olmaması ve soğuk zincirin kırılması gibi nedenlerden dolayı çeşitli mikroorganizmalar bulunabilir. Bu ürünlerde Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (6)'ne göre *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus*, ve *Vibrio cholerae* hiç bulunmamalı, *Staphylococcus aureus* en çok 5×10^3 kob/g toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı en fazla 10^7 kob/g, toplam koliform bakteri sayısı en fazla 210 EMS/g, *E.coli* ise en çok 12 EMS/g olmalıdır.

Kaliteli bir mamül madde üretmek için kaliteli bir hammadde gerekmektedir. İyi kalitede marine ürün elde etmek için de kullanılan balığın ve katkı maddelerinin iyi kalitede olması gerekmektedir (24). Güvenli bir gıda üretimi için başlangıç mikroorganizma sayısı çok önemli olduğu için, hammaddeden gelen mikroorganizma sayısı mümkün olduğunca düşük olmalıdır (17).

Çalışmamızda donmuş hamsideki toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ortalama $1.47 \times 10^2 \pm 34.37$ kob/g, *S. aureus* sayısı ortalama $1.4 \times 10^1 \pm 3.71$ kob/g olarak bulunmuş, koliform bakteri, fekal koliform, *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus* ve *V. cholerae* tesbit edilememiştir. Analiz sonuçları, Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (6)'nde belirtilen limitler içindedir.

Marine hamsi üretiminde ikinci kritik kontrol noktası çözündürme aşamasıdır. Çözündürme işlemi mümkün olduğunca çabuk yapılmalı ve mikroorganizma üremesine olanak verilmemelidir. Çözündürmede kullanılan su, içme suyu kalitesinde olmalıdır.

Çözündürmede kullanılan ortam ve araçlar kolay temizlenebilmeli ve çıkan su ürünle temas etmemelidir. Bu sırada balık iç sıcaklığı $< + 6^{\circ}\text{C}$, oda sıcaklığı $< + 18^{\circ}\text{C}$ olacak şekilde ayarlanmalıdır (25).

Çözülmede, ürünün sıcaklık derecesi hemen hemen donma noktasına erişir ve bütün çözülme bu derecelerde devam eder. Donma noktası civarı, bir taraftan rekristalizasyonun en fazla olduğu, diğer taraftan özellikle psikrofil mikroorganizmaların en fazla çoğalabildiği kritik bir bölgedir. Çözülme sırasında mekanik ve mikrobiyolojik değişimler olabilmektedir (2).

Çalışmamızda çözünmüş hamsideki, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ortalama $3.34 \times 10^2 \pm 39.85$ kob/g, *S. aureus* sayısı ortalama $1.6 \times 10^1 \pm 5.20$ kob/g olarak bulunmuş, koliform bakteri, fekal koliform, *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus* ve *V. cholerae* tesbit edilememiştir. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ve *S. aureus* sayısındaki artış, Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (6)'nde izin verilen limit değerler içerisinde.

Marine hamsi üretiminde üçüncü kritik kontrol noktası, marinasyon aşamasıdır. Marinasyonun temel prensibi bir veya birden fazla ön işleme tekniklerine tabi tutulmuş balığın asetik asit / tuz salamurasında soğuk depoda birkaç gün içerisinde olgunlaştırılmasına dayanmaktadır. Marine ürünlerde asetik asit ve tuz etkisiyle üründe mevcut bakteri ve enzimlerin faaliyetleri durdurularak ürünün daha uzun bir raf ömrüne sahip olması sağlanmakta ve dayanıklılığı sınırlı ürünler elde edilmektedir (24).

Asit / tuz konsantrasyonu arttırılırsa, ürünün dayanıklılık süresi uzatılır. Ancak enzimlerin optimum pH değeri aşıldığı için aroma oluşumu engellenir ve ürün lezzet yönünden beğenilmez. Bunun aksine daha az asit / tuz içeren çözelti kullanıldığında, güzel bir aroma elde edilir, ancak ürünün dayanma süresi daha kısa olur. Marinasyon, mikrobiyal aktivitenin artmaması için $< + 15^{\circ}\text{C}$ olmalıdır (9). pH değeri 2.7 - 3.1 arasında olan taze salamuralarda bakteri yükü 1/10 - 1/100 oranında indirgenir (24).

Olgunlaştırma işleminin gerçekleştiği tankların paslanmaz çelikten veya asetik asit ve tuz etkilerine karşı dayanıklı, herhangi bir migrasyon etkisi olmayan materyalden seçilmiş olması gerekir. Aynı zamanda bu tanklar temiz olmalı ve dış çevreden gelebilecek kontaminasyon riskine karşı ağızları kapalı tutulmalıdır (24).

Çalışmamızda marinyasyondan sonra yapılan mikrobiyolojik ekimler sonrasında, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, toplam koliform bakteri, fekal koliform ve *Salmonella* spp.'de üreme olmaması, *S. aureus* sayısının da ortalama $1.6 \times 10^1 \pm 5.20$ kob/g'dan ortalama 4 ± 2.21 kob/g'a düşmesi, asetik asit / tuz oranının iyi ayarlandığının ve üretim sırasında hijyenik kurallara uyulduğunun göstergesidir. Bulunan değerler, Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (6)'nde izin verilen limit değerler içerisinde.

Marine hamsi üretiminde dördüncü kritik kontrol noktası, marine edilmiş hamsi filetolarının tabaklara dizimi sırasında personel elinden ve tabaktan olabilecek sekonder kontaminasyonlardır. *S. aureus*'dan kaynaklanan zehirlenmelerin çoğunda kontaminasyon kaynağı insandır. Kullanılan alet ve ekipman için gerekli temizlik ve dezenfeksiyonun uygun şekilde yapılmaması, gıdaların sekonder kontaminasyonunda önemli rol oynamaktadır (20).

Çalışmamızda bu aşamadaki mikrobiyolojik ekimler sonrasında toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı ortalama $5.83 \times 10^1 \pm 20.18$ kob/g, *S. aureus* sayısı ortalama 7 ± 3.34 kob/g olarak bulunmuş, koliform bakteri, fekal koliform ve *Salmonella* spp.'de üreme görülmemiştir. Personelin elinden ve tabaktan oluşabilecek kontaminasyon hijyenik tedbirler sayesinde minimum seviyede tutulabilmiştir. Bu aşamada kullanılan kapların temizliğine dikkat edilmeli, personel dizim sırasında tek kullanımlık plastik eldiven kullanılmalı ya da ellerini dezenfekte ettikten sonra dizim işlemine geçmelidir.

Çalışmamızda ayçiçek yağı ilave edilip, havası çıkarıldıktan sonra $+2 / +5$ °C'de muhafaza edilen marinadlardan yapılan mikrobiyolojik ekimler sonrasında, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ortalama $2.95 \times 10^1 \pm 4.31$ kob/g, *S. aureus* sayısı ortalama 3 ± 1.52 kob/g olarak bulunmuş, koliform bakteri, fekal koliform ve *Salmonella* spp. üremesi görülmemiştir.

Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (6)'ne göre, işlenmiş balıklarda, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı en çok 10^6 kob/g, *S. aureus* sayısı en fazla 5×10^3 kob/g, toplam koliform bakteri sayısı en çok 95 EMS/g olmalı, patojen bakteri bulunmamalıdır. Çalışmamızın sonuçları yönetmeliğin izin verdiği değerlerin altındadır.

Marinadlarda son ürünün ambalajı dış ortamla ilişkisini kesebilecek, sızıntılara ve nakliye sırasında oluşabilecek çatlama ve patlamalara dayanabilecek yapıda olmalıdır. Aynı zamanda ürün ambalajının gıda ile tehlikeli migrasyonlara sebep olabilecek materyalden yapılmamış olması gerekir. Ambalaj içerisinde kullanılacak salamura, yağ, sos vb. malzemenin ürün kalite kriterlerine uyacak esasta olmalı ve ürünün temel aromasını baskı altına alacak kötü tat ve renk oluşumlarına sebep vermemelidir (24).

Çalışmanın sonucunda, marine hamsi üretim aşamalarında incelenen kritik kontrol noktaları içerisinde hammaddenin primer, tabaklara dizim aşamasında görüldüğü gibi işçi eli ile kullanılan alet ve ekipmanın sekonder kontaminasyon kaynakları olduğu, bununla birlikte proste uygulanan marinasyon aşamasının son ürünün mikrobiyolojik kalitesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ve güvenle tüketilebileceği ortaya konulmuştur.

Gıda güvenliğinde mikrobiyolojik tehlikeleri azaltmak için hammaddenin başlangıç mikrobiyel yükü az olmalı, işleme, depolama, nakliye, pazarlama ve satış sırasında yeterli hijyen ve sanitasyon teknikleri uygulanmalıdır. Ayrıca, hammadde ve son ürünün gerekli mikrobiyolojik kontrollerinin yapılması ve HACCP bazlı sistemlerin işletmelerde uygulanması gerekmektedir.

5. KAYNAKLAR

- 1) ANDREWS, W.H. and HAMMACK, T.S. 2003. *Salmonella*. In: L.A. Tomlison (Ed.). Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual. (2003) (<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-5.html>).
- 2) ANONYMOUS, 1977. Türk Standartları Enstitüsü. Dondurulmuş Hamsi. TS 2540 / Şubat. UDK 639.222. Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. No:112, Ankara.
- 3) ANONYMOUS, 1988a. Isı İşlemsiz Konservasyon. Su Ürünleri Semineri. İstanbul. s.111-112
- 4) ANONYMOUS. 1988b. Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Metodları: T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yayınları, Bursa, 734.
- 5) ANONYMOUS. 1995. Devlet İstatistik Enstitüsü, Su Ürünleri İstatistikleri. Ankara
- 6) ANONYMOUS. 2001. Türk Gıda Kodeksi. Su Ürünleri Yönetmeliği'nde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik. T.C. Resmi Gazete, 03 Şubat 2001, Sayı: 24307. Bakanlıklar / Ankara.
- 7) BORGSTROM, G. 1965. Marinades. Academic Press, New York, San Francisco. London. s.165-193.
- 8) CROCI, L., SUFFREDINI, L., COZZI, L. and TOTI, L. 2002. Effects of Depuration of Molluscs Experimentally Contaminated with *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* 01 and *Vibrio parahaemolyticus*. J. Appl. Microbiol. 92, 460-465.
- 9) DOKUZLU, C. 2000. Marine edilmiş yerli hamsinin raf ömrü, *U.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 19, 3, 45-49
- 10) DOKUZLU, C. 2004. Naturel Marine Hamsi Üretiminde HACCP Model Uygulaması. *Pendik Vet. Mik. Derg.* 35(1-2), 55-60
- 11) DORE, W.J., MACKIE, M. and LEES, D.N. 2003. Levels of Male-Specific RNA Bacteriophage and *Escherichia coli* in Molluscan Bivalve Shellfish from Commercial Harvesting Areas. *Let. Appl. Microbiol.* 36, 92-96.
- 12) ELLIOT, E.L., C.A. KAYSNER, L. JACKSON and M.L. TAMPLIN. 1995. Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration, 8th Edition, AOAC International, 481 North Frederick Avenue, Suite 500. Gaithersburg, USA, p. 9.01-9.27.
- 13) ERSAN, F. 1960. Balık Marinadları ve İmal Usülleri. Balık ve Balıkçılık, Cilt 8, Sayı 1.
- 14) GÜN, H., GÖKOĞLU, N. ve VARLIK, C. 1994. Alabalık "*Onchorynchus mykiss*" (Walbaum, 1792) Marinatında Olgunlaşma Süresinin Belirlenmesi. *İstanbul Üniv. Su Ürünleri Derg.*, (1-2): 137-144.
- 15) HARRIGAN, W. F. and McCance, M. E. 1976. Techniques in Applied Microbiology. In: *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*, pp. 141B143. Academic Press Limited. London.
- 16) ICMSF. 1982. Microorganisms in Food I, Their Significance and Methods of Enumeration. Univ. of Toronto Press, London.
- 17) KOSEV, D. 1985. Tehnologiya Na Ribata I Ribnate Prudukti, Zemizdat, Sofia, s.89-93.
- 18) LUDORFF, W. and MEYER, V. 1973. Fische und Fischerzeugnisse Paul Parey, Verlag. Berlin und Hamburg, s.148-153, 222-224.
- 19) McLAV, R. 1972. Marinades, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Torry Advisory Note, s.56.
- 20) ÜNLÜTÜRK, A. ve TURANTAŞ, F. 1998. Gıda Mikrobiyolojisi Mengi Tan Basımevi, Çınarlı, İzmir, s.483-517.
- 21) VARLIK, C. 1990. Marinat Teknolojisi. İstanbul Üniv. Su Ürünleri Fakültesi. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Ders Notları.
- 22) VARLIK, C. ve GÖKOĞLU, N. 1992. Dumanlanmış Gökkuşluğu Alabalığı'nın Raf Ömrü Üzerine Araştırma. *Gıda Tek. Derg. Yayın organı.* 17 (1).
- 23) VARLIK, C., ERKAN, N., METİN, S., BAYGAR, T., ve ÖZDEN, Ö. 2000. Marine Balık Köftesinin Raf Ömrünün Belirlenmesi. *Türk J.Vet.Anim. Sci.*, 24, 593-597
- 24) VARLIK, C., ERKAN, N., ÖZDEN, Ö., MOL, S., ve BAYGAR, T. 2004. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İstanbul Üniv. Yayın No: 4465, Su Ürün. Fak., İstanbul. s.491.
- 25) VARLIK, C., GÖKOĞLU, N., ve GÜN, H. 1993. Marinat Üretiminde Sıcaklığın Sirke - Tuz Geçiş Üzerine Etkisi. *Gıda* 18 (4): 223-228.

GIDALARDA BULUNAN DİOKSİNLERİN POTANSİYEL SAĞLIK RİSKLERİ

Ozen Kursun*

Firdevs Mor**

*Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.

**Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.

ÖZET

Toksik kimyasalların bir çok çeşidinin toprak, sediment, bitki ve suda varlığı çok iyi bilinmektedir. Dioksinler poliklorodibenzo-*p*-dioksin (PCDD/F) ve dibenzofuranların (PCB) türevleridir. PCDD/F ve PCB, klorlu organik maddelerin üretimi, endüstriyel emisyonlar, kentsel atıkların yakılması ve pirolizin meydana getiren tüm işlemlerde şekillenmektedir. Bu toksik kimyasallar devamlı olarak çevreye dağılarak birikmektedirler. İnsanlar besin zincirine dahil olan bu maddeleri özellikle balık, deniz kabukluları ve süt ürünleri gibi çeşitli gıdalar ile alırlar. Diğer yandan dioksinler insanlarda hiperpigmentasyon, bağışıklık sisteminin baskılanması, karaciğer hasarı, karsinogenik etkiler ve üreme bozuklukları meydana getirmesi ile erken bebek ölümlerine neden olduğu son yıllarda yapılan araştırmalarla belirtilmiştir. Gıda kontrol analizlerinin yanında besinlerdeki toksik kimyasalların düzenli olarak incelenmesi oldukça önem kazanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Dioksin, kontaminasyon, gıda, insan sağlığı

A PERSPECTIVE ON THE POTENTIAL HEALTH RISKS OF DIOXIN IN HUMAN FOOD

Özen Kurşun*

Firdevs Mor**

* *Department of Food Hygiene and Technology; Faculty of Veterinary Medicine, Akdeniz University, Burdur, TURKEY.*

** *Department of Pharmacology and Toxicology; Faculty of Veterinary Medicine, Akdeniz University, Burdur, TURKEY.*

ABSTRACT

It is well known that a wide variety of toxic chemicals are present in the soils, sediments, vegetation, and water. Dioxins are a heterogeneous mixture of chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofuran (PCDD/F) congeners. The main sources of PCDD/F and PCB are production of chloro-organics and emissions of industrial and municipal incineration and pyrolysis processes. They have been the potential for redistribution and circulation of these compounds into the environment. Transfer into human food occurs by food chain. Humans are ultimately exposed to these compounds primarily through the diet, mainly by consumption of fish, mollusks and dairy products. On the other hand, their health effects such as hyperpigmentation, impairment of immune responses, early infant deaths, hepatotoxicity, carcinogenic effects and, reproductive effects have been intensively studied recently. As growth in toxic chemicals of food, monitoring the food supply will become more important.

Key words: Dioxin, contamination, food, human health

NITRATE AND NITRITE CONTENTS OF SOME VEGETABLES CONSUMED IN SOUTH PROVINCE OF TURKEY

Firdevs MOR

Fatma ŞAHİNDOKUYUCU

Burdur Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology, The University of Akdeniz, 15100 Burdur, Turkey

Abstract: The main object of this study was to determine the effect of regional N-fertilizer applications on the nitrate and nitrite accumulation of some winter vegetables grown on farmer's fields located at different parts of the south Turkey region. For this reason, leaf samples of some winter vegetables, namely spinach, cabbage, leek, lettuce, parsley and turnip collected from each field were analysed for nitrate and nitrite. According to the results of this study, different nitrate levels (1848-4300 mg/kg in spinach, 280-1850 mg/kg in cabbage, 54-154 mg/kg in leek, 1218-8600 mg/kg in lettuce, 525-3841 mg/kg in parsley and 54-8600 in turnip) were determined depending on soil texture and nitrogen fertilizer used by farmers. It was also found that the nitrate content of vegetables was increased with increasing regional nitrogen use, especially in the form of nitrate. The nitrate contents of many vegetables except cabbage and leek were usually found to be higher than the critical levels (FAO and WHO reports have recommended a level of less than 2000 mg nitrate for per 60 kg body weight of human). The mean nitrite values of 162 mg/kg in spinach, 51 mg/kg in cabbage, 298 mg/kg in lettuce, 15 mg/kg in leek, 17 mg/kg in parsley, 145 mg/kg in turnip were found to be higher than the critical levels recommended by WHO and FAO. The findings obtained from this study generally showed that there were significant nitrate accumulation problems in the some winter vegetables grown in this region.

Keywords: Nitrate, nitrite, vegetables

TÜRKİYE'NİN GÜNEYİNDE TÜKETİLEN BAZI SEBZELERDE NİTRAT VE NİTRİT DÜZEYLERİ

Özet: Bu çalışmanın amacı Türkiye'nin Güney bölgelerinde bulunan çiftliklerde yetişen bazı kış sebzelerinde azotlu gübre uygulamalarının nitrat ve nitrit birikimi üzerine etkilerini araştırmaktır. Bu amaç için her bir çiftlikten bazı yapraklı kış sebzelerinden ıspanak, lahanada, pırasa, marul, maydanoz ve şalgamda nitrat ve nitrit düzeyleri ölçüldü. Bu çalışmanın sonucuna çiftlikte kullanılan toprağın yapısı ve azotlu gübre kullanılmasına bağlı olarak farklı nitrat düzeyleri (ıspanakta 1848-4300 mg/kg, lahanada 280-1850, pırasada 54-154 mg/kg, marulda 1218-8600 mg/kg, maydanozda 525-3841 mg/kg ve şalgamda 54-8600 mg/kg) ölçülmüştür. Özellikle sebzelerde nitrat düzeyi bölgede azotlu gübrenin kullanılmasına bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Lahana ve pırasa hariç çoğu sebzelerdeki nitrat içeriği kritik düzeyden (FAO ve WHO raporlarına göre insanlarda 60 kg.c.a. için 2000 mg'dan daha az düzeyde olmaması önerilir) daha yüksek bulundu. Nitrit ortalama düzeyi ıspanakta 162 mg/kg, lahanada 51 mg/kg, marulda 298 mg/kg, pırasada 15 mg/kg, maydonazda 17 mg/kg, şalgamda 145 mg/kg olarak ölçülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen bulgular bu bölgede yetişen bazı kış sebzelerinde nitrat ve nitritin önemli ölçüde biriktiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Nitrat, nitrit, sebzeler.

Introduction

Nitrogen is the main limiting factor for most field crops, and nitrate is the major form of nitrogen absorbed by crop plants. Farmers often use nitrogen fertilizers to increase crop yields. Consequently, many vegetables and forage crops accumulate high levels of nitrate. In particular, leafy vegetables such as spinach, lettuce, and celery contain nitrate at significant levels (Maynard et al., 1976). Leaf and stem tissues accumulate the most nitrate, followed by roots (Lorenz, 1978). Nitrite content in vegetables is usually very low compared to nitrate (Aworh et al., 1980; Hunt and Turner 1994). Most nitrate and nitrite to which humans are exposed is in their diet, as either natural components or intentional additives. Vegetables are generally considered the largest source of dietary nitrate. In the average US diet, vegetables contribute 87% of the total daily intake of nitrate (National Research Council 1981). Nitrate is also formed by endogenous synthesis in the human intestine (Tannenbaum et al., 1978).

This paper reports the results obtained from the monitoring of nitrate and nitrite in vegetables grown in South Province of Turkey and assesses the influence of fertilizer use on nitrate concentrations in these crops. The daily intake of nitrate and nitrite from these vegetables is then estimated.

Materials and Methods

Samples were washed with tap water. The edible part of the samples was used for analyses. For each vegetable, a composite sample of many individuals (e.g. spinach, cabbage, leek, lettuce, parsley and turnip) was used. After washing, the vegetables were chopped into small sections and homogenized in a blender mill.

The samples of fresh vegetables were dried at 60 °C for 48 hour. Dried samples were homogenized using an agate homogenizer and stored in pre-cleaned polyethylene bottles until analysis.

Nitrate and nitrite were determined in the extract of the homogenized sample as follows. The sample (10 g) was weighed in an Erlenmeyer flask and 80ml of water and 5ml 10% NaOH were added. The pH was controlled at 10 and if necessary more NaOH was added. The flask

was placed in a water bath and 10ml 0.7M ZnSO₄ was added, when the temperature of the contents was 50 °C. The flask stayed in the water bath for 10min more. If no ZnOH precipitated more NaOH was added. The extract was filtered and in an FIA-system some of the filtrate was passed through a column with copperized cadmium to reduce nitrate to nitrite. Nitrite in this solution and in the original extract was reacted with sulphanilamide and N-(1-naphthyl) ethylene-diamine, and the absorbance of the violet azo compound was measured at 540nm (Sen, N. Donaldson, B, 1978). The content of nitrate was then calculated as the difference between the former and the latter measurement. The limit of detection was 5mgkg⁻¹ for nitrate and 0.3mg kg⁻¹ for nitrite.

Results and Discussion

The nitrate and nitrite amounts determined in those vegetables in South Turkey and, expressed as NO₃-N, NO₂-N are shown in Tables 1 and 2, each value being a mean of three parallel determinations.

Table1. Nitrate concentrations in vegetables (mg/kg for dry weight).

Specimen	n	Range	Average
Cabbage	11	1848-4300	1152
Leek	11	280-1850	91
Lettuce	12	1218-8600	3250
Parsley	12	525-3841	2416
Spinach	17	1848-4300	2538
Turnip	10	2156-20900	7740

Table 2. Nitrite concentrations in vegetables (mg/kg for dry weight).

Specimen	n	Range	Average
Cabbage	11	21-87	51
Leek	11	5-84	15
Lettuce	12	115-660	298
Parsley	12	4-34	17
Spinach	17	83-288	162
Turnip	10	55-321	145

Nitrate

The contents of nitrate in vegetables are shown in Table I. Nitrate accumulation was quite different both between different vegetables and within the same vegetables, ranging from 280 to 20900 mg/kg. In general, leafy and stem vegetables have a high nitrate accumulation. Turnip contained the highest nitrate concentration with an average of 7740 and a maximum of 20900 mg/kg. For cabbage, leek, lettuce, parsley, spinach, the average contents of nitrate were about 1152, 91, 3250, 2416, 2538, 7740 mg/kg, respectively. Leek has low nitrate contents (91 mg/kg).

Tolerance nitrate limits recommended by the Turkish Alimentary Codex are 805 mg/kg for lettuce, 700 mg/kg for spinach and 221 mg/kg for cabbage (Turk Gida Kodeksi, 2002). (As the tolerance level for nitrate in vegetables has been established in Turkish Alimentary Codex; 805 mg/kg for lettuce, 700 mg/kg for spinach and 221 mg/kg for cabbage). Additionally, The European Commission has established maximum levels for nitrate in lettuce (3500 mg/kg) and spinach 3000 mg/kg (European Commission 1997). Some of the samples exceeded these maximum levels.

The results for Danish and foreign Chinese cabbage were very similar with an average of about 1152 mg/kg (Petersen A. 1999).

The Danish leek, however, had a higher average content of nitrate compared with the study leek. While cabbage had an average content of nitrate between 1848 and 4300 mg/kg, cabbage from foreign countries had average nitrate content between 26 and 2670 mg/kg (Zhong W, 2002). There could be several reasons for this, e.g. different varieties, different countries of origin, different use of fertilizer or differences in dry matter.

As mentioned above, the nitrate accumulation in vegetables is affected by many factors, among which fertilizer application is the major one. Nitrate accumulation in vegetables often depends on the amounts and kinds of nutrients present in the soil and especially is closely related to the amounts of the fertilizers applied and the time of application. Some studies indicate that the proper application of nitrogenous, phosphate, potassium fertilizer, and green

and farmyard manure could significantly reduce nitrate accumulation in vegetables. The optimal proportion for nitrogenous, phosphate and potassium fertilizer is 1.0:0.7:2.0 (Zhou *et al.* 2000). Our survey from 50 farms indicates that the actual proportion was 1.0:0.8:0.5. Thus, the heavy application of chemical nitrogenous fertilizer and the lack of potassium fertilizer could be the main cause of nitrate contamination in vegetables.

Nitrite

The contents of nitrite in all the vegetables are shown table 2. The nitrite contamination in vegetables wasn't as high as for nitrate. Although there were 13 samples exceeding the tolerance limit of China (GB15198-94, 1995), only four samples contained $> 10 \text{ mg kg}^{-1}$ nitrite with none $> 50 \text{ mg/kg} \pm 1$. Further, the contents of nitrite in 17 samples were below the detection limit. There were large variations in the amount of nitrite in the vegetables and no correlation was found between the contents of nitrate and nitrite. Although only small amounts of nitrite are present in vegetables, nitrite can be formed via reduction of nitrate if they are stored incorrectly. This is especially a problem for leafy vegetables, because soil adhered.

As the tolerance level for nitrate in vegetables has not been established in Turkish,

References

- Maynard, D. N., A. V. Barker, P. L. Minotti, and N. H. Peck. "Nitrate accumulation in vegetables." *Advances in Agronomy* 28 (1976): 71-118.
- Lorenz, O. A. "Potential nitrate levels in edible plant parts." In *Nitrogen in the environment*, edited by Nielsen D. R. and J. G. MacDonald. 201-219: Academic press, 1978.
- Aworh, O. C., J. R. Hicks, P. L. Minotti, and C. Y. Lee. "Effects of plant age and nitrogen fertilization on nitrate accumulation and postharvest nitrite accumulation in fresh spinach." *Journal of American Society for Horticultural Science* 105, no. 1 (1980): 18-20.
- Hunt, J., and M. K. Turner. "A survey of nitrite concentrations in retail fresh vegetables." *Food Additives and Contaminants* 11, no. 3 (1994): 327-332.
- NRC, and Assembly of Life Sciences (Committee on nitrate and alternative curing agents in food, National Research Council). *The Health effects of nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds: part 1 of a 2-part study*. Washington, D. C.: national academy press, 1981.

Tannenbaum, S. R., D. Fett, V. R. Young, P. D. Land, and W. R. Bruce. "Nitrite and nitrate are formed by endogenous synthesis in the human intestine." *Science* 200 (1978): 1487-1489.

Sen, N., Donaldson, B. (1978). Improved Colorimetric Method for Determining Nitrate and Nitrite in Foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 61, 1389-1394.

EC (European Commission) 1997. Commission Regulation (EC) No. 194/97. Official Journal of the European Communities No. L31/48.

Petersen A., Stolze S. Nitrate and nitrite in vegetables on the Danish market: content and intake. *Food Additives and Contaminants*, Vol.16, No.7, 291-299, 1999.

Zhong W., Hu C and Wang M. Nitrate and nitrite in vegetables from north China: content and intake. *Food Additives and Contaminants*, 19:12, 1125-1129, 2002.

Zhou, Z. Y., Wang, M. J. and Wang, J. S. 2000. Nitrate and nitrite contamination in vegetables in China. *Food Rev. Int.* 16: 61-76.

GB15198-94, 1995, *Standards of the People Republic of China* (Beijing: Chinese Standard Press).

Türk Gıda Kodeksi. T.C Resmi Gazete, sayı: 24885, 23 Eylül 2002.

GIDA KAYNAKLI VİRAL HASTALIKLAR VE GIDA GÜVENİLİRLİĞİ

Süleyman ALEMDAR

Sema AĞAOĞLU

*Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, 65080 Kampüs-Van, Türkiye.
e-mail: salemdar@yyu.edu.tr*

ÖZET: Viruslar; insan, hayvan ve bitkilerde hastalık oluşturabilen doğadaki en basit canlı türleri arasında yer alırlar. Direkt ya da indirekt olarak gıdalara bulaşan viruslar, gıda maddelerinde çoğalamazlar ancak gıdalar virusların taşınmasında vektör görevi görürler. Hepatitis A, poliomyelitis ve norwalk-grubu gastroenteritis virusları sıklıkla rastlanan gıda kaynaklı viruslardır. Enfekte kişiler ve kanalizasyon suları ile kontamine olmuş çiğ sebze ve meyveler, süt ve süt ürünleri ile kabuklu su ürünleri risk grubu gıdaları oluşturmaktadır. Gıda kaynaklı viral hastalıklar halk sağlığını tehdit etmesinin yanı sıra önemli ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Özellikle yaşam şekillerinin değişmesi, kitlesel üretim, turizm ve uluslararası gıda ticareti gibi konular gıda güvenliğinin gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu nedenle gıdaların çiftlikten sofraya kadar olan sürecinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelerin önlenmesi ve güvenilir bir şekilde tüketiciye sunulmasını sağlayan uluslararası kabul görmüş HACCP sisteminin uygulanması zorunluluk arz etmektedir. Bu derlemede gıdalarla bulaşan önemli viral hastalıkların epidemiyolojisi, bulaşma kaynakları, semptomları, kontrolü ve bu hastalıklardan korunma konularında değerlendirme yapılmıştır.

Anahtar kelimeler: Gıda, virus ve güvenilirlik

FOODBORNE VIRAL DISEASES AND FOOD SAFETY

ABSTRACT: Viruses are minor microorganisms that cause diseases in humans, animals and plants. Viruses transmitted to foods by direct or indirect ways are unable to multiply in foods, but foods could be considered as a vector in the transmission of viruses. The most common viruses associated with foodborne diseases are hepatitis A, poliomyelitis and norwalk-like gastroenteritis viruses. The raw fruits and vegetables, milk and milk products, and shellfish contaminated through infected persons and sewage are risky food groups in terms of foodborne viral diseases. Foodborne viral

diseases not only threat public health but also cause important economic loss. Food safety has become an important issue along with the changing life style, global production, tourism and international trade. For this reason it is required that internationally recognized HACCP system which provides the prevention of physical, chemical and biological hazards related with foods during the total production stages from farm to table must be applied for the public health. In this review; epidemiology, source of transmission, symptom, control and precaution of major foodborne viral diseases were discussed.

Key words: Food, virus and safety

GİRİŞ

Etiyolojik olarak tanımlanmış 200'den fazla hastalık etkeni gıdalar yoluyla insanlara bulaştırılabilmektedir. Bakteri, virus, parazit, toksin, metal ve prion gibi etkenler gıda kaynaklı hastalıklarda önemli rol oynamaktadır (9).

Viruslar 15-400 nm arasında değişen boyutlarda hastalık oluşturabilme yeteneğine sahip oldukça küçük etkenlerdir. Virus partikülleri DNA veya RNA'nın bulunduğu bir nükleik asit özünden ve onu saran protein kılıftan oluşan bir yapıya sahiptirler. Gıda maddelerinde ve suda gelişip çoğalamaz ve toksin üretmezler. Bu nedenle gıdaların tadında, kokusunda ve görünüşünde herhangi bir değişikliğe neden olmazlar. Gıdalar virusların taşınmasında vektör görevi yaparlar (8,24,30,41).

GIDA KAYNAKLI VİRAL HASTALIKLAR VE EPİDEMİYOLOJİ

Son yıllarda gıda kaynaklı viral hastalıklarda önemli artışlar belirlenmiştir (35). İnsanların bağırsaklarında çok sayıda virus bulunabilmesine karşın bunlardan çok azı gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilmektedir. Gıda kaynaklı viruslar, oluşturdukları hastalık tipine göre 3 ana grupta (Tablo 1) toplanırlar (36,41).

Tablo 1. Enterik virusların bulaşma olasılığı ve oluşturduğu hastalık tipleri

Gıda ve sudan bulaşma olasılığı	Hastalık		
	Gastroenteritis	Hepatitis	Diğer
Yaygın	Norovirus	Hepatitis A virusu	
	Enterik adenovirus (Tip 40/41)	Hepatitis E virusu	Enterovirus
	Rotavirus (Grup A-C)		
Arasıra	Sapovirus		
	Astrovirus		
	Coronavirus		
	Aichivirus		

Virusların çoğu insandan insana bulaşarak hastalık oluşturabilmektedir. Ancak bazı virusların insanlara bulaşmasında gıdalar da önemli rol oynamaktadır. İnsanlarda sıklıkla rastlanan gıda kaynaklı viral hastalıklar ile bu hastalıklara ait semptomlar, riskli gıdalar ve önlemler Tablo 2'de verilmiştir (10,11).

ABD'de her yıl yaklaşık 76 milyon gıda kaynaklı hastalık olgusu şekillenmekte ve 5.000'i ölümlle sonuçlanmaktadır. Olguların %10-19'unda deniz ürünleri sorumlu tutulmaktadır (41). Ayrıca kabuklu su ürünlerinden kaynaklanan olaylarda bakteriyel etkenlerin oranı azalırken viral etkenlerin özellikle de hepatitis A, rota ve enterovirusların oranının arttığı tespit edilmiştir (55).

Norovirus (NoV) ve hepatitis A viruslarının en yaygın gıda kaynaklı viruslar olduğu bildirilmiştir (22). B ve C grubu rotaviruslar da önemli gıda kaynaklı salgınlara neden olabilmektedir. Hepatitis E virusu ise su kaynaklı salgınlarda etkili olmaktadır (41). Ancak Li ve ark. (44) yaban domuz eti tüketen bir kişinin hepatit E hastalığına yakalandığını bildirmişlerdir.

Çin'in Shanghai bölgesinde 1988 yılında kontamine deniztarağı tüketimine bağlı 250.000 kişi HAV enfeksiyonuna yakalanmıştır (35). İsveç'te kontamine olmuş istiridyelerin tüketimine bağlı büyük bir hepatitis A salgını bildirilmiştir (37). Değişik ülkelerde farklı yıllarda yapılan çalışmalarda (4,25,29,43,45,47) gıda kaynaklı hastalıklar içinde viral enfeksiyonların oranı %8-40 arasında bildirilmiştir.

Tablo 2. İnsanlarda sıklıkla rastlanan gıda kaynaklı viral hastalıklar

Hastalık Etkeni	Hastalık	İnkübasyon süresi	Semptomlar	Riskli gıdalar	Önem
Hepatitis A virusu (HAV) <i>Picornaviridae</i>	Hepatit A	10-50 gün	Dişare, koyu idrar, sarılık, grip belirtileri (ateş, baş ağrısı, bulantı ve karın ağrısı)	Kontamine sulardan sağlanan kabuklular, çiğ sebzeler, kontamine içme suyu, pişmemiş veya piştikten sonra enfekte kişilerin temas ettiği gıdalar.	Gıdaların iyi bir şekilde ısıtılması (80°C'nin üzerinde) ve uygun hijyenik koşulların sağlanması ile önlenabilir.
Hepatitis E virusu (HEV) <i>Caliciviridae</i>	Hepatit E	2 - 9 hafta	Karın ağrısı ve yüksek ateş, hastalık genelde hafif geçer ve 2 hafta içinde atlatılır.	Kontamine su, enfekte gıda çalışanlarının temas ettiği gıdalar, enfekte bireyden diğer bireye bulaşma olabilir.	Gıdaların iyi bir şekilde ısıtılması (80°C'nin üzerinde) ve uygun hijyenik koşulların sağlanması ile önlenabilir.
Norwalk virusu veya Norwalk benzeri diğer viruslar	Akut viral gastroenterit	24-48 saat	Bulantı, kusma, karın krampı, dişare, ateş, kas ağrısı, bazen baş ağrısı. Yetişkinlerde dişare, çocuklarda ise kusma olasılığı daha yüksektir.	Kabuklular, fekal olarak kontamine edilen gıdalar, enfekte gıda çalışanlarının temas ettiği tüketime hazır gıdalar (salata, sandviç, buz, bisküvi, meyve).	Viruslar ısıya karşı hassastırlar ve iyi bir ısıtım işlem (70 °C'nin üstünde) ile ölürler.
Rota viruslar <i>Reoviridae</i>	Akut viral gastroenterit	1-3 gün	Kusma, sulu dişare, hafif ateş. Geçici laktoz intoleransı görülebilir. Özellikle bebekler, çocuklar, yaşlılar ve immun yetmezliği olanlar etkilenir.	Fekal olarak kontamine edilen gıdalar, enfekte gıda çalışanlarının temas ettiği tüketime hazır gıdalar (salata, meyve).	Viruslar ısıya karşı hassastırlar ve iyi bir ısıtım işlem (70°C'nin üzerinde) ile ölürler.
Diğer viruslar Astroviruslar Caliciviruslar Adenoviruslar Parvovirus	Akut viral gastroenterit	10-70 saat	Bulantı, kusma, dişare, keyifsizlik, karın ağrısı, baş ağrısı ve ateş.	Fekal olarak kontamine edilen gıdalar, enfekte gıda çalışanlarının temas ettiği tüketime hazır gıdalar, bazı kabuklular.	Gıdaların iyi bir şekilde ısıtılması (80°C'nin üzerinde) ve uygun hijyenik koşulların sağlanması ile önlenabilir.

GIDALARIN VİRUSLARLA KONTAMİNASYONU

Gıdaların viral etkenlerle kontaminasyonu primer ve sekonder olmak üzere başlıca iki şekilde olmaktadır:

1. Primer kontaminasyon: Gıda maddelerinin hasat veya kesim öncesi hammadde aşamasında meydana gelir. Enfekte hayvanlardan elde edilen et ve diğer ürünler, kanalizasyon sularıya sulanan ya da insan atıklarıyla gübrelenen alanlardaki sebzeler ve kontamine sulara yetiştirilen kabuklular viral etkenlerle primer kontaminasyona maruz kalabilirler (21,24,63).

2. Sekonder kontaminasyon: Gıda maddelerinin işleme, depolama, dağıtım veya son ürün aşamasında meydana gelir (21,63). Bu kontaminasyon şekli direkt ve indirekt olmak üzere ikiye ayrılır:

a. Direkt kontaminasyon: Hasta veya portör durumundaki personelin neden olduğu bir kontaminasyon şeklidir. Genellikle gıda maddelerinin hazırlanmaları sırasında elle muamelenin gerekli olduğu yiyeceklerde görülür (21,22).

b. İndirekt kontaminasyon: Virusların kirli sularla veya gıda ile temas eden yüzeylerden gıdalara bulaştırılmasıyla meydana gelir. Ayrıca böcek veya kemirici gibi vektörlerle viruslar gıdalara bulaştırılabilmektedir (21,22).

VİRUSLAR AÇISINDAN RİSK TAŞIYAN GIDALAR

Viruslar çoğalmaları için bir konakçıya ihtiyaç duyarlar ve bütün gıda kaynaklı virusların esas kaynağı insan bağırsağıdır. Enfekte gıda çalışanları hazırlama ve servis aşamalarında gıdaların kontaminasyonuna neden olurlar (36,63).

Gıda kaynaklı virusların bulaştığı gıda maddelerinin başında midye, ıstiridye ve deniztarağı gibi kabuklular gelmektedir. Bu tip kabuklular genelde sığ kıyı sularında ya da koy kısımlarında özellikle kanalizasyon sularının denize döküldüğü kısımlarda bulunurlar. Kabuklular suyu filtre ederek beslendiklerinden virus partiküllerini bünyelerine alarak biriktirirler. Bunlar genelde çiğ ya da hafif ısı işlemi uygulandıktan sonra tüketilmektedir. Ayrıca, temizleme işlemleri virusu ortamdan elimine etmek için

yeterli olmadığından temizlenmiş kabukluların tüketimine bağlı salgınlara sıklıkla rastlanmaktadır (21,36,41).

Sebze ve meyveler kanalizasyon atıklarıyla gübrelendiğinde veya kontamine kirli sularla sulandığında enfeksiyon aracı olarak rol oynayabilirler. WHO tarafından yayınlanan tüzükte çiğ olarak tüketilen sebze ve meyvelerin kanalizasyon atıklarıyla gübrelenmemesi veya kontamine sularla sulanmaması gerektiği ifade edilmektedir. Kontamine su ve buzun tüketilmesi veya gıdaların hazırlanmasında kullanılması da viral hastalıklara neden olabilmektedir (36).

Enfekte gıda çalışanları gıda kaynaklı hastalıkların en önemli sebebidir. Salata gibi gıda maddelerinin hazırlanması esnasında kontaminasyon şekillenmekte ve tüketilmeden önce ısı uygulaması yapılmadığından sıklıkla gıda kaynaklı salgınlara rastlanmaktadır (21,24,36,63).

Hayvansal ürünler de insanlar tarafından kontamine edilirler. Deniz ürünleri dışında bildirilen hayvansal orijinli hastalık olguları daha çok çiğ kıyma ve çiğ süt tüketiminden kaynaklanmaktadır (23). Çeşitli et, et ürünü ve balıklarda poliovirus ve echoviruslar bulunabilmektedir (32,43). Bağırsak ve içeriğinde enterovirus, coronavirus ve rotavirus gibi viruslar saptanmıştır. Bağırsaklardan elde edilen sucuk kılıfı ve diğer ürünler viral kontaminasyona neden olmaktadır (12).

Çiğ süt ve süt ürünleriyle de hepatitis A ve poliomyelitis virusları bulaşabilmektedir (30,33). Isıl işlem uygulamamış süt ile yapılan peynirlerde virus düzeyinde önemli oranda azalmalar meydana gelmesine karşın, virusun canlılığını uzun süre koruduğu bildirilmiştir. Poliovirusların Cheddar peynirinde 7 ay, Cottage peynirinde ise 5-6 hafta canlılığını sürdürdüğü bildirilmiştir (20).

Parainfluenza, şap, enfeksiyöz hepatitis ve newcastle gibi çeşitli hastalıklara yakalanmış hayvanlardan izole edilen viruslara et, süt, tereyağı, yumurta gibi gıdalarda da rastlanmıştır. Buna ilaveten poliovirus, echovirus, coxsackievirus, reovirus, influenza ve

adenovirus gibi insanlarda yaygın olarak rastlanan viruslar koyun, keçi, sığır ve domuzlardan sıklıkla izole edilmektedir (43).

VİRUSLARIN CANLI KALABİLME YETENEKLERİ

Gıdalarda bulunan virusların aktivitesi virusun tipi, ortamın rutubeti, sıcaklık ve pH gibi birçok faktöre bağlıdır. Viruslar soğutma, dondurma ve ışınlamaya (gamma) dirençli olmalarına karşın fermentasyon, pastörizasyon, UV ışınları ve kuvvetli, oksitleyici ajanların etkisiyle kolaylıkla inaktive olmaktadır (24,63). Yağ ve proteinler virusların inaktivasyonunda koruyucu etki gösterirken, asitler virusların çok daha duyarlı olmasını sağlarlar (57).

Su: Fekal materyal ve kanalizasyon atıklarının kontamine ettiği sularda insan enterik virusları potansiyel olarak bulunabilmektedir. Viruslar suda uzun süre canlılıklarını koruyabilmektedir. Sularda virusların canlılığını etkileyen en önemli faktör sıcaklıktır. Düşük sıcaklık genelde virusların canlı kalma süresini arttırmaktadır (59).

Raphael ve ark. (54) arıtılmış ve arıtılmamış musluk sularında 4°C'de 60 gün boyunca rotavirus titresinde önemli bir düşüş olmadığını, 20°C'de 10 gün sonra %99'luk bir azalma meydana geldiğini ve mevcut mikrofloranın enterik virusların canlı kalma yeteneklerini olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Abad ve ark. (3) rotavirusların içme sularında 4°C'de 90 gün boyunca canlı kalabildiklerini tespit etmişlerdir.

Hepatitis A ve poliovirusların atık sularda ve yer altı sularında 10°C'de 90 gün veya daha fazla, aynı virusların 4°C'de depo edilen mineral sularda 1 yıldan daha fazla, hepatitis A virusunun ise tatlı ve tuzlu sularda 1 yıl canlı kaldığı bildirilmiştir (18,50,60).

Toprak: Kanalizasyon sularının gelişigüzel ortama bırakılması ve kirli suların sulama amacıyla kullanılması sonucunda toprak viruslarla kontamine olabilmektedir. Virusların

toprakta canlı kalma yetenekleri mevsim, sıcaklık, yağış miktarı, toprak tipi ve kompozisyonu gibi birçok faktöre bağlıdır. Kış mevsiminde sprey tarzında sulanan topraktan 96 gün sonra polioviruslar izole edilmiştir (61,62). Yazın ise bu süre maksimum 11 gün olarak tespit edilmiştir. Ilık mevsimlerde sıcaklık ve güneşin radyasyon düzeyinde meydana gelen yükselme viral inaktivasyonunu arttırmaktadır (59).

Oron ve ark. (51) yüksek toprak sıcaklığının (30°C) ve düşük nem içeriğinin poliovirusların canlı kalma yeteneğini engellediğini tespit etmişlerdir. Enterovirusların toprakta 150-170 gün, poliovirusların ise 100 gün canlı kalabildikleri bildirilmiştir (7).

Sebze ve meyveler: Sebze ve meyveler genellikle hasat ve işleme aşamalarında kontamine olurlar. Poliovirus ve rotaviruslar sebzelerin marketlere ulaştırılmasına kadar geçen sürede canlılıklarını koruyabilirler (13). Poliovirusların taze sebze ve meyvelerde buzdolabı koşullarında günlerce canlılığını koruduğu ve daima bir enfeksiyon riski taşıdığı bildirilmiştir (42).

Enterovirusların salatalık, domates, kıvırcık salata gibi sebzelerde 6-10°C'de 15 günden fazla, turpta 2 aydan daha uzun süre canlılığını koruyabildiği; poliovirusların turp ve kıvırcık salatada 36 gün; coxsackie B5'in kıvırcık salatada 16 gün; rotavirusların ise turp ve kıvırcık salatada 4°C'de 25-30 gün canlı kalabildikleri tespit edilmiştir (7). Enterik virusların 4°C'de depolanan kereviz, salata ve havuçta 8 gün canlılığını sürdürdüğü bildirilmiştir (40).

Badawy ve ark. (13) rotavirus SA-11'in salata, turp ve havuçta 4°C'de 30 gün süreyle canlılığını koruduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, viral inaktivasyonun oda sıcaklığında 4°C'ye göre daha fazla şekillendiğini, ancak rotavirus SA-11'in 25 gün sonra da canlı kaldığını tespit etmişlerdir.

Modifiye atmosfer paketleme (MAP)'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (17); hepatitis A virusu inoküle edilen salatalar 4°C'de ve oda sıcaklığında depo edilmiştir. Normal paketleme ve MAP arasında 4°C'de depolamada herhangi bir fark

gözlenmemiştir. Ancak oda sıcaklığında depolamada CO₂ oranı yüksek MAP sisteminin viral canlılık üzerinde çok az bir etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Yüzeyler: Virusların canlılığı ile ilgili yapılan çalışmalar paslanmaz çelik, cam ve plastik gibi yüzeyler üzerinde yoğunlaşmıştır (59). Hepatitis A ve rotavirusların da içinde bulunduğu enterik virusların porözlü ve porözsüz yüzeyler üzerinde 30 günden daha fazla canlılığını sürdürdüğü bildirilmiştir (1).

Relatif rutubetin porözsüz yüzeylerde hepatitis A virusu üzerine olan etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada (17), relatif rutubetin 5°C'de virusun canlı kalması üzerinde çok az etki göstermesine karşın, 20°C'de özellikle rutubet oranı düşük olduğunda canlılığın oldukça uzun süre devam ettiği bildirilmiştir.

Enterik viruslarla kontamine edilmiş paslanmaz çelik üzerine 5000 ppm düzeyinde serbest klor uygulandığında virus titresinde %99.9'dan daha fazla bir düşüş şekillendiği yapılan deneysel çalışmalarla tespit edilmiştir (46,56).

Hepatitis A virusu, insan rotavirusu ve *Bacteroides fragilis* bakteriyofajı ile enfekte edilen polistiren üzerinde sodyum hipokloritin (1250 ppm, pH 9.56) virüsidal etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada (2) ise bütün viruslarda önemli derecede azalma meydana gelmiştir.

Kimyasal maddeler: Sanitasyon işlemlerinde veya sebze ve meyvelerin temizlenmesinde klor, klor dioksit, organik asitler ve sürfektantlar yaygın olarak kullanılmakta ancak klor daha fazla tercih edilmektedir (26,59).

ABD'de FDA tarafından taze sebze ve meyve endüstrisinde klorun kullanılmasına izin verilmesine karşın AB'deki bazı ülkeler yıkama sularında klorun kullanılmasına izin vermemektedir (31). Klorlu dezenfektanların enterik viruslara karşı en etkili dezenfektan olduğu kabul edilmektedir. Ancak NLV'ları ve hepatitis A virusu klora karşı güçlü direnç gösterirler (34,39,53). ABD'de hepatitis A virusunun inaktivasyonu için klorun 5 mg/l konsantrasyonu tavsiye edilmektedir (59).

Organik asitler; doğal olarak birçok sebze ve meyvede bulunabilmekte ve bazı mikroorganizmaların gelişmesini ya geciktirmekte ya da engellemektedir. Asetik, sitrik, süksinik, malik, tartarik, benzoik, propiyonik, ve sorbik asit gibi organik asitler artan organik sebze ve meyve yetiştirmesine bağlı olarak yıkama veya sprey tarzındaki uygulamalar için tercih edilmektedir. Ayrıca bunların birçok ticari şekli de üretilmiştir (16,59).

Ozon, enterik virusların da içinde bulunduğu çok geniş bir mikroorganizma kitlesine karşı öldürücü etkiye sahiptir (28). ABD’de gıda sanayinde son zamanlarda dezenfektan olarak kullanımı artmıştır. Ancak Avrupa’da henüz yaygınlık kazanmamıştır (19).

Enterik viruslar; fenoller, quarterner amonyum bileşikleri ve etanol gibi yaygın olarak kullanılan dezenfektanlara karşı dirençlilik gösterirken, metil ve etil alkolün %70’lik konsantrasyonları virusların çoğunu oldukça etkili bir şekilde inaktive etmektedir (5)

Sıcaklık: Virusların çoğu buzdolabında birkaç hafta, derin dondurucuda (-18°C) ise birkaç ay canlı kalabilmektedir (52). Rotavirus ve enterovirusların genelde soğukta muhafaza edilen sebzelerden izole edildikleri bildirilmiştir (13). Enterovirusların düşük nemli gıdalarda oda sıcaklığında 2 hafta, buzdolabında 2 ay ve -20°C’de ise en az 5 ay canlı kalabilecekleri bildirilmiştir (14).

Viruslar soğukta ya da derin dondurucuda muhafaza edilen gıda maddelerinde canlılıklarını sürdürmelerine karşın, pişirme sıcaklığında hızlı bir şekilde inaktive olabilmektedir (32). Murphy ve ark. (49), hepatitis A virusunun ısısal direnci en yüksek olan etkenlerden biri olduğunu ve 60°C’de 19 dakikada etkisiz hale geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca bu virusun normal pastörizasyon işlemi ile ölmediği, inaktivasyon için 90°C’de 90 saniyelik bir ısının gerektiği bildirilmiştir (48).

pH: Viruslar normalde pH 5 ile 9 arasında stabildirler. Rotavirusların pH 3.8-4.1 arasında stabilitesini koruduğu, poliovirusların pH 2.9 ve 20 °C’de 96 saat süre sonunda canlı kaldığı saptanmıştır. Enterik ve coronavirusların asidik pH değerlerine direnç

gösterdikleri bildirilmiştir (38). Scholtz ve ark. (58) hepatitis A virusunun pH 1'de 90 dak. canlılığını muhafaza ettiğini, NLV'ların ve hepatitis A virusunun pH 3'ün altında canlı kalmasına karşın rotavirusların pH 3'ün altında veya pH 10'un üzerinde inaktive olduğunu ve enterik virusların midenin güçlü asit etkisine karşı canlılığını koruduğunu bildirmişlerdir.

Kurutma: Kurutma işlemi de bazı virusların inaktivasyonuna neden olur. Gıda maddelerinin hava ile temas eden yüzeylerinin kurumasına bağlı olarak virus titresi önemli derecede düşmektedir. Gıda maddelerinin liyofilize edilmesiyle virusların yaklaşık %99'u inaktive edilebilmektedir (5,21).

Işınlama: 4.3 kGy dozundaki ışınların değişik tür virusları %90 oranında inaktive ettiği bildirilmiştir. Özellikle Co⁶⁰'tan elde edilen gamma ışını gibi iyonize ışınlar gıdaların yüzeyinde ve iç kısımlarında bulunan virusları inaktive edebilmektedir (21).

VİRUSLARIN İZOLASYON VE İDENTİFİKASYONU

Viruslar üreme ve gelişmeleri için canlı hücrelere ihtiyaç duyduklarından rutin laboratuvar testleri ile gıdalardan izole edilemezler. Ayrıca kontamine gıda maddelerinde virus partikül sayısı genelde çok düşük düzeyde olduğundan izolasyonda zorluklarla karşılaşmaktadır. Ancak özel laboratuvarlarda hücre kültürü ve kompleks ekstraksiyon metotları kullanılarak izolasyon yapılmaktadır (36). Bu amaçla hücre kültürü metodu, ELISA, RIA, immünoelektron mikroskopi, floresan boyalar (immunofloresanassay), radyoaktif maddeler (radioimmunoassay ve radiofocusimmunoassay) ve enzimlerle (immunoenzymatic assay) işaretlenmiş antikorların kullanıldığı serolojik testler kullanılmaktadır. Son yıllarda virusların gıdalardan izolasyonunda moleküler biyolojiye dayanan RNA/DNA problemleri ve PCR (özellikle RT-PCR) teknikleri başarıyla uygulanmaktadır (6,11,23,29).

KORUNMA-KONTROL VE GIDA GÜVENİLİRLİĞİ

Su ve gıdaların viruslarla kontaminasyonunda kanalizasyon suları en önemli faktörlerden biridir. Kanalizasyon suları arıtılmadan direkt doğaya bırakıldığında yetiştirme alanlarındaki sebze ve meyveleri kolaylıkla kontamine etmektedir (36,41). Arıtılmış olsa dahi kanalizasyon sularının kullanıldığı alanlarda salata ürünlerinin 30 ay, sebzeler ise 12 ay boyunca yetiştirilmemesi gerektiği bildirilmiştir (59).

Gıdaların diğer önemli bir kontaminasyon kaynağı ise enfekte gıda çalışanlarıdır. Bu kişilerin gıda ile ilişkisi hemen kesilmelidir (36). Hasta veya enfekte kişiler kustuklarında, virus aerosol damlacıklarda bulunduğundan geniş bir çevreye yayılabilmektedir. Bu durumda çalışma yüzeyleri, lavabolar ve kapı kolları da dahil olmak üzere tüm alan temizlenmelidir (15).

Cliver (21) viral hastalık riski taşıyan gıdaların pişirilmesi gerektiğini tavsiye etmiştir. Ancak aşırı ısı uygulamalarında sebze ve meyvelerde sağlığa zararlı değişiklikler meydana gelebilmektedir. Bunun için taze sebze ve meyvelerin 80°C'de 2 dak.'lık bir yıkamayla mikrobiyolojik güvenliğinin sağlanması önerilmektedir (43).

Gıda kaynaklı hastalıklardan korunmada iyi gıda işleme uygulamalarına titizlikle dikkat edilmesi ve eğitim faaliyetleri esastır. Sadece hazır gıda servislerinde ve perakende satış yerlerinde değil, aynı zamanda çiftlik çalışanlarının da tuvalet kullanma ve el yıkama alışkanlıklarının yeterli bir şekilde yapılması sağlanmalıdır (59). Gıda çalışanlarının viral hastalıklara karşı aşılınmaları gerektiği bildirilmişse de tüm gıda kaynaklı viruslara karşı henüz etkili aşılar geliştirilememiştir (22,27).

Sonuç olarak gıda kaynaklı viral hastalıkların kontrolü ve gıda güvenilirliliğinin sağlanmasında; gıda çalışanlarının virusları taşımaları ve bulaştırmaları konusuna azami dikkat edilmesi, gıda kaynaklı virusların tespitinde standart ve rutin metotların geliştirilmesi, laboratuvar temeline dayanan izleme sistemleri oluşturularak salgınların kaynaklarının erken dönemde belirlenmesi ile gıda güvenliği kalite kontrol ve yönetim sistemlerinin (GHP, GMP ve HACCP) oluşturulması zorunluluk arz etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Abad, F.X., Pinto, R.M., Bosch, A. (1994): Survival of enteric viruses on environmental fomites. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60: 3704-3710.
2. Abad, F.X., Pinto, R.M., Bosch, A. (1997): Disinfection of human enteric viruses on fomites. *FEMS Microbiol. Lett.*, 156: 107-111.
3. Abad, F.X., Pinto, R.M., Villena, C., Gajardo, R., Bosch, A. (1997): Astrovirus survival in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 3119-3122.
4. Abou-Daoud, K.T., Azar, J.E. (1980): Foodborne and Waterborne Diseases Surveillance in Lebanon. 1st World Congress, Foodborne Infections and Intoxications, p. 230-233, 29.06-03.07.1980, Berlin.
5. Akan, E. (1989): Genel ve Özel Viroloji. Türkiye Klinikleri Yayınevi, 2. Baskı, Ankara.
6. Akçelik, M., Ayhan, K., Çakır, İ., Doğan, H.B., Gürgün, V., Halkman, A.K., Kaleli, D., Kuleaşan, H., Özkaya, D.F., Tunail, N., Tükel Ç. (2000): Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. 2.Baskı, Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.
7. Anon (1988): Microorganisms in Foods. 4. Application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System to Ensure Microbiological Safety and Quality. ICMSF, Blakwell Scientific Publications, Oxford.
8. Anon (2006): Common Foodborne Illnesses, http://www.health.gov.ab.ca/public/dis_th1.html, Erişim Tarihi: 01.06.2006.
9. Anon (2006): Foodborne Diseases, <http://www.kcom.edu/faculty/chamberlain/Website/foodborne.htm>, Erişim Tarihi: 01.06.2006.
10. Anon (2006): Viruses, <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>, Erişim Tarihi: 01.06.2006.
11. Anon (2006): Foodborne Illnesses Table: Viral Agents, <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/3629.html>, Erişim Tarihi: 01.06.2006.
12. Bachmann, P.A., Danner, K., Mayr, A. (1980): Isolation of Viruses from the Organs of Freshly Slaughtered Animals. 1st World Congress, Foodborne Infections and Intoxications, pp. 269-271, Berlin.
13. Badawy, A.S., Gerba, C.P., Kelley, L.M. (1985): Survival of rotavirus SA-11 on vegetables. *Food Microbiol.*, 2: 199-205.
14. Banwart, G.J. (1988): Basic Food Microbiology. An AVI Book, New York.
15. Barry-Murphy, K., Green, J., Brown, D.W.G., Cheesbrough, J.S., Hoffman, P.N. (2000): Norwalk-like Viruses-Investigation of Patterns of Environmental Contamination on a Hospital Ward and Evaluation of Decontamination Procedures. 25th PHLS Annual Scientific Conference Abstracts, p. 22.
16. Beauchat, L.R. (1998): Surface Decontamination of Fruits and Vegetables Eaten Raw: A Review WHO/FSF/FOS/98.2, Geneva, Food Safety Unit, World Health Organization.
17. Bidawid, S., Farber, J.M., Sattar, S.A. (2000): Contamination of foods by food handlers: experiments on hepatitis A transfer to food and its interruption. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 2759-2763.
18. Bizziagos, E., Passagot, J., Crance, J.M., Deloince, R. (1988): Long-term survival of hepatitis A virus and poliovirus type 1 in mineral water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54: 2705-2710.
19. Boisrobert, C., Yuan, J., Novak, J., Mrotek, M. (1998): Ozone: safety considerations. *Fresh Cut* December, 16-18, 23.
20. Chapman, H.R., Sharpe, M.E. (1990): Microbiology of Cheese, Chapter 5, in: Dairy Microbiology. Ed., RK Robinson, Vol 2, 2nd Ed., pp. 203-290. Elsevier Applied Science, London.
21. Cliver, D.O. (1990): Viruses. In: Foodborne Diseases. Ed. Cliver, D.O., Academic Press, Inc, pp. 275-292.
22. Cliver, D.O. (1997): Virus transmission via food. *Food Technol.*, 51: 71-78.
23. Cliver, D.O., Ellender, R.D., Fout, G.S., Shields, P.A., Sobsey, M.D. (1992): Foodborne Viruses. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3rd Ed. Vanderzant and C., Splitstoeser, D.F., APHA, Washington, D.C., 763-787.
24. Doğruer, Y. (2000): Veteriner Halk Sağlığı. Selçuk Üniv. Basımevi, Konya.
25. Dorronsoro, M., Sanzo, J.M., Zigorraga, M.C., Ibarluzea, J.V. (1992): Drinking Water Related Disease in the Basque Country During the Last Five Years. Description and Analysis. 3rd World Congress, Foodborne Infections and Intoxications, p. 1096, 16-19 June, Berlin.
26. Elphick, A. (1998): Fruit and vegetable washing systems. *Food Processing* January, 22-23.

27. Estes, M.K., Ball, J.M., Guerrero, R.A., Opekun, A.R., Gilger, M.A., Pacheco, S.S., Graham, D.Y. (2000): Norwalk virus vaccines: challenges and progress. *J. Infect. Dis.*, 181(Suppl. 2): S367-373.
28. Finch, G.R., Fairbairn, N. (1991): Comparative inactivation of poliovirus type 3 and MS2 coliphage in demand-free phosphate buffer by using ozone. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57: 3121-3126.
29. Fleet, G.H., Heiskanen, P., Reid, I., Buckle, K.A. (2000): Foodborne illness - status in Australia. *Int. J. Food Microbiol.*, 59: 127-136.
30. Frazier, W.C., Westhof, D.C. (1988): *Food Microbiology*. McGraw-Hill Company, New York.
31. Garret, E. (1992): Chlorination of Product Wash Water and Effects of pH Control. NAFFP Conference, May 2-5, 1992.
32. Gerba, C.P., Goyal, S.M. (1978): Detection and occurrence of enteric viruses in shellfish: A review. *J. Food Prot.*, 41(9): 743-754.
33. Gilbert, R.J. (1988): Foodborne infections and intoxications: recent problems and new organisms. *Brit. Food J.*, 90(2): 71-73.
34. Grabow, W.O.K., Gauss-Mueller, V., Prozesky, O.W., Deinhardt, F. (1983): Inactivation of hepatitis A virus and indicator organisms in water by free chlorine residuals. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46: 619-624.
35. Halliday, M.L., Kang, L.Y., Zhou, T.K. (1991): An epidemic of hepatitis A attributable to the ingestion of raw clams in Shanghai, China. *J. Infect. Dis.*, 164: 852-859.
36. IFST (2002): *Foodborne Viral Infections*. Institute of Food Science & Technology Trust Fund, No: 264044, 1-6.
37. İnal, T. (1992): *Besin Hijyeni-Hayvansal Gıdaların Sağlık kontrolü*. Final Ofset, İstanbul.
38. Kaplan, A.S., Melnick, J.L. (1952): Effect of milk and cream on the thermal inactivation of human poliomyelitis virus. *Am. J. Publ. Health*, 42: 525-534.
39. Keswick, B.H., Satterwhite, T.K., Johnson, P.C., DuPont, H.L., Secor, S.L., Bitsura, J.A., Gary, G.W., Hoff, J.C. (1985): Inactivation of norwalk virus in drinking water by chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50: 261-264.
40. Konowalchuk, J., Speirs, J.I. (1975): Survival of enteric viruses on fresh vegetables. *J. Milk Food Technol.*, 38: 469-472.
41. Koopmans, M., Duizer, E. (2004): Foodborne viruses: an emerging problem. *Int. J. Food Microbiol.*, 90: 23-41.
42. Kurdziel, A.S., Wilkinson, N., Langton, S., Cook, N. (2001): Survival of poliovirus on soft fruit and salad vegetables. *J. Food Prot.*, 64(5): 706-709.
43. Larkin, E.P. (1981): Food contaminants - viruses. *J. Food Prot.*, 44: 320-325.
44. Li, T.C., Chijiwa, K., Sera, N., Ishibashi, T., Etoh, Y., Shinohara, Y., Kurata, Y., Ishida, M., Sakamoto, S., Takeda, N., Miyamura, T. (2005): Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg. Infect. Dis.*, 11(12): 1958-1960.
45. Lindqvist, R., Andersson, Y., De Jong, B., Norberg, P. (2000): A summary of reported foodborne disease incidents in Sweden, 1992 to 1997. *J. Food Prot.*, 63(10): 1315-20.
46. Mbithi, J.N., Springthorpe, V.S., Sattar, S.A. (1990): Chemical disinfection of hepatitis A virus on environmental surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 3601-3604.
47. Mele, A., Stroffolini, T., Pasquini, P. (1996): SEIEVA Integrated Epidemiological System for Acute Viral Hepatitis. Report 1985-1994, Rapporto Istisan 96/3. Rome, Istituto Superiore di Sanità.
48. Mossel, D.A.A., Corry, J.E.L., Struijk, C.B., Baird, R.M. (1995) *Essential of the Microbiology of Food*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England.
49. Murphy, W.J., Petrie, L.M., Work, S.D. (1946): Outbreak of infectious hepatitis apparently milkborne. *Am. J. Public Health*, 36: 169-173.
50. Nasser, A.M., Tchotch, Y., Fattal, B. (1993): Comparative Survival of *E. coli*, F Super (+) Bacteriophages, HAV and Poliovirus 1 in Wastewater and Groundwater. In: *Health Related Water Microbiology*, Vol. 27, eds Morris, R.W., Grabow, W.O.K. and Dufour, A.P., pp. 401-407, Oxford, Pergamon Press.
51. Oron, G., Goemans, M., Manor, Y., Feyen, J. (1995): Poliovirus distribution in the soil-plant system under reuse of secondary wastewater. *Water Res.*, 29: 1069-1078.
52. Özgelik, S. (1998): Gıda Mikrobiyolojisi. S. D. Ü. Zir. Fak., Yayın No:6, Isparta.
53. Peterson, D.A., Hurley, T.R., Hoff, J.C., Wolff, L.G. (1983): Effect of chlorine treatment on infectivity of hepatitis A virus. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45: 223-227.

54. Raphael, R.A., Sattar, S.A., Springthorpe, V.S. (1985): Long-term survival of human rotavirus in raw and treated river water. *Can. J. Microbiol.*, 31: 124-128.
55. Richards, G.P. (1985): Outbreaks of shellfish associated enteric virus illness in the United States: requisite for development of viral guidelines. *J. Food Prot.*, 48(9): 815-823.
56. Sattar, S.A., Springthorpe, V.S., Karim, Y., Loro, P. (1989): Chemical disinfection of non-porous inanimate surfaces experimentally contaminated with four human pathogenic viruses. *Epidemiol Infect.*, 102: 493-505.
57. Schliesser, T., Strauch, D. (1981): Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch und Milchwirtschaft. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
58. Scholtz, E., Heinrich, U., Flemhig, B. (1989): Acid stability of hepatitis A virus. *J. Gen. Virol.*, 70: 2481-2485.
59. Seymour, I.J., Appleton, H. (2001): Foodborne viruses and fresh produce. *J. Appl. Microbiol.*, 91: 759-773.
60. Sobsey, M.D., Shields, P.A., Hauchman, F.S., Davis, A.L., Rullman, V.A., Bosch, A. (1988): Survival and Persistence of Hepatitis A in Environmental Samples. In: *Viral Hepatitis and Liver Disease*, Ed. Zuckerman, A.J., pp. 121-124. New York: Alan Liss Inc.
61. Sullivan, R., Tierney, J.T. (1976): Persistence of Poliovirus 1 in Soil Irrigated with Inoculated Sewage Sludge and Effluent. Abstracts of the Annual Meeting of the American Society for Microbiology, pp. 192.
62. Tierney, J.T., Sullivan, R., Larkin, E.P. (1977): Persistence of poliovirus 1 in soil and on vegetables grown in soil previously flooded with inoculated sewage sludge or effluent. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 109-113.
63. Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K. (2001): Gıda Hijyeni. *Teknik Yayinevi*, 66-68, İstanbul.

***Salmonella* Enteritidis ÜZERİNE MİKRODALGA ETKİSİNİN YUMURTA ÖRNEKLERİNDE ARAŞTIRILMASI**

Isıl VAR, Bülent KABAK

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü, 01330, Adana
e-posta : ıvar@cu.edu.tr, bkabak@cu.edu.tr

ÖZET: Bu çalışmada, özellikle kümes hayvanı yumurtalarında sorun oluşturan *Salmonella* Enteritidis üzerine mikrodalga uygulamasının etkisi tavuk yumurtaları örnek kullanılarak araştırılmıştır. Araştırma kapsamında kullanılan yumurtalar Adana'da faaliyet gösteren çeşitli marketlerden satın alınmıştır. Test bakterisi olarak kullanılan *Salmonella* Enteritidis ise Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir. Bu amaçla *Salmonella* Enteritidis aşılanan tavuk yumurtaları mikrodalga fırında değişik süre ve mikrodalga gücünde ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. Yumurtalar çırpılarak ve çırpılmadan mikrodalgada pişirilmiştir. Uygulanan mikrodalga normlarında en güvenli olanları çırpılmamış yumurtalarda 90 watt'ta 7 dakika ve 180 watt'ta 3,5 dakika ile çırpılmış yumurtalarda 360 watt'ta 1,5 dakika pişirme olarak gözlenmiş, diğer pişirme normlarında pişirilen yumurtalar genel olarak tüketime uygun bulunmamıştır. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre yumurta örneklerinde toplam aerob mezofilik bakteri, koliform grubu bakteri, *Escherichia coli*, maya, küf ve *Salmonella* bulunamamıştır.

A RESEARCH ON THE EFFECT OF MICROWAVE ON *Salmonella* Enteritidis IN EGG SAMPLES

ABSTRACT: In this research, the effect of microwave on a potential hazard especially in poultry, *Salmonella* Enteritidis was investigated in hen eggs. Eggs used for the analysis were obtained from different supermarkets in Adana. *Salmonella* Enteritidis as a test culture was from culture collection of department of Food Engineering, Agricultural Faculty, University of Cukurova. In this study, the eggs inoculated by

Salmonella Enteritidis were cooked in microwave oven for different time and microwave powers. Scrambled and non-scrambled eggs were cooked in the microwave. As a result, it was found that the safe cooking powers were 90 watt for 7 min, and 180 watt for 3.5 min for not-scramble eggs and 360 watt for 1.5 min for scramble eggs. However, the other powers and time of cooking in microwave found not safe to consume the eggs According to the microbiological analysis results, there were not any growth of total aerob mesophilic bacteria, Coliform, Escherichia.coli, yeast, mould and Salmonella in the egg samples.

1. GİRİŞ

Günümüz yoğun iş hayatına paralel olarak yemek hazırlamaya ayrılan zaman oldukça kısıtlanmıştır. Bu durum, gıda endüstrisini gıdaların hazırlanmasında ve pişirilmesinde zamanı ve enerjiyi ekonomik kullanma yönünde yeni teknikler geliştirmeye yöneltmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda yarı hazır ve hazır gıdaların üretimi büyük ölçüde artmış ve başta mikrodalga tekniği olmak üzere gıdaların hazırlanması ve pişirilmesi alanında çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (6).

Mikrodalganın kullanımı, evlerde, lokantalarda, hastanelerde, endüstride ve gıda servisi yapılan diğer birimlerde yaygınlaşmakta ve böylece tüketiciye çok kısa sürede hazırlanabilen, daha ekonomik ve yüksek kalitede ürün sunulabilmektedir (2, 5, 12, 13).

Kabuklu yumurta yapısı itibari ile mikroorganizmalara karşı en iyi şekilde korunan gıdalardan biridir. Taze yumurtanın iç kısmı genellikle steril kabul edilir. Bozulmuş yumurtalarda genellikle koliform grubu bakteriler izole edildiği halde gram(+) bakterilere seyrek rastlanır. Bunun nedeni yumurta akında bulunan ve özellikle de gram(+) bakterilere karşı etkili olan lizozim enzimidir. Yumurta akında bulunan biotin ve demirin de mikroorganizmaların yararlanabileceği formda olmaması gelişmeyi engelleyici bir faktördür (9).

Kabuklu yumurtada bulunan tek önemli patojen *Salmonella*'dır. *Salmonella* ovülasyon sırasında yumurta içerisine girebildiği gibi, daha çok diğer bakterilerde olduğu gibi

dışkı ile bulaşmış ıslak kabuk yüzeyinden genellikle yumurtanın soğutulması sırasında yumurta içine geçebilir. Kabuk yüzeyinde bulunan *Salmonella*'nın yıkama ile uzaklaştırılması mümkün değildir. Dezenfektan kullanımı ise yüzeydeki *Salmonella*'nın ancak bir kısmını elemine edebilir. Kabuk yüzeyinde bulunan *Salmonella*'nın elemine edilmesi pastörizasyonla mümkündür. *Salmonella* yumurta içerisinde geliştikten sonra gramdaki sayısı 10^8 'e kadar çıkabilir. Böyle bir yumurtanın çiğ veya yarı pişmiş olarak tüketilmesi sonucu *Salmonella* enfeksiyonlarının meydana geldiği bilinmektedir. Ticari olarak satışa sunulan yumurtaların % 0,2'sinde *Salmonella*'nın yumurta içerisine geçmiş olduğu bildirilmektedir. Ancak, *Salmonella* yumurtanın görünüş ve kokusunda genellikle bir değişikliğe neden olmadığı için de milyonlarca *Salmonella* hücresi içeren bir yumurta fiziksel kontrollerde fark edilmeyebilir (9).

Bu çalışmada, insan sağlığı açısından önemli bir patojen olan *Salmonella enteritidis*'e, günümüzde bir çok gelişmiş ülkede kullanımı yaygın, fakat pişirmede halen mikrobiyolojik olarak güvenilirliği tartışılan bir yöntem olan mikrodalga ile ısıtım işlemi uygulanmasının, insan beslenmesinde oldukça önemli bir yer tutan tavuk yumurtasında etkisi araştırılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. GEREÇ

Araştırmada kullanılan yumurtalar Adana'da faaliyet gösteren çeşitli marketlerden sağlanmıştır. Mikrobiyolojik çalışmada kullanılan *Salmonella* Enteritidis Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Yumurtaların pişirilmesinde Bosch marka 2450 MHz frekanslı ev tipi mikrodalga fırın kullanılmıştır.

2.2. YÖNTEM

Bakteri kültürünün hazırlanması: *Salmonella* Enteritidis stok kültüründen öze yardımıyla alınarak 5 ml tamponlanmış peptonlu su içerisine ekilip 37 °C'de 1 gece inkübasyona bırakılmıştır.

Satış biriminden alınan yumurtalara hazırlanmış olan kültürden 1ml aşılama yapılmış ve fırında değişik süre ve güçte pişirilmiştir. Pişirme işleminde kullanılan mikrodalganın gücü ve süresi ön denemelerle belirlenmiştir. Çırpılmış yumurtalarda bütün güçlerde çalışıldığı halde çırpılmamış yumurtalarda sadece 90 ve 180 Watt'ta çalışılmıştır (Çizelge 1). Bu normların belirlenmesinde yumurtanın yenilebilecek özellikte olmasına dikkat edilmiştir.

Çizelge 1. Pişirmede kullanılan normlar.

Yumurta örnekleri	Güç (watt)	Süre (saniye)
Çırpılarak pişirilen yumurtalar	90	360
	180	180
	360	90
	600	35
	Max	27
Çırpılmadan pişirilen yumurtalar	90	360
	90	420
	180	180
	180	210

Çizelge 1'de belirtilen normlarda pişirilen yumurta örnekleri, içerisinde tamponlanmış peptonlu su bulunan kavanozlara aktarılıp, 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda kavanozlardan öze yardımıyla örnek alınarak, XLD Agar (Xsyloz-Lysine-Desoxycholate) besiyerine sürme ekim yapılmıştır. Besiyerleri 37 °C'de 24 saat bekletildikten sonra *Salmonella* varlığı araştırılmıştır.

Ayrıca kontrol olarak kullanmak ve pişirme işlemi uygulamadan önce mikroflorayı belirlemek amacıyla, yumurta örneklerinde mikrobiyolojik analizler de yapılmıştır.

Mikroflorayı belirlemek amacıyla; 10 g yumurta örneği 90 ml dilüsyon sıvısı içerisine aktarılmış ve gerekli seyreltmeler yapılarak; toplam aerob mezofilik bakteri sayımı için Nutrient agara, koliform grubu bakteri sayımı için VRB agara, maya ve küf sayımı için

Potato Dextrose agara yayma ekim yapılmıştır. Besiyerleri toplam aerob mezofilik bakteri için 30°C'de 48 saat, koliform grubu bakteri için 37°C'de 24 saat, maya ve küf için 25°C'de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır.

Çiğ yumurtada *Salmonella* varlığının araştırılması amacıyla; 25g yumurta örneği 225ml tamponlanmış peptonlu su içerisine konulup 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda örnekten 1'er ml alınarak 10ml'lik Tetrasyonat Broth ve Selenit sistin broth'a ekim yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Buradan XLD Agar ve Bismulth Sülfid agara sürme ekim yapıldıktan sonra 37 °C'de 24 saat bekletilerek *Salmonella* varlığı değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmada kullanılan yumurtlarda koliform grubu bakteri, toplam aerob mezofilik bakteri, maya, küf ve *Salmonella* varlığına rastlanmamıştır.

Mikrodalga'nın *Salmonella* Enteritidis üzerine etkisinin yumurta örneklerinde araştırılması amacıyla yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar Çizelge 2 ve 3'de verilmiştir.

Çizelge 2. Çırpılarak pişirilen yumurta örnekleri için elde edilen sonuçlar.

Güç	Süre (sn)	Sıcaklık ve Üreme Durumu	1.Deneme		2.Deneme		3.Deneme		4.Deneme		5.Deneme	
90 w	360	Sıcaklık °C	75	72	69	72	75	77	79	77	73	75
		Üreme :	-/-	-/-	+/-	-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
180 w	180	Sıcaklık °C	70	72	73	75	67	75	78	81	77	80
		Üreme :	+/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
360 w	90	Sıcaklık °C	76	80	76	74	75	78	78	82	77	75
		Üreme :	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
600 w	35	Sıcaklık °C	61	59	55	58	70	69	73	70	65	69
		Üreme :	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Max w	27	Sıcaklık °C	57	55	58	61	64	61	60	60	70	64
		Üreme :	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-

Çizelge 3. Çırpılmadan pişirilen yumurta örnekleri için elde edilen sonuçlar.

Güç	Süre	Sıcaklık ve Üreme Durumu	1.Deneme		2.Deneme		3.Deneme		4.Deneme		5.Deneme	
90 w	360	Sıcaklık °C	57	60	73	65	61	68	67	69	71	70
		Üreme Durumu:	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
90 w	420	Sıcaklık °C	71	68	72	80	78	72	75	77	77	80
		Üreme Durumu:	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
180 w	180	Sıcaklık °C	70	73	63	66	66	68	65	71	60	58
		Üreme Durumu:	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-
180 w	210	Sıcaklık °C	74	72	75	75	70	68	74	70	73	71
		Üreme Durumu:	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

90 w güçte 360 saniye çırpılarak pişirilen yumurtalarda kaydedilen sıcaklık aralığı 69-79 °C olarak ölçülmüştür. 72 °C'de üreme olmamasına karşın 77 °C'de üreme görülmesi bazı araştırmacıların, mikroorganizma inaktivasyonunun mikrodalga uygulamasından sonra ortamda oluşan sıcaklıkla doğrudan ilişkili olmadığı savını doğrular durumdadır (3). Zaten bazı araştırmacılar öldürücü etkinin mikrodalga tarafından oluşturduğu ısıdan çok farklı etmenlerden kaynaklanabileceğini ileri sürmektedirler (1, 4, 7).

180 w güçte 180 saniye pişirilen yumurtalarda ise sıcaklık aralığı 67-81 °C olup, bu normda 70 °C'nin üzerine çıkılan sıcaklıklarda üreme gözlenmemiştir. Fakat bu normda da sıcaklık dalgalanmaları olup üreme görüldüğünden, yumurtanın tüketilebilme güvenliğini sağlayamadığı gözlenmiştir. 360 watt'da 90 saniye pişirme normu ile çırpılmış yumurtalarda hem ulaşılan sıcaklık değerleri hem de işlem süresi yeterli bir seviyeye ulaşmış olup, en güvenli pişirme normu olduğu düşünülmektedir.

Bazı araştırmacıların da belirttiği gibi ürün sıcaklığı mikroorganizma inaktivasyonu için yeterli düzeye ulaşmış olsa bile işlem süresinin çok kısa olması nedeniyle bazı mikroorganizmalar canlı kalabilmektedir (8). 600 watt 35 saniye ve maksimum watt 27 saniyede pişirilen yumurtalarda genel olarak üreme görülen örneklerde sıcaklık dereceleri mikroorganizma inaktivasyonu için yeterli düzeye ulaşmamış olmakla beraber, mikroorganizma inaktivasyonu için yeterli görülen 69 °C ve 70 °C sıcaklıklarda da üreme gözlenmiştir.

Yapılan bir araştırmada, mikrodalga ile inhibisyonun yüksek mikrodalga gücünde daha kısa sürede, düşük mikrodalga gücünde ise daha uzun sürede gerçekleştiğini göstermekteyse de; gerçek ölüm için düşük mikrodalga gücünde daha uzun sürede pişirmenin daha önemli olduğu vurgulanmaktadır (11).

ırpılmamış yumurtalar ise genel olarak çırpılmış olanlara oranla daha güvenli bulunmuş ve üremenin meydana geldiği sıcaklıklar, *Salmonella* Enteritidis'in gelişebileceği en yüksek sıcaklık olan 65 °C'nin çok altında kaydedilmiştir. ırpılmamış yumurtalar için 90 watt'da 420 saniye ve 180 watt'da 210 saniye pişirmenin yumurtaların güvenilirliği açısından yeterli olabileceği grlmştir.

Var (10), yumurtalarda değişik pişirme yöntemlerinin *Salmonella* Enteritidis zerine etkilerini araştırdığı çalışmasında; kaynatma işlemi ile akı tam pişirip yumurta sarısı sıvı kalacak şekilde pişirildiğinde yumurta sarısındaki ölçülen sıcaklığın *Salmonella* Enteritidis PT4'u etkileyecek derecede olmamasından ötürü üremenin fazla görüldüğünü, kızartma işleminde de akın tamamen pişirilip sarısının daha az pişirildiği durumda aka oranla sarıda üremenin fazla olduğunu, scrambling işleminde ise yumurta akı ve sarısı karıştırılarak pişirildiğinden ve sıcaklık da oldukça yüksek olduğundan *Salmonella* Enteritidis PT4'un daha fazla etkilendiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada yumurtalara, farklı bir yöntem olan mikrodalga uygulamasıyla pişirme işlemi uygulanmış ve uygulamalarda mikroorganizma inaktivasyonu için yeterli sıcaklık yerine mikrodalga gücü ve süre baz alınmıştır.

4. SONUÇ

Sonuç olarak, insan sağlığı açısından önemli bir patojen olan *Salmonella* Enteritidis açısından, yumurtanın duysal özelliklerinin kabul edilebilir olduğu ve güvenli tüketime en uygun olan pişirme normunun mikrodalga ile ısıtıl işlem uygulanmasında, çırpılmamış yumurtalar için 90 watt 420 saniye ve 180 watt 210 saniye, çırpılmış yumurtalar için 360 watt'ta 90 saniye olarak belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Baldwin, R.E., 1983. Microwave cooking: an overView. *Journal of Food Protection*, 46(3), 226-269s.
2. Baker, R.C., Poon, W., Vadehra, D.V., 1983. Destruction of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in poultry products cooked in a coventional and microwave oven. *Poultry Science*, 62, 805-810. (Alınmıştır: Küplülü, Ö. 1999. Mikrodalgaların gıda sanayinde kullanım alanları ve mikroorganizmalar üzerine etkileri. *Biyoteknoloj. (Kukem) Dergisi*, 22 (2), 49-59.
3. Culkin, K.A., Fung, D. Y. C., 1975. Destruction of *E. coli* and *S. typhimurium* in microwave cooked soups. *J. Milk Food Technol.* 38: 8-15. (Alınmıştır: Ercan, B., Acar, J., Aşkın, O. 1989. Mikrodalgalar, gıda endüstrisinde kullanım alanları ve mikroorganizmalar üzerine etkileri. *Gıda*, 14(3), 141-148.
4. Ercan, B., Acar, J., Aşkın, O., 1989. Mikrodalgalar, gıda endüstrisinde kullanım alanları ve mikroorganizmalar üzerine etkileri. *Gıda* 14(3), 141-148.
5. Heddleson, R. A., Doores, S., Anathewaran, R. C., Kuhn, G. D., ve Mast, M. G., 1994. Survival of *Salmonella* species heated by microwave energy in a liquid menstruum containing food components. *Journal of Food Protection*, 54(8), 637-642.
6. Küplülü, Ö., 1999. Mikrodalgaların gıda sanayinde kullanım alanları ve mikroorganizmalar üzerine etkileri. *Biyoteknoloji (Kukem) Dergisi*, Cilt 22 (2), 49-59.
7. Rosenberg, U., Bogl, W., 1987. Microwave pasteurization, sterilization, blanching and pest control in the food industry. *Food Technology*, 6, 92-98.
8. Uysal, H. R., Karagözlü, C., 1996. Mikrodalgaların süt endüstrisinde kullanılmaları. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 33 (1), 201-207.
9. Ünlütürk, A., Turantaş, F., 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. Ege Üniversitesi. İzmir.
10. Var, I., 1993. Yumurtalarda *Salmonella* enfeksiyonu ve ısıtıl işlemin *Salmonella* üzerine etkisi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Ana Bilim Dalı Doktora Tezi. Adana.
11. Var, I., Aksan, E. 2002. Kıymaların mikroflorası ve mikrodalga uygulamasının kıymada *Salmonella enteritidis* PT4 üzerine etkisi. *Dünya Gıda Dergisi*, Mayıs, 67-71.
12. Vasavada, P.C., 1986. Effect of microwave energy on bacteria. *Journal of Microwave Power*, 187-188.
13. Velioglu, S., O. Türkuçar, S., 1989. Mikrodalga fırınlar. *Bilim ve Teknik*, 22 (256), 48-49.

İHRACATA YÖNELİK OLARAK AVLANAN BEYAZ KUM MİDYELERİNDE
(*Venus gallina*, *Venus verrucosa*, *Cardium edule*) **BİYOTOKSİN**
VARLIĞININ İNCELENMESİ

Uğur GÜNŞEN

Ayşegül ERYİĞİT

Murat METLİ

Yasemin COŞKUN

*Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü, Hürriyet, 16036, Bursa / TÜRKİYE
e-mail: ugur_gunsen@hotmail.com

Özet: Bu çalışmada, Ağustos 2005 - Temmuz 2006 yılı izleme programı kapsamında, çift kabuklu yumuşakça üretim ve avcılık alanlarının kontrol edilmesi amacıyla Karadeniz kıyı şeridinde yer alan istasyonlardan aylık olarak elde edilen toplam 385 adet beyaz kum midyesi (*Venus gallina*, *Venus verrucosa*, *Cardium edule*) örneğinde Amnesic Shellfish Poisoning (ASP), Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) ve Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP) toksin varlığı incelendi. Örneklerdeki ASP toksin varlığı, Avrupa Birliği tarafından önerilen Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) metodu, PSP ve DSP toksinleri ise biyolojik metod kullanılarak belirlendi. Ağustos 2005 - Temmuz 2006 yılı izleme programı süresince, elde edilen örneklerin hiçbirisinde PSP ve DSP toksin varlığı belirlenemez iken, Nisan 2006 döneminde elde edilen toplam 12 örneğin 4 (% 33,3)'ünde, toplam olarak ise 385 örneğin 4 (% 1.04)'ünde ortalama $1,97 \pm 0,16$ mg/kg düzeyinde ASP toksin varlığına rastlanıldı.

Sonuç olarak, analize alınan örneklerdeki ASP, PSP ve DSP düzeylerinin, Türk Gıda Kodeksi'nde bildirilen kabul edilebilir limitler ile uyum içerisinde olduğu belirlendi. Algal üremenin artışa geçtiği ilkbahar ve sonbahar aylarında, Nisan ayı dönemine ait örneklerde belirlenen oldukça düşük düzeydeki ASP toksin varlığı ile izleme periyodu boyunca PSP ve DSP toksinlerinin hiç bulunamaması dolayısıyla beyaz kum midyesi ihracatında toksinler bakımından herhangi bir problem ile karşılaşılmayacağı kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler : Kum midyesi, ASP, PSP, DSP

INVESTIGATION of the PRESENCE of MARINE BIOTOXINS in MUSSELS
(*Venus gallina*, *Venus verrucosa*, *Cardium edule*), HUNTING
AIMED at EXPORTING

Uğur GÜNŞEN

Ayşegül ERYİĞİT

Murat METLİ

Yasemin COŞKUN

**Food Control and Central Research Institute, Hurriyet, 16036, Bursa / TURKEY*
e-mail: ugur_gunsen@hotmail.com

Abstract: In this study, the presence of marine biotoxins, Amnesic Shellfish Poisoning (ASP), Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) and Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP) were investigated monthly in totally 385 mussel samples (*Venus gallina*, *Venus verrucosa*, *Cardium edule*), obtained from the stations in production and hunting area of molluscan shellfish in coastline of Black Sea in the monitoring programme of August 2005 - July 2006 years. The presence of ASP in the samples was determined by High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) and of PSP and DSP were determined using the biological method, suggested by European Committee. Although the presence of PSP and DSP toxins could not be encountered in any of the samples during the sampling period from August 2005 to July 2006, ASP was detected in the average level of $1,97 \pm 0,16$ mg/kg in 4 (33.3 %) of 12 samples obtained in April 2006, in 4 (1,04 %) of totally 385 samples during the sampling period from August 2005 to July 2006.

As a result, the levels of ASP, PSP and DSP in analysed samples were found to be in accordance with the acceptable limits as given in Turkish Food Codex. It was concluded that the levels of marine biotoxins in mussel samples would no problem for exporting, because of in spring and autumn periods that algae growing is increased, ASP was fairly low levels in the samples obtained in April 2006 and PSP and DSP could not be found in any of the samples during the sampling period from August 2005 to July 2006.

Key words : Mussel, ASP, PSP, DSP

GİRİŞ

Günümüzde yetersiz ve dengesiz beslenmenin toplum sağlığını olumsuz yönde etkilediği, toplumun sosyal ve ekonomik gelişmesini yavaşlattığı bir gerçektir. Dengeli beslenmenin esas ögesinin protein olduğu ve günde kişi başına alınan proteinin üçte birinin hayvansal protein olması gerektiği yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur. Türkiye’de et, süt ve yumurtanın yanında hayvansal proteinin sağlanabileceği bol ve besin değeri yüksek diğer bir tüketim maddesi de su ürünleridir (15).

Midye zehirlenmeleri, toksin oluşturan planktonik alglerle (dinoflagellatlar) beslenen midye ve diğer kabuklu deniz ürünlerinin yenilmesine bağlı olarak oluşmaktadır. Toksinlerine ve oluşturduğu semptomlara göre midye zehirlenmeleri dört grup altında toplanmaktadır. Bunlar; Amnesic Shellfish Poisoning (ASP), Paralytical Shellfish Poisoning (PSP), Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP) ve Neurotoxic Shellfish Poisoning (NSP)’dir (17).

Amnesic Shellfish Poisoning (ASP), bir alg olan *Nitzschia pungens* tarafından doğal olarak oluşturulan amino asit yapısındaki domoic asit etkisiyle meydana gelir. Domoik asit ve doğal kimyasal analogları, güçlü bir nöyrotansmitter uyarıcıdır. İnsanlarda domoik asit ile ilgili ilk vaka 1987 yılında Kanada’da görülmüştür. Domoik asit içeren midyelerin yenilmesi ile oluşan zehirlenmeden 150 kişi etkilenmiş, 4 vakada ölüm görülmüştür. Yaklaşık 200 µg/g konsantrasyondaki domoik asit, bazı insanları etkilemek için yeterli görünmektedir. Gastrointestinal ve sinirsel bozukluk oluşturan ASP, özellikle yaşlı hastalar için önem taşımakta ve Alzheimer hastalığını andıran semptomlar göstermektedir (2,7,17).

Paralytical Shellfish Poisoning (PSP), çift kabuklu yumuşakçalar tarafından tüketilen *Gonyaulax* türü alglerin ürettiği nöyrotoksik etkili ve tamamı saksitoksin derivatları olan 20 kadar toksin tarafından meydana getirilir. PSP, dünyanın diğer kısımlarında yıllardır bilinmekle birlikte, Avrupa’daki ilk vaka 1901 yılında Norveç’te Oslo Fiyordu’nda görülmüştür. PSP respiratorik paralizden sorumlu olup sinir ve kas membranlarında sodyum iyon kanallarını bloke eder. İnsanlardaki lethal doz 1 - 3 mg

arasında değişir ve vakaların yaklaşık % 8'inde ölüm görölmektedir. Semptomlar tüketilen toksinin miktarına bağlı olarak çift kabuklu deniz ürünlerinin yenilmesinden sonra 0,5 - 2 saat içinde oldukça hızlı gelişir. 0.5 - 1 µg PSP'nin oral yolla alınmasını takiben halsizlik ve solunum güçlüğü oluşabilmektedir (12,15,17).

Genus *Dinophysis*'in Dinoflagellatları çift kabuklu yumuşakçalar tarafından biriktirilen ve bunları yiyen insanlara geçebilen toksik metabolitler ürettiği bilinmektedir. Çok iyi bilinen insan toksik sendromu, predominant gastrointestinal semptomları ile Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP) olarak adlandırılmıştır (21).

DSP toksinleri, kimyasal yapılarına göre 3 gruba ayrılmaktadır (19). İlk grup Okadaik Asit (OA) ve Dinophysis Toksinleri (DTXs)'nden oluşmaktadır. Diğer iki grup ise hepatotoksik etkili Pectenotoksinler (PTXs) ve kardiotoksik etkili Yessotoksinleri (YTXs) içermektedir (13,14). OA ve DTXs dünya çapındaki varlıkları bakımından midye endüstrisi için en önemli olan toksinler (18). OA ve DTX-1'in yetişkinlerde diare oluşturabilmesi için gerekli olan minimum dozları sırasıyla 40 ve 36 mg olarak tahmin edilmektedir (6).

Bu çalışmada, yıllık izleme programı kapsamında, çift kabuklu yumuşakça üretim ve avcılık alanlarının kontrol edilmesi amacıyla Karadeniz kıyı şeridinde yer alan istasyonlardan avlanarak Avrupa Birliği ölkelerine ihraç edilen beyaz kum midyelerinde (*Venus gallina*, *Venus verrucosa*, *Cardium edule*) ASP, PSP ve DSP toksinlerinin varlığı belirlenerek Türk Gıda Kodeksi'ne uygunlukları incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. GEREÇ :

Çalışmada, Ağustos 2005 - Temmuz 2006 yılı izleme programı kapsamında, Karadeniz kıyı şeridinde yer alan istasyonlardan aylık olarak elde edilen toplam 385 adet beyaz kum midyesi (*Venus gallina*, *Venus verrucosa*, *Cardium edule*) araştırma materyali olarak kullanıldı.

2. YÖNTEM :

5 kg lık torbalar içerisinde soğuk zincire dikkat edilerek laboratuvara getirilen beyaz kum midyelerinin dış kısımları temiz su ile iyice yıkandı. Adduktor kaslar (açma kapama kasları) kesilerek açıldı ve iç kısımlar, kum ve diğer yabancı materyalleri uzaklaştırmak amacıyla temiz su ile yıkanarak midye eti kabuktan çıkartıldı. Takiben yaklaşık 150 g et homojenize edildi.

Örneklerdeki ASP toksin varlığı, Avrupa Birliği tarafından önerilen Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) metodu, PSP ve DSP toksinleri ise biyolojik metod kullanılarak belirlendi (3,4,10,20).

2.1. ASP ANALİZİ :

2.1.1. Ekstraksiyon :

Homojenize edilmiş örnekten 50 g tartılarak 50 ml 0.1 N Hidroklorik asit (Merck 100317) ilave edildi ve iyice karıştırıldı. 5 dakika (dak) süreyle kısık ateşte kaynatıldıktan sonra 10 dak içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Karışım, dereceli bir mezüre alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve bir miktarı santrifüj tüpüne alınarak 5 dak süreyle 3000 devirde santrifüj edildi. Süre sonunda üstteki berrak kısımdan 1 - 2 ml alınarak 5 ml'lik tek kullanımlık plastik şırıngaya takılmış 0.45 µm çapındaki membran filtrelerden (Millex HV, Millipore Corp.) filtre edildi ve LC belirlemesi için bir vialde toplandı.

2.1.2. HPLC:

2.1.2.1. HPLC Çalışma Şartları :

Hewlett Packard Series 1100 cihazı, dalga boyu 242 nm, kolon sıcaklığı 40 °C, mobil faz akış oranı 1.0 ml/dak ve enjeksiyon hacmi 20 µl olarak ayarlandı.

2.1.2.2. LC Belirleme:

Öncelikle, 0.45 ile 45 µg/ml oranlarındaki domoik asit kalibrasyon solüsyonları enjekte edildi. Eğer iyi bir linearite ve sıfır çizgisi kesişmesi elde edildi ise, tek nokta kalibrasyonu örneğin 0.9 µg/ml rutin olarak kullanılabilir. Örnek ekstraktları iki kez enjekte edilerek her örnek için ortalama pik alanları hesaplandı.

2.1.3. Sonuç ve Hesaplama:

Örneklerdeki domoik asit miktarı ;

$$\text{Domoik Asit (}\mu\text{g / ml)} = (R / R') \times (W' / W)$$

formülü kullanılarak hesaplandı..

Burada R ve R', sırasıyla örnek ve standardın ortalama pik alanlarını, W ve W' sırasıyla enjekte edilen örneğin mg olarak, standardın ise ng olarak ağırlıklarını ifade etmektedir (3,10).

2.2. PSP ANALİZİ :

2.2.1. Ekstraksiyon:

Homojenize edilmiş örnekten 100 g tartılarak üzerine 100 ml 0.1 N Hidroklorik asit (Merck 100317) ilave edildi ve iyice karıştırılarak pH kontrol edildi. pH < 4.0, tercihen 3.0 olmalıdır. Takiben karışım ısıtılarak kaynamaya başladıktan sonra kısık ateşte 5 dak süre ile kaynatıldı ve takiben oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Soğutulmuş karışımın pH'sı tekrar kontrol edilerek 2.0 - 4.0'e ayarlandı. Karışım dereceli bir mezüre aktarılarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve bir miktar santrifüj tübüne alındı. 3000 devirde 5 dak süreyle santrifüj sonrasında berrak sıvıdan bir miktar alındı ve biyolojik test için kullanıldı.

2.2.2. Fare Testi:

19 - 21 g ağırlığındaki 3 test faresinin (Swiss albino) her birine intraperitoneal olarak 1'er ml asit ekstrakt enjekte edildi. Enjeksiyon zamanı not edildi ve ölüm zamanının belirlenebilmesi için fareler dikkatli bir şekilde gözlemlendi.

2.2.3. Sonuç ve Hesaplama:

Enjeksiyon yapılan farelerde 1 saat içerisinde ölüm görülmedi ise örneklerde sağlığa zararlı düzeyde toksin bulunmadığı sonucuna varıldı. Eğer farelerde ölüm var ise, kronometreden ölüm zamanı kaydedildi.

2.2.3.1. Toksisitenin Hesaplanması:

Toksisitenin hesaplanmasında Sommer's Tablosu'ndan yararlanıldı. Bunun için tablodan farenin ölüm zamanına karşılık gelen fare ünitelerinin, fareler için ağırlığa göre verilen düzeltme faktörüyle çarpıldı. Takiben grup için ortalama fare ünitesi belirlendi. Fare ünitesi, CF değeriyle çarpılarak μg zehir / ml'ye çevrildi (4).

2.3. DSP ANALİZ YÖNTEMİ :

2.3.1. Ekstraksiyonu:

Hepatopankreaslar, homojenize edilerek 20 g tartıldı. Üzerine 50 ml aseton (Merck 13) ilave edilerek manyetik karıştırıcıda 5 dak süreyle karıştırıldı ve tortuların dibe çökmesi için beklendi. Üstteki tortusuz aseton tabakası 500 ml'lik rotary evaporatör balonuna filtre edildi. Beherde kalan tortunun üzerine tekrar 50 ml aseton (Merck 13) ilave edilerek bu işlem iki kez daha tekrarlandı. Elde edilen yaklaşık 150 ml ekstrakt, 40 - 50 °C'de rotary evaporatörde (Heidolph, Laborata 4001) asetonik faz tamamen evapore oluncaya kadar evapore edildi. Balondaki kalıntı 4 ml % 1' lik Tween 60 (Merck 822186) ile çözüldü.

2.3.1.1. İnterferans Durumunda Uygulanacak Ekstraksiyon :

Fare testinde, ilk 15 dak içerisinde ölüm görülürse, ekstraksiyon sırasında PSP toksinleri veya tuzların interferansının bulunduğu kabul edildi. Çünkü DSP toksinleri ilk 15 dak içerisinde fareleri öldürmez. Böyle bir durumda ekstraksiyon işlemi diklormetan (Merck 106054) kullanılarak yapıldı. Asetonun evaporasyonundan sonra balondaki kalıntının üzerine 15 ml distile su, 50 ml diklormetan (Merck 106054) ilave edilerek iyice çalkalandı ve 150 ml'lik bir ayırma hunisine alınarak iki faz ayrılncaya kadar beklendi. Takiben alttaki diklormetan fazı temiz bir balona alındı. Üstteki su fazının üzerine 50 ml diklormetan (Merck 106054) ilave edildi ve iki kez daha aynı işlem tekrarlanarak balonda yaklaşık 150 ml diklormetan toplandı. Diklormetana geçmiş olabilecek PSP toksinleri ve tuzlarını alabilmek için 15'er ml'lik distile su ile 2 kez yıkama yapıldı. Takiben diklormetan temiz bir balona alınarak 40°C'de evapore edildi ve kalıntı 4 ml % 1'lik Tween 60 (Merck 822186) solüsyonu ile çözüldü.

2.3.2. Fare Testi :

Tween 60 (Merck 822186)'ta çözündürülen kalıntının 1'er ml'lik eşit miktarları, intraperitoneal olarak 18 - 20 g ağırlığındaki 3 test faresine (Swiss albino) enjekte edilerek 24 saat gözlemlendi. Ayrıca 3 fareye de 1'er ml Tween 60 verildi. Bu kontrol grubunda anormal davranışlar ve ölüm görülmemelidir.

2.3.3. Sonuç ve Hesaplama :

Eğer test ekstraktının verildiği üç fare de 24 saat içinde ölürse test pozitif olarak kabul edildi. Farelerden ikisi 24 saat içinde ölüp birisi bu süreden fazla yaşarsa test yine pozitif olarak değerlendirildi. Farelerin üçü de 24 saat süresince canlı kaldı ise ya da birisi ölü, diğer iki fare canlı ise test negatif olarak kabul edildi (20).

BULGULAR

Çalışmada, Ağustos 2005 - Temmuz 2006 yılı izleme programı süresince, elde edilen örneklerin hiçbirisinde PSP ve DSP toksin varlığı belirlenemez iken, Nisan 2006 döneminde elde edilen toplam 12 örneğin 4 (% 33,3)'ünde, toplam olarak ise 385 örneğin 4 (% 1,04)'ünde ortalama $1,97 \pm 0,16$ mg/kg düzeyinde ASP toksin varlığına rastlanıldı.

DSP analizleri sırasında, 2 numuneye ait fare testi sonuçlarına göre 24 saat sonunda 3 farede de diare görülmüş olup ekstraksiyon işlemi metanol (Merck 106008) kullanılarak tekrarlanmıştır. Takiben yapılan fare deneyleri sonunda her iki numuneye ait 3 farede de ölüm görülmemesi sonucu bu örneklerde toksin bulunmadığına karar verilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (2003)'nde çift kabuklu yumuşakçalarda bulunabilecek ASP toksini için maksimum limit 20 µg/g olarak verilmiştir. Çalışmada, Nisan 2006 döneminde elde edilen toplam 12 örneğin 4 (% 33,3)'ünde, toplam olarak ise 385 örneğin 4 (% 1,04)'ünde ortalama $1,97 \pm 0,16$ mg/kg düzeyinde ASP toksin varlığı belirlendi. Rastlanma sıklığı ve miktar olarak oldukça düşük düzeylerde belirlenen ASP toksin varlığının, hem halk sağlığı açısından hem de ihracat açısından herhangi bir olumsuzluk oluşturmayaacağı kanısına varıldı.

Çalışmada, toplam 385 adet numunenin hiçbirisinde PSP toksin varlığına rastlanılmadı. Portekiz'deki Aveiro Lagunu'nda yapılan bir çalışmada, 80 µg STXeq / 100 g lık sınır düzeyi aşan PSP toksisitenin 1986, 1988-1990 ve 1993-1995 yılları Ağustos - Aralık ayı arasındaki dönemde belirlendiği bildirilmiştir (11). Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (2003)'nde çift kabuklu yumuşakçalardaki PSP toksini için sınır limit 80 µg/100 g olarak verilmiştir. Böylelikle çalışmada elde edilen bulgu, halk sağlığı ve ihracat açısından olumlu olarak değerlendirilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (2003)'ne göre çift kabuklu yumuşakçalarda DSP toksini bulunmamalıdır. Çalışmada, analiz edilen toplam 385 adet numunenin hiçbirisinde DSP toksin varlığına rastlanılamamıştır. Bu bulgu Türk Gıda Kodeksi Su Ürünleri Yönetmeliği (2003) ile uyum içerisinde olup halk sağlığı ve ihracat bakımından da olumlu olarak değerlendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, Adriyatik Denizi kıyı şeridinden 1996 ve 1997 yıllarında düzenli olarak midye örnekleri alınmış ve 1996 yılı örneklerinde 1.140 µg/g'ın üzerinde, 1997 yılı Mayıs ayına ait örnekte ise 0,105 µg/g düzeyinde DSP toksini bulunduğu belirlenmiştir (9).

Sonuç olarak, analize alınan örneklerdeki ASP, PSP ve DSP düzeylerinin, Türk Gıda Kodeksi'nde bildirilen kabul edilebilir limitler ile uyum içerisinde olduğu belirlendi. Algal üremenin artışa geçtiği ilkbahar ve sonbahar aylarında, Nisan ayı dönemine ait örneklerde belirlenen oldukça düşük düzeydeki ASP toksin varlığı ile izleme periyodu boyunca PSP ve DSP toksinlerinin hiç bulunamaması dolayısıyla kum midyelerinin ihracatında toksinler bakımından herhangi bir problem ile karşılaşılamayacağı kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Anonymous: Türk Gıda Kodeksi, Su Ürünleri Yönetmeliği, Ek-7 Çift Kabuklu Yumuşakçalarda Kimyasal, Toksikolojik ve Mikrobiyolojik Kabul Edilebilir Değerler. 2003. Sayı: 25052.
2. Anonymous: Amnesic Shellfish Poisoning. NIEHS Marine and Freshwater Biomedical Sciences Center. 2006, <http://www.who.edu/redtide/illness.asp.html>
3. AOAC: Domoic Acid in Mussel. AOAC 16th Ed., 35.1.22. 1995.
4. AOAC: Natural Toxins. Paralytic Shellfish Poison. Biological Method. AOAC Official Method 959.08. Chapter 49. p. 59-61. 2000.
5. Draisci, R., Lucentini, L., Giannetti, L., Boria, P. and Poletti, R.: First Report of Pectenotoxin-2 (PTX-2) in Algae (*Dinophysis fortii*) Related to Seafood Poisoning in Europe. Toxicon. 1996. 34, 923-935.
6. Hamano, Y., Kinoshita, Y. and Yasumoto, T.: Enteropathogenicity of Diarrhetic Shellfish Toxins in Intestinal Models. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 1986. 27, 375-379.
7. Jeffery, B., Barlow, T., Moizer, K., Paul, S. and Boyle, C.: Review. Amnesic Shellfish Poison. Food and Chemical Toxicology. 2004. 42, 545-557.

8. Lee, J.S., Tangen, K., Dahl, E., Hovgaard, P. and Yasumoto, T.: Diarrhoetic Shellfish Toxins in Norwegian Mussels. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 1988, 54, 1953-1957.
9. Pavela-Vrančić, M., Meštrović, V., Marasović, I., Gillman, M., Furey, A. And James, K.J.: DSP Toxin Profile in the Coastal Waters of the Central Adriatic Sea. *Toxicon*. 2002. 40, 1601-1607.
10. Sampayo, M.A.M., Franca, S., Sousa, I., Alvito, P., Vale, P., Botelho, M.J., Rodrigues, S. and Vieira, A.: Dez Anos de Monitorização de Biotoxinas Marinhas em Portugal (1986-1996). *Arq. Inst. Nacional Sau'de*. 1997, 23, 187-194.
11. Schantz, E. J.: Historical Perspective on Paralytic Shellfish Poison. *American Chemical Society*. 1984, 9, 99-111.
12. Terao, K., Ito, E., Yanagi, T. and Yasumoto, T.: Histopathological Studies on Experimental Marine Toxin Poisoning-5. I. Ultrastructural Changes in the Small Intestine and Liver of Suckling Mice Induced by Dinophysistoxin-I and Pectenotoxin-I. *Toxicon*. 1986, 24, 1141-1151.
13. Terao, K., Ito, E., Oarada, M., Murata, M. and Yasumoto, T.: Histopathological Studies on Experimental Marine Toxin Poisoning. The Effects in Mice of Yessotoxin Isolated from *Patinopecten Yessoensis* and of a Desulfated Derivative. *Toxicon*. 1990, 28, 1095-1104.
14. Thesen, J.: Studier Over den Paralytiske Form af Forgiftning Med Blaaskjæl. *Tidsskr. Nor. Lægefören*. 1901, 20-22, 1153-1184, 1228-1252, 1285-1300.
15. Türker, S.: Hayvansal Gıdalarda Kalite Kontrolü. *Tamer Matbaacılık*. Ankara, 1997, s. 105.
16. Uğur, M., Nazlı, B. ve Bostan, K.: Gıda Hijyeni. *Teknik Yayınevi*. 2003. s.92-93.
17. Yasumoto, T. and Murata, M. Marine toxins. *Chem. Rev.* 1993, 93, 1897-1909.
18. Yasumoto, T., Murata, M., Lee, J.S. and Torigoe, K.: Polyether Toxins Produced by Dinoflagellates. In: Natori, S., Hashimoto, K., Ueno, Y. (Eds.), *Mycotoxins and Phycotoxins '88*. Elsevier, Amsterdam, 1989, pp. 375-382.
19. Yasumoto, T., Oshima, Y. and Yamaguchi, M.: Occurence of a New Type Shellfish Poisoning in the Tohoku District. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 1978, 44 (11): 1249-1255.
20. Yasumoto, T., Oshima, Y., Sugawara, W.F.Y., Oguri, H., Igarashi, T. and Fujita, N.: Identification of *Dinophysis fortii* as the Causative Organism of Diarrhetic Shellfish Poisoning. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 1980, 46, 1405-1411.

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF FOREIGN PROTEIN IN RAW AND HEAT-TREATED MEAT PRODUCTS USING THE ELISA

Ö. ÇETİN*

S.K. BÜYÜKÜNAL*

B. ÇETİN**

M.V.Z. AŞKIN**

**I.U., Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 34320, Istanbul-TURKEY*

*** Istanbul Metropolitan Municipality Directorate of Health Service, Istanbul- TURKEY*

Summary

This survey were carried out to investigate the accuracy of meat speciation label declaration on cooked meat products and raw minced meat sold through retail outlets in Istanbul which were collected by Istanbul Metropolitan Municipality Directorate of Veterinary Services. A total 223 samples were analysed using a sandwich-type enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method in Laboratory of Directorate of Health Protection. In the survey, 82 (36.8 Per cent) samples were found to have species of meat which was not in the label.

Özet

Bu çalışma, İstanbul piyasasında satışa sunulan ısı işlemleri görmüş et ürünleri ve çiğ kıymada etiketlerin doğruluğunu araştırmak amacıyla yapıldı. Örnekler İstanbul Büyükşehir Belediyesi Veteriner İşleri Müdürlüğü Tarafından toplanmıştır. Toplam 223 örnek ELİSA yöntemiyle incelenmiştir. Sonuçta 82 örneğin (%36.8) etiket bilgilerini sağlamadığı bulunmuştur.

Introduction

Meat and meat products are foods prone to imitation and adulteration due to the common structure of meat as well as the sophisticated processes they are subjected to during processing which tend to eliminate distinctive features. An important cause of concern are cases of adulteration where meat and meat products contain meat ingredients that violate

religious or traditional beliefs of the societies concerned or which pose a health risk to customers and go undetected because of a lack of monitoring.

Modern detecting methods are based on the separation and identification of specie-specific proteins; frequently used are precipitation methods, electrophoresis methods and the ELISA technique (Akilli, 1982-1983; İnal, 1992; Chen et al., 1998). The ELISA techniques application requires neither specially qualified personnel nor sophisticated equipment. Tests can be carried out in a short period of time, they are relatively low-cost, suitable for automation and highly sensitive (1-3%). It is therefore widely used for the determination of the animal from which the meat originated (Martin et al., 1998; Martin et al., 1998; Morales et al. 1994; Berger et al. 1988; Jones and Patterson, 1985; Chen and Hsieh 2000; Berger and Mageau, 1998).

Materials and Methods

In this study 223 samples of ground meat, meat balls and heat treated meat products were examined, which had been collected at sales outlets by inspection teams of the Veterinary Office of the Health Department of the Municipality of Greater Istanbul in the course of their duty. Those samples were analysed with the ELISA method. The raw and heat treated meat products were analysed for specie-specific albumin and muscle protein (glycoprotein) respectively.

For the analyses the *Biokits for the Identification of Heat Treated and Raw Meat Types* produced by *Tepnel Biosystems* for qualitative determination with the aid of enzyme immunoassays of meat animal-specific proteins in meat and meat products were used.

Reliability Tests

To verify the reliability of the method, 16 samples of ground meat and 16 samples of heat treated salami, all made from beef, were prepared and 4 each contaminated with 1% of pig meat, 1% of horse meat, and 1% of poultry meat respectively while 4 samples each were pure beef. The normal analysis procedure was applied to those samples. The results confirmed the reliability of the method.

Results and Discussion

In this study 223 meat and meat product samples were analysed; it was found that 82 samples (36.8%) contained meat of animal species not specified on the product label. Pig meat was detected in 4 out of 118 samples checked (3.4%) and 78 out of 189 samples checked (41.3%) tested positive for poultry meat.

120 samples of heat treated meat products (salami, garlic flavoured sausage, other sausages, ham, etc.) were analysed for pork – with 4 out of 98 samples testing positive (4.1%) – and for poultry meat – with 48 out of 86 samples giving positive results (55.8%). 20 out of 103 samples of not heat treated meat (ground meat and meat balls) were checked for horse and pig meat; all results were negative. However, 30 out of 103 samples (29.1%) labelled as veal proved to contain poultry meat as well.

It is possible to identify the animal species in raw meat with the aid of morphological, serological and electrophoretic methods (İnal, 1992; Jones and Patterson, 1985; Hvass, 1985; Warnecke and Suffle, 1986; Martinez, 1998). Those methods are, however, not sufficient for the identification of species in heat treated meat products. For such products, the isoelectric

focussing method (King, 1984) and the sandwich type ELISA method applied in this study yield good results. Hitchcock and Crimes (1985) have reported that while frozen or heat treated beef (for 1 hr at 50-60°C) shows no change in its immunological reaction the same treatment procedure at 80°C, 100 °C and 121°C rendered any identification impossible. Jones and Patterson (1985), who applied the ELISA technique in their study, found reliable results for specie-specific antisera in meat products heat treated a less than 70°C. Kang'ethe et al. (1984) used a modified ELISA technique for the distinction between raw horse meat and raw beef. They found that in ground beef containing between 3% and 80% of horse meat, the horse meat could be detected. However, mixture with horse meat contents exceeding 80% gave the same result as ground meat from pure horse meat. Another important result was that contaminations of less than 3% of horse meat could not be detected. Patterson and Spencer (1985) reported that with the aid of the ELISA technique they could identify meat of genetically close related animal species in mixtures of concentrations as low as 0.1%. In the case of heat treated meat products results could only be obtained with specific antibodies for heat-resistant proteins (Parisi and Aguiari, 1985). High titre antibodies specific against heat resistant protein types found in very small amounts in muscles, show the high efficiency of the kits used in our study in the analysis of heat treated meat products (Patterson and Spencer, 1985; Hoffman, 1989; King, 1984). In this study in 36.8% of all examined samples meat types have been detected which had not been declared on the label. However, in the light of previous work in this field this high rate of adulteration was not unexpected. In 1998 the British Ministry for Agriculture, Fisheries and Food carried out a similar study as part of a food monitoring programme. Heat treated meat products were tested with the same method (ELISA) and in 14.6% of all samples meat types were detected which had not been declared on the label (Anonym., 1999). In the present study the ratio of adulterated products was also

due to the fact that the sample pool comprised in particular risk products - cheap meat with incomplete or without label information.

In the mentioned British study it was reported that the contaminations may be due to the use of not sufficiently cleaned tools and equipment on the part of the manufacturers and sellers whose products tested positive (Anonym., 1999). The same reason was given by the producers and sellers whose meat products tested positive in this study. However, the sensitivity of the method (1%) and the fact that it is not suitable for quantitative determination made it impossible to decide whether the non-declared meat types had been added deliberately or had entered the product by way of contamination. According to Turkish law any type of meat detected in a meat product which has not been declared on its label entails punitive sanctions. The law does not distinguish between deliberate adulteration and chance contamination during production as a result of contaminated equipment; the provisions of the law apply irrespectively (Anonym., 1992; Anonym., 1995; Anonym., 1997; Anonym., 2000; Anonym., 2000).

The results obtained and the actions that ensued proved that the objective of our study was well-founded. Some manufacturers have corrected their labels and now declare all types of meat contained in their products. However, inspections will have to be carried out on a regular basis if deception of consumers in the market with the aim of gaining an unfair profit are to be prevented at least to some extent.

References

- Akıllı, A.(1982-1983):... Etlik Vet. Mikrob. Enst. Derg., 5(4-5): 125-157.
Anonymous (1992):... madde 1.2.1.5 TS 979.

- Anonymous (1995):... Kırmızı Etler - Hazır Kırma Standardı, madde 1.2.1.3 TS 11566.
- Anonymous (1997):... Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, bölüm 9, madde 25/b-e, 27/b Resmi Gazete Sayı 23172.
- Anonymous (2000):... Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği, madde 5/e-f, 12/b Resmi Gazete Sayı 23960.
- Anonymous (2000):... Türk Gıda Kodeksi Taze et, Hazırlanmış Et Karışımları Tebliği, madde 11/b, 12/b Resmi Gazete Sayı 23960.
- Berger R.G., Mageau R.P.(1988):... Microbiology Laboratory Guidebook. Chapter 17, 3rd Edition, 1998.
- Berger R.G., Mageau R.P., Schwab B. and Johnston R.W. (1988):... J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71(2): 406-410.
- Chen F-C., Hsieh Y-H.P. (2000):... Journal of AOAC International, 83(1): 79-85.
- Chen F-C., Hsieh Y-H.P., Bridgman R.C.(1998):... Journal of Food Science, 63(2): 201-205.
- Hitchcock C.H., Crimes A.A.(1985):... Meat Science, 15: 229-233.
- Hofmann K.(1989):... Mitteil. Bund. Fleischforsch., 104: 228-234.
- Hvass A. (1985):... Biochemical Identification of Meat Species (Ed. R.L.S. Patterson) Elsevier App.Sci.Pub. London.
- İnal, T. (1992): Besin Hijyeni. 2-Baskı, Final Ofset, İstanbul.
- Jones S.J., Patterson R.L.S.(1985):... Meat Science, 15: 1-13.
- Kang'ethe E.K., Jones S.J., Patterson R.L.S.(1984):... Meat Science, 7: 229-240.
- King N.L.(1984):... Meat Science, 11: 59-72.
- Martin R., Azcona J.I. , Garcia T., Hernandez P.E. ve Sanz B.(1998):... Meat Science, 22: 143-153.
- Martin R., Azcona J.I., Casas C., Hernandez P.E. ve Sanz B.(1998):... Journal of Food Protection, 51(10): 790-794.
- Martinez I., Yman M.I.(1998):... Food Research International, 31(6-7): 459-466.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food-United Kingdom (1999): Meat Speciation Survey, Food Surveillance Information Sheet, No.176.

Ministry of Agriculture, Fisheries and Food-United Kingdom (1999): Meat Speciation Survey, Food Surveillance Information Sheet, No.176, annex 1.

Morales P., Garcia T., Gonzales I., Martin R., Sanz B. and Hernandez P.E.(1994):... Journal of Food Protection, 57(2): 146-149.

Parisi E., Aguiari D.(1985):... Elsevier App. Sci. Pub., 40-49, London.

Patterson R.M., Spencer T.L.(1985):... Meat Science, 15: 119-123.

Warnecke M.O., Suffle R.L. (1986):... J.Food Sci., 33: 131-135.

TAVUK BUTLARINDA *LISTERIA* TÜRLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Figen ÇETİNKAYA¹ Recep ÇIBIK¹ G.Ece SOYUTEMİZ¹ Cüneyt ÖZAKIN²

¹ Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, ² Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, 16059 Görükle, Bursa

figcetinkaya@yahoo.com, recep_cibik@yahoo.com, soyutemiz@uludag.edu.tr, ozakin@uludag.edu.tr

ÖZET: Çalışma, Bursa'da çeşitli kasap ve süpermarketlerden sağlanan tavuk butlarında *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin varlığını araştırmak amacıyla gerçekleştirildi. Bu amaçla, derileri ayrılan tavuk butları ve bu butlardan ayrılmış olan derilerden oluşan toplam 100 adet örnek analiz edildi. Direk ekim ve zenginleştirme yöntemleriyle, *Listeria* türleri örneklerin sırasıyla %19 ve %34'ünden izole edildi. *Listeria* izolatları arasında en yaygın türün *L. monocytogenes* (%25) olduğu, bunu sırasıyla *L. innocua* (%12), *L. welshimeri* (%10), *L. grayi* (%2) ve *L. seeligeri*'nin (%1) takip ettiği gözlemlendi. *L. monocytogenes* suşlarının serolojik dağılımları da belirlendi. Bu izolatların %44'ü serotip 4, %24'ü ise serotip 1/2a olarak tanımlandı. Direk ekim yöntemiyle test edilen örneklerde, *L. monocytogenes* ile kontaminasyon düzeyinin 5×10^1 ve 2.8×10^2 kob/g arasında değiştiği saptandı.

INVESTIGATION OF *LISTERIA* SPECIES IN CHICKENS

ABSTRACT: The study was carried out to determine the presence of *L. monocytogenes* and other *Listeria* species in chicken legs obtained from different butcher and supermarkets in Bursa. For this purpose, a total of 100 samples including 50 raw chicken legs without skin and 50 skins eviscerated from the same legs were tested. By direct plating and enrichment procedures that were applied separately, *Listeria* species was isolated from 19% and 32% of the samples, respectively. Among the *Listeria* isolates, *L. monocytogenes* was observed to be the most prevalent species (25%), followed by *L. innocua* (12%), *L. welshimeri* (10%), *L. grayi* (2%) and *L. seeligeri* (1%). Serological distributions of *L. monocytogenes* strains were also determined. While 44% of the isolates were identified as serotype 4, 24% of isolates were serotype 1/2a. In the samples tested by direct plating, contamination level with *L. monocytogenes* was established to be varying between 5×10^1 and 2.8×10^2 cfu/g.

GİRİŞ

L. monocytogenes doğal çevrelerde ve dolayısıyla pek çok hayvansal ve bitkisel gıdada oldukça yaygın olarak bulunmaktadır (5). *L. monocytogenes*'in neden olduğu gıda kaynaklı listeriosis, gıda endüstrisinde ve yüksek mortalite oranı (%25) nedeniyle halk sağlığı açısından büyük kaygı yaratmaktadır (3).

L. monocytogenes pek çok ülkede çiğ kanatlı etlerinden izole edilmiştir. Çiğ tavuk etlerinde *L. monocytogenes*'in prevalansı Norveç'te %61 (14), Belçika ve Fransa'da %10-15 olarak (16) bildirilmiştir. Loncarevic ve ark. (11) çiğ broiler etlerinin %0-64'ünün patojenle kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. İspanya'da yapılan bir araştırmada, kanatlı etlerinde *Listeria* spp. izolasyon oranı %64 olarak bildirilmiştir (6). Vitas ve ark. (20) çiğ kanatlı etlerinde (tavuk ve hindi) *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri* ve *L. seeligeri* prevalansını sırasıyla %1.8, %8.6, %0.1 ve 0.06 olarak saptamışlardır. Çiğ tavuk etlerinde *L. monocytogenes*'in yüksek insidensi, mutfaklarda diğer gıdaların kros kontaminasyonuna neden olmaları ve işlenmiş tavuk etlerinde mikroorganizmanın canlı kalabilme olasılığı nedeniyle önem taşımaktadır (1).

Bu çalışma, Eylül 2001-Aralık 2002 tarihleri arasında Bursa'da satılan çiğ tavuk butlarında *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes*'in prevalansını ve elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarının serotip dağılımını belirlemek amacıyla gerçekleştirildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, Eylül 2001 ve Aralık 2002 tarihleri arasında Bursa'da çeşitli kasap ve süpermarketlerden 50 adet çiğ tavuk butu örneği alındı ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilen örnekler aynı gün test edildi. Mikrobiyolojik analizler öncesinde, örneklerin derileri aseptik koşullar altında butlardan ayrıldı ve her bir örnek ayrı ayrı *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* spp. varlığı yönünden analiz edildi.

L. monocytogenes sayısının belirlenmesi için, örnekler (10 g) 90 ml %0.1 peptonlu su ile 2 dakika homojenize edildi ve 0.1 ml homojenat Oxford agar (Oxoid, CM 856) plaklarına ekildi. Tüm plaklar aerob şartlar altında 35°C'de 24-48 saat süreyle inkübe edildi ve tipik koloniler sayıldı (15).

Örneklerde *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* spp. varlığını belirlemek amacıyla, FDA (Food and Drug Administration) tarafından önerilen metoddan yararlanıldı (9). Bu amaçla, 25 g örnek %0.6 Yeast Extract (Oxoid, L21) katkılı Tryptone Soya Broth'un (Oxoid, CM 129) 225 ml'sinde homojenize edildi ve daha sonra 30°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Zenginleştirme kültüründen Oxford agar plaklarına yüzeye yayma tekniğiyle ekimler gerçekleştirildi ve 35°C'de 48 saatlik inkübasyonu takiben plaklar tipik koloniler yönünden incelendi.

İdentifikasyon amacıyla şüpheli kolonilere Gram boyama, morfoloji, katalaz üretimi, hareket, β-hemoliz, CAMP testi ve şeker fermentasyon testleri (ksiloz, ramnoz ve mannitol) uygulandı. Ayrıca chromogenic medium RAPID'L.Mono (BIO RAD) içeren plaklara kültürlerin ekimleri yapıldı ve 37°C'de 48 saatlik inkübasyonu takiben, üreyen koloniler

fosfatidilinozitol fosfalipaz C (PI-PLC) aktivitesi yönünden incelenerek *L.monocytogenes* suşlarının doğrulanmasında yararlanıldı.

L. monocytogenes suşları, slide agglutination metodu ile serotiplendirilerek, patojenin serotip dağılımı belirlendi (Denka Seiken, Tokyo, Japonya).

BULGULAR

Çalışmada derisiz 50 adet çiğ tavuk butu ve aynı butlardan ayrılan 50 adet deri olmak üzere toplam 100 örnekte *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes*'in prevalansı araştırıldı. Direk ekim tekniği ile, tüm örneklerin %19'unda *Listeria* spp. belirlendi (Tablo 1). *Listeria* izolatlarından %11, %4, %2 ve %2'si sırasıyla *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. grayi* ve *L. welshimeri* olarak tanımlandı. *L. monocytogenes* izole edilen örneklerde, patojen sayılarının 5×10^1 ve 2.8×10^2 arasında değiştiği gözlemlendi.

Zenginleştirme tekniği uygulanan örneklerin tümünde *Listeria* spp. izolasyon oranı %31 olarak saptandı (Tablo 1). Bu izolatlardan %14, %8, %8 ve %1'i sırasıyla *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri* ve *L. seeligeri* olarak tanımlandı.

Çalışmada elde edilen toplam 25 adet *L. monocytogenes* suşunun serotiplendirme sonuçlarına göre, 6 (%24)'sı serotip 1/2a ve 11 (%44)'i serotip 4 olarak tanımlandı. 8 (%32) adet suş ise serotiplendirilemedi (Tablo 2).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Mevcut çalışmada toplam 100 adet but ve deri örneğinde *Listeria* spp. ile kontaminasyon oranı direk ekim tekniğiyle %19, zenginleştirme tekniğiyle ise %31 olarak belirlendi. Gerek direk ekim tekniği ve gerekse zenginleştirme prosedürüyle elde edilen *Listeria* izolatları arasında en yaygın türün *L. monocytogenes* olduğu saptandı. Kanatlı etlerinde *Listeria* spp. ve/veya *L. monocytogenes*'in prevalansını belirlemek üzere çeşitli ülkelerde farklı araştırmacılar tarafından pek çok çalışma yapılmış ve farklı izolasyon oranları bildirilmiştir. Mietten ve ark. (12) perakende satışa sunulan çiğ broiler karkas kısımlarının %62'sinin, üç farklı broiler işletmesinden sağlanan but örneklerinin ise %68'inin *L. monocytogenes* ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Van Nierop ve ark. (18) taze ve dondurulmuş tavuk karkaslarından oluşan 99 örneğin 19'unda *L. monocytogenes*'i izole etmişlerdir. Guerra ve ark. (8) Portekiz'de 65 çiğ tavuk örneğinde *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* insidensini sırasıyla %26 ve %25 olarak bildirmişlerdir. Barbalho ve ark. (1) 66 tavuk karkasının 31'inde *Listeria* spp. izole edildiğini, bu izolatlardan 28'inin *L. innocua*, 3'ünün *L. monocytogenes* ve 2'sinin *L. grayi* olarak tanımlandığını rapor etmişlerdir. Kanatlı etlerinde *L. monocytogenes*'in prevalansı Kwiatek ve ark. (10) tarafından %60, Vallavanti ve ark. (17) tarafından ise %20 olarak bildirilmiştir. Diğer taraftan Çin'de yapılan bir çalışmada çiğ tavuklarda patojenin insidensi %4.7 gibi düşük bir oranda belirlenmiştir (21).

Çalışmamızda, deri örneklerinde *Listeria* spp. kontaminasyon düzeyi derisiz butlara oranla daha yüksek bulunmuştur. Direk ekim ve zenginleştirme teknikleriyle derisiz but örneklerinde *Listeria* spp. insidensi sırasıyla %16 ve %30 iken, deri örneklerinde bu oran sırasıyla %22 ve %32 olarak belirlenmiştir. Mietten ve ark. (12) yaptıkları bir çalışmada but örneklerinin %68'inin, göğüs eti örneklerinin ise %52'sinin *L. monocytogenes*'i içerdiğini ve bu durumun

butların yüzeyinde göğüs etlerine oranla daha fazla deri bulunmasından kaynaklanmış olabileceğini rapor etmişlerdir. Capita ve ark. (2) 100 adet taze tavuk karkasının derisi üzerinde *Listeria* spp. prevalansını araştırmışlar; *Listeria* spp., *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. grayi* ve *L. ivanovii*'nin izolasyon oranlarını sırasıyla %95, %32, %66, %7, %4 ve %2 olarak bildirmişlerdir. Diğer bazı araştırmalarda, hindi but derisi örneklerinin %54'ünde (7) ve tavuk derisi örneklerinin %2.1'inde (19) *Listeria* kontaminasyonu gözlenmiştir.

L. monocytogenes çeşitli gıda işleme yüzeylerinde gelişebilmekte ve biofilmler oluşturabilmektedir (12). Kanatlı etlerinin patojenle kontaminasyonu, genellikle kanatlı eti işletmelerinde işleme sırasında olmaktadır. Nitekim Ojeniye ve ark. (13) bir broiler işletmesinde karkasların *L. monocytogenes* ile kontaminasyonunun muhtemelen soğutma sırasında veya soğutma sonrası deriyi uzaklaştırma makinesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan perakende seviyedeki, özellikle de paketlenmeden satılan, ürünlerde *L. monocytogenes* insidensinin yüksek olmasına kros kontaminasyonların neden olduğu bildirilmiştir (1, 12). Çalışmamızda *L. monocytogenes* izolatlarının %56'sı (14/25) deri örneklerinden, %44'ü (11/25) ise derisi ayrılmış butlardan elde edildi ki bu da yüzeydeki olası bir kros kontaminasyonu göstermektedir.

Tüm dünyada insanlardaki listeriosis vakalarının %89-96'sına serotip 4b, 1/2a ve 1/2b neden olmuştur (4). Mevcut çalışmada, *L. monocytogenes* suşlarından %24'ü serotip 1/2a ve %44'ü serotip 4 olarak tanımlanmıştır. Wong ve ark. (22) Tayvan'da tavuklarda en yaygın serotipin tip 4 olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan Danimarka'da bir işletmede gerçekleştirilen epidemiyolojik bir araştırmada, izolatlardan %98'inin serotip 1'e ve yalnızca %2'sinin serotip 4'e ait olduğu saptanmıştır (13).

L. monocytogenes izole edilen örneklerde patojenin kontaminasyon düzeyinin 5×10^1 ve 2.8×10^2 kob/g arasında değiştiği belirlendi. Patojenin düşük infeksiyöz doza sahip olduğu göz önünde bulundurulduğunda, Bursa'da perakende satılan tavuk butlarının duyarlı kişiler, özellikle de yaşlılar, hamile kadınlar ve immün sistemi baskılanmışlar, açısından sağlık riski oluşturabileceği muhtemeldir.

Kanatlı endüstrisi, son yıllarda iyi üretim ve sanitasyon uygulamaları ile HACCP gibi etkin kalite değerlendirme sistemlerini geliştirme konusunda büyük ilerleme kaydetmiş olsa da, gerek kanatlı işletmelerinde ve gerekse perakende seviyede özellikle paketlenmeden satılan kanatlı etlerinde *L. monocytogenes*'le kontaminasyon düzeyini en aza indirmek ve/veya etkenin kolonizasyonunu önlemek amacıyla, etkin temizlik ve dezenfeksiyon uygulamaları yanında yeterli depolama koşullarının sağlanması zorunludur. Ayrıca potansiyel hastalık risklerinin ve diğer gıdaların kros kontaminasyonunun önlenmesi bakımından, mutfaklarda *L. monocytogenes*'in potansiyel bir kaynağı olarak görülen çiğ kanatlı etlerinin uygun pişirme ve elle muamelesi büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Barbalho TCF, Almeida PF, Almeida RCC, Hofer E. 2004. Prevalence of *Listeria* spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. *Food Control*, 16: 211-216.
2. Capita R, Alonso-Calleja C, Moreno B, García-Fernández MC. 2001. Occurrence of *Listeria* species in retail poultry meat and comparison of a cultural/immunoassay for their detection. *Int J Food Microbiol*, 65: 75-82.
3. Farber JM, Peterkin PI. 1991. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiol Rev*, 55: 476-511.
4. Farber JM, Peterkin PI. 2000. *Listeria monocytogenes*. In BM Lund, AC Baird-Parker and G Gould (eds.). *The Microbiology of Food*. Chapman and Hall, London, p.1178.
5. Fenlon DR, Wilson J, Donachie W. 1996. The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *J Appl Bacteriol*, 81: 641-650.
6. Franco CM, Quinto EJ, Fente CA, Menéndez S, Vázquez B, Domínguez L, Cepeda A. 1997. Detection of *Listeria monocytogenes* on selective media without subculturing in food. *Arch Lebensmittelhyg*, 49: 54-56.
7. Genigeorgis CA, Oanca P, Dutulescu D. 1990. Prevalence of *Listeria* spp. in turkey meat at the supermarket and slaughterhouse level. *J Food Protect*, 53: 282-288.
8. Guerra MM, McLauchlin J, Bernardo FA. 2001. *Listeria* in ready-to-eat and unprocessed foods produced in Portugal. *Food Microbiol*, 18: 423-429.
9. Hitchins AD. 1995. *Listeria monocytogenes*. FDA Bacteriological Analytical Manual, AOAC International, Gaithersburg, p 10.01.
10. Kwiatek K, Wojton B, Rola J, Rozanska H. 1992. The incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat, poultry and raw milk. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 35: 7-11.
11. Loncarevic S, Tham W, Danielsson-Tham M.-L. 1994. Occurrence of *Listeria* species in broilers pre- and post-chilling in chlorinated water at two slaughterhouses. *Acta Vet Scand*, 35: 149-154.
12. Miettinen MK, Palmu L, Björkroth KJ, Korkeala H. 2001. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in broilers at the abattoir, processing plant, and retail level. *J Food Protect*, 64: 994-999.

13. Ojeniyi B, Wegener HC, Jensen NE, Bisgaard M. 1996. *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry products: epidemiological investigations in seven Danish abattoirs. J Appl Bacteriol, 80: 395-401.
14. Rørvik LM, Yndestad M. 1991. *Listeria monocytogenes* in foods in Norway. Int J Food Microbiol, 13: 97-104.
15. Ryser ET, Marth EH. 1991. *Listeria*, Listeriosis and Food Safety. Marcel Dekker Inc., New York.
16. Uyttendaele MR, Neyts KD, Lips RM, Debevere JM. 1997. Incidence of *Listeria monocytogenes* in poultry and poultry products obtained from Belgian and French abattoirs. Food Microbiol, 14: 339-345.
17. Vallavanti W, Appi A, Raccanelli F, Cantoni C, Comi G. 1994. *Listeria monocytogenes* presence in some foods to be cooked. Industrie Alimentari, 33: 643-650.
18. van Nierop W, Duse AG, Marais E, Aithma N, Thothobolo N, Kassel M, Stewart R, Potgieter A, Fernandes B, Galpin JS, Bloomfield SF. 2005. Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. Int J Food Microbiol, 99: 1-6.
19. Varabioff Y. 1990. Incidence and recovery of *Listeria* from chicken with a pre-enrichment technique. J Food Protect, 53: 555-557.
20. Vitas AI, Aguado V, Garcia-Jalon I. 2003. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). Int J Food Microbiol, 90: 349-356.
21. Wang GH, Yan KT, Feng XM, Chen SM, Lui AP, Kokubo Y. 1992. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from retail meats in Beijing. J Food Protect, 55: 56-58.
22. Wong HC, Chao WL, Lee SJ. 1990. Incidence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foods availability in Taiwan. Appl Environ Microbiol, 56: 3101-3104.

1. The first of these is the fact that the
the first of these is the fact that the
the first of these is the fact that the

2. The second of these is the fact that the
the second of these is the fact that the
the second of these is the fact that the

3. The third of these is the fact that the
the third of these is the fact that the
the third of these is the fact that the

4. The fourth of these is the fact that the
the fourth of these is the fact that the
the fourth of these is the fact that the

5. The fifth of these is the fact that the
the fifth of these is the fact that the
the fifth of these is the fact that the

6. The sixth of these is the fact that the
the sixth of these is the fact that the
the sixth of these is the fact that the

7. The seventh of these is the fact that the
the seventh of these is the fact that the
the seventh of these is the fact that the

8. The eighth of these is the fact that the
the eighth of these is the fact that the
the eighth of these is the fact that the

9. The ninth of these is the fact that the
the ninth of these is the fact that the
the ninth of these is the fact that the

10. The tenth of these is the fact that the
the tenth of these is the fact that the
the tenth of these is the fact that the

URFA PEYNİRİNDE ENTEROBACTERİACEAE'ların İDENTİFİKASYONU

Mustafa ARDIC¹

Kürşat KAV²

Ahmet GÜNER³

Y. DOĞRUEK³

¹: Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı- Şanlıurfa

²: Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı- Konya

³: Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı- Konya

Özet: Bu çalışmanın amacı Şanlıurfa'da geleneksel yöntemle çiğ süttten üretilen Urfa peynirinde *Enterobacteriaceae* sayılarını belirlemek ve izole edilen türleri tanımlıye etmektir. Araştırmada Şanlıurfa'da satış noktalarından temin edilen 75 adet peynir incelendi. Numunelerin %45.33'ünde 10^2 - 10^8 kob/g arasında *Enterobacteriaceae* tespit edildi. Toplam 8 farklı tür tanımlıye edildi. Bu türlerin en yaygını *Klebsiella pneumonia* (izole edilen suşların % 30), *Escherichia coli* (25.29%), *Enterobacter cloacea* (16.47%), ve *Enterobacter aerogenes* (11.76%) idi. Daha az oranda ise *Klebsiella oxytoca* (%7.06), *Citrobacter freundii* (%5.88), *Yersinia enterocolitica* (% 2.45) ve *Serratia marcescens* (% 1.18) izole edildi.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar açıkca göstermektedir ki Urfa peynirinde *E. coli* ve *Yersinia enterocolitica* gibi patojenler ile diğer *Enterobacteriaceae* türlerinin kontaminasyonunu azaltmak için gerekli önlemler alınmalıdır.

Anahtar kelimeler : Urfa peyniri, *Enterobacteriaceae*

IDENTIFICATION OF ENTEROBACTERIACEAE IN URFA CHEESE

Mustafa ARDIC¹

Kursat KAV²

Ahmet GUNER³

Y. DOGRUER³

¹: Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, 63300 Sanliurfa, Turkey

²: Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Selcuk University, 42075 Konya, Turkey

³: Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Selcuk University, 42075 Konya, Turkey

Abstract : The purpose of this study was to determine the *Enterobacteriaceae* counts and to identify the species isolated in Urfa cheese traditionally manufactured from raw milk in Sanliurfa. In the research, 75 samples obtained from retail markets were examined. *Enterobacteriaceae* was detected in 45.33% of the samples and counts varied between 10^2 - 10^8 CFU g⁻¹. A total of 8 different species were identified, the most common of those was *Klebsiella pneumonia* (30% of the isolated strains), followed by *Escherichia coli* (25.29%), *Enterobacter cloacea* (16.47%), and *Enterobacter aerogenes* (11.76%). *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Yersinia enterocolitica* and *Serratia marcescens* were present in small quantities (7.06, 5.88, 2.45 and 1.18% of the isolates, respectively).

The results obtained from this study clearly indicate that measures should be taken to control and reduce the contamination and multiplication of pathogens such as *E. coli*, *Y. enterocolitica* and other *Enterobacteriaceae* spp. in Urfa cheese.

Key words : Urfa cheese, *Enterobacteriaceae*

YOĞURT ÜRETİMİNDE STABİLİZATÖR MADDELERİN KULLANILMASI VE BU MADDELERİN YOĞURDUN ORGANOLEPTİK VE BAZI FİZİKSEL, MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ***

Sema Sandıkçı ALTUNATMAZ*

Özer ERGÜN**

* İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Meslek Yüksek Okulu, Gıda Teknolojisi Programı, Avcılar, İstanbul

**İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul

Özet: Bu çalışmada değişik oranlarda çeşitli stabilizatör maddeler kullanılmış ve bunların yoğurdun organoleptik, fiziksel ve bazı mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 300 adet yoğurt numunesi incelenmiştir.

Tekli denemelerde pektin (LM) için % 0.1, 0.15, karragenan (kappa) için % 0.01, 0.02, 0.04, ksantan için % 0.015, 0.03, 0.06, jelatin (200 bloom) için % 0.2, 0.4, 0.8, karboksimetil selüloz için % 0.05, 0.1 dozları denenmiştir. Pektin ve karboksimetil selüloz, denemelerde çok başarılı sonuçlar vermemiştir. Jelatin duyusal açıdan en olumlu etkiyi minimum dozda (% 0.2 dozu) sağlamıştır ve dozun artırılmasına paralel olarak kıvam artmış ve ayrılan serum miktarı azalmıştır.

İkili denemelerde, tekli denemelerde en başarılı sonucu veren stabilizatör madde dozları 1/2 oranında olmak üzere tüm maddeler ikili olarak bir araya getirilmiştir. Bu denemelerin 1. gün sonuçlarında, kontrol gurubunun daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür. 14. gün sonunda ise en fazla beğeni kazanan yoğurdun jelatin+ karragenan (2K5) olduğu tespit edilmiştir. Serum ayrılması açısından en iyi etkiyi pektin+ ksantan (2K3) ve jelatin+ karragenan (2K5) sağlamıştır.

Üçlü denemelerde ise ikili ve tekli denemelerde başarılı sonuç veren stabilizatör maddeler 1/3 oranlarında bir araya getirilmiş ve duyusal açıdan en iyi sonucun kontrol örneğinde olduğu görülmüştür. Serum ayrılması açısından ise pektin+ jelatin+ ksantan (3K2) ve pektin+ karragenan+ ksantan (3K3) başarılı bulunmuştur.

Tekli, ikili ve üçlü kombinasyon denemelerinden elde edilen veriler ışığında özel kombinasyonlar hazırlanıp denenmiştir. Karragenan % 0.01, pektin % 0.05, jelatin % 0.2, ksantan % 0.005 değişik oranlarda üçlü ve dörtlü olarak bir araya getirilmiştir. Özel denemeler diğer (tekli, ikili, üçlü) denemelerden daha başarılı sonuçlar vermiştir.

Piyasadan temin edilen hazır preparatlar su yosunu ekstresi (A1), su yosunu ekstresi+ LM pektin (B1), su yosunu ekstresi+ LM pektin+ su yosunu ekstresi (C1), yoğurt stabilizeri (D1), yoğurt stabilizeri (E1) denenmiş ve sonuçlar duyusal ve serum ayrılması açısından çok başarılı bulunmuştur.

Tüm stabilizatör maddelerin tek tek veya kombinasyonlar halinde kullanıldıklarında, tat ve koku yönünden üründe olumsuz etkileri gözlenmemiştir. Denemelerde pH değerlerinde de önemli bir farklılık göstermemiştir. Küf -maya analiz sonuçları Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde belirtilen sınırlar dahilinde bulunmuştur.

Stabilizatör maddelerin arzu edilen organoleptik özellikleri sağlaması için uygun dozlarda kullanılmaları çok önemlidir.

Anahtar kelimeler: Yoğurt, stabilizatörler, pH değeri, serum ayrımı, küf ve maya

***Doktora tezinden özetlenmiştir.

USE OF STABILIZING AGENTS IN THE PRODUCTION OF YOGHURT AND THE EFFECTS OF THESE AGENTS ON THE ORGANOLEPTIC AND SOME PHYSICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF YOGHURT.

Abstract: One of the methods used to increase the texture and prevent serum separation in yoghurt is the use of stabilizing agents. Various stabilizers at different concentrations were used in this study and the effects of these agents on the organoleptic and some physical and microbiological properties of yoghurt were investigated. In this study, 300 yoghurt specimens were examined.

In the individual trials, the doses used were: 0.1-0.15% for pectin (LM), 0.01-0.02-0.04% for carrageenan (kappa), 0.015-0.03-0.06% for xanthan, 0.2-0.4-0.8% for gelatine (200 bloom) and 0.05-0.1% for carboxymethyl cellulose. Pectin and carboxymethyl cellulose did not present successful results in the trials. Gelatine provided the most positive effect sensually at the minimum dose (0.2%) and parallel to the increase in dosage, the values for texture increased and serum separation also decreased.

In the 2-agent trials, all agents were combined in pairs, in which the dose of the stabilizing agents with the most successful results in the single trials were halved. In the first day results of these trials, it was seen that the control group presented more successful results. The most popular yoghurt at the end of 14 days was gelatine+ carrageenan (2K5). With respect to serum separation, the best effect was seen in pectin+ xanthan (2K3) and gelatine+ carrageenan (2K5). In the 3-agent trials, stabilizing agents with successful results in the single and 2-agent trials were combined at a rate of 1/3 and the best result with respect to senses was seen to be in the control sample. With respect to serum separation, pectin+ gelatine+ xanthan (3K2) and pectin+ carrageenan+ xanthan (3K3) were found to be successful.

In the light of the data obtained from single, 2-agent and 3-agent combination trials, special combinations were prepared and tried. Carrageenan 0.01%, pectin 0.05%, gelatine 0.2% and xanthan 0.005% were combined in 3-agent and 4-agent combinations at varying doses. Special trials presented more successful results than the other trials (single, double, triple).

Commercial preparates were tried with waterweed extract (A1), waterweed extract+ LM pectin (B1), waterweed extract+ LM pectin+ waterweed extract (C1), yoghurt stabilizer (D1), yoghurt stabilizer (E1) and the results were found to be very successful with respect to the senses and serum separation.

No negative effects were observed with any of the stabilizing agents, whether single or combined, on flavour and odour. However, bad appearance affected the flavour negatively. In the trials, pH values did not show significant difference. Results of the mould yeast analysis was found to be within the limits of the Turkish Food Codex Fermented Milk Presentation.

In order to achieve the desired effect of the stabilizing agents, it is very important for the correct dose to be used.

Key words: Yoghurt, stabilizers, pH value, serum separation, mould and yeast.

GİRİŞ

Mısır'da, 4000 yıl önce çok çeşitli yiyeceklerin hazırlanmasında kullanılan hidrokolloidler ancak son yıllarda besin teknolojisinin gelişmesine paralel olarak endüstriyel alanda önem kazanmıştır

(13). Bunlar çok az oranlarda viskoziteyi artırma ve jel oluşturma kabiliyetindedirler (9, 10). Stabilizatörler bir çok ülkede süt ürünlerinde değişik oranlarda, yaygın olarak kullanılmaktadır (13). Önerilen dozlarda ve koşullarda katıldıklarında sağlık açısından bunların hiçbir kötü etkisi görülmemektedir. Yoğurdun kalite kriterlerini oluşturan unsurlardan en önemlilerinden biri serum ayrılmasıdır. Yoğurdun su salmasını önlemek amacıyla stabilizatörlerden yararlanılır (2, 9, 10). Ancak bazı hidrokoloidlerin belirli süt ürünlerinde kullanılmalarına izin verilirken bazılarının da kullanımlarına izin verilmemektedir (13). Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Katkı Maddeleri Bölümü'nde yoğurt üretiminde katkı maddesi kullanılmasına müsaade edilmemektedir (6).

Yoğurt üretiminde kullanılan stabilizatör maddeler agar, pektin, karboksimetil selüloz, aljinatlar, nişasta, jelatin, karragenan, keçiyoynuzu zıncı vb. dir (1, 2, 8, 9, 10, 13, 22, 24). Stabilizatörler ürüne tek olarak veya kombinasyonlar şeklinde katılabilir (1).

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, deneysel olarak üretilen 300 adet yoğurt numunesi incelenmiş ve 5 farklı stabilizatör madde tek ve kombinasyon halinde kullanılmıştır. Bunlar; karragenan (kappa tipi), jelatin (200 bloom), LM pektin (Low Ester Pektin), ksantan, karboksimetil selülozdur.

Çalışmada süt, kültür (CH. Hansen-FY 9942-YB 41), inkübatör (Haerus, Nüve), pH metre (Hanna instruments H19321), buzdolabı (Arçelik), hassas terazi (Sartorius, kapasite 200.00), hassas terazi Shimatzu Libror AE U-210 (Kapasite 200.0000), plastik ambalaj (200g), steril poşet, beg alevi, küf maya besiyeri (Patato dextroz agar -Oxoid) , pipet 5ml, petri kabı, spatül, otoklav (Kermanlar) kullanılmıştır.

Deneysel yoğurt üretiminde kullanılan süt, İstanbul'da üretim yapan bir yoğurt işletmesinde yağı % 4, kurumaddesi % 14'e ayarlanıp ve 160 atü basınçta homojenizasyon işlemi uygulandıktan sonra laboratuvara getirilmiştir. Bu işlemlerden geçirilen süte sıcaklığı 43°C' ye düşürüldükten sonra %3 oranında kültür ilave edilmiş 2.5-3 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. pH 4.7 değerine ulaştığında inkübasyona son verilmiş ve bu süre sonunda numuneler +4°C'ye soğutulmuştur (7). Stabilizatör maddeler ön çalışmalar ve literatür bilgileri ışığında, belirlenen dozlarda ve inkübasyon öncesi, stabilizatör maddelerin erime

özelliklerine göre sıcak veya ılık süte katılmış ve eritilmiştir. Örnekler 200 gram (g) ambalajlarda ve 3 ayrı parti şeklinde üretilmiş, 1. ve 14. günlerde incelenmiştir.

Deneyisel yoğurt numunelerinde **duyusal değerlendirme** 5 panelist tarafından yapılmış ve duyusal değerlendirme kriterlerine uyulmuştur (13, 21). Numunelerin değerlendirilmesinde TS 1330 Yoğurt Standardı'nda belirtilen Duyusal Değerlendirme Puanları baz alınmıştır (4). Puanlama toplam 25 üzerinden yapılmıştır. her bir krite için baz alınan puan 4'ten düşük olmamalı ve yoğurt toplam 16 puan alacak nitelikte olmalı. **pH analizi** 1. ve 14. günde pH metre (Hanna) ile yapılmıştır. **Serum ayrılması tespiti**nde, deneyisel yoğurt numunelerinde ayrılan serum miktarının tespiti için yoğurt örneğinden 25 g. alınmıştır. 3°C de 3 saat bekletildikten sonra filtre kağıdından süzölmüş ve ayrılan serum miktarı ml olarak ölçölmüştür (7, 27). Yoğurt numunelerinde küf- maya analizi 14. gün sonunda yapılmıştır. Besiyeri olarak Patato dextroz agar (PDA-oxoid CMO 139), ekim tekniğı olarak sürme yöntem kullanılmıştır. Petriler 22 °C de 5 gün inkübe edilmiştir (3).

Stabilizatör maddeler belirtilen oranlarda tek olarak, ikili, üçlü ve özel kombinasyonlar oluşturularak ve piyasadan toplanan ticari preparatlar şeklinde 200 g yoğurt için denenmiştir (Tablo2). Özel kombinasyonlar tekli, ikili ve üçlü denemelerden elde edilen sonuçlara göre hazırlanmıştır. Bu denemelerde en uygun sonuç veren stabilizatör maddeler karragenan % 0.01, pektin % 0.05, jelatin % 0.2 ve ksantan % 0.005 (üçlü denemelerdeki dozu) kendi aralarında kombine edilmiştir. 1., 2. ve 4. denemede jelatinin dozu değıştirilmedi, 3. ve 5. denemelerde yarıya indirildi. Ksantanın dozu bütün denemelerde değıştirilmedi. Karragenan 2., 3. ve 5. denemelerde dozu değıştirilmedi, 1. ve 4. denemelerde ise dozu yarıya indirildi. Pektinin dozu ise üçlü denemelerde kullanılan dozun ½ si şeklinde belirlendi (Tablo 1). Piyasadan elde edilen 5 adet ticari preparat, prospektüsünde belirtilen şekilde ve dozlarda (önerilen minimum doz) kullanılmıştır (Tablo 2). Ön denemelerle dozlar ayarlanmıştır.

Bu çalışmada stabilizatörlerin tek ve kombinasyonlar halinde kullanıldıklarında yoğurdun organoleptik ve bazı fiziksel, mikrobiyolojik özellikleri üzerine gibi tesirlerinin olacağı araştırılarak, yoğurtların genel kalite yönünden geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Tablo 1: Deneysel yoğurt üretiminde stabilizatör maddelerin katkı oranları

N	n	Stabilizatör madde adı	Doz (%)	Kod No	Kombinasyon Adı	Kod No	Karışım oranı (%)	Kombinasyon Adı	Kod No	Karışım oranı (%)
0	3	Kontrol	--	K0	Kontrol	2K0	-	Kontrol	3K0	-
1	3	Pektin (P)	0.15	1P	P+J	2K1	0.05+0.1	P+J+K	3K1	0.033+0.066+0.0033
2	3	P	0.1	2P	P+K	2K2	0.05+0.005	P+J+X	3K2	0.033+0.066+0.005
3	3	-	-	-	P+X	2K3	0.05+0.0075	P+K+X	3K3	0.033+0.0033+0.005
4	3	-	-	-	P+CMC	2K4	0.05+0.025	P+J+CMC	3K4	0.033+0.066+0.016
5	3	-	-	-	-	-	-	P+K+CMC	3K5	0.033+0.0033+0.016
6	3	-	-	-	-	-	-	P+X+CMC	3K6	0.033+0.005+0.016
7	3	Jelatin(J)	0.8	J1	J+K	2K5	0.1+0.005	J+X+CMC	3K7	0.066+0.005+0.016
8	3	J	0.4	J2	J+X	2K6	0.1+0.0075	J+X+K	3K8	0.066+0.005+0.0033
9	3	J	0.2	J3	J+CMC	2K8	0.1+0.025	J+K+CMC	3K9	0.066+0.0033+0.016
10	3	Karragenan(K)	0.04	K1	K+X	2K7	0.01+0.015	-	-	-
11	3	K	0.02	K2	K+CMC	2K9	0.005+0.025	-	-	-
12	3	K	0.01	K3	-	-	-	-	-	-
13	3	Karboksümetil	0.1	1C	-	-	-	-	-	-
14	3	Selüloz(CMC)	0.05	2C	-	-	-	-	-	-
15	3	Xsantan	0.06	X1	X+CMC	2K10	0.0075+0.025	X+K+CMC	3K10	0.005+0.0033+0.016
16	3	gam(X)	0.03	X2	-	-	-	-	-	-
15	3	X	0.015	X3	-	-	-	-	-	-

Tablo 2: Deneysel yoğurt numunelerinde özel ve ticari preparat kombinasyonları

No	n	Stabilizatör Madde Adı	Karışım Oranları %	Kod No	Stabilizatör Madde Adı	Karışım Oranları %	Kod No
0	3	Kontrol	-	K0	Kontrol	--	K0
1	3	J+X+K	0.2+0.005+0.005	A	Su yosunu Ekstresi	0.1	A1
2	3	J+X+K	0.2+0.005+0.01	B	Su yosunu ekstresi+LM pektin	0.1	B1
3	3	J+X+K	0.1+0.005+0.01	C	Su yosunu ekstresi +LM pektin+Su yosunu ekstresi	0.1	C1 (A1+B1)
4	3	P+X+J+K	0.016+0.005+0.2+0.005	D	Yağ %13.8 Protein %69 Karbonhidrat %0.8	0.25	D1

BULGULAR

Tablo 3: 1. ve 14. günlerdeki (G) duyu analizi bulguları

Stabilizatör Madde	n	Dış Görünüş		Kıvam (kaşık)		Kıvam (ağız)		Tat		Koku		Toplam	
		1. G	14.G	1.G	14.G	1.G	14.G	1.G	14.G	1.G	14.G	1.G	14.G
K0	3	4.1	4.0	4.2	3.8	4.1	4.1	4.0	4.4	4.7	4.8	21.1	21.1
K1	3	4.3	4.2	4.7	4.0	4.5	4.0	4.5	4.6	4.8	4.9	22.7	21.7
K2	3	4.4	4.5	4.4	4.1	4.4	4.0	4.5	4.1	4.9	4.9	22.6	21.6
K3	3	5.0	4.5	4.7	4.0	4.5	4.0	4.6	4.2	5.0	4.6	23.8	21.3
X1	3	2.5	2.7	3.1	2.8	2.7	2.7	3.3	3.1	4.3	3.9	15.9	15.8
X2	3	3.8	3.4	4.5	4.0	4.2	3.8	4.5	4.0	4.8	4.2	21.8	19.4
X3	3	3.7	3.5	4.5	4.0	4.1	3.8	4.5	3.8	4.8	4.4	21.6	19.5
J1	3	5.0	5.0	5.0	5.0	4.7	4.8	3.5	4.0	4.8	4.9	23.1	23.7
J2	3	5.0	4.8	5.0	4.5	4.8	4.7	4.1	4.6	4.9	5.0	23.8	23.6
J3	3	5.0	4.8	4.9	4.8	4.7	4.6	4.5	4.6	4.9	5.0	24.0	23.8
1P	3	1.6	1.4	1.6	1.5	1.3	1.1	1.9	1.5	3.5	3.4	9.9	8.9
2P	3	2.5	1.5	3.1	1.5	2.4	1.5	3.2	1.4	3.9	3.4	15.1	9.3
1C	3	1.1	1.0	1.2	1.0	1.1	1.0	1.4	1.0	3.6	3.0	8.4	7.0
2C	3	1.8	1.1	1.9	1.1	1.9	1.1	2.1	1.1	3.7	3.0	11.4	7.4
2K0	3	4.7	5.0	4.7	5.0	4.4	5.0	4.5	5.0	4.9	5.0	23.2	25
2K1	3	3.9	4.0	4.4	4.5	3.8	4.8	4.3	4.7	4.3	4.7	20.7	22.7
2K2	3	4.1	4.3	4.5	4.8	4.5	5.0	4.5	4.8	4.8	5.0	22.8	23.9
2K3	3	2.2	4.0	2.6	4.5	2.6	4.1	3.4	4.4	4.1	4.8	14.9	21.8
2K4	3	2.4	3.6	2.9	2.4	2.4	3.6	2.6	3.8	3.5	4.9	13.8	18.3
2K5	3	4.3	5.0	4.7	5.0	4.5	5.0	4.5	5.0	4.8	5.0	22.8	25
2K6	3	3.1	4.0	3.7	5.0	3.7	4.8	3.9	5.0	4.1	5.0	18.5	23.8
2K7	3	3.4	2.9	3.7	3.5	3.5	3.5	3.7	4.1	4.1	4.5	18.4	18.5
2K8	3	3.0	3.5	3.8	4.2	3.2	3.5	3.5	3.7	4.1	4.5	17.6	19.4
2K9	3	3.1	3.7	3.5	4.8	2.7	3.9	2.6	4.0	3.4	5.0	15.3	21.4
2K10	3	2.0	2.4	2.4	3.0	2.1	2.7	2.6	2.3	3.1	4.0	12.2	14.4
3K0	3	4.6	4.4	4.4	4.6	4.6	4.4	5.0	4.7	5.0	4.9	23.6	23
3K1	3	3.6	4.6	4.0	4.4	3.9	4.4	3.8	4.0	4.5	4.6	19.8	22
3K2	3	2.9	3.6	3.4	4.1	3.5	3.9	4.0	3.9	4.6	4.4	18.4	19.9
3K3	3	3.5	3.5	3.9	3.9	3.9	3.6	4.0	3.5	4.6	4.1	19.9	18.6
3K4	3	3.3	3.7	4.2	4.4	3.9	3.8	4.2	3.9	4.7	4.4	20.3	20.2
3K5	3	3.2	3.8	3.6	4.3	3.4	3.7	3.6	3.5	4.2	4.4	18.0	19.7
3K6	3	2.9	3.5	3.0	4.0	2.9	3.2	3.6	3.3	3.9	4.2	16.3	18.2
3K7	3	2.8	3.0	3.1	3.2	2.7	3.0	2.9	3.1	3.7	3.8	15.2	16.1
3K8	3	3.5	4.0	4.0	4.2	3.8	3.8	4.1	3.8	4.3	4.6	19.7	20.4
3K9	3	3.5	3.8	4.1	4.4	4.1	4.0	4.3	3.7	4.5	4.4	20.5	20.3
3K10	3	2.9	3.2	3.9	3.6	3.8	3.4	3.9	3.5	4.4	4.0	18.9	17.7
K0	3	5	5	4.9	5	5	5	4.9	5	5	5	24.7	25
A	3	4.9	5	5	5	5	5	5	5	5	5	24.9	25
B	3	4.3	4.9	4.6	5	4.8	4.3	5	5	5	5	23.7	24.2
C	3	4.8	4.9	5	4.9	4.8	4.9	5	5	5	5	24.6	24.7
D	3	4.6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	24.6	25
E	3	4.6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	24.6	25
K0	3	4.9	5	4.8	4.8	5	5	5	5	5	5	24.5	25
A1	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	25	25
B1	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	25	25
C1	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	25	25
D1	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	25	25
E1	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	25	25

Tablo 4:1. ve 14. günlerdeki pH değeri, serum ayrılması, küf-maya analiz bulguları

1.GÜN				14. GÜN		
Stabilizatör Madde	n	pH	Serum Ayrılması (ml)	pH	Serum Ayrılması (ml)	Küf-Maya Kob/g
K0	3	4.38	6.9	4.12	6.9	4
K1	3	4.30	6.8	4.05	6.3	6
K2	3	4.30	6.5	4.02	6.1	0
K3	3	4.29	6.6	4.00	6.2	2
J1	3	4.35	4.1	4.04	5.4	25
J2	3	4.20	5.5	3.96	5.5	3
J3	3	4.26	5.7	4.02	5.6	2
X1	3	4.59	6.8	4.17	5.7	16
X2	3	4.29	6.3	4.22	5.5	2
X3	3	4.22	5.2	4.12	-	2
K0	3	4.40	5.8	4.28	6.0	0
1P	3	4.33	6.9	4.30	6.7	0
2P	3	4.34	6.5	4.31	6.3	0
1C	3	4.38	6.8	4.29	6.5	0
2C	3	4.35	6.4	4.30	6.0	0
2K0	3	4.41	5.5	4.26	5.5	9
2K1	3	4.33	5.9	4.30	5.5	3
2K2	3	4.37	5.6	4.31	5.2	6
2K3	3	4.38	4.7	4.29	4.6	4
2K4	3	4.35	6.0	4.25	5.7	2
2K5	3	4.37	4.7	4.25	4.7	5
2K6	3	4.39	5.7	4.25	5.6	5
2K7	3	4.38	5.5	4.27	5.0	2
2K8	3	4.39	6.5	4.33	5.5	3
2K9	3	4.40	5.4	4.27	4.8	3
2K10	3	4.47	5.2	4.28	5.2	2
3K0	3	4.32	5.2	4.15	5.6	5
3K1	3	4.43	5.7	4.28	5.5	7
3K2	3	4.33	4.9	4.32	4.5	13
3K3	3	4.37	5.0	4.33	4.6	6
3K4	3	4.24	6.4	4.21	6.4	21
3K5	3	4.40	6.0	4.29	5.0	10
3K6	3	4.37	5.4	4.24	5.5	8
3K7	3	4.36	6.5	4.30	5.2	8
3K8	3	4.38	5.5	4.27	5.6	3
3K9	3	4.35	5.9	4.26	4.3	13
3K10	3	4.42	5.8	4.32	6.0	1

Tablo 5: 1. ve 14. günlerdeki pH değeri, serum ayrılması ve küf-maya analiz bulguları

1. GÜN				14. GÜN		
Stabilizatör Madde	n	pH	Serum ayrılması (ml)	pH	Serum ayrılması (ml)	Küf-Maya (kob/ml)
K0	3	4.26	4.9	4.18	4.6	3
A	3	4.25	4.3	4.13	3.0	0
B	3	4.27	5.0	4.13	3.9	0
C	3	4.35	4.7	4.10	4.0	0
D	3	4.34	4.0	4.10	3.3	0
E	3	4.34	4.4	4.17	4.2	0
K0	3	4.45	5.5	4.20	5.0	2
A1	3	4.35	4.0	4.10	3.5	0
B1	3	4.28	4.2	4.05	4.2	0
C1	3	4.23	4.3	4.06	4.5	0
D1	3	4.23	0.25	4.05	0.2	0
E1	3	4.25	4.7	4.10	4.5	0

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yoğurt üretiminde serum ayrılmasını engellemek amacıyla stabilizatör maddelerin kullanılması genelde uygulanan bir işlemdir (2, 9, 10).

Çalışmada katkı maddelerinden CMC ve pektinin doza bağlı olarak sütteki dağılımının çok kolay olmadığı gözlenmiştir. Karıştırma işlemi homojenliği sağlama açısından çok önem taşımaktadır. Eğer doz ayarlanamazsa ve iyi bir karışım elde edilemezse stabilizatör maddelerin yüzeyde toplandığı ve inkübasyon sonrası yoğurdun yapısında olumsuzluklara neden olduğu görülmüştür. Hem pektin hem de CMC denemelerinde yoğurtta mat ve homojen olmayan bir yüzey görüntüsü dikkati çekmiştir (18). Azaltılarak denenen pektin ve CMC denemelerinde sonuçların daha iyi olduğu ancak görüntü açısından istenilen düzeyde bir etki oluşmadığı tespit edilmiştir. Bunun nedenleri, CMC'nin düşük pH değerinde viskozitesini kaybedip pıhtılaşma eğilimi göstermesi (23), ortamda kalsiyum iyonları fazlalığının pektinin çözünmesini azaltıcı yöndeki etkisi olabilir (12). Yapılan bir çalışmada (16), pektinin olumlu CMC'nin ise olumsuz sonuçlar verdiği belirtilmektedir. Ksantan gamda da artan doz görünümde olumsuzluluğa neden olmuştur. Jelatinde ise tam tersi bir etki gözlenmiş ve doz arttıkça yoğurt görünüşünün daha iyi, parlak, canlı (24), homojen olduğu (11, 13). Karragenanın azalan dozlarda çok iyi görüntü sağladığı, yoğurtlarda homojen ve parlak yüzey meydana getirdiği tespit edilmiştir. Jelatinle karşılaştırıldığında daha iyi sonuç verdiği

gözlenmiştir (Tablo 4). 14. gün sonunda, yoğurtlarda 1. gün mevcut olan görünüş bozukluğunun 14. gün sonunda daha da arttığını görülmektedir. Kıvam açısından pektin ve CMC ile yapılan yoğurtlarda kumlu bir yapının oluştuğu (18), bu durumun dozun düşürülmesine bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Ayranda % 0.3 oranında pektin kullanılarak yapılan bir çalışmada (15), pektinin ayran yapısında meydana getirdiği kristalizasyona benzer etkisi bu çalışmada da tespit edilmiştir. Ayrıca anılan çalışmada (15) kullanılan % 0.3 jelatinin ayran yapısı üzerinde meydana getirdiği olumsuzluklar yaptığımız çalışmada yoğurtta görülmemiştir. Ancak aynı doz CMC'nin ayranın yapısında meydana getirdiği pelteleşme etkisinin, yoğurtta yüksek dozlarda kullanılan CMC'nin etkisine benzer olduğu görülmüştür. Jelatinle yapılan yoğurtlarda iyi bir kıvamın oluştuğunu bildiren literatürlere (11, 14, 16, 25) paralel olarak bu çalışmada da iyi bir kıvam elde edilmiş ve dozun artırılması ile birlikte yoğurtta daha sert ve ağızda daha dolgun bir yapı elde edilmiştir. Karragenanın da kıvam açısından iyi sonuç verdiği, jel sertliğini olumlu yönde etkilediği (17) ve gerek kaşıkla, gerekse ağızda bakıldığında dolgun bir yapı gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürde belirtildiği gibi (20), kremimsi, jel sertliğini azaltıcı yönde bir yapı oluşturmadığı ancak ağızda kaygan bir yapı sağladığı tespit edilmiştir. Ksantan gamda yapının karragenanda olduğu kadar iyi olmadığı tespit edilmiştir. 14. gün sonunda J1 hariç kıvam değerlerinde azalma görülmüştür. Benzer bir çalışmada (25), kıvam değerlerinde düşme meydana geldiği belirtilmiştir. Bazı araştırmacılar (15), jelatin ve CMC kullanılarak yapılan ayranlarda yabancı bir tadın oluştuğunu, bazı araştırmacılar (28), jelatin katkılı örneklerde tadın olumsuz yönde etkilendiğini bildirmektedirler. Bu çalışmada panelistler yabancı tat ve koku hissetmediklerini belirtmişlerdir. Bir çalışmada da (25), % 0.2, 0.4, 0.6 oranlarında kullanılan jelatinin artan miktarlarının tat puanlarını olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada da (14), duyuusal açıdan değişikliğin olmadığı bildirilirken bizim çalışmamızda jelatinde dozun artmasıyla tat değerleri açısından panelistlerin beğenilerinde biraz düşüş olduğu gözlenmiştir (Tablo 3). Bu düşüşün yoğurtta sezilen doğal olmayan sert plastik yapıdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Genellikle katkıların kullanılan doza bağlı olarak serum ayrılmasını olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Ancak bütün deneme gurupları ayrılan serum miktarı açısından aynı derecede başarı sağlamamıştır. Jelatin ve ksantan bu açıdan oldukça iyi sonuçlar vermiştir. Jelatin ile üretilen deneysel yoğurt örneklerinde doz arttırıldıkça serum ayrılması miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuç pek çok araştırmacının çalışması ile paralellik göstermektedir (18, 25, 27). Pektin ve CMC'nin yüksek dozlarında, yoğurt yapısı oluşmadığı için serum ayrılması değerleri ölçülememiştir. Doz azaltıldıkça serum ayrılması

değerlerinin ölçülebildiği ancak yine de pektin ve CMC'nin serum ayrılmasını engellemede tamamı ile yeterli olmadığı gözlenmiştir. Bu sonuç pek çok araştırmacının sonucu ile uyumlu görülmektedir (15, 16, 25). Bir çalışmada da (1) katkıların serum ayrılması miktarını azaltmadığı belirtilmektedir. **14. günde** serum ayrılması değerleri azalmıştır. Bir çalışmada (1) zamanın serum ayrılması üzerindeki etkilerinin önemsiz bulunduğu belirtilirken, çalışmamızda zamanın serum ayrılması üzerine etkisi olumlu bulunmuştur. Bu sonuç pek çok araştırmacının sonucu ile paralellik göstermektedir (25, 27). **pH** ile ilgili olarak belirgin bir düşme veya yükselme gözlenmediği ve bu sonucun literatürlerle (15, 18) uyumlu olduğu tespit edilmiştir. En iyi toplam puanın % 0.2 oranında jelatin katılan yoğurtlarda olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç pek çok araştırmacının sonucu ile paralellik göstermektedir (11, 17, 25).

İkili denemelerin görünüş açısından; tekli denemelere oranla daha kötü sonuç verdiği, kontrolün de daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Ancak pektin+ CMC (2K4) tek denenen pektin ve CMC'ye kıyasla daha iyi sonuçlar vermiştir. Karragenanın jelatin ile iyi bir kombinasyon oluşturduğu söylenebilir. Kıvam kaşık ile incelendiğinde kontrol yoğurtların ilk gün için Karragenan+ jelatin (2K5) dışındaki katkılı yoğurt numunelerinden daha kıvamlı olduğu tespit edilmiştir. Kıvam ağızda değerlendirildiğinde ise 2K2 ve 2K5'in daha iyi olduğu görülmüştür. **Serum ayrılması** değerlerine bakıldığında pektin+ ksantan (2K3) ve jelatin+ karragenan (2K5) denemelerinin en yüksek değerleri aldığı görülmektedir. Pektin ve ksantanın tek kullanıldıklarında serum ayrılmasını engelleyici etkilerinin daha az olduğu gözlemlendi. Kombinasyonların serum ayrılmasını değerlerini olumlu yönde etkilediği söylenebilir. Zamanın ikili denemler üzerine etkisi genelde olumlu bulunmuştur.

Üçlü denemeler görünüm yönünden değerlendirildiğinde, genelde üstte toplanan serum dikkati çekmiştir. Kontrol gurubu görünüm ve kıvam yönünden katkılı örneklerden daha fazla beğeni kazanmıştır. (Tablo 3). Pektin+ jelatin+ karragenan kombinasyonu olan 3K1, 14. gün sonunda kontrolden daha fazla beğeni kazanmıştır. Bütün numunelerde aslında sert bir yapı olmasına rağmen arzu edilen homojenlik ve pütürlü bir yapı tam olarak oluşmamıştır. 14. gün sonunda görünüm ve kıvam değerleri artmıştır. Serum ayrılması değerleri incelendiğinde katkıların bir arada kullanıldıklarında tek olarak gösterecekleri etkiden daha iyi etki gösterdikleri görülmüştür (1, 9).

Elde edilen sonuçlar ışığında hazırlanan üç ve dört stabilizatör maddeden oluşan özel kombinasyonların görünüş açısından homojen ve parlak olduğu, genellikle yüksek dozdan

kaynaklanan dış yüzeyde pütürlü görüntünün oluşmadığı tespit edilmiştir. A ve B kombinasyonları aynı maddelerden oluştuğu halde, karregenanın B örneğindeki dozunun daha yüksek olması, görünüşün diğer kombinasyon örneklerinden daha kötü olması sonucunu doğurmuştur (Tablo 3). B hariç özel kombinasyonların hepsinin kontrol gurubundan daha kıvamlı ve kaşıkla ters çevrildiğinde düşmeyen özellikte ve ağızdaki dolgunluğunun daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Özel kombinasyonlarla yapılan denemeler tekli, ikili ve üçlü denemelere göre daha başarılı bulunmuştur. Bunun nedeni literatürlerde de belirtildiği gibi (16, 26) dozun uygun şekilde ayarlamasıyla bağlantılıdır.

Piyasadan toplanan özel karışımlarla elde edilen deneysel yoğurt numunelerinde çok başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Bütün denemelerde küf- maya analiz sonuçları Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde belirtilen sınırlar dahilinde bulunmuştur. **pH değeri** 1. ve 14. günlerde normal seyir göstermiştir. Tat ve koku açısından önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Tat değerlerindeki düşüşler genel olarak yoğurt yapısındaki olumsuzluklardan kaynaklanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Alpaslan, M., Gündüz, H.: Yoğurt Kalitesini Düzeltme İmkânı Üzerine Araştırma. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri. 6. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Tekirdağ. 2000. 500-508.
2. Anonim: Alfa-Laval Food Engineering A.B P.O Box 64 S-221 00 Lund Sweden.
3. Anonim: FDA. Bacteriological Analytical Manual for Foods. 8.th edition AOAC USA. 1995.
4. Anonim: TS 1330 Yoğurt Standardı. Birinci Baskı. TSE. Ankara. Ağustos-1999.
5. Anonim: Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Fermente Sütler Tebliği. Sayı: 24512. Tebliğ No:2001/21.
6. Anonim: Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Sayı:23172. Ankara. Kasım 1997.
7. Atamer, M., Gürsel, A., Yıldırım, G.: Yoğurt Yapımında Kullanılan Stabilizatörler. III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu. Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları. İstanbul. 1994. No:548. 95-110.

8. Atamer, M., Yetişemeyen, A.: Potasyum Kazeinatın Yoğurt Üretiminde Kullanımı, A.Ü. Ziraat Fakóltesi Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Gıda Sanayii, 1987, 10-13.
9. Demirci, M., şimşek, O.: Süt İşleme Teknolojisi, Hasad Yayınları, İstanbul, 1997.
10. Demirci, M., Yüksel, N.A., Soysal, İ.M.: Memeden Mamül Maddeye Süt, Hasad Yayınları, 2. Baskı, İstanbul, 1992.
11. Fizman, S.M., Lluch, M.A., Salvador, A.: Effect of Addition of Gelatin on Microstructure of Acidic Milk Gels And Yoghurt and On Their Rheological Properties, International Dairy Journal, 9, 1999, 895-901.
12. Glicsman, M.: Food Hydrocolloids Volume III, CRS press, 1983.
13. Gönc, S., Gahun, Y.: Hidrokolloidler ve Bunların Sütçölükte Kullanılmaları, E.Ü.Ziraat Fakóltesi Dergisi, 1980, 17/2, 49-67.
14. Gönc, S.: Yoğurt Teknolojisi ve Kalite Kontrolü: Ekşime Hatası, Etkisi ve Alınacak Önlemler, Ulusal Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Milli Prodük tivite Merkezi Yayınları, Ankara, 1989, 394, 191-207.
15. Gülümser, N.: Karboksimetilselölöz ile Ayranın Dayanıklı Hale Getirilmesi Üzerine Araştırmalar, E.Ü Ziraat Fak. Tarım Ürünleri Teknolojileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 1986.
16. Güven, M., Hayaloğlu, A.: Hidrokolloidler ve Süt Teknolojisinde Kullanılmaları, Gıda Dergisi, 2001, 2001-07, Yıl:6.
17. Güven, M.: Stabilizör Kullanımının Yoğurtların Kalite Kriterleri Üzerine Etkileri, Gıda, 1998, 23(2), 133-139.
18. Güventürk, U.: Dayanıklı Ayran Yapımı Üzerinde Bir Araştırma, İzmir İl Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü, İzmir, 1989, Yayın No:28.
19. İnal, T., Ergün, Ö.: Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi, Teknik Yayınları, İstanbul, 1996.
20. Kammer, L.F., Kessler, H. G.:Einflisse Auf Die Stabilitcef Con Steichfasten Yughurt. Die Molkereizeitung welt Der Milch, 1980,34/16,493-494.

21. Kınık, Ö., Uysal, H.R., Akbulut, N.: Ekşi Süt Mamüllerinde Duyusal Değerlendirme. III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu. Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları. Ankara, 1995, No:548, 304-311.
22. Mogensen, G.: Starter Cultures. S:2. In Technology of Reduced-Additive: Foods Edited by: Smith, J.Prince Edward Island food Technology Centre. Canada, 1993.
23. Pomeranz, Y.: Fonctional Properties of Food Compenents.1985.
24. Rosenthal, A. J.: Food Texture. Measurement and Perception Oxford Brookes Universty U.K, 1999.
25. Sezgin, E., Bayram, G., Atamer, M.:Yoğurt Yapımında Bazı Stabilizatör Maddelerin Katılması. Gıda Sanayi Dergisi. 1989, cilt 2, Sayı:6.
26. Tamime, A.Y., Robinson, R.K.: Yoghurt Science and Technology. Second Edition. Woodhead Publishing Limited. 1999.
27. Tayar, M., Şen, C., Güneş, E.: Yoğurt Üretiminde Bazı Stabilizatör Maddelerin Kullanılması. Gıda. 1995, 20 (2), 103-106.

İŞLETMELERDE PEST PROBLEMİ ve GIDA HİJYENİ AÇISINDAN ÖNEMİ

Filiz AKSU¹

Sema SANDIKÇI ALTUNATMAZ²

Gürhan ÇİFTÇİOĞLU³

¹ Anadolu Bil Meslek Yüksek Okulu, Gıda Teknolojisi Programı, Florya, İstanbul

² İ.Ü.Veteriner Fakültesi Meslek Yüksek Okulu Gıda Teknolojisi Programı, Avcılar, İstanbul

³ İ.Ü.Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul

ÖZET: Rodents, insects and birds are commonly considered as food pests. Pests can cause physical damage on food, packaging, equipments and sometimes on the fabric of the building. Such damages can lead to physical contamination of food and to create health and safety hazards. They are significant sources of foreign objects and materials such as fur, feathers, droppings, urine, insect eggs and larvae. Pests are significant potential sources of microbiological hazards. They may carry germs originated from the environment of a food plant. Flies, in particular, can transfer hazardous contaminants from dirty to clean areas. Many pest species are also carriers of micro-organisms, which could cause food poisoning. Therefore, an effective pest control program is necessary all food establishments in order to produce safe food.

PEST PROBLEM AND IMPORTANCE FOR FOOD HYGIENE

SUMMARY: Rodentler, insektler ve kuşlar yaygın olarak gıda zararlıları olarak değerlendirilirler. Bunlar gıda ürünlerinde, ambalajlarda, ekipmanlarda, işletme binasının yapısal unsurlarında fiziksel zararlara neden olurlar. Bu tip zararlar sonucunda gıdaların fiziksel kontaminasyonları, sağlık ve güvenlik riskleri meydana gelir. Kıl, deri, dışkı parçaları, idrar izleri, insekt yumurtaları ve larvaları gibi kısımlar yabancı materyallerin önemli kaynaklarıdır. Aynı zamanda mikrobiyolojik risklerin önemli bir potansiyel kaynağıdır. Gıda işletmelerine çeşitli etkenleri taşırlar. Özellikle sinekler kirli alanlardan temiz alanlara kontaminasyonda önemlidirler. Pek çok pest türü gıda zehirlenmelerine neden olan mikroorganizmaların taşıyıcısı olarak önemli rol oynar. Bu nedenle, güvenilir bir gıda üretimi için tüm gıda işletmelerinde etkin bir pest kontrol programı gereklidir.

GİRİŞ

Vücutlarında bulunan hastalık etkenlerini ısırarak deri veya mukoza içine bırakan, ya da vücutlarının dış kısmında bulunan hastalık etkenlerini derinin veya besin maddelerinin üzerine bulaştıran omurgasız eklem bacaklı hayvanlara pest adı verilir. Sivrisinek, tatarcık, bit, pire, karasinek, kene, hamamböceği ve tahtakurusu insan sağlığı ve işletme hijyeni açısından önemli olan belli başlı pestler olup bazı araştırmacılar fare, sıçan ve gelincik gibi omurgalı hayvanları da bu sınıfa dahil etmektedir. Ancak son yıllarda büyük satış noktaları, gıda depoları ve toplu tüketim alanlarında kuşların da önemli zararlar meydana getirdiği görülebilmektedir. Gıda maddesi üreten işletmeler fare, sıçan, karasinek, hamamböceği gibi canlıların kolayca beslenip çoğalabildiği, zararlı etkilerini buralarda üretilen gıda ve bu gıdaları tüketen tüketiciler üzerinde de gösterebildiği uygun ortamlardır. Pestler, işletmelerde sıklıkla hijyen problemlerine neden olmaları yanı sıra halk sağlığı yönünden önemli pek çok hastalığın da bulaşmasına neden olmaktadır. Bu hastalıklar arasında bakteriyel (veba, tularemi), viral (ensefalitler, dang humması), riketsiyal (Q humması), protozoal (sıtma, leishmaniosis, trypanosomiasis) ve helmint kaynaklı olanlar (filariasis) bulunmaktadır. Bu nedenle hijyenik gıda üretimine ve insan sağlığına özen gösteren işletmelerin pestlerle mücadelede önem vermeleri gerekmektedir.

İşletmelerde önem taşıyan pek çok pest çeşidi mevcut olmakla birlikte bunlar üç sınıf altında incelenebilir (1).

1. İnsektler
2. Rodentler
3. Kuşlar, evcil ve yabani hayvanlar

İŞLETMELERDEKİ ÖNEMLİ İNSEKTLER

İşletmelerde pek çok insekt problemi ile karşılaşmakla birlikte en sık rastlanılanları, hamamböceği, karasinek, karınca, depo zararlıları, tahta kuruşu, sivrisinek, tatarcık, pire ve örümceklerdir (8).

Hamamböcekleri

Hamamböceklerinin 3000'nin üzerinde türü bulunmakla birlikte bunların büyük çoğunluğu tropikal ormanlarda yaşamaktadır. Bunlardan ancak 10 tanesi insanlar için sorun oluşturmaktadır. Bu böcekler 250 milyon yıldır dünya üzerinde yaşamakta olup dünyanın her yerinde rastlanabilmektedir. Hatta kuzey ve güney kutuplarında yaşayanları bile bulunmaktadır (3, 4).

Halk arasında hamamböceği, kalorifer böceği veya karafatma olarak da adlandırılan bu insektler *Blattidae* ailesinin üyeleridir. İşletmelerde, gıda ve hastane sektöründe sorun yaratan en önemli hamamböceği türleri *Blatta orientalis*, *Blattella germanica*, *Periplaneta americana*'dır (2).

Hamamböceklerinin kitinsel yapıtlı sertleşmiş plakaların bulunduğu vücut duvarına böceğin iskeleti denir. Böcek yumurtadan çıkıp erişkin hale ulaşana kadar iskelet yani kabuk atılarak yenisi oluşur. Bu süreç yılda iki üç kez tekrarlanır. Böceğin üst tarafında, iskeletin alt kısmında yağ tabakası mevcuttur. Bu yağ tabakası böceğin enerji deposu olarak görev yaptığı gibi böcek ilaçlarının da etkisini azaltır. Hamamböcekleri olumsuz koşullara uzun süre dayanabilecek yapıya sahiptir. Örneğin susuzluğa 1 hafta, açlığa ise 1 ay dayanabilir (2).

Hamamböcekleri patojen bakterilerin taşıyıcılığını yaparak gıdaların kontamine olmasına neden olurlar. Bütün hamamböcekleri vücutları ve bacakları ile bu bakterileri taşımaktadırlar. Hamamböcekleri *Salmonella*, *E.coli* ve diğer bakterilerin yanı sıra hepatit ve polio gibi viruslar ile helmint yumurtalarının da bulaşmasında önemli rol oynamaktadırlar. Bunlarla birlikte kolera etkeni *Vibrio cholerae* ve veba etkeni *Yersinia pestis* de bu haşerelerin sindirim sisteminden izole edilmiştir (1,2).

Hamamböcekleri nadir olarak gün ışığında görülebilirler. Fotofobik canlılar olup gün ışığından rahatsız olurlar. Genellikle karanlık ortamları tercih etmekte, çatlak, kırık ve gizli mekanları kendilerine barınak olarak seçmektedirler. Çeşitli cihazlar, elektronik teraziler, bilgisayarlar ve cihazların motor kısımlarında yerleştikleri görülmektedir. Ayrıca elektrik panelleri ve kablo bağlantıları da yaşabildiği ve saklanabildikleri güzel mekanlardır. Bu böcekler insan gıdası olabilecek her yiyeceği tüketebildiği gibi odun ve odun parçacıkları, deri

ve kağıdı da tüketebilir. Ancak şeker gibi karbonhidratlı gıdaları özellikle tercih etmektedir. Ancak tutkal, pul, duvar kağıdı, kitap gibi materyallere de zarar verebilmektedir(3). .

Ev sinekleri

İnsektler içerisinde karasinek=ev sineği olarak da tabir edilen *Musca domestica* en önemli pestlerin başında gelir. Özellikle gıda işletmelerini ve servis ünitelerini yaşam mekanı olarak seçerler. Bu gibi yerlerin haricinde organik maddelerin sıklıkla bulunduğu ahırlar, çiftlikler, lağım çevreleri ve fekal materyallerin yoğun bulunduğu mekanlarda da yaşamlarını sürdürürler (2).

Karasinekler yumurtalarını sıklıkla organik ve fekal materyallerin üzerine bırakırlar. Her dişi sinek yaşam siklusu içerisinde 5 -6 kez her birinde toplam 50-200 yumurta içeren kitle bırakır. Yumurtalardan çıkan larvalar daha sonra pupa dönemini geçirerek erişkin hale dönüşürler. Nem oranı yüksek ve sıcak ortamlarda daha çok çoğalabilirler. Larval-pupal dönemlerinde daha düşük nem ve sıcaklıkları tercih ederler. 10-20 gün arasında değişen bir sürede yumurtadan erişkin hale geçerler. Çoğunlukla organik çürüme olan yerlerde ve çöplerin aralarındaki sızıntılarda gerçekleşen bu gelişim sonucunda ortaya çıkan ergin sinekler birkaç hafta yaşarlar(4).

Sinekler ayakları, hortumları ve vücuduna bulaşan hastalık etkenlerini (bakteri, virus, protozoon, helmint yumurtaları gibi) üzerine konduğu gıda ve insanlara bulaştırır. Bu nedenle gıdalarda ve insanlarda enfeksiyonlara neden olabilirler. Yaşadıkları alanlarda kirli materyallere, dışkı kaynaklarına konarak vücutlarını pek çok patojen bakteri ile bulaştırırlar. Ayrıca sindirim sisteminden çıkardığı sıvılar ile de üzerine konduğu gıdalarda bulaşmalara neden olabilir. Ağız yapıları sokma ve ısırma niteliği taşımadığı için yalayıcı ve emici özellikte gelişmiştir. Bu nedenle insan ve memelileri sokmamakla birlikte bacakları ve vücutları aracılığı ile binlerce zararlı madde ve mikroorganizmayı insanların yiyecek ve içeceklerine bulaştırma suretiyle bir çok hastalığın bulaşmasında rol oynarlar (2,4).

Pek çok hastalığın etkeni olan patojen bakteriler sineklerin vücut kısımlarında belirli süreler canlı kalabilir. Örneğin, tifo etkeni sinek dışkısında 2 gün, paratifo etkeni sinek ayaklarında 7 gün canlı kalabilmektedir. Yine *Shigella* grubu bakterilerin sineklerin ayaklarında 2 gün, hortumunda ise 4 gün canlılığını koruyabildiği belirtilmektedir (1,3).

Sinek mücadelesinde etkili bir sonuç alabilmek için bu canlıların hem beslenme, hem de üreme koşulları ile mücadele etmek gereklidir. Bu gereklilik çerçevesinde çevreden gübre ve hayvansal atıklar kurutulmalı, yakılmalı veya ortamdaki uzaklaştırılmalıdır. Buna ek olarak tüm gıda atıkları, çöpler ve diğer atık materyaller en kısa zamanda imha edilmelidir. Çöplerin ve atıkların bulunduğu üniteler sık sık temizlenmeli ve düzenli olarak boşaltılması sağlanmalıdır. Gıda işletmelerinin giriş noktalarına kontrol amaçlı olarak insect electrocutor' leri yerleştirilebilir. Ancak bu cihazların yerleştirilme koşulları ilgili tüzük ve yönetmeliklerde belirtildiği gibi olmalıdır. Gıda üretim hattına çok yakın yerleştirilmiş cihazlar cihazın çalışması ve temizlenmesi halinde kontaminasyonların meydana gelmesine neden olabilir. Bu canlıların üretim veya yaşam alanlarına girişini önlemek için hava perdeleri veya otomatik olarak açılan kapılar yerleştirilebilir. Kimyasal mücadele yöntemi olarak da çöplük etraflarının düzenli olarak insektisitler ile ilaçlanabilir (4).

Tahtakurusu

Tahtakuruları *Cimicidae* ailesinin üyeleri olup fotofobik (ışıktan korkan) canlılardır. Bu canlıların tamamı kan emici olup, uzun süre kan emmeden yaşayabilirler. Yumurtadan çıkan nimfler erginlere çok benzer, 5 kez deri değiştirdikten sonra erişkin hale geçerler. Otuz beş kadar türünün var olduğu bilinmekte olup bunlardan sadece üç tanesi (*Leptocimex boueti*, *Cimex hemipterus*, *Cimex lectularius*) insanlarda parazitlenir. İnsanlarda parazitlenen ve ülkemizde de bulunan en önemli tür *Cimex lectularius* (yatak tahtakurusu)dur. Rengi sarımsı kahverengi olup gerek erginleri, gerekse de nimfleri, geceleri gizlendikleri duvar yarıkları, mobilya çatlakları, yatak araları, sunta kenarlarından çıkarak insanların yattıkları yerlere gelirler ve kısa süre içinde kan emerek uzaklaşırlar. Ayrıca fare, sıçan, diğer kemirgen, kümes hayvanları ve köpeklerden de kan emebilirler. Bu kan emme esnasında canlıları oldukça rahatsız etmesi yanında çeşitli alerjik reaksiyonlara da neden olabilirler (10).

Tahtakuruları ile oluşan enfestasyona veya parazitliğe *Simisiyaz* (*Cimiciase*) denir. Kan emmeleri sırasında deriye enjekte ettikleri toksik tükürük salgıları şiddeti kişiden kişiye değişen alerjik tepkimelere neden olurlar. Bazı insanlarda hiçbir tepki gelişmez. Bazılarında ise sokma yerinde ödem ve iltihaplanma görülebilir. Uyku bozuklukları ve kaşıntılar, bazen de deride döküntüler görülebilir. Kan emmelerinden dolayı Hepatit B virüsünü mekanik olarak bulaştırdığı bazı araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (10).

İnsanlarda oluşturduğu bu tür rahatsızlıklar ve iş gücü kayıplarına neden olmasının yanı sıra kimyasal mücadelesi oldukça güç olan canlılardır. Bu tür enfestasyonların görüldüğü işletmeler ve yaşam mekanlarında periyodik ilaçlamaların yanı sıra bu canlıların yaşayabileceği ortam ve koşullar ortadan kaldırılmalıdır. Kırık ve çatlak mekanlar tamir edilmeli, düzenli bakım, badana ve boya yapılmalı, ahşap malzemelerin çatlak olmaması gerekmekte olup, özellikle sunta ekipmanlar tercih edilmemelidir. Ayrıca bu mekanlarda temizlik ve dezenfeksiyon koşullarına mutlaka dikkat edilmelidir (10).

Karıncalar

Karıncalar çeşitli işletmelerde en sık rastlanan insektler olabilirler. Bu insektler gezdikleri mekanlardan aldıkları çeşitli hastalık etkenlerini mutfak yüzeylerine ve gıdalara bulaştırarak gıda zehirlenmeleri ve bozulmalarına neden olabilir (1).

Depolanmış ürün zararlıları

Bu gruba dahil olan insektler hastalıklara neden olmasından ziyade önemli ekonomik kayıplara neden olurlar. Ambarlarda rastlanan ürün zararlılarından en önemlileri *Coloeptera* ve *Lepidoptera*'dır. Bunlardan *Coloeptera* takımındaki zararlılar bit adıyla tanınmaktadır. Ambarlarda zararlı kelebekler de güve olarak adlandırılırlar verilir. Depolarda sık olarak rastlanan diğer zararlılar da hamamböcekleri, arılar, karıncalar, sinekler, fare ve sıçanlardır. Depolanmış ürün zararlılarının dışkıları, larva ve pupa devreleri, ölü böcekler ürünün kirlenmesine sebep olurlar. Sağlığa zararlı zehirli maddeler, gıda ile alınan böcek vücut parçaları, ishal, solunum yolu allerjisi, kaşıntı, astım, iştah azalması ve bakteriyel enfeksiyonlar şeklinde insanlarda rahatsızlıklara neden olabilir. Buğday bitleri ve un kurtları ölü farelerden veba basilini taşıyabilir. Ürünün az da olsa bulaşık olması ticari problemlere de neden olabilir. Bazen bu şekilde bulaşık olan ürünler karantina kapılarından veya dış pazardan geri çevrilerek müşteri kayıplarının meydana gelmesine neden olabilir (6).

Bu tür zararlılardan korunmak için hububat saklanan depolarda sıcaklık 5-25 °C arasında olmalıdır. 15 °C 'nin altındaki sıcaklık dereceleri böcek faaliyeti için uygun olmayan ısılardır. Depo yapılırken gereksiz olan girinti ve çıkıntıların bulunmaması gerekir. Depoların duvar ve çatısı fare ve kuşların yerleşimine uygun olmamalıdır. Zemin kuru ve nem çekici özellikte

olmamalıdır. Raflar doğrudan duvarla temas etmemeli, duvarla arasında en az 0.5 m'lik açıklık bulunmalıdır. Depolama direkt zeminde olmamalı ızgaralar üzerinde olmalıdır. Depo çevresindeki çalılık ve çöpler fare gibi zararlıların yerleşimini engellemek için temizlenmelidir. Depo an az haftada bir kez temizlenmelidir (6).

Depolanmış ürün zararlıları ile kimyasal savaşta en etkili ve en çok uygulanan yöntem fumigasyon(gazlama)'dur. Bu amaçla da en çok kullanılan fumigantlar Methyl bromid ve fosforlu hidrojen'dir. Bu fumigantlardan Methyl bromidin fungisid, bakterisid ve nematisid etkisi de vardır ve çok zehirli bir fumiganttır. Ancak yetişmiş ve yetkili personel tarafından özel ekipman kullanılarak özel talimatına göre uygulanmalıdır (6,7).

RODENTLER

Fare ve sıçanlar *Muridae* familyasından (Takım: Rodentia, Sınıf: Mammalia) olup bunlara ait pek çok tür evlerde, depolarda, gıda üretim alanlarında ve tarlalarda hijyen ve sağlık problemleri yanı sıra ekonomik zararlara da neden olurlar. En önemli türler *Mus musculus*(ev faresi), *Mus cardinus avellanarius* (findık faresi), *Microtus guntheri*(tarla faresi), *Rattus rattus* (ev sıçanı-gemi faresi), *Rattus norvegicus* (göçmen sıçanı)dır (3.6).

Ev fareleri yaklaşık 10 000 yıldır insanlarla ortak bir yaşamı paylaşmaktadır. Hindistan da hayvanlara büyük saygı duyulmakta ve bazı hayvanlar tanrıların yanında yerlerini almaktadırlar. Bu hayvanlardan birisi de farelerdir (11).

Fare ve sıçanlar aslında bitki yiyicisidirler. Ancak gıda seçiminde çevre imkanlarına kolayca uyum sağlarlar. Bütün tarımsal ürünlere zarar verebilmekte ve önemli ekonomik kayıplara neden olabilmektedirler. Bütün dünyada fare ve sıçanlar nedeniyle tahıllarda meydana gelen kayıp yaklaşık tarlada 20 milyon ton, depoda 33 milyon tondur. Bir sıçan günde ortalama 10-15 g un ve 10 ml su tüketmektedir (6).

Fare ve sıçanlar türlerine göre çeşitli fiziksel farklılıklar gösterirler. Buna göre *Rattus rattus*(ev sıçanı); vücutça ince ve orta büyüklüktedir. Vücut uzunluğu 17-23 cm'dir. Kuyruğu ince ve yaklaşık 20-25 cm 'dir. Ağırlığı 120-175 g, kulakları büyük, kılsız ve saydam olup derisi kılsız arduaz veya siyah renktedir.

Mus musculus (ev faresi); vücutça sıçana göre küçük uzunluğu 7-8 cm'dir. Kuyruğu kılsız, 7-9 cm 'dir. Derisi kısa kıllara sahip olup rengi kahverengidir. Ağırlığı 9-25 cm arasında değişmektedir (6,9).

Rattus norvegicus(Norveç sıçanı, Göçmenkeme); uzunluğu 20-27, kuyruğu 17-23 cm ve ağırlığı 275-580 g'dır. Yurdumuzda Trakya, Marmara Bölgesi ile Karadeniz , Ege ve Akdeniz sahil şeridinde rastlanır. Yerleşim yerlerinde, evlerin içi ve civarında, kanalizasyonlarda, kanal ve akarsu boylarında yaşar. Gıdaları arasında hayvansal besinler ağırlık taşır. Leşleri yediği gibi civciv ve tavuklara saldırabilir. Bebeklere hatta güçsüz canlılara saldırdıkları saptanmıştır. Geceleri besin aramak için 3 km yol katedebilir (9) .

Laboratuvarlarda deney hayvanı olarak kullanılan Albino sıçanlar *Rattus norvegicus*'lardan üretilmiştir. Kuduz, tifus, tirişin, tularemia ve daha pek çok hastalığı insanlara bulaştırabilirler. Özellikle taşıdıkları Karaveba hastalığından 1342-1357 yılları arasında Avrupa nüfusunun %25, 1892-1918 yıllarında da Hindistan'da 11 milyon insan ölmüştür. Bu hayvanlardaki ilginç bir davranış tehlike karşısında kuyrukları ile birbirlerine düğümlenmeleridir. Daha fazla yeni yavruarda görülen bu tip düğümlere "yaşayan gordion düğüümü"denilmekte olup nedeni tam olarak açıklanamamaktadır (9).

Hem erkek hem de dişi ev sıçanları 50-60 günde cinsel olgunluğa ulaşırlar. Dişilerde hamilelik süresi 21-25 gün olup hayat uzunluğu 3 yıldır. Her doğumda yaklaşık 8-10 yavru doğururlar(3,5).

Fare ve sıçanların çok gelişmiş koku ve tat alma kabiliyetleri vardır. Duyma kabiliyetleri çok iyi gelişmiştir. Görme kabiliyetleri kısa mesafelerle sınırlı olup renk körüdürler. Sıçanlar aynı zamanda iyi birer yüzücü olup su dibinde uzun süre hareketsiz kalabilirler. Sıçanlar borular, duvarlar ve binalara tırmanabilirler. 4 m yükseklikten 2.6 m uzaklığa atlayabilirler (4,5,6).

Farelerle mücadelede öncelikle bu canlıların yaşam mekanlarının ortadan kaldırılması gerekmektedir. Uzun süre ortalıklarda bırakılan depo artıkları, hurdalıklar, pislik ve süprüntüler farelerin çoğalmasına sebep olurlar. Farelerle mücadelede ani ölümler tehlikenin kolay fark edilmesine neden olacağından bu yöntem tercih edilmez. Ayrıca farelerin tehlikeli olabilecek yiyecek veya cisimleri bir birlerine öğretebilme yetenekleri olduğu için

mücadelede bu özellikte göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle farelerle mücadelede daha çok kronik etkili olan anticoagulan etkili preparatlar tercih edilmelidir (2,5).

Kemirgenlere karşı kullanılan kimyasal maddelere rodentisit adı verilir. Fare mücadelesinde kullanılan en önemli rodentisitler cumarin bileşikleridir. Cumarin bileşikleri kemirgen vücudunda iç ve dış kanamalara neden olur. Ölüm aniden olmaz, uzun bir beslenme sürecinden sonra meydana geldiğinden fare popülasyonunda ölüm sebebi fark edilemez. Mücadelede ayrıca toz preparatlar da kullanılmaktadır. Fareler yalanmayı seven hayvanlar olduğu için dolaşmaları esnasında vücudunun dış yüzeyine bulaşan zehiri yalanma ve kendini temizleme işlemi esnasında vücuduna kolayca alabilmektedir (5).

KUŞLAR

Yabanileşmiş ev güvercinleri, sığırcık sürüleri şehirlerde binaları ve özellikle de hipermarketler içerisinde gıda maddelerini kirleterek patojen mikroorganizmaların yayılması ve bir çok dış parazitin taşıyıcısı olarak önemli zararlar vermektedir. Bir çok ülkede kuşlara karşı zehirli maddelerin kullanılması yasaklanmış veya yasalarla sınırlı hale getirilmiştir. Bu nedenle daha çok fiziksel mücadele yöntemlerinden kuş korkulukları, yırtıcı kuş atropaları, asetilen ile çalışan ses korkutucuları gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlarla birlikte kullanımları bir çok ülkede yasalarla sınırlandırılmış avisidler, kuşlardan koruma maddeleri, sürü korkutma maddeleri, uyuşturucular ve kısırlaştırıcılar da çeşitli ülkelerde kuşlarla mücadelede kullanılmaktadır (5).

ÖNERİLER

Gıda işletmelerinde zararlılarla mücadelede temel alınması gereken husus işletmenin kuruluş yeridir. Akarsu kenarları, çöp yığınları, fundalık, çalılık ve gölcüklerin bulunduğu yerler, hurdalık ve kanalizasyon atıklarının bulunduğu alanlarda kurulan işletmelerde mücadele oldukça zordur. Bu nedenle işletme kurulmadan önce uygun yer seçimi yapılmalı eğer bu durum mümkün değilse işletme çevresi düzenlenmeli ve pestlerin yaşama mekanları sınırlandırılmalıdır.

Gıdaların üretim aşamasında da insect ve rodentlerle mücadele büyük önem taşımaktadır. Üretilen gıdaya bu tür vektörlerle mikroorganizmaların bulaşmasını önlemek için tüm hazırlık ve servis bölgeleri insect ve rodent mevcudiyeti açısından temizlenmiş olmalıdır. Kapılar otomatik olarak kapanabilmeli ve vektörlerin girişini önlemek için çift girişli olmalıdır. Kapı ve pencereler mümkün olduğunca kapalı tutulmalıdır. İşletmedeki tüm tezgah ve masalar, satış üniteleri ve zemin iş bitiminden sonra insect ve rodentlerin cezbediciliğini önlemek için gıda partiküllerinden temizlenmeli ve ortamdan uzaklaştırılmalıdır.

İşletmelerde böcek ve farelerin yerleşeceği mekanların oluşması engellenmeli, periyodik aralıklarla boya ve badana işlemleri uygulanmalıdır. Ayrıca duvarlardaki ve fayanslardaki kırık ve çatlak kısımlar zaman geçirilmeden tamir edilmelidir.

Pest kontrol mücadelesi uzmanlık isteyen bir iştir. Zararlılarla mücadele gıda işletmelerinde ayrı bir önem kazanmaktadır. Çünkü insektisit veya rodentisit'in yanlış veya hatalı kullanımı ve gıdalara bulaşması riski de göz önünde bulundurulmalıdır. Zararlılarla kimyasal mücadelede çevreye veya bu konuda hedef olmayan canlılara zarar verebilmesi ve bazı durumlarda da kullanılan kimyasal maddeye karşı bağışıklık oluşması söz konusu olabilir. Bu nedenle mücadelede uzman kişi ve kuruluşlarla çalışmalı mücadeleye ilişkin kayıtlar mutlaka tutulmalıdır. İşletmelerde problemin tespiti, mücadelede hedeflenen haşerelere karşı uygun insektisitlerin seçimi ve zaman zaman bağışıklık oluşumuna karşı insektisit ve rodentisitlerde rotasyon uygulaması, uygulama sırasında koruyucu tedbirlerin alınması, çevreye en az zararın verilmesi, uygulama dozları gibi konulara dikkat edilmeli ve çalışılan firmadan da bu tür özelliklere dikkat etmesi talep edilmelidir. Bu konuda çalışılan uzman ekipten insektisit veya rodentisit'in tipi, uygulama miktarı, uygulama tarihi, materyalin uygulama alanları, fare mücadelede istasyonların yerleşim noktaları ve mücadelenin gelişimi ile ilgili dökümanlar ve her ziyaret sonrasında kontrol formları talep edilerek dosyalanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Chestworth,N. (1997): Food Hygiene Auditing.Blackie Academic and Professionel, London.
2. Kenber,M. ve Mc Currah, W. (1990): Health, Hygiene and Safety in Hotel and Catering Industry. (Ed.R.Hayter) Glasgow College of Food Tech.Hotel and Catering Training Company, Glasgow.
3. Troller,J.A.(1993): Sanitation in Food Processing.(2nd ed.) Academic Press,inc.,New York.
4. Davenport,J.K.(1982): Food Hygiene in the Catering and Retail Trades. H.K.Lewis&Co., London.
5. Özgür, A.F.(2000): Tarımsal Savaş Yöntemleri ve İlaçları-1. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No: C-53, 4. baskı, Adana.
6. Özgür, A.F.(1999): Depolanmış Ürün Zararlıları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No: C-23, 3. baskı, Adana.
7. Özenli,F.(1998): Sağlık ve Hijyen. Veteriner Hekimlikte Dezenfeksiyon ve Hastalıklara Karşı Önlemler.1. baskı, Mega Basım, İstanbul.
8. Doğruer, Y. (2000): Veteriner Halk Sağlığı. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi. 1.baskı, Konya.
9. Çanakçıoğlu, H. Ve Mol, T. (1996): Yaban Hayvanları Bilgisi. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 3948, İstanbul.
10. Öktem, N. ve Göçmen, B.(1998): Genel parazitoloji Uygulama Kitabı.Ege Üniversitesi Basımevi, 1. baskı, İzmir.
11. Binbaşaran,B.(2002): Ortağımız fare. Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi. Cilt 35, Sayı 417, Ankara.

ELAZIĞ BÖLGESİ'nde TÜKETİME SUNULAN AÇIK AYRANLAR ile ORJİNAL AMBALAJLI AYRANLARIN MİKROBİYOLOJİK ve KİMYASAL KALİTESİ

Bahri Patır

Gülsüm Öksüztepe

Pınar Şeker

Abdullah Dikici

Fırat Üniv., Veteriner Fak., Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı - ELAZIĞ

Özet : Bu araştırma, Elazığ' da tüketime sunulan açık ve orijinal ambalajlı ayranların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesini saptamak amacıyla yapıldı. Araştırmada 50 adedi açık, 50 adedi de orijinal ambalajlı ayran olmak üzere toplam 100 adet örnek incelendi.

Açık ayran örneklerinde toplam mezofilik aerob bakteri sayısı ortalama olarak $8,02 \pm 0,08 \log_{10}$ kob/ml, *Staphylococcus-Micrococcus* mikroorganizma sayısı $2,01 \pm 0,19 \log_{10}$ kob/ml, maya ve küf sayısı $5,52 \pm 0,14 \log_{10}$ kob/ml düzeyinde tespit edildi. Orijinal ambalajlı ayran örneklerinde ise toplam mezofilik aerob, *Staphylococcus -Micrococcus* mikroorganizma ve maya - küf sayıları sırasıyla $7,03 \pm 0,16 \log_{10}$ kob/ml, $2,50 \pm 0,16 \log_{10}$ kob/ml ve $3,76 \pm 0,30 \log_{10}$ kob/ml seviyesinde bulundu.

Koliform bakteri sayısı açık ayran örneklerinde ortalama olarak $5,08 \times 10^2 \pm 9,68 \times 10^1$ EMS/ml, orijinal ambalajlı örneklerde ise $5,01 \times 10^1 \pm 2,35 \times 10^1$ EMS/ml değerlerinde saptandı. İncelenen açık ayran örneklerinin % 88' inin, orijinal ambalajlı örneklerin % 18' inin $1,0 \times 10^1$ EMS/ml den fazla koliform bakterilerini içerdiği görüldü. Ayrıca, açık ayranların % 100' ünde maya ve küf sayısının $1,0 \times 10^3$ kob/ml' den fazla olduğu, orijinal ambalajlı örneklerin ise %28' inin $1,0 \times 10^1$ kob/ml' den az, % 72' sinin de $1,0 \times 10^3$ kob/ml' den fazla maya ve küf içerdiği gözlemlendi.

İncelenen açık ayran örneklerinde ortalama pH değeri 3,74, asitlik miktarı (la. cinsinden) % 0,99, yağ miktarı % 1,39, kuru madde miktarı % 5,66, tuz miktarı % 0,86 oranlarında saptandı. Orijinal ambalajlı ayran örneklerinde ise pH değeri 3,91, asitlik % 0,97, yağ % 1,77, kuru madde % 7,23, tuz % 1,04 olarak tespit edildi.

Türk Gıda Kodeksi'nde bildirilen sınıflandırmaya göre, açık ayran örneklerinin % 56' sının tam yağlı, % 28' inin yarım yağlı ve % 4' ünün de yağsız olduğu bulundu. Orijinal ambalajlı ayran örneklerinin ise % 82' sinin tam yağlı, % 16' sının yarım yağlı olduğu belirlendi. Orijinal ambalajlı ayranlarda yağsız sınıfa giren örneğe rastlanmadı. Orijinal ambalajlı ayran örneklerinin % 2' sinde 2119 ppm miktarın da sorbik asit tespit edildi.

Sonuç olarak, incelenen açık ve orijinal ambalajlı ayranların hem kimyasal, hem de mikrobiyolojik açıdan arzu edilen düzeyde olmadıkları, açık ayranların mikrobiyolojik kalitelerinin orijinal ambalajlı ayranlara göre daha düşük olduğu, bu nedenle halk sağlığı açısından yeterli güvenceye sahip olmadığı kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler : Ayran, Mikrobiyolojik, Kimyasal, Kalite

MICROBIOLOGICAL and CHEMICAL QUALITY of PACKAGED or NON-PACKAGED AYRAN MARKETED in ELAZIĞ

Bahri Patır¹ Gülşüm Öksüztepe¹ Pınar Şeker¹ Abdullah Dikici¹

¹: Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Firat University, 23119 Elazığ, Turkey.

Abstract: This study was undertaken to determine the microbiological and chemical quality of ayran sold as packaged or non-packaged in Elazığ. A total of 100 ayran samples (50 packaged, 50 non-packaged) were analyzed.

In non-packaged ayran samples, average numbers of total mesophilic aerobic bacteria were $8,02 \pm 0,08 \log_{10}$ cfu/ml, *Staphylococcus-Micrococcus*, yeast-mold were $2,01 \pm 0,19 \log_{10}$ cfu/ml. In packaged samples, numbers of total mesophilic aerobic bacteria, *Staphylococcus-Micrococcus*, and yeast-mold were $7,03 \pm 0,16 \log_{10}$ cfu/ml, $2,50 \pm 0,16 \log_{10}$ cfu/ml and $3,76 \pm 0,30 \log_{10}$ cfu/ml, respectively.

Numbers of coliform bacteria were determined as $5,08 \times 10^2 \pm 9,68 \times 10^1$ EMS/ml in non-packaged samples and as $5,01 \times 10^1 \pm 2,35 \times 10^1$ EMS/ml in packaged ayran samples. It was found that 88% of non-packaged samples and 18% of packaged samples contained coliform greater than $1,0 \times 10^1$ EMS/ml. In addition, numbers of yeast-mold were greater than $1,0 \times 10^3$ cfu/ml in non-packaged ayran samples where as they were lower than $1,0 \times 10^1$ cfu/ml in 28% and higher than $1,0 \times 10^3$ cfu/ml in packaged samples.

pH, acidity (la), fat, dry-substance, and salt levels in non-packaged ayran samples were found as 3,74, 0,99%, 1,39%, 5,66% and 0,86%, respectively. The corresponding values for packaged samples were, 3,91, 0,97%, 1,77%, 7,23%, and 1,04%, respectively.

Based on the classification in the Turkish Food Codex, it was found that 56% of the non-packaged ayran samples were full-fat, 28% of those were ½-fat, and 4% were fat-free. Corresponding numbers for packaged samples were 82% were full-fat and 16% were ½-fat. None of packaged samples were classified as fat-free.

In 2% of the ayran samples, 2119 ppm sorbic acid was determined.

As a result, microbiological and chemical quality of both packaged and non-packaged ayran samples investigated were not at the desired level. Microbiological quality of non-packaged ayran was worse than that of packaged ayran. Therefore, nonpackaged ayran type did not have sufficient food safety assurance to protect public health.

Key words : Yoghurt drink , Microbiological, Chemical, Quality

DONDURULARAK MUHAFAZA EDİLEN VAN GÖLÜ İNCİ KEFALİ'NDA (CHALCALBURNUS TARICHI, PALLAS 1811) VİTAMİN E DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Emrullah SAĞUN¹, İbrahim YÖRÜK², Kamil EKİCİ¹, Hakan SANCAK¹

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

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Van.

esagun@yyu.edu.tr

Özet: Bu araştırma, değişik şekillerde ambalajlanan ve dondurularak muhafaza edilen İnci Kefali'nin vitamin E miktarı üzerine baş ve iç organları çıkarmanın, ambalajlama şeklinin ve muhafaza süresinin etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, bütün halde ve baş ve iç organları çıkartılıp temizlenen balıklar vakumlu ve vakumsuz olarak ambalajlanmış ve -35 °C'de dondurulduktan sonra -18 °C'de 150 gün süreyle muhafaza edilmiştir. Muhafaza süresinin 1., 15., 30., 60., 90., 120. ve 150. günlerinde vitamin E miktarları HPLC metoduyla belirlenmiştir. Dondurularak muhafaza edilen örneklerde muhafaza süresi ile baş ve iç organları çıkarma işlemi vitamin E düzeyinin azalmasına neden olmuştur (P<0.05). Vakumsuz ve vakumlu olarak ambalajlanan örneklerin vitamin E düzeyleri arasında bir fark görülmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Balık, İnci Kefali, vitamin E, α-tokoferol, HPLC, dondurarak muhafaza.

THE DETERMINING OF VITAMIN E LEVELS IN PEARL MULLET OF VAN LAKE (CHALCALBURNUS TARICHI, PALAS, 1811) STORED AT FROZEN CONDITION

Abstract: The aim of this study was to determine the effect of evisceration of head and intestines, packaging type and storage time on amount of the vitamin E and in different type packaging frozen storage of pearl mullet. For this purpose, eviscerated and uneviscerated pearl mullet was packaged as unvacuumed and vacuumed in frozen at -35 °C than stored at -18 °C 150 days. Samples were taken on the, 1st, 15th, 30th, 60th, 90th, 120th and 150th days of storage for determining vitamin E with HPLC method. Treatment evisceration of pearl mullet and storage time was decreased vitamin E content in frozen storage of pearl mullet samples (P<0.05). No differences were observed between vitamin E levels packaged by vacuum and without vacuum packed.

Key words: Fish, pearl mullet, vitamin E, α-tocopherol, HPLC, frozen storage

Giriş

Vitaminler çeşitli biyokimyasal işlevler için gerekli olan ve genellikle vücutta sentezlenemedikleri için diyetle alınması zorunlu olan besin maddeleridir. Diyetle vitaminlerin yokluğu veya nispeten yetersiz oluşu çeşitli hastalıklara yol açmaktadır (14). Son zamanlarda stres ve biyokimyasal ara ürünler sonucu oluşan serbest radikallerin birçok hastalıkla ilişkili olduğunun tespit edilmesi antioksidan vitaminlere karşı olan ilgiyi artırmıştır (3, 10). Antioksidan olarak bilinen bileşikler organizmada oksijen radikallerinin temizlenmesini sağlarlar. Vitamin E de bu kimyasal bileşiklerden birisidir (5, 13).

Vitamin E insanlar için en önemli yağda çözünen antioksidandır. Vitamin E yetersizliği nörolojik bozukluklar, kanser, kas ve damar rahatsızlıkları gibi hastalıklara sebep olabilir (19). Vitamin E serbest radikallerin dokuları tahrip etmesini önler. Bu özelliğinden dolayı damar sertliği, kalp hastalıkları, hipertansiyon, eklem iltihabı, yaşlanma sorunları üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır (11, 14). Ayrıca immun sistemi kuvvetlendirir ve kanser, katarkt, Parkinson hastalığı ve diğer bir çok hastalıktan korunmada rol oynar (11). Vitamin E'nin yedi farklı şekli mevcut olup genel olarak tokoferol adını alırlar. Tokoferoller içerisinde de en aktif olanı α -tokoferoldür (9). α -tokoferol vitamin E'nin en aktif formu olduğu için diyetlerde toplam tokoferol yerine bu formun yer alması tercih edilir (11).

Tokoferoller ısıya çok dayanıklı fakat oksidasyona karşı çok hassastırlar. Gıdalarda bulunan vitamin E, oksidasyonla yıkıma maruz kalır. Bunu ısı, rutubet, ransit yağlar, ışık, alkali, demir ve bakır gibi bazı iz elementler artırır. İşlenmiş ve depolanmış gıdalarda üretim ve depolama esnasında vitamin E aktivitesinde önemli kayıplar olur (11). Bu nedenle gıdalarda bulunan vitamin E miktarı çok doymamış yağ asitlerinin miktarına ve bunların oksidasyon derecesine, işlenme ve ambalaj şekli ile muhafaza süresi ve sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir (7, 11).

Vitamin E değişik besin maddelerinde bulunur. En zengin vitamin E kaynakları bitkisel yağlar, yağlı tohumlar, yumurta ve karaciğerdir. Vitamin E en çok bitkiler tarafından sentezlenir. Bu yüzden bitkisel ürünler en önemli vitamin E kaynakları olmakla birlikte birçok hayvansal kaynaklı besin maddesinde de vitamin E bulunmaktadır (11). Balık etinin değişik düzeylerde vitamin E içerdiği bildirilmiştir (1, 2, 4, 11).

Dias ve ark. (4) inceledikleri 34 balık türüne ait 56 adet balık ve balık ürününde 0.13 ile 5.3 mg/100 g arasında vitamin E belirlemişler ve vitamin E içeriğinin türler arasında çok geniş bir aralıkta değişim gösterdiğini bildirmişlerdir.

Arslan ve ark. (2) farklı muhafaza sıcaklığı ve sürelerinin balık eti vitamin E miktarına etkisini belirlemek üzere yaptıkları bir araştırmada 17 hafta süreyle - 12 °C'de muhafaza ettikleri alabalık örneklerindeki vitamin E miktarının 711.3±48.8 µg/100 g'dan muhafaza süresi sonunda 52.4±7.2 µg/100 g'a, aynalı sazan örneklerinde 787.4± 28.5 µg/100 g'dan 165.2± 20.8 µg/100 g'a, karabalık örneklerinde 656.4± 35.3 µg/100 g'dan 78.6±15.7 µg/100 g'a düştüğünü; -18 °C'de muhafaza edilen alabalık örneklerindeki vitamin E miktarının 711.3±48.8 µg/100 g'dan muhafaza süresi sonunda 228.2±25.8 µg/100 g'a, aynalı sazan örneklerinde 787.4± 28.5 µg/100 g'dan 248.2± 30.3 µg/100 g'a, karabalık örneklerinde 656.4± 35.3 µg/100 g'dan 169.8±14.8 µg/100 g'a düştüğünü bildirmişlerdir.

Yapılan bir araştırmada taze ringa balıklarında muhafaza öncesi 1100 µg/100 g olarak belirlenen vitamin E miktarının -12 °C'de 3 ay süreyle muhafaza edilen örneklerde 500 µg/100 g, -23 °C'de muhafaza edilen örneklerde ise 800 µg/100 g düzeyine düştüğü belirlenmiştir (6).

Bazı araştırmacılar balık etindeki vitamin E düzeyinin rasyonla alınan vitamin E miktarına bağlı olarak arttığını ve balığın muhafazası süresince de azalma görülmediği bildirilmiştir (8, 15, 18, 20).

İnci Kefalı'nın bölge ekonomisinde ve bölgenin besin ihtiyacının karşılanmasında önemli bir yeri vardır. Et verimi, protein kalitesi yüksek ve fiyatı ucuz olan İnci Kefalı Türkiye'de avlanan iç su balıkları içinde ikinci sırada gelmektedir. Yaklaşık ağırlığı 60-65 gr arasında olup boy uzunluğu ise 15- 18 cm arasında değişmektedir (16).

İnci Kefalı'nın vitamin miktarı üzerine yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Yapılan bir araştırmada İnci Kefalı'nın kasındaki vitamin E (α -tokoferol) miktarını 24.48 ±1.92 µg/g olarak belirlenmiştir (1).

Bu araştırma, bütün halde ve baş ve iç organları çıkarıldıktan sonra vakumlu ve vakumsuz olarak ambalajlanıp dondurularak muhafaza edilen İnci Kefali'nin vitamin E düzeyi üzerine muhafaza süresinin etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırmada materyal olarak kullanılan taze İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*, Pallas 1811) Van'daki balıkçılardan temin edilmiştir. Laboratuvara getirilen balıkların bir kısmının baş ve iç organları çıkarıldıktan sonra bol su ile yıkanmış ve suyun iyice süzülmesi sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra örnekler 4 gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki balıklar bütün olarak (baş ve iç organlar çıkarılmadan) strafor tabaklara dizildikten sonra üstleri streç film ile kaplanmak suretiyle vakumsuz olarak (A grubu), ikinci gruptaki balıklar baş iç organları çıkarılıp temizlendikten sonra strafor tabaklara dizilerek üstleri streç film ile kaplanmak suretiyle vakumsuz olarak (B grubu), üçüncü gruptaki balıklar bütün olarak polietilen torbalara vakumlu olarak (C grubu) ve dördüncü gruptaki balıklar ise baş ve iç organları çıkarılıp temizlendikten sonra polietilen torbalara vakumlu olarak (D grubu) ambalajlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan örnekler -35°C 'de dondurulduktan sonra -18°C 'de 150 gün süreyle muhafaza edilmiştir. Analizi yapılacak örnekler buzdolabında çözündürülmüştür. Analizler 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Metot

Ekstraksiyon ve vitamin E tayini

Örneklerdeki vitamin E (α -tokoferol) tayini Miller ve Yang (12)'in belirttiği ekstraksiyon metodu modifiye edilerek yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, Agilent 1100 Germany) ile yapılmıştır.

Bu amaçla en az 5 balığın dorsal kaslarından alınan parçalar iyice homojenize edildikten sonra bundan plastik tüplere 1 g örnek alınmış ve üzerine proteinleri çöktürmek için 2 ml etanol (HPLC grade) ilave edilerek 1 dakika süre ile vorteksde karıştırılmıştır. Üzerine 3 ml hekzan (HPLC grade) eklenerek homojenize edildikten sonra tekrar 1 dakika vorteksde

karıştırılmıştır. Elde edilen homojenizat 2000 rpm'de 10 dakika süre ile santrüfjü edilmiş ve oluşan lipofilik faz alınmıştır. Hekzan uygulama işlemi iki kere yapılmış ve toplanan fazlar azot gazı akışı altında kurutulmuştur. Kalıntı 100 µl etanolde çözündürülmüş ve HPLC kolonuna enjekte edilmiştir (Miller ve Yang 1985). Vitamin E düzeylerinin HPLC ile belirlenmesinde 25 cm x 4.6 mm C 18 kolonu (Ace, Scotland), metanol (HPLC grade)-su (98:2) mobil fazı ile 1.5 ml/dak akış hızında kullanılmıştır. Tanılar deidore dedektörü ile 290 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Miktar belirlemede internal standart yöntemi uygulanmış, iç standart olarak α -tokoferol asetat (Sigma) kullanılmıştır (21).

İstatistiksel Analiz: Çalışmaya ait verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde varyans analizi, gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (17).

Bulgular

İncelenen örneklerdeki vitamin E düzeyleri Tablo 1'de sunulmuştur. A grubunda 1. gün 19.19 ± 1.12 µg/g olan vitamin E miktarı muhafaza süresi sonunda 06.76 ± 0.88 µg/g'a, B grubunda 15.51 ± 2.24 µg/g'dan 05.65 ± 0.31 µg/g'a, C grubunda 19.52 ± 1.56 µg/g'dan 06.26 ± 0.58 µg/g'a ve D grubunda 21.09 ± 3.69 µg/g'dan 07.43 ± 0.74 µg/g'a düşmüştür. Vitamin E miktarında muhafaza süresince bütün gruplarda azalma gözlenmiştir (Şekil 1).

Tablo 1. Dondurularak muhafaza edilen İnci Kefali örneklerindeki vitamin E düzeyleri (µg/g)

Günler	Gruplar			
	A	B	C	D
1	19.19 ± 1.12 a	15.51 ± 2.24 a	19.52 ± 1.56 a	21.09 ± 3.69 a
15	18.62 ± 4.73 a A	08.34 ± 1.71 b B	14.58 ± 1.70 ab AB	17.16 ± 1.71 ab A
30	19.01 ± 2.14 a A	09.55 ± 0.75 b B	13.38 ± 1.25 b AB	13.58 ± 2.40 b AB
60	13.79 ± 1.06 ab A	08.86 ± 0.86 b B	14.10 ± 1.02 ab A	13.04 ± 0.93 bc A
90	12.62 ± 1.09 b A	08.21 ± 0.62 b B	11.83 ± 1.02 bc A	07.93 ± 0.70 c B
120	10.85 ± 0.76 bc A	07.24 ± 0.69 b B	07.81 ± 0.59 cd B	07.68 ± 0.70 c B
150	06.76 ± 0.88 c	05.65 ± 0.31 b	06.26 ± 0.58 d	07.43 ± 0.74 c
Ort.	14.41 ± 1.10 A	9.05 ± 0.75 B	12.50 ± 0.99 A	12.56 ± 1.24 A

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur ($p < 0.05$).

A,B: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 1'deki ortalama değerler incelendiğinde en yüksek vitamin E miktarının A grubunda (14.41 ± 1.10 µg/g), en düşük değer B grubunda (9.05 ± 0.75 µg/g) olduğu, vakumlu olarak ambalajlanan gruplardaki (C ve D) vitamin E miktarlarının hemen hemen aynı olduğu görülmektedir.

Tablo 2. Dondurularak muhafaza edilen İnci Kefali örneklerindeki grup ortalamaları ($\mu\text{g/g}$)

Muamele	n	vitamin E ($\mu\text{g/g}$)
Bütün	42	13.45 $\pm$ 4.84 a
Baş ve iç organlar çıkarılmış	42	10.81 $\pm$ 4.97 b
Ambalaj tipi		
Vakumsuz	42	11.73 $\pm$ 5.05 a
Vakumlu	42	12.53 $\pm$ 5.08 a
Zaman (Gün)		
1	12	18.83 $\pm$ 4.09 a
15	12	14.32 $\pm$ 5.07 b
30	12	13.88 $\pm$ 4.38 bc
60	12	12.45 $\pm$ 2.63 c
90	12	10.15 $\pm$ 2.55 d
120	12	8.40 $\pm$ 1.81 de
150	12	6.53 $\pm$ 1.19 e

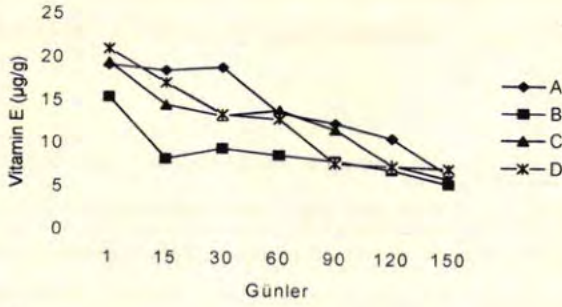
a,b,c,...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur ($p<0.05$).

Tartışma ve Sonuç

A grubundaki örneklerde vitamin E miktarı düzenli bir şekilde (30. gün hariç) azalmış, en fazla kayıp 30.-60. günlerde görülmüştür. B grubunda da vitamin E düzenli bir şekilde azalmış, en fazla kayıp 1.- 15. günlerde görülmüş, daha sonraki günlerde vitamin kaybı sınırlı kalmıştır. C ve D gruplarında da (C grubunda 60. gün hariç) düzenli bir azalma görülmüşken en fazla azalma C grubunda 1. - 15. günlerde, D grubunda 60. -90. günlerde görülmüştür. Bütün gruplarda muhafaza süresince vitamin E düzeylerinin azalması zamanla bu vitaminin okside olmasına ve balıkta bulunan özellikle çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna bağlanabilir. McDowell (11) işleme ve depolama süresince gıdalardaki vitamin E aktivitesinde ciddi kayıpların olduğunu ve okside olmuş yağların vitamin E'nin oksidasyonunu artırdığını bildirmiştir.

B grubunda 1.- 15. günlerde hızlı bir düşüş olması, D grubunda ise düşüşün daha yavaş olması (Tablo 1) bu gruptaki örneklerin vakumla ambalajlanması nedeniyle oksijenden korunmasına bağlanabilir.

Baş ve iç organlar çıkarılmadan bütün olarak muhafaza edilen örneklerdeki ortalama vitamin E miktarı 13.45 $\pm$ 4.84 $\mu\text{g/g}$, baş ve iç organları çıkarılarak muhafaza edilen örneklerdeki ortalama vitamin E miktarı 10.81 $\pm$ 4.97 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlenmiş olup (Tablo 2), her iki grup arasında fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bu durum gerek baş ve iç organları çıkartma ve gerekse muhafaza süresince bütünlüğü bozulan balıklardaki vitamin E ve yağların oksijenenden daha fazla etkilenmesinden kaynaklanmış olabilir.



Şekil 1: Dondurularak muhafaza edilen İnci Kefali örneklerindeki vitamin E miktarlarının günlere göre değişimi

Vakumsuz olarak muhafaza edilen örneklerdeki ortalama vitamin E miktarı 11.73 ± 5.05 µg/g, vakumlu olarak muhafaza edilen örneklerdeki ortalama vitamin E miktarı ise 12.53 ± 5.08 µg/g olarak belirlenmiş olup her iki grup arasında istatistik olarak önemli bir fark görülmemiştir (Tablo 2).

Arslan ve ark.(2) -12°C ve -18°C de 17 hafta süreyle muhafaza ettikleri kültür alabalığı, aynalı sazan ve karabalıkta muhafaza süresince her üç balık türünde de vitamin E miktarında önemli düşüşlerin olduğunu, Granroth ve ark. (6) Batlık ringa balıklarında muhafaza süresince vitamin E miktarında azalma görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu araştırmada elde edilen bulgular yukarıdaki araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Ancak değişik oranlarda vitamin E içeren rasyonlarla beslenen balıklarda, muhafaza süresince vitamin E miktarında azalma görülmediğini bildiren araştırmacılar (15, 18, 20) ile bu araştırmada elde edilen değerler benzerlik göstermemektedir.

Jensen ve ark. (8), değişik düzeylerde α -tokoferol içeren rasyonla beslenen ve -28°C 'de 18 ay süreyle muhafaza edilen alabalık örneklerinde muhafaza süresi sonunda örneklerin α -tokoferol miktarında bazı gruplarda önemli düşüşler görüldüğünü, bazı gruplarda muhafaza süresince bir değişiklik olmadığını, hatta bazı gruplarda ise 12 ay depolama sonunda α -tokoferol miktarının taze balıklardan daha yüksek olduğunu belirlemişler ve bunun balıklar arasındaki biyolojik farklılıktan kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir.

Bu araştırmada muhafazanın birinci gününde belirlenen vitamin E miktarları Akyüz (1)'ün taze İnci Kefali'nda belirlediği değerlerden biraz düşük olmakla birlikte benzer bulunmuştur.

İnci Kefali'nda belirlenen vitamin E miktarları Arslan ve ark. (2)'nin kültür alabalığı, aynalı sazan ve karabalıkta, Granroth ve ark. (6)'nın Batlık ringa balıklarında belirlediği değerlerden daha yüksek bulunmuştur.

Görüldüğü gibi çeşitli balıklarda belirlenen vitamin E miktarlarında ve depolama süresince meydana gelen vitamin E kaybını belirlemek amacıyla yapılan araştırmalarda farklı sonuçlar alınmıştır. Bu farklılıklar balıkların türü ile beslenme şekline, balıklarda bulunan doymamış yağ asitlerinin miktarına ve bunların oksidasyon derecesine, işlenme ve ambalaj şekli, muhafaza süresi ve sıcaklığı gibi nedenlere bağlı olabilir (4, 7, 8, 11).

Sonuç olarak; dondurularak muhafaza edilen İnci Kefali'nda muhafaza süresince vitamin E düzeyinde önemli kayıpların olduğu, en fazla kaybın baş ve iç organları çıkarılan ve vakumsuz olarak ambalajlanan grupta olduğu (B grubu), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Balıkları işleyerek muhafaza etmenin depolama, taşıma ve tüketiciye hazırlama kolaylığı sağlaması gibi faydaları olmakla birlikte üründe önemli miktarda vitamin E kaybına sebep olduğu gözlenmiştir. Baş ve iç organları çıkarıldıktan sonra dondurularak muhafaza edilen İnci Kefali'nin vakumla ambalajlanmasının muhafaza süresince meydana gelen vitamin E kaybını azaltmada etkili olabileceği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

1. Akyüz A.: Van Gölü'nde Yaşayan İnci Kefali (*Chalcaburnus tarichi*, Pallas 1811) Balığındaki Vitamin E Miktarlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Tayini Yüksek Lisans Tezi.YYÜ Sağlık Bil. Enst. Van,1995
2. Arslan A.,Gönülalan Z., Sarıgöl C.,Nazıroğlu M., Aksakal M.: Farklı Muhafaza Sıcaklığı ve Sürelerinin Balık Eti Vitamin E Miktarına Etkisi. Tr. J. Vet. Anim.Sci. 1997; 21: 211-214.
3. Cheesman K.H., Slater T.F.: Indroduction to Free Radical Biochemistry. Br. Med. Bull. 1993;49. (3): 481-493.
4. Dias M. G., Sanches M. V., Bartolo H.,Oliveira L.: Vitamin Content of Fish and Fish Products Consumed in Portugal. EJEAFCh. 2003. 2. (4): 510-513.
5. Diplock A.T.: Antioxidant Nutrients and Disease Prevention: an Overview. Am J. Chim. Nutr. 1991; 53: 189-193
6. Granroth B., Mustranta A., Bostrom H.: Vitamin E in Baltic Herring and Sprat and the Effect of Storage after Freezing on Vitamin E in Baltic herring. Finsk-Palstidkrift. 1977; No: 11: 473-474. Abstract. Alınmıştır: Arslan A., Gönülalan Z., Sarıgöl C., Nazıroğlu M., Aksakal M.: Farklı Muhafaza Sıcaklığı ve Sürelerinin Balık Eti Vitamin E Miktarına Etkisi. Tr. J. Vet. Anim.Sci. 1997; 21: 211-214.
7. Gregory III J.F., Vitamins In: Food Chemistry. Ed. Fennema O. R. Third Edition. Marcel Dekker Inc. New York. P: 531-616. 1996.
8. Jensen C., Birk E., Jokumsen A., Skibsted L.H., Bertelsen G.: Effect of Dietary Levels of Fat, α -tocopherol and Astaxanthin on Colour and Lipid Oxidation during Storage of Frozen Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and during Chill Storage of Smoked Trout. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1998; 207: 189-196.
9. Lee I.B., Choi K.J., Yu K.K., Chang K.W.: Tocopherols and Fatty Acids in Plant Seeds from Korea. J. Korean Agric. Chem. Soc. 1992; 35.(1): 1-5

10. Longenstroer P., Pieper G.M.: Regulation of Spontaneous EDRF Release in Diabetic Rat Aorta by Oxygen Free Radical. *Am. J. Physiol.* 1992; 263: 257-265.
11. McDowell L.R.: Vitamin E in Animal and Human Nutrition. Second Edition. Iowa State University Press. P:155-225, 2000.
12. Miller K.W., Yang C.S.: An Isocratic High-Performance Liquid Chromatography Method for the Simultaneous Analysis of Plasma Retinol, α -tocopherol and Various Carotenoids. *Analytical Biochemistry*. 1985; 145: 21-26.
13. Munzuroglu Ö., Karatas F., Gür N.: Işgın (Rheum ribes L.) Bitkisindeki A, E ve C Vitaminleri ile Selenyum Düzeylerinin Araştırılması *Tr. J. Biol.* 2000; 24: 397-404.
14. Murray R.K., Mayes P.A., Granner D.K., Rodwell V.W.: Harper'in Biyokimyası. Barış Kitapevi. İstanbul. s: 704-713. 1993.
15. Pirini M., Gatta P.P., Testi S., Trigari G., Monetti P.G.: Effect of Refrigerated Storage on Muscle Lipid Quality of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Fed on Diets Containing Different Levels of Vitamin E. *Food Chemistry*. 2000; 68: 289-293.
16. Sarı M.: Van Gölü İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi*, PALLAS 1811) Stok Miktarının Tahmini ve Balıkçılık Yönetim Esaslarının Belirlenmesi. Sena Ofset. İstanbul, 2001.
17. Steel R.C.D., Torrie J.H.: Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach. Mc Graw-Hill Book Company. New York, 1980.
18. Stephan G., Guillaume J., Lamour F.: Lipid Peroxidation in Turbot (*Scophthalmus maximus*) Tissue: Effect of Dietary Vitamin E and Dietary n-6 or n-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Aquaculture*. 1995; 130: 251-268.
19. Tappel A.L.: Vitamin E in: The Vitamins Ed: Combs G. F. Academic Press, New York, p:179-203, 1992.
20. Waagbo R., Sandnes K., Torrissen O.J., Sandvin A., Lie O. Chemical and Sensory Evaluation of Fillets from Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fed Three Levels of N-3 Polyunsaturated Fatty Acids at Two Levels of Vitamin E. *Food Chemistry*. 1993; 46, (4): 361-366.
21. Zaspel B.J., Csallany S.: Determination of Alpha-Tocopherol in Tissues and Plasma by High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Biochemistry*. 1983; 130: 146-150

LACTOBACILLUS PENTOSUS'UN OTOLİTİK AKTİVİTESİNİN VE PEPTİDOGLİKAN HİDROLAZ ENZİMLERİNİN KARAKTERİZE EDİLMESİ

Recep CIBIK

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
16059 Bursa e-mail: recep_cibik@yahoo.com

Özet: *Lactobacillus pentosus* suşlarının otolitik özellikleri tamponlanmış ortamlarda değerlendirildi ve test edilen suşların % 34 ile 94 arasında değişen otoliz gösterdikleri saptandı. Yüksek otolitik özelliğe sahip *Lb. pentosus* 1091 suşunun peptidoglikan hidrolaz enzim aktivitesinin renatüre SDS-PAGE ile değerlendirilmesinde 58 ve 112 kDa ağırlıklarında başlıca iki adet band bulunduğu gözlemlendi. Aynı suşa ait farklı fraksiyonların aynı teknikle test edilmesi neticesinde daha başka hidroliz bandlarının da bulunduğu gözlemlendi. Spesifisite analizlerinde en azından iki farklı enzimin otolizde rol aldığı saptandı. Bu çalışma ile *Lb. pentosus*'un otolitik sistemi ilk olarak tanımlandı ve elde edilen bulgular teknolojik açıdan önem arz eden suşların karakterize edilmesinde etkin olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: *Lactobacillus pentosus*, otoliz, peptidoglikan hidrolaz

CHARACTERIZATION OF AUTOLYSIS AND PEPTIDOGLYCAN HYDROLASE ENZYMES OF *LACTOBACILLUS PENTOSUS*

Abstract: Autolysis of *Lactobacillus pentosus* strains has been evaluated in buffered systems. Tested strains exhibited an autolysis extent varying between 34-94%. Peptidoglycan hydrolases profile of highly autolytic strain 1091 have been tested by using renaturing SDS-PAGE technique and the presence of at least two lytic bands at 58 and 112 kDa molecular weight was evidenced. Analysis of different cellular fractions by the same technique revealed the presence of other lytic specimens at different molecular weight. Specificity analyses provided evidence on the fact that tested *Lb. pentosus* strain contains at least two different types of enzymes responsible from the cell wall degradation. Characterization of autolytic system of dairy starter or non-starter lactic acid bacteria could have an important role in the selection of proper strain having technological interest.

Giriş

Bakteriyel otoliz, bakterinin çevresel iskeletini oluşturan ve ona şeklini veren hücre duvarının ana bileşeni olan peptidoglikan tabakasının yine bakteri tarafından üretilen endojen hidrolitik enzimler vasıtasıyla parçalanmasıdır. Bu enzimler peptidoglikan üzerinde bölgesel olarak gerçekleştirdikleri ve hidroliz neticesinde açığa çıkardıkları serbest parçacıklara göre; β -N-asetilmuramidaz, β -N-asetilglukozaminidaz, N-asetilmuramil-L-alanin amidaz ve peptidazlar şeklinde sınıflandırılırlar (1). Laktik asit bakterileri süt endüstrisinde starter kültür olarak üründe istenen niteliklerin oluşturulmasını sağlamak üzere kullanılmaktadır. Peynirlerin olgunlaşma sürecinde bu bakterilerin otolizleri neticesinde açığa çıkan hücre içi enzimler olgunlaşma süresinin kılmasını sağlamak ve istenen aromatik niteliklerin gelişimini arttırmaktadır (2). Özellikle hücre içi yer alan peptidazların salınımı ile daha fazla amino asit şekillenmekte ve acı lezzete sahip hidrofobik karakterli peptitler yıkımlanmaktadır. Amino asit katabolizmasıyla da arzulanan aromatik bileşiklerin oluşumu sağlanmaktadır (3).

Lb. pentosus heterofermentatif bir laktik asit bakterisidir ve diğer bazı laktobasiller ve pediokoklarla birlikte süt endüstrisinde "starter olmayan laktik asit bakterileri" grubunda yer almaktadır. Birçok peynirde olgunlaşmanın ilk zamanlarında sayıları çak az iken zaman içerisinde sayıları artmakta ve ürünlerde aroma oluşumuna katkı sağlamaktadırlar (4). Bu çalışmada *Lb. pentosus*'uşlarının otolitik aktiviteleri ve peptidoglikan hidrolaz aktiviteleri belirlenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada kullanılan *Lb. pentosus* şuşları CNRZ kültür koleksiyonundan (INRA, Jouy-en-Josas, Fransa) elde edildi ve MRS sıvı besi yerinde 30°C de canlandırılıp çoğaltıldı. Mikroorganizmaların otolitik aktiviteleri Çıbık ve Chapot-Chartier (5) tarafından belirtildiği şekilde ölçüldü. Otoliziz, tamponda 24 saatlik inkübasyon sonrası oluşan türbidimetrik azalma yüzdeliği olarak verildi. Renatüre SDS-PAGE tekniği için

otoklavlanmış *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698 (Sigma) bakterisi substrat olarak kullanıldı. Renatüre SDS-PAGE, hücresel fraksiyonlar ve spesifisite analizleri Çıbık ve Chapot-Chartier (5) tarafından belirtildiği üzere yapıldı.

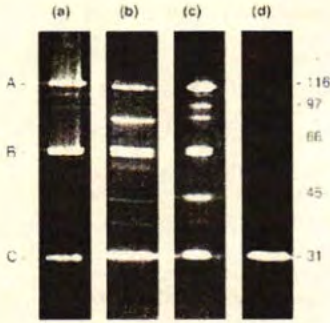
Bulgular

Tamponlanmış ortama (potasyum fosfat, 50 mM, pH 6.5) transfer edilmiş *Lb. pentosus* suşlarının otolizleri ve yine aynı suşlara ait peptidoglikan hidrolaz profilleri Tablo 1 de verilmiştir. Suşların % 34 ile % 94 arasında değişen otoliz gösterdikleri belirlenmiştir. Bu durum otolizin suşa özgü bir nitelik olduğunu göstermiştir. Renature SDS-PAGE tekniği ile 112 ve 58 kDa ağırlığındaki bandlar test edilen tüm suşlarda saptanırken 31 kDa ağırlığındaki band sadece iki suшта saptanmıştır.

Tablo 1. *Lb. pentosus* suşlarının otoliz ve peptidoglikan hidrolaz profilleri

Suşlar	Otoliz (%)	Peptidoglikan hidrolaz bandları		
		112 kDa (A)	58 kDa (B)	31 kDa (C)
1563	63	+	+	—
1245	54	+	+	+
1543	62	+	+	—
1861	48	+	+	—
1559	34	+	+	—
1865	56	+	+	—
1549	82	+	+	—
1553	74	+	+	—
1091	94	+	+	+

Yüksek otolitik özelliğe sahip 1091 suşuna ait değişik fraksiyonların yine aynı şekilde otoklave edilmiş *M. lysodeikticus* bakterisi üzerinde test edildiğinde farklı moleküler ağırlığa sahip yeni bandların varlığı gözlenmiştir (Şekil 1). Bununla birlikte 31 kDa moleküler ağırlıktaki bandın sadece sitoplazmik fraksiyonda bulunması ve test edilen sadece 1091 ve 1245 suşlarında mevcut olması, bu enzimin mevcut bir profaja ait endolizin olabileceğini göstermektedir.



Şekil 1. Renatüre SDS-PAGE ile *Lb. pentosus* 1091 suşuna ait farklı hücresel fraksiyonların otoklavlanmış *M. lysodeikticus* hücreleri üzerine test edilmesi. (a) SDS ekstrakt, (b) LiCl ekstrakt, (c) hücre duvarı fraksiyonları ve (d) sitoplazmik fraksiyon

Spesifisite analizlerinde 1091 suşunun tamponlanmış ortamda otolizine paralel olarak hem indirgenmiş şeker miktarında hem de serbest amino asit miktarında dereceli olarak artma şekillendiği saptanmıştır. Bu durum hücre duvarının hidrolize olmasında en azından iki farklı enzimin rol aldığını göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma ile starter olmayan laktik asit bakterilerinden *Lb. pentosus*'un otolizi, peptidoglikan hidrolaz aktivitesi ve otolizde rol oynayan enzimlerin karakterizasyonu ilk olarak gerçekleştirilmiştir. Tamponlanmış ortamda otoliz % 34 ile % 94 arasında değişkenlik göstermiştir. Bu değişkenlik otolitik fenotipin suşa özgü bir karakteristik olduğunu göstermektedir. Renature SDS-PAGE analizlerinde iki adet suşun diğerlerine kıyasla farklı bir band taşıması ve bu bandın sadece sitoplazmik fraksiyonda yer alması bunun profaja ait bir aktivite olabileceğini göstermektedir. Yüksek ve düşük otolitik özelliğe sahip suşların kıyaslanarak test edilmesi teknolojik açıdan önem arz eden yardımcı kültürlerin seçilmesinde etkin bir kriter olabilir.

Kaynaklar

1. Shockman G.D. and Hölte J.-V. 1994. Microbial peptidoglycan (murein) hydrolases. New comprehensive biochemistry. In *Bacterial Cell Wall* ed. Ghuyssen, J.-M. and Hakenbeck, R. Elsevier Science. pp. 131-166. Londra.
2. Chapot-Chartier M.-P., Deniel C., Rousseau, M., Vassal, L. and Gripon, J.C. 1994. Autolysis of two strains of *Lactococcus lactis* during cheese ripening. *International Dairy Journal* 4: 251-269.
3. Bourdat M., Le Bars D., Yvon M. and Chapot-Chartier M.-P. 2002. Autolysis of lactococci stimulates the formation of certain aroma compounds from amino acids. Seven Symposium on Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications, September, 1-5, 2002, Egmond aan Zee, the Netherlands.
4. Duthoit F., Godon J.J. and Montel M.-C. 2003. Bacterial community dynamics during production of registered designation of origin Salers cheese as evaluated by 16S rRNA gene single-strand conformation polymorphism analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 3840-3848.
5. Cibik R. and Chapot-Chartier M.-P. 2000. Autolysis of dairy leuconostocs and detection of peptidoglycan hydrolases by renaturing SDS-PAGE. *Journal of Applied Microbiology* 89: 862-869.

CİVİL PEYNİRİNİN MİKROBİYOLOJİK NİTELİKLERİ

Ruhtan BAŞKAYA*, Mustafa ATASEVER**, Ahmet YILDIZ*, Ömer ÇAKMAK*

* Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı, Selimiye, İstanbul

** Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum

Özet: Bu çalışmada, Erzurum yöresinden temin edilen 50 adet civil peynir numunesi mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesi amacıyla incelendi. Aseptik koşullarda alınan örnekler soğuk muhafaza altında laboratuvara sevk edilerek analizlere alındı. Aerob mezofil genel canlı ve psikrofilik mikroorganizmaların belirlenmesinde Standart Plate Count Agar besiyeri yerine, *S.aureus* tespitinde Baird-Parker besiyeri yerine, Koliform grubu bakterilerin ve *E.coli* tesbit edilmesinde Kromojenik *E.coli* / Koliform Medium besiyeri yerine, Maya ve küflerin sayımında Rose Bengal Chloramphenicol Agar besiyeri yerine yayma plak metodu ile Laktobasillus grubu mikroorganizmaların sayısının belirlenmesinde ise Man Rogosa Sharpe Agar besiyeri yerine dökme plak metoduyla ekimler yapıldı. Araştırma sonuçlarına göre civil peyniri numunelerinde belirlenen mikroorganizma kolonilerinin ortalama sayıları; Aerob mezofil genel canlı 3.36×10^5 kob/g, psikrofilik mikroorganizma 3.90×10^5 kob/g, koliform gurubu bakteri 3.05×10^4 kob/g, *E.coli* 3.07×10^2 kob/g, *S.aureus* 1.16×10^2 kob/g, *Lactobacillus* 2.06×10^4 kob/g, maya 1.32×10^5 kob/g ve küf 5.11×10^3 kob/g olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, civil peynirinin mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre halk sağlığı açısından potansiyel tehdit oluşturabileceği, dolayısıyla üretim, depolama ve satış aşamalarında kritik kontrol noktaların tespit edilerek hijyenik tedbirlerin alınması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Civil peyniri, halk sağlığı, mikrobiyolojik kalite

MICROBIOLOGICAL PROPERTIES of CIVIL CHEESE

Ruhtan BAŞKAYA*, Mustafa ATASEVER, Ahmet YILDIZ*, Ömer ÇAKMAK***

**Food Control Detachment Commandership, Selimiye, İstanbul*

*** From Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary, University of Atatürk, Erzurum, Turkey*

Abstract: In this study, 50 civil cheese samples obtained from *Erzurum* region have been analysed in order to determine microbiological quality. The samples have been taken in aseptic conditions and stored in cold conditions and analysed in laboratory. In order to determine Aerob mezofil total jerm and psychrophilic microorganisms Standart Plate Count Agar culture media ; for *S.aureus* determination Bard-Parker Agar culture media ; for determination coliform and *E.coli* group bacterias *Chromogenic E.coli/Coliform* Medium culture media ; for counting mould and yeasts Rose Bengal Chloramphenicol Agar culture media spreading plate method , for counting *Laktobasillus* group microorganisms Man Rogosa Sharpe Agar culture media pouring methods had been used. The mean values of colony counts were determined as follows for different microorganisms: for total jerm microorganisms 3.36×10^5 cfu/g, for psychrophilic microorganisms 3.90×10^5 cfu/g, for coliform group 3.05×10^4 cfu/g, for *E.coli* 3.07×10^2 cfu/g, for *S.aureus* 1.16×10^2 cfu/g, for *Lactobacillus* 2.06×10^4 cfu/g, for yeast 1.32×10^5 cfu/g, and mould 5.11×10^4 cfu/g. According to the microbiological analysis results, it was concluded that civil cheese may cause a potential risk for public health and thereby hygienic precautions should be taken by determining critical control points from phases of production, storage and sale.

Keywords: Civil cheese, urban healthy, microbiological quality

İSTANBUL'DA TÜKETİME SUNULAN PİRİNÇ NUMUNELERİNDE OKRATOKSİN- A DÜZEYLERİNİN ELISA METODU İLE BELİRLENMESİ

Ahmet YILDIZ* , Ruhtan BAŞKAYA* , Ömer ÇAKMAK* , Ayşegül M. AKKAYA*

* *Gıda Kontrol Müfrez Komutanlığı, Selimiye, İstanbul*

Özet: Bu çalışmada İstanbulda tüketime sunulan 50 adet pirinç örneğinin Okratoksin A seviyeleri ve tüketicilerin sağlığı açısından oluşturabileceği risk potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Analize alınan örneklerdeki okratoksin-A düzeyleri ELISA metodu ile ticari olarak satılan R-Biopharm firmasına ait kit kullanılarak belirlenmiştir. Pirinç örneklerinin 16 adedinin (% 32), 5 adedinde (% 10) 0,5-3 ppb arasında, 11 adedinde (% 22) 3 ppb'den daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. Pirinç numunelerinin % 22'sinde Türk gıda kodeksinin gıda maddelerinde belirli bulaşanların maksimum seviyelerinin belirlenmesi hakkında tebliğde belirtilen limit değerlerin üzerinde Okratoksin A tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, insan ve hayvanların tüketimine sunulan gıda maddelerinin mikotoksin oluşturma yeteneği olan küfler tarafından kontamine edilme riski ihmal edilmemeli ve özellikle işlenmemiş tahıl taneleri, tahıllardan elde edilen bütün ürünler kuru üzüm, elma suyu, sirke gibi gıda maddelerini okratoksin A yönünden analiz edilmesi sağlanmalı; Türk Gıda Kodeksinde müsaade edilen limit değerlerin üzerinde bulunan gıda maddelerinin tüketilmesine müsaade edilmemelidir.

Anahtar Kelimeler : Okratoksin A, Pirinç, Elisa

**THE DETERMINATION OF THE OKRATOXIN-A LEVEL BY
ELISA METHOD ON THE RICE SAMPLES THAT PRESENTED
FOR CONSUMPTION IN ISTANBUL**

Ahmet YILDIZ*, Ruhtan BAŞKAYA*, Ömer ÇAKMAK*, Ayşegül M.AKKAYA*

**Food Control Detachment Commandership, Selimiye, İstanbul*

In this study; the main aim is to determine the Okratoksin-A level of 50 pieces of rice samples that presented in İstanbul for consumption and to determine the possible risk potential for consumer's health. The okratoksin-A levels of the samples have been analysed by ELISA method with the help of R-Biopharm kit which is sold commercially. Among the 16 pieces (32 %) of the rice samples; the levels have been determined as; 5 pieces (10 %) between 0,5-3 ppb; 11 pieces (22 %) higher than 3 ppb. 22 % of the rice samples; the Okratoksin-A level has been determined higher than the limits that is mentioned in Turkish Food Insitution Manual. As a consequence; the risk potential of the contamination of the moulds to produce mikotoksin on the food samples that are presented for the consumption of the human beings and the animals should not be neglected. And especially in raw cereals and the products that obtained from cereals such as; dry grapes, apple juice, vinegar the Okratoksin-A level should be analysed and finally the foods that have higher level of Okratoksin-A should be prohibited for consumption.

Key words: Okratoxin A, rice, ELISA

BURSA'DA TÜKETİME SUNULAN SUCUK,SOSİS VE SALAMLARIN BAZI KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Nur YÜKSEK

Süreyya SALTAN EVRENSEL

Nalan ÇIRAK

Uludağ Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu,Görükle Bursa

Bu çalışmada amacımız ,Bursa piyasasında tüketime sunulan sucuk,sosis ve salamların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin Türk Gıda Kodeksine uygunluğunun araştırılmasıdır.

Ocak 2005 ile Haziran 2006 tarihleri arasında Bursa piyasasından temin edilen 230 adet sucuk,119 adet sosis ve 61 adet salam numuneleri kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri yönünden incelendi.Kimyasal analizler sonucunda numunelerin ortalama rutubet,yağ,tuz miktarları ve pH değerleri sırasıyla ;sucuk örneklerinde, %35.60, %27.36, %3.18 ve 5.45; sosis örneklerinde %59.73, %13.60, %2.28 ve 6.01; salam örneklerinde ise %59.88,%17.59 , %2.35 ve 6.16 olarak bulundu. Ayrıca kimyasal olarak sucuk,sosis,salam numunelerinin sırasıyla %12.60, %11.73 ve %4.90 'ı nitrit yönünden incelenmiştir.

Numunelerin mikrobiyolojik muayeneleri sonucunda toplam mezofilik aerobik bakteri,koliform bakteri,küf-maya sırasıyla ortalama sucuk numunelerinde 6.8×10^7 kob/g., 2.4×10^2 kob/g., 2.2×10^3 kob/g.;sosis numunelerinde 2.8×10^7 kob/g., 1.5×10^4 kob/g., 7.5×10^5 kob/g.;salam numunelerinde ise 6.07×10^7 kob/g., 3.4×10^3 kob/g. olarak tespit edildi.Ayrıca 230 adet sucuk numunesinin %7.39'unda E.coli,%2.17 'inde koagülaz pozitif S.aureus'a ;119 adet sosis numunelerinin %3.8'inde E.coli'ye rastlanmıştır.119 adet sosis ve 61 adet salam numunelerinde ise E.coli ve .koagülaz pozitif S.aureus'a rastlanmamıştır.

Elde edilen bulguların değerlendirilmesinde sucuk,sosis,salam numunelerinin kimyasal analiz bulgularının Türk Gıda Kodeksine uygun olduğu ancak mikrobiyolojik yönden uygun olmadığı saptanmıştır.Nitrit yönünden ,sucuk numunelerinin %8.2'inin Türk Gıda Kodeksine göre yüksek,sosis ve salam numunelerinin ise uygun olduğu tespit edilmiştir.

THE HISTORY OF THE
CITY OF BOSTON

By SAMUEL JOHNSON, Esq.

Vol. I. Containing the History of the City from its first Settlement to the Present Time.

THE HISTORY OF THE CITY OF BOSTON, from its first Settlement to the Present Time. By SAMUEL JOHNSON, Esq.

THE HISTORY OF THE CITY OF BOSTON, from its first Settlement to the Present Time. By SAMUEL JOHNSON, Esq.

THE HISTORY OF THE CITY OF BOSTON, from its first Settlement to the Present Time. By SAMUEL JOHNSON, Esq.

THE HISTORY OF THE CITY OF BOSTON, from its first Settlement to the Present Time. By SAMUEL JOHNSON, Esq.

ZEYTİNLE İLGİLİ ALANLARDAN İZOLE EDİLEN *Bacillus thuringiensis* SUŞLARININ FENOTİPİK VE GENOTİPİK KARAKTERİZASYONU

Celenk Çınar, Şebnem Harsa ve Ali Fazıl Yenidünya

Adres : İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Gölbağçe Köyü Urla İzmir, Türkiye, 35430

Özet : *Bacillus cereus* gıda kaynaklı bir bakteri olması yanında ürettiği enterotoksinler ile gıda zehirlenmesine neden olmaktadır. *B. cereus* grubuna ait olan *B. cereus* ve *B. thuringiensis* arasındaki tek ayırt edici özellik sporlanma döneminde *B. thuringiensis*'in insektisidal kristal protein üretmesidir. *B. thuringiensis* Cry ve Cyt olmak üzere iki farklı insektisidal protein üretir. Çalışmamızda, Ege bölgesindeki zeytinlik ve zeytinyağı fabrikalarından toplanan 168 adet çevresel örnekten 100 adet *B. thuringiensis* suşu izole edilmiştir. İzolatlar fenotipik (faz-kontrast mikroskobu, biyokimyasal testler, seroloji) ve genotipik (PCR, plazmit profillerinin çıkarılması, 16S-ITS rRNA RFLP) yöntemlerle karakterize edilmiştir. İzolatların hareketlilik, MR-VP, arginin dihidrolaz (ADH), kazein, jelatin, lesitin ve nişasta hidrolizi, sukroz, salisin, mannoz, maltoz, selobioz fermentasyonu test edilmiştir. Faz-kontrast mikroskobu ile 11 farklı parasporal morfolojisi saptanmış ve en çok üretilen proteinin %24 ile heterojen kristaller olduğu bulunmuştur. Mikrometod seroloji yöntemi ile hareketli olduğu belirlenen 74 izolatın 21 farklı serotipe ait olduğu bulunmuş ve 4 izolatın ise hareketli olmasına karşı aglutinasyon vermediği saptanmıştır. *cry1*, *cry2*, *cry4*, *cry9* ve *cry11* genlerine özgü primerlerle gerçekleştirilen PCR sonucunda 21 farklı *cry* genotip grubu saptanmıştır. Ayrıca, 13/100 izolat *cyt1*, 52/100 izolat *cyt2*, 28 izolat ise *cyt1* ve *cyt2* genlerini içermektedir. Plazmit profiling plazmit içeriğinin 1-8 arasında ve 3-43 kb büyüklüğünde plazmitler içerdiğini göstermiştir. 16S-ITS rRNA RFLP analizi sonucunda izolatlar 11 farklı homoloji grubuna ayrılmıştır. Sonuç olarak tanımlanan izolatların fenotipik ve genotipik yöntemlerle *B. thuringiensis* olduğu belirlenerek *B. cereus*'tan ayrımı sağlanmış ve serolojide aglutinasyon göstermeyen 4 izolatın henüz tanımlanmamış yeni serotipler olabileceği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler : *Bacillus thuringiensis*, plazmit profiling, kristal protein, seroloji, PCR-RFLP

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF *Bacillus thuringiensis* FROM OLIVE-RELATED HABITATS

Celenk Cinar, Sebnem Harsa and Ali Fazil Yenidünya

Adress : Izmir Institute of Technology Urla Izmir, Turkey 35430

Bacillus cereus is a food-borne bacterium and can cause food poisoning due to the production of enterotoxins. *B. cereus* and *B. thuringiensis* belonging to *B. cereus* group can only be differentiated by the production of insecticidal crystal proteins in *B. thuringiensis* cells during sporulation. *B. thuringiensis* produces two distinct types of insecticidal proteins; Cry and Cyt proteins. A hundred *B. thuringiensis* strains were isolated from 168 environmental samples collected from olive groves and olive-oil factories in Aegean region. These isolates were characterized by phenotypic (phase-contrast microscopy, biochemical tests, serotyping), and genotypic methods (PCR, plasmid profiling and 16S-ITS rRNA RFLP). Isolates were also examined for motility, MR-VP test, arginine dihydrolase (ADH) production, casein, gelatine, lecithin and starch hydrolysis, fermentation of sucrose, salicin, mannose, maltose, and cellobiose. Under phase-contrast microscope, 11 different parasporal morphologies were obtained and the most frequent crystal shape was heterogenous (24%). Micromethod serotyping showed that motile 74 isolates belonged to 21 different serotypes while four motile isolates did not show agglutination. Twenty-one *cry* genotypes were found by PCR in which *cry1*, *cry2*, *cry4*, *cry9* and *cry11* specific primers were used. As a result of PCR, 13/100 isolates contained *cyt1*, 52/100 isolates *cyt2*, 28 isolates contained both *cyt1* and *cyt2* genes. Plasmid profiling revealed that the content of plasmids varied from one to eight in number, and from 3.1 kb to 43.0 kb in size. According to 16S-ITS rRNA RFLP results, 11 distinct homology groups were obtained. As a result, *B. thuringiensis* isolates were differentiated from *B. cereus* by phenotypic and genotypic methods and also it was decided that 4 isolates that didnot agglutinate in serotyping may be new serotypes.

Key words : *Bacillus thuringiensis*, plasmid profiling, crystal protein, serology, PCR-RFLP

ET ÜRÜNLERİNDE BAZI ANABOLİZAN MADDE KALINTI VARLIĞININ ELİZA TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Uğur GÜNŞEN

Banu Bilge OVALI

Yasemin COŞKUN

Özet : Bu çalışmada, Ocak 2005 ve Haziran 2006 yılları arasında, Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü'ne özel istek ve denetim amacıyla getirilen toplam 69 adet et ürünü (27 sığır eti (ön çeyrek), 16 tavuk karkası ve 16 hindi karkası) bazı anabolizan madde kalıntılarının (klenbuterol, dietilstilbestrol (DES), trenbolon asetat, testosteron ve zeranol) varlığı ELİZA yöntemi kullanılarak araştırıldı. Örneklerin hiçbirisinde klenbuterol kalıntısına rastlanmaz iken, 69 örneğin 2 (% 2,9)'sinde ortalama $133,295 \pm 7,84$ ng/kg düzeyinde DES kalıntısına, 3 (% 4,35)'ünde ortalama $95,83 \pm 1,76$ ng/kg düzeyinde trenbolon asetat kalıntısına, 8 (% 11,59)'inde ortalama $945,72 \pm 1388,5$ ng/kg düzeyinde testosteron kalıntısına ve 15 (% 21,74)'inde ortalama $1335,94 \pm 1852,35$ ng/kg düzeyinde zeranol kalıntısına rastlandı.

Sonuç olarak analize alınan örneklerde belirlenen DES, trenbolon asetat, testosteron ve zeranol kalıntı düzeyleri, Türk Gıda Kodeksi'nde bildirilen kabul edilebilir limitleri aştığı ve tüketici sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanısına varıldı. Hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan anabolik ajanların kesimden önce verilen sürelerine uygun olarak kullanılmalarına ve gıda maddelerindeki varlıklarının rutin analizler ile sürekli olarak kontrol edilmesine önem verilmelidir.

Anahtar kelimeler : Et ürünleri, anabolizan, kalıntı, ELİZA

DETERMINATION of THE PRESENCE of SOME ANABOLIC RESIDUES in MEAT PRODUCTS by ELISA TECHNIQUE

Abstract : In this study, the presence of some anabolics (clenbuterol, diethylstilbestrol (DES), trenbolone acetate, testosterone, zeranol) residues in totally 69 meat products (27 beef (front quarter), 16 chicken carcasses and 16 turkey carcasses), bringing Bursa Food Control and Central Research Institute for analysis by the aim of special request and controlling of Bursa Market between January, 2005 and June, 2006, was

investigated by ELISA. Among anabolics studied, although the residues of clenbuterol could not be detected in any of the samples, in 69 out of 2 (2,9 %) samples, DES in the average level of $133,295 \pm 7,84$ ng/kg, of 3 (4,35 %) samples, trenbolone acetate in the average level of $95,83 \pm 1,76$ ng/kg, of 8 (11,59 %) samples, testosterone in the average level of $945,72 \pm 1388,5$ ng/kg and of 15 (21,74 %) samples, zeranol in the average level of $1335,94 \pm 1852,35$ ng/kg were detected.

As a result, it was concluded that the residue levels of DES, trenbolone acetate, testosterone and zeranol in analysed samples were found to be more than the acceptable limits as given in Turkish Food Codex and could be posed a risk to consumer health. It is attached importance that the usage of anabolic agents in animal husbandry must be fitted to their periods given before slaughtering and their presence in foodstuffs should be controlled by the routine analysis, continuously.

Key words : Meat products, anabolic, residue, ELISA

GİRİŞ

Giderek artan dünya nüfusu ve yaşam standardının yükselmesi fazla miktarda ve iyi nitelikli hayvansal kaynaklı besinlerin üretilmesini zorunlu kılmaktadır. Bunu sağlamak için, hayvanların bakım ve beslenmesi ile genetik yapısının iyileştirilmesi yanında, besi durumu ve verimlerini artırmak amacıyla yem katkı maddeleri; antibiyotikler, iyonoforlar, hormon etkisine sahip büyüme ajanları gibi maddelerin kullanılması önemli yer tutmaktadır (20).

Hormon, bir hücre veya hücre topluluğu tarafından salgılanan, organizmanın diğer hücreleri üzerine fizyolojik bir kontrol uygulayan kimyasal bir madde olarak tanımlanmaktadır. Hayvanlarda daha fazla canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma, daha iyi karkas özelliği ve et kalitesi sağlamak için östrojenler (östradiol), androjenler (testesteron) ve progestojenler (Progesteron) gibi cinsiyet hormonları; dietilstilbestrol (DES), Hexoestrol, Dienestrol ve Zeranol gibi sentetik non-steroidal östrojenler ve Trenbolon asetat (TBA), Testosteron propionat, Melengestrol asetat, Metil testosteron gibi sentetik steroidler hormonal etkili anabolikler olarak kullanılmaktadır (1).

Hormon etkisine sahip büyüme ajanlarının kullanımında karşılaşılan en önemli sakıncalardan biri, yasal olarak kullanımına izin verilen çeşitli ajanların uygulandığı besi hayvanlarının yasal bekletme süresine uyulmaksızın pazara sevk edilmesi ve buna bağlı olarak vücutta bulunan anabolik ajan kalıntılarının sorun yaratmasıdır (30,35). Yapılan çalışmalarda, büyüme ajanı uygulanan hayvanların, bekletme süreleri olan zeranol için 70 gün, TBA için 60-65 gün, testosteron, progesteron ve östrojen için 60 gün aradan sonra kesilmeleri halinde elde edilen etlerin tüketilmesinin halk sağlığı bakımından hiçbir problem yaratmadığı bildirilmiştir (3,20).

Türkiye’de, anabolik bileşiklerin kullanımına 1970’li yılların başında tarımsal sera ürünlerinde başlanmış ve canlı ağırlık artış oranı, et kalitesi ve yemden yararlanmayı artırmadaki etkilerinden dolayı hayvan yetiştiriciliğinde yaygınlaşmıştır (8). İnsan beslenmesinde önemli rol oynayan et ve et ürünleri güvenli olmalı ve insan sağlığı için herhangi bir faktör ya da madde içermemelidir (18). Ülkemizde hayvan yetiştiriciliğinde anabolizanların kullanımı hakkındaki bilgiler henüz yeterli değildir. Bu çalışma, Bursa’da tüketime sunulan bazı et ürünlerinde anabolizan madde varlığının araştırılarak tüketici sağlığı açısından olası bir riskin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

1. GEREÇ :

Çalışmada, Ocak 2005 ve Haziran 2006 yılları arasında, Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü’ne özel istek ve denetim amacıyla getirilen toplam 69 adet et ürünü (27 sığır eti (ön dörtte bir), 16 tavuk karkası ve 16 hindi karkası) araştırma materyali olarak kullanıldı.

2. YÖNTEM :

2.1. Ekstraksiyon Prosedürü: Her bir anabolizanın kendisine ait olan ekstraksiyon prosedürleri her bir numune için ayrı ayrı uygulandı. Buna göre;

2.1.1. Klenbuterol İzolasyonu: 5 g homojenize örnek, 25 ml 500 mM Hidroklorik asit (Merck 100317) ile homojenize edildi. 1 g' a karşılık gelen 6 g ekstrakt santrifüj tüpüne alındı ve 10-15 °C de 4000 g de 15 dakika (dak) santrifüj edildi. Üstteki kısım diğer tüpe alındı ve 300 µl 1 M Sodyum hidroksit (Merck 101564) ile 15 dak karıştırıldı. 4 ml 50 mM Potasyum di hidrojen fosfat-buffer (Merck 104871) (pH=3) ilave edildi ve 4 °C'de 1 gece bekletildi. Takiben 4000 g de 15 dak santrifüj edildi. Tüpün üst kısmındaki berrak kısım kolonda kullanıldı.

Kolonun Hazırlanması : Öncelikle kolon (C18 column, RIDA Cat. No.: R2002) 3 ml % 100 lük Metanol (Merck 106008) ile saniyede bir damla geçecek şekilde yıkandı. Takiben 2 ml 50 mM Potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104871) (pH=3) ile yıkandıktan sonra numune uygulandı. 2 ml 50 mM Potasyum di hidrojen fosfat (Merck 104871) (pH=3) ile yıkama yapılarak kolon kurutuldu. Diğer bir tüp kullanılarak 1 ml % 100 lük Metanol (Merck 106008) ile yıkama yapıldı ve 50-60 °C de evapore edildi. Takiben 0.4 ml saf su ile çözülerek 20 µl eliza testi için kullanıldı (5,12,15).

2.1.2. DES Ekstraksiyonu: 5 g homojenize örnek, 10 ml 67 mM Fosfat buffer (Merck 106580 + Merck 106346 + Merck 106400) (pH= 7.2) ile homojenize edildi. 3 g ekstrakt alındı ve 8 ml Tert. bütıl metil eter (Merck 101843) ile 20 dak hızlı bir şekilde çalkalandı. 20-25 °C de 3000 g de 10 dak santrifüj edildi. Eter tabakası alınarak 8 ml Tert.bütıl metil eter (Merck 101843) ile tekrar santrifüj edildi ve tüm eter fazları toplandı. Takiben 60 °C de evapore edildi. 1 ml % 70 lik Metanol (Merck 106008) ve 3 ml Petrol eter (Merck 101775) ilave edilerek 15 saniye çalkalandı. Evapore edilerek 1 ml Diklormetan (Merck 106054) ve 3 ml 1 N Sodyum hidroksit (Merck 101564) ilave edildi ve 300 µl 6 M Fosforik asit (Merck 100565) ile nötralize edilir.

Kolonun Hazırlanması: Öncelikle kolon (C18 column, RIDA Cat.No.: R2002) 3 ml % 100 lük Metanol (Merck 106008) ile saniyede bir damla geçecek şekilde yıkandı. Takiben 2 ml 20 mM Tris-buffer pH 8.5 / % 20 lik Metanol (Merck 106008) ile yıkandıktan sonra numune uygulandı. 2 ml 20 mM tris-buffer / % 20 lik Metanol (Merck 106008) ile yıkama yapıldı. 3 ml % 40 lık Metanol (Merck 106008) ile yıkama yapılarak 2 dakika süre ile kurutuldu. 1 ml % 80 Metanol (Merck 106008) ile 2 defa

daha yıkama yapıldı ve biriktirildi. Eliza test için 20µl kullanıldı (17).

2.1.3. TBA İzolasyonu: 10 g homojenize örnek, 10 ml 20 mM PBS buffer (Merck 106580 + Merck 106346 + Merck 106400 + Merck 822184) (pH=7.2) ile homojenize edildi. 2 g ekstrakt alındı ve 5 ml Tert. bütül metil eter (Merck 101843) ile 20 dak süreyle hızla çalkalandı. 20-25 °C de 3000 g de 10 dak santrifüj edildi. Eter tabakası alınarak 5 ml Tert. bütül metil eter (Merck 101843) ile tekrar santrifüj edildi ve tüm eter fazları toplandı. Takiben 60 °C de evapore edildi. 1 ml % 80 lik Metanol (Merck 106008) ve 2 ml 20 mM PBS (Merck 106580 + Merck 106346 + Merck 106400 + Merck 822184) (pH=7.2) ilave edildi.

Kolonun Hazırlanması : Öncelikle kolon (C18 column, RIDA Cat. No.: R2002) 3 ml % 100 lük Metanol (Merck 106008) ile saniyede bir damla geçecek şekilde yıkandı. 2 ml 20 mM Tris-buffer pH = 8.5 / Metanol (Merck 106008) (% 20) ile tekrar yıkandıktan sonra numune uygulandı. 2 ml % 40 lık Metanol (Merck 106008) ile yıkama yapıldı ve kalıntılar atıldı. Takiben 1 ml % 80 lik Metanol (Merck 106008) ile dakikada 15 damla olacak şekilde yıkama yapıldı ve biriktirildi. Eluat 1 : 1 oranında saf su ile seyreltilerek eliza prosedürü için 20 µl kullanıldı (22,25).

2.1.4. Testosteron İzolasyonu : 5 g homojenize örnek, 10 ml 67 mM PBS buffer (Merck 106580 + Merck 106346 + Merck 106400) (pH= 7.2) ile homojenize edildi. 2 g ekstrakt alındı ve 5 ml Tert. bütül metil eter (Merck 101843) ile 30 dak. süreyle hızlı bir şekilde çalkalandı. 20-25 °C de 3000 g de 10 dak. santrifüj edildi. Eter tabakası alınarak 5 ml Tert. bütül metil eter (Merck 101843) ile tekrar santrifüj edildi ve tüm eter fazları toplandı. Takiben 60 °C de evapore edildi. 2 ml 20 mM PBS (Merck 106580 + Merck 106346 + Merck 106400) ilave edilerek çalkalandı.

Kolonun Hazırlanması : Öncelikle kolon (C18 column, RIDA Cat. No.: R2002) 3 ml % 100 lük Metanol (Merck 106008) ile saniyede bir damla geçecek şekilde yıkandı. 2 ml 20 mM PBS-buffer (Merck 106580 + Merck 106346 + Merck 106400) ile tekrar yıkandıktan sonra 3 ml numune uygulandı. 2 ml % 40 lık Metanol (Merck 106008) ile

yıkama yapılarak kolon kurutuldu. Tekrar numune uygulanarak 1 ml % 80 lik Metanol (Merck 106008) ile yıkama yapıldı ve biriktirilerek eliza testi için 20 µl kullanıldı (26).

2.1.5. Zeranol İzolasyonu: Örneklerin yağları uzaklaştırıldıktan sonra homojenize edildi. 1 g örnek, 2 ml su ile iyice karıştırıldı ve 10 ml Dietileter (Merck 100926) ilave edilerek 3000 g de 15 °C de 10 dak santrifüj edildi. – 25 °C de 1 saat bekletilerek eter tabakası uzaklaştırıldı. 5 ml Dietil eter (Merck 100926) ilave edilerek 3000 g de 10 dak santrifüj edildi. Eter ekstraktları toplanarak 60 °C de evapore edildi. 1 ml Kloroform (Merck 102431) ve 3 ml 1 M NaOH (Merck 101564) ilave edilerek 2000 g de 10 dak santrifüj edildi. NaOH (Merck 101564) ekstraktı, içinde 250 µl % 90'lık Asetik asit (Merck 100056) bulunan tüpe alındı ve 5 ml Dietil eter (Merck 100926) ilave edilerek 2000 g de 10 dak santrifüj edildi. – 25 °C de 1 saat bekletilerek 60 °C de evapore edildi. Ekstrakt, 0.5 ml dilüe buffer ile çözülerek eliza testi için 50 µl kullanıldı (14,24).

2.2. Eliza Prosedürü : Örnek ekstratlarındaki anabolizan madde kalıntıları, et ürünleri için duyarlılık limitleri; klenbuterol için 40 ng/kg olan Ridascreen Clenbuterol Art. No. R1705, DES için 100 ng/kg olan Ridascreen DES Art. No. R2701, TBA için 50 ng/kg olan Ridascreen Trenbolon Art. No. R2601, testosteron için 50 ng/kg olan Ridascreen Testosteron Art. No. R2401 ve zeranol için 62 ng/kg olan Ridascreen Zeranol Art. No. R 3301 kod nolu eliza test kitleri kullanılarak Bio-tek Instr. ELX 800 Eliza Reader cihazı ile belirlendi (5,12,14,15,17,22,24,25,26).

BULGULAR

Çalışmada, örneklerin hiçbirisinde klenbuterol kalıntısına rastlanmaz iken, 69 örneğin 2 (% 2.9)'sinde (1 sığır eti, 1 hindi eti) en düşük 122,20 ng/kg, en yüksek 144,39 ng/kg ve ortalama $133,295 \pm 7,84$ ng/kg düzeyinde DES kalıntısına, 3 (% 4,35)'ünde (3 sığır eti) en düşük 94,66 ng/kg, en yüksek 97,86 ng/kg ve ortalama $95,83 \pm 1,76$ ng/kg düzeyinde TBA kalıntısı belirlendi.

Analize alınan toplam 69 örneğin 8 (% 11,59)'inde (6 sığır eti, 2 hindi eti) en düşük 47,10 ng/kg, en yüksek 3422,5 ng/kg ve ortalama $945,72 \pm 1388,5$ ng/kg düzeyinde

testosteron kalıntısı belirlenmiş olup Tablo 1. de örneklere göre dağılımlar görülmektedir. Yine toplam 69 örneğin 15 (% 21,74)'inde (13 sığır eti, 2 hindi eti) en düşük 49,12 ng/kg, en yüksek 4234,5 ng/kg ve ortalama $1335,94 \pm 1852,35$ ng/kg düzeyinde zeranol kalıntısı belirlendi. Tablo 2. de zeranol kalıntılarının örneklerdeki dağılımları görülmektedir. Analiz edilen tavuk örneklerinin hiçbirisinde anabolizan madde kalıntısına rastlanılmazken, hindi eti örneklerinde de TBA ve zeranol kalıntısı tespit edilememiştir.

Tablo 1. Et Ürünlerinde Belirlenen Testosteron Kalıntılarının Örneklere Göre Dağılımı.

Saptanan düzey (ppb)	Sığır eti	Hindi eti	Toplam
0.1 – 50	2	-	2
51 – 100	2	-	2
101 - 250	1	-	1
250 – 1000	-	1	1
1001 – 3500	1	1	2

TARTIŞMA VE SONUÇ

Avrupa Ekonomi Topluluğu hayvansal gıdalarda büyümeyi teşvik edici olarak anabolik ajanların kullanımını yasaklamıştır. Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (USFDA) ise hayvan yetiştiriciliğinde östradiol ve testosteron gibi doğal orijinli, zeranol ve trenbolon asetat gibi sentetik bazı hormonların kullanımına sınırlı olarak izin vermiştir (11,25). Ülkemizde, Türk Gıda Kodeksi, Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlı Hormon ve Benzeri Maddeler Hakkında Tebliğ'e göre: stilbenler, stilben türevleri, antitiroidal etkili maddeler, anabolizan amaçla kullanıma uygun steroidler, zeranol de dahil olmak üzere rezorsilik asit laktonlar ile β -agonist etkili maddelerin anabolik etki amacıyla uygulanması yasaklanmıştır (32).

Tablo 2. Et Ürünlerinde Belirlenen Zeranol Kalıntılarının Örneklere Göre Dağılımı.

Saptanan düzey (ppb)	Sığır eti	Hindi eti	Toplam
0.1 – 100	5	-	5
101 – 250	1	2	3
251 - 1000	1	-	-
1001 - 4000	-	1	1
4001 - 4500	4	1	5

Klenbuterol, β -agonistler sınıfından olan farmakolojik bir ilaçtır (4,29). Avrupa Birliği Ülkeleri, Amerika Birleşik Devletleri ve Ülkemizde, klenbuterolün hayvan yetiştiriciliğindeki kullanımı, sağlığa zararlı olması bakımından yasaklanmıştır (4,6,27,32,34). Nazlı ve ark. (2005), inceledikleri 60 adet taze et ve et ürününün hiçbirisinde klenbuterol kalıntısı bulunmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada incelenen toplam 69 örneğin hiçbirisinde klenbuterol kalıntısına rastlanılamamıştır. Bu bulgu, Türk Gıda Kodeksi (32) ile uyum içerisindedir ve analize alınan örneklerin halk sağlığı açısından herhangi bir risk taşımadığını göstermektedir.

DES, steroid yapıda olmayan bir sentetik östrojendir. Gerek ilaçla, gerekse et ve ürünleri ile organizmayı doğrudan ve dolaylı yolla etkileyen DES, karsinojenik ve teratojenik özellikleri ile toplum sağlığını ciddi olarak tehdit etmektedir. Organizma tarafından metabolize edilemeyen DES'in hayvan yetiştiriciliğindeki kullanımı yasaklanmıştır ve gıda maddelerindeki mevcudiyetine izin verilmez (7,16,32,33).

Nazlı ve ark. (2005), inceledikleri 60 adet taze et ve et ürününün 21 (% 35)'inde 0.01 - >1 $\mu\text{g/kg}$ düzeylerinde DES kalıntısı bulunduğunu ve toplam örnek sayısı dikkate alındığında Türkiye'deki hayvan yetiştiriciliğinde DES'in yaygın olarak kullanılmadığını, taze et örneklerinde belirlenen DES kalıntılarının ise tüketici sağlığını olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Çalışmada, toplam 69 örneğin 2 (% 2,9)'sinde (1 sığır eti, 1 hindi eti) ortalama $133,295 \pm 7,84$ ng/kg düzeyinde DES kalıntısına rastlanılmış olup bu bulgu Türk Gıda Kodeksi (32)'ne uygun görülmemiştir. Örneklerde belirlenen DES kalıntı düzeyleri, rastlanma sıklığı ve miktar bakımından oldukça düşük sayılabilecek değerlerde olmasına karşın kullanımının yasaklanmış olması nedeniyle halk sağlığı bakımından olumsuz olarak değerlendirilmiştir.

TBA, 19-nortestosteron türevi olan, androjenik yapıda, sentetik, anabolik bir bileşik olup kasaplık hayvanlarda hem protein sentezini hem de degradasyonunu arttırmakta, degradasyon sentez oranından daha az olduğunda net kas protein depolanması artmaktadır (2,11,21). Laitem ve ark. (1978), implantasyondan 2 ya da 3 ay sonra karkastaki TBA kalıntısının hala ppb düzeyinde olduğunu bildirmiştir. Durmaz (1997),

danalara 140 mg TBA uygulamasını takiben 70 gün sonra kasta 0.09, karaciğerde 0.38, böbrekte 0.28 ve yağ dokuda 0.48 ppb düzeyinde rezidü bulunduğunu belirlemiştir. Nazlı ve ark. (2005), İstanbul'da satışa sunulan et ve ürünlerini temsilen inceledikleri 60 adet örneğin 48 (% 80)'inde en yüksek 0.77 ppb düzeyinde TBA kalıntısı belirlediklerini ve 48 örneğin 27'sinin taze et, 21'inin ise işlenmiş et ürünü olduğunu bildirmişlerdir.

TBA için izin verilen limit kas için 2 ng/kg, karaciğer için ise 10 ng/kg'dir (7). Çalışmada, toplam 69 adet et ürününün 3 (% 4,35)'ünde (3 sığır eti) ortalama $95,83 \pm 1,76$ ng/kg düzeyinde TBA kalıntısına rastlanmıştır ve bu bulgu Türk Gıda Kodeksi (32)'ne uygun değildir. Çalışmada sığır eti örneklerinde belirlenen TBA düzeyinin rastlanma oranı olarak düşük değerde olmasına rağmen, kalıntı düzeyi bakımından kas için izin verilen üst limitten oldukça yüksek düzeylerde olması halk sağlığı açısından olumsuz olarak değerlendirilmiştir.

Testosteron, rat dışındaki tüm hayvanlarda doğal erkek cinsiyet hormonudur. Testosteronun sentezi yapılmıştır ve bir çok yarı sentetik (metiltestosteron gibi) ve sentetik türevi hazırlanmıştır. Testosteronun anabolik etkileri vücutta azot tutulması, kas kitlesinin artması ve kemikleşme şeklinde kendini gösterir (31). Çalışmada toplam 69 adet et ürününün 8 (% 11,59)'inde (6 sığır eti, 2 hindi eti) ortalama $945,72 \pm 1388,5$ ng/kg düzeyinde testosteron kalıntısı belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi (32)'ne göre anabolizan amaçlı kullanıma uygun steroidlerin kullanımını yasaklanmıştır. Böylelikle elde edilen testosteron düzeyleri halk sağlığı bakımından olumsuz olarak değerlendirilmiştir.

Zeranol (α -zearalanol), bir mikotoksin olan zearalenon'dan meydana gelen, steroid olmayan östrojenik etkili bir rezorsilik asit laktonudur. Zeranol, hayvan yetiştiriciliğinde büyümeyi hızlandırmak, beslenme etkilerini arttırmak ve daha kaliteli et ile daha az yağ artışı sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (8,11,19). Dünya Sağlık Örgütü, zeranol kalıntılarının insan gıdasında günlük olarak 0.05 ppb, sığır kasında 2 ppb, sığır karaciğerinde ise 10 ppb yi geçmemesi gerektiğini bildirmiştir (7). Diğer taraftan Avrupa Birliği, 1985 yılından bu yana zeranol kullanımını yasaklamıştır (19).

Çalışmada, analize alınan toplam 69 adet et ürününün 15 (% 21,74)'inde (15 sığır eti) en düşük 49.12 ng/kg en yüksek 4234.5 ng/kg ve ortalama $1335,94 \pm 1852,35$ ng/kg düzeyinde zeranol kalıntısına rastlanmıştır ve Türk Gıda Kodeksi (32)'ne uygun değildirler. Ayrıca 5 adet sığır eti örneğinde belirlenen zeranol kalıntı düzeylerinin, Dünya Sağlık Örgütü tarafından verilen tolerans limitini geçmiş olması, 6 örnekte ise günlük insan gıdasında bulunabilecek değere yakın düzeylerde bulunması, analize alınan örneklerin halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak analize alınan örneklerde belirlenen DES, TBA, testosteron ve zeranol kalıntı düzeyleri, Türk Gıda Kodeksi'nde bildirilen kabul edilebilir limitleri aştığı ve tüketici sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanısına varıldı. Hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan anabolik ajanların kesimden önce verilen sürelerine uygun olarak kullanılmalarına ve gıda maddelerindeki varlıklarının rutin analizler ile sürekli olarak kontrol edilmesine önem verilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1- Anonymous: Uzman Görüşü Köşesinden. Dünya Gıda Dergisi. 2004. 9 (2004-5): 52.
- 2- Apple, J.K., Dikeman, M.E. and Simms, D.D.: Effects of Synthetic Hormone Implants, Singularly or in Combinations, on Performance Carcass Traits, and Longissimus Muscle Palatability of Holstein Steers. J. Anim. Sci. 1991. 69. 4437-4448.
- 3- Arıman, H.: Effect of the Different Water Temperatures and Various Levels of Growth Agent on the Growth features and Meat Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fingerlings (in Turkish). Atatürk Üniv., Fen Bilim. Enst. Su Ürün. Ana Bilim Dalı. Doktora Tezi. Erzurum, 2000. s. 1-88.
- 4- Berge, P., Culioli, J. and Ouali, A.: Performance, Muscle Composition and Meat Texture in Veal Calves Administered a Beta-Agonist (clenbuterol). Meat Science. 1993. 33, 191-206.
- 5- Boyd, D. et al.: Methods for the Determination of β -Agonists in Biological Matrices / A Review. Analyst. 1996. 121.
- 6- Brambilla, G., Loizzo, A., Strozzi, M., Fontana, L., Guarino, A., Soprano, V. : Food Poisoning Following Consumption of Clenbuterol. J. Am. Med. Assoc. (JAMA). 1997. 278 (8): 635.

- 7- Codex Alimentarius: Food and Nutrition Division. FAO/WHO Food Standarts. Viale delle Terme di Caracalla , Rome, Italy, 1997.
- 8- Dağoğlu, G. ve Aksoy, A.: Hayvansal Üretimde Zeranol. Yüzüncü Yıl Üniv. Sağlık Bilim. Derg. 1995. 1, 103-108.
- 9- Degand, G., Bernes-Duyckaerta, A., Maghuin-Rogister, G.: Determination of Clenbuterol Tissues and Urine by Enzyme Immuno Assay. J. Agr. Food Chem. 1992. 40, 70-75.
- 10- Dixon, S.N.: Radioimmunoassay of the Anabolic Agent Zeranol I. Preparation and Properties of a Spesific Antibody to Zeranol. J Vet. Pharmacol. Therap. 1980. 3, 177-181.
- 11- Durmaz, F.: Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Medisan Yayın Serisi No: 28 Ankara. 1997. Cilt 2 (I.Baskı), s.266-269.
- 12- Dürsch, I. et al.: Screening of Clenbuterol, Salbutamol and Terbutaline in Rat Eye and Hair of Veal Calves. J. Ani. Sci. 1995. 73, 2050-2053.
- 13- European Commission: Unit B₅-Management of Scientific Committees II: Opinion of the Scientific Commitee on Veterinary Measures Relating to Public Health. Assessment of Potential Risks to Human Health from Hormone Residues in Bovine Meat and Meat Products. 30 April 1999.
- 14- Frischkom, C.G.B. et al.: Der Simultane ppm-Nachweis des Anabol Wirkenden Zeranols und Seines Metaboliten Zearalanon in Fleisch Mittels Hochauflösender Flüssigkeits-Chromatographies (HPLC). Z. Lebensm.Unters.Forsch. 1978. 167, 7-10.
- 15- Gleixner, A. und Meyer, H.H.D.: Residues of Clenbuterol in the Eyes of Therapeutically Treated Veal Calves. Food Agri. Immuno. 1995. 7, 221-225.
- 16- Göze, İ., Göze, F. ve Çolak, A.: Dietilstilbestrol Uygulanan Farelerde Kromozomal Aberrasyonlar ve Genital Histopatolojilerinin İncelenmesi. Türk Patoloji Dergisi. 2000. 16 (1-2): 5-9.
- 17- Hoffmann, B. et al.: Entwicklung Eines Radioimmunotests zur Bestimmung von Diäthylstilböstrol in Blutplasma und Essbaren Gewebwn Vom Rind. Arch. Lebensmittel. 1980. 31, 105.
- 18- Hoffman, B.: Problems of Residues and Health Risks of Anabolic Agents with Hormone Like Activities. Proceedings of the Scientific Conference on Growth Promotion in Meat Production. European Comm. Dir. Gen. VI. Agric. Official Pub. European Comm., Brussels. 1996. 271-296.
- 19- Jodlbauer, J., Zöllner, P. and Lindner, W.: Determination of Zeranol, Taleranol, Zearalenone, Alfa and Beta Zearalenol in Urine and Tissue by High-Performance

- Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Chromatographia*. 2000. 51 (11/12): 681-687.
- 20- Kaya, S., Pirinçci, I. ve Bilgili, A.: Pharmacology with Veterinary Application (in Turkish). Cilt 2, Yayın Serisi No: 28, Ankara, 1997. s 259-267.
- 21- Laitem, L., Gaspar, P. and Bello, I.: Detection of Trenbolone Residues in Meat and Organs of Slaughtered Animals by Thin-Layer Chromatography. *J. Chromato.*, 1978. 147, 538-539.
- 22- Meyer, H.H.D. and Hoffmann, S.: Development of a Sensitive Microtitration Plate Enzyme-Immunoassay for the Anabolic Steroid Trenbolone. *Food Additives and Contaminants*. 1987. 4, 149-160.
- 23- Nazlı, B., Çolak, H., Aydın, A. ve Hampikyan, H.: İstanbul'da Satışa Sunulan Et ve Et Ürünlerinde Bazı Anabolizan Madde Kalıntılarının Varlığı Üzerine Bir Çalışma. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2005. 29, 691-699.
- 24- Patel, P.J. und Dixon, S.N.: An Enzyme Immunoassay for the Anabolic Agent Zeranol. *Food Additives and Contaminants*. 1989. 6. 1, 91-102.
- 25- Rapp, M. und Meyer, H.H.D.: Nachweismöglichkeiten des Trenboloeinsatzes in der Rindermast: Radioimmunologische Bestimmung und Validierung der Ergebnisse Mittels HPLC/RIA. *Arc. Lebensmittel*. 1985. 36, 25-48.
- 26- Rattenberger, E. und Matzke, P.: Nachweis Einer Illegalen Anabolikabehandlung Mit Den Körpereigenen Hormonen Testosteron und Östradiol. *Arc. Lebensmittel*. 1989. 40, 112-115.
- 27- Rose, M.D., Shearer, G. and Farrington, W.H.H.: The Effect of Cooking on Veterinary Drug Residues in Food: I. Clenbuterol. *Food Addit. Contam.* 1995. 12 (1): 67-76.
- 28- Sawaya, W., Lone, K.P., Hasain, A., Dashti, B. and Al-Zenki, S.: Screening for Estrogenic Steroids in Sheep and Chicken by the Application of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and a Comparison with Analysis by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Food Chem.* 1998. 63(4) : 563-569.
- 29- Smith, D.J.: Stereochemical Composition of Clenbuterol Residues in Edible Tissues of Swine. *J. Agric. Food Chem.* 2000. 48, 6036-6043.
- 30- Şanlı, Y.: Guidebook of Veterinary Medicine and Handbook about Conscious Using of Medicine (in Turkish), A.Ü. Veteriner Fakültesi, Ankara, 1998. s 941-960.
- 31- Şanlı, Y. ve Kaya, S.: Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağtım Seçenekleri. Medisan Yayınevi. 1994. Ankara. s.415-416.

- 32- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği: Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlanan Hormon ve Benzeri Maddeler Hakkında Tebliğ, Tebliğ No: 2003/18, 19.06.2003.
- 33- Van Peteghem, C.H. and Van Haver, G.M.: Chromatographic Purification and Radio-Immunoassay of Diethylstilbestrol Residues in Meat. *Anal. Chim. Acta.* 1986, 182, 293-298.
- 34- Wilson, R.T., Groneck, J.M., Holland, K.T. and Henry, A.C.: Determination of Clenbuterol in Cattle, Sheep and Swine Tissues by Electron Ionization Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *J. AOAC International*, 1994, 77(4): 917-924.
- 35- Yetim, H. ve Sağlam, S.Y.: Some Growth Promoters (β -Agonists) used in Meat Production and its Physiological Characteristic (in Turkish). *Hayvancılık Araş. Derg.* 1999, 9(1/2): 6-12.

EUGENOLÜN ÇİĞ BALIK FİLETOLARININ MUHAFAZA SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Ö.Pelin BOZKURT

Ali ARSLAN

Işıl AYDIN

Pınar ÖZDEMİR

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Özet: Bu çalışmada; eugenolün balık filetoları üzerindeki antimikrobiyel etkisi incelenmiştir. Bu amaçla hazırlanan aynalı sazan filetoları, %0.5, %1 ve % 1.5 eugenol solüsyonları içerisinde 1 dakika bekletildikten sonra vakumla ambalajlanarak +4 °C` de muhafaza edilmiştir. Muhafazanın 0, 7, 14, 28 ve 42. günlerinde mikrobiyolojik (mezofil aerob genel canlı, mezofil anaerob genel canlı, toplam koliform, maya ve küf sayısı) analizleri yapılmıştır. Yapılan istatistiksel analizlerde, mezofil aerob genel canlı sayısı bakımından 14. günde, maya ve küf sayısı bakımından 42. günde gruplar arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Kontrol grubu 14. günde, eugenollü gruplar ise 42. günde bozulmuştur. Eugenol konsantrasyonlarının muhafaza süresi üzerine önemli bir etkisinin olmadığı saptandı.

THE EFFECT OF EUGANOL ON THE SHELF LIFE STORAGE LENGHT OF RAW FISH FILLETS

Abstract : In this study, the analysis of antimicrobial effect of eugenole on the fish fillets. For this purpose the fillets of *Cyprinus carpio* L. have been kept into 0.5%, 1% and 1.5% eugenole solutions one minute. Then, they have been vacuum packaged and stored at 4°C.

Microbiologycal analyses.were done at the 0th, 7th, 14th, 28th and 42th days. According to statistical analyses following results were identified: the group differences were significant at the 14th day for the mesophil aerob bacteria and at the 42th day for the number of yeast and mold. ($p < 0.05$) Control group at the 14th day and groups with eugenole at the 42th day were spoilage. In conclusion, it can be stated that eugenole concentrations have not got a significant effect on the shelf life storage lenght.

Giriş

Günümüzde sağlık ve ekonomik nedenlerden ötürü kırmızı ete olan talep giderek azalırken, beyaz ete olan talep artmaktadır. Beyaz et içinde balık eti ucuz ve üstün besleyici özelliği nedeniyle önemli bir yer almaktadır. Ancak balıkların kendine özgü koku, yosun, mil vb. gibi kokuları içermeleri, bazı balıkların küçük, fazla kılçıklı ve pullu olmaları, tüketicinin bilinçsizliği gibi nedenlerden dolayı iyi bir su potansiyeline sahip olan ülkemizde balık eti yeterince tüketilmemektedir (1,3,6). Bu nedenlerden dolayı balığın raf ömrü uzun, taşınması ve muhafazası kolay bir şekilde tüketiminin yaygınlaştırılması gerekir. Bu durum fazla pazar bulamayan balıklar için daha da önemlidir. Günümüzde tüketicinin doğal, besleyici ve lezzetli gıda talebinin artması nedeniyle gıda üretim teknikleri hızla gelişmektedir. Gıdaların taze olarak muhafaza edilebilmesi için doğal katkı maddelerinin, özellikle esansiyel yağ asitlerinin kullanımı yaygınlaşmıştır. Karanfilden ekstrakte edilen eugenol; esansiyel bir yağ asidi olup, bakterilerde hücre duvarı bozukluklarına ve lizise sebep olan antibakteriyel bir maddedir (2, 5).

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Keban baraj gölünden avlanan sazan balıkları kullanıldı. Taze avlanan balıklar laboratuvara getirilerek derisi soyuldu, baş ve yüzgeçleri kesilerek iç organları çıkarıldı. Sonra yaklaşık 100 gr olacak şekilde filetolar hazırlandı. Çalışmada 4 deneysel grup oluşturuldu. 1. grup kontrol (A), 2. grup % 0,5 eugenol (B), 3. grup %1 eugenol (C) ve 4. grup % 1,5 eugenol (D) solüsyonlarına 1 dakika süreyle daldırıldı ve aseptik şartlar altında vakumla ambalajlanarak mikrobiyolojik analizleri yapılmak üzere +4 °C' de depolandı.

Mikrobiyolojik Analizler

a. Örneklerin Analizlere Hazırlanması

Aseptik şartlar altında, parçalayıcının (Stomacher 400) özel torbasında 10 g tartılarak ve üzerine 90 ml % 0,1' lik pepton water ilave edilerek homojenize edildi. Böylece 10^{-1} ' lik seyreltisi hazırlandı. Sonrada aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin diğer alt seyreltileri hazırlandı. Aşağıda verilen besi yerlerine ekim yapılarak, uygun ısı derecelerinde bekletilerek, 30 ile 300 arasında koloni içeren plaklar değerlendirildi (4).

b. Toplam Mezofilik Aerob Bakteri Sayımı

Örneklerdeki toplam mezofilik aerob bakterilerin sayımı için Plate Count Agar (Oxoid CM 325) kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 35 °C' de 48 saat inkübe edilerek koloniler sayıldı.

c. Maya Sayımı

Örneklerdeki maya sayımı için Wort Agar (Merck 1.10130) besi yeri kullanıldı. Plaklar 30 °C' de 5 gün inkübe edilerek oluşan koloniler sayıldı.

d. Küf Sayımı

Örneklerdeki küf sayımı için Sabouraud Dextrose Agar kullanıldı. Plaklar 30 °C' de 5 gün inkübe edilerek oluşan koloniler sayıldı.

e. Toplam Mezofilik Anaerobik Bakteri Sayımı

Toplam mezofilik anaerob mikroorganizma sayımı için Brewer Agar (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 30 ± 1 °C' de anaerob şartlarda 3 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler sayıldı.

f. Toplam Koliform Bakteri Sayımı

Toplam koliform grubu mikroorganizmaların sayımı Violet Red Bile Agar' da yapıldı. Plaklar 30 ± 1 °C' de 24 saat inkübe edilip oluşan koloniler sayıldı.

İstatistiksel Analizler

SAS paket programı kullanılarak grup içi ve gruplar arasındaki farklılığın önem derecesi ANOVA ile tespit edildi.

Bulgular

Muhafaza süresince saptanan mikroorganizma sayıları tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1. Muhafaza süresince saptanan mikroorganizma sayıları (log₁₀ kob/g)

Mikroorganizma türü (log ₁₀ kob/g)	Örnek tipi	Muhafaza süresi (gün)				
		0.	7.	14.	28.	42.
Mezofil aerob genel canlı sayısı	A	4,86 ^{b,z}	5,98 ^{b,z}	7,60 ^{a,z}	7,99 ^{a,z}	8,33 ^{a,z}
	B	4,63 ^{c,z}	5,53 ^{bc,z}	5,22 ^{bc,y}	6,30 ^{b,y}	7,93 ^{a,z}
	C	4,87 ^{b,z}	5,11 ^{b,z}	6,16 ^{b,y}	7,13 ^{ab,zy}	8,05 ^{a,z}
	D	4,31 ^{c,z}	5,19 ^{bc,z}	5,73 ^{b,y}	7,47 ^{a,zy}	8,08 ^{a,z}
Mezofil anaerob genel canlı sayısı	A	3,49 ^{c,z}	6,28 ^{b,z}	6,63 ^{ab,z}	6,96 ^{ab,z}	7,27 ^{a,z}
	B	3,44 ^{c,z}	6,78 ^{ab,z}	6,53 ^{b,z}	6,72 ^{ab,z}	7,53 ^{a,z}
	C	3,34 ^{c,z}	6,71 ^{b,z}	7,25 ^{ab,z}	7,03 ^{ab,z}	7,79 ^{a,z}
	D	3,15 ^{b,z}	6,85 ^{a,z}	6,91 ^{a,z}	7,04 ^{a,z}	7,11 ^{a,z}
Koliform sayısı	A	3,87 ^{c,z}	4,38 ^{bc,z}	5,01 ^{b,zy}	5,06 ^{b,zy}	6,32 ^{a,zy}
	B	3,69 ^{b,z}	4,38 ^{b,z}	4,28 ^{b,y}	4,45 ^{ab,y}	5,49 ^{ab,y}
	C	4,48 ^{b,z}	4,45 ^{b,z}	5,74 ^{a,z}	4,59 ^{b,y}	5,91 ^{a,zy}
	D	3,80 ^{c,z}	4,28 ^{bc,z}	4,96 ^{b,zy}	5,70 ^{ab,z}	6,67 ^{a,z}
Maya sayısı	A	4,50 ^{c,z}	5,22 ^{bc,z}	5,80 ^{b,zy}	6,72 ^{a,z}	7,13 ^{a,z}
	B	4,61 ^{b,z}	5,09 ^{ab,z}	4,92 ^{b,y}	6,04 ^{a,z}	5,96 ^{a,y}
	C	4,63 ^{b,z}	4,93 ^{b,z}	6,02 ^{a,z}	6,43 ^{a,z}	5,73 ^{ab,y}
	D	4,20 ^{b,z}	4,59 ^{b,z}	5,50 ^{ab,zy}	5,96 ^{a,z}	5,88 ^{a,y}
Küf sayısı	A	4,47 ^{d,z}	5,23 ^{c,z}	5,88 ^{b,z}	6,92 ^{a,z}	7,45 ^{a,z}
	B	4,53 ^{c,z}	5,06 ^{bc,z}	5,27 ^{b,y}	6,18 ^{a,z}	5,69 ^{ab,x}
	C	4,51 ^{c,z}	5,27 ^{b,z}	6,18 ^{a,z}	6,23 ^{a,y}	6,39 ^{a,y}
	D	4,27 ^{d,z}	5,19 ^{c,z}	5,95 ^{b,z}	6,81 ^{a,y}	6,72 ^{a,y}

a, b: satır z, y: Sütun

Tartışma ve Sonuç

Yapılan bu çalışmada eugenolün; mikroorganizmalar üzerine olan etkisine bakılmıştır. Eugenol alkolde ve yağda çözülebilen esansiyel yağdır. Bu çalışmada eugenolün distile su ile seyreltisi hazırlanmıştır. Eugenol suda çok az çözülebilen bir maddedir. Bu yüzden olumlu etki görülmekle beraber, beklenen etkinin altında sonuçlar alınmıştır.

Kaynaklar

1.Arslan A. (2002). Et muayenesi ve et ürünleri teknolojisi. Medipres Yayıncılık.

2.Blaszyk M, Holley RA. (1998) Interaction of monolourin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms. Int. J. Food. Microbiol. 39: 175-

3.Gürel İnanlı A. (2003). Tuzlanmış ve potasyum Sorbat Uygulanmış Alabalık Filetolarının Raf Ömrü ile Sorbat kalıntılarının İncelenmesi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi

4.Harrigan W, McCance M. (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press

5.Kalemba D, Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry 10: 813-829.

6.KORKMAZ Ş. Sazan Yetiştiriciliği. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü

**BAZI KURUYEMİŞ ÇEŞİTLERİNDE STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE
KOAGULAZ NEGATİF STAFİLOKOKLARIN İDENTİFİKASYONU VE
ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Aydın Vural^a, Mehmet Emin Erkan^a, Tuncer Özekinci^b

^a Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı 21280 Diyarbakır, Türkiye

^b Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 21280 Diyarbakır, Türkiye

Özet : Bu çalışmada toplam 217 kuruyemiş örneği *Staphylococcus aureus* ve koagulaz negatif Stafilocoklar (CNS) yönünden incelenmiştir. Örneklerin 26'sında *S. aureus* (91.98) ve 98'inde (45.16) koagulaz negatif Stafilocok türleri (CNS) izole edilmiştir. Koagulaz negatif Stafilocok türlerinden *S. arlettae* 19 (8%76), *S. saprophyticus* 14 (6%45), *S. xylosus* 12 (5%53), *S. epidermis* 11 (5%07), *S. hominis* 11 (5%07), *S. simulans* 9 (4%15), *S. haemolyticus* 7 (3%23), *S. lentus* 6 (2%76), *S. equorum* 4 (1%84), *S. sciuri* 2 (0%92), *S. warneri* 2 (0%92), *S. capitis subsp capitis* 1 (0%46) örnekten tanımlanmıştır. Tanımlanmış türler ayrıca antibiyotik duyarlılık testleri uygulanmıştır.

Anahtar kelimeler : *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative *Staphylococci* (CoNS), kuruyemiş, antibiyotik duyarlılık

IDENTIFICATION AND SUSCEPTIBILITY OF ANTIBIOTICS TO STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND COAGULASE NEGATIVES STAPHYLOCOCCI IN SOME KINDS OF EDIBLE NUTS

Aydın Vural^a, Mehmet Emin Erkan^a, Tuncer Özekinci^b

^a University of Dicle, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 21280, Diyarbakır, Turkey

^b University of Dicle, Faculty of Medicine, Department of Microbiology, 21280, Diyarbakır, Turkey

Abstract : In this study, totally 217 edible nuts samples were investigated for *Staphylococcus aureus* and of coagulase negatives staphylococcus (CoNS). According to microbiological analyses, *Staphylococcus aureus* and CoNS were found as %1.98 and %5.16, respectively. The CoNS were identified as *S. arlettae* 19 (8.76%*S. saprophyticus* 14 (6.45%*S. xylosus* 12 (5.53%*S. epidermis* 11 (5.07%*S. hominis* 11 (5.07%*S. simulans* 9 (4.15%*S. haemolyticus* 7 (3.23%*S. lentus* 6 (2.76%*S. equorum* 4 (1.84%*S. sciuri* 2 (0.92%*S. warneri* 2 (0.92% and *S. capitis* subsp *capitis* 1 (0.46% These staphylococci strains were measured for susceptibility to antibiotics.

Key words : *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative Staphylococci (CoNS), Edible nuts, susceptibility of antibiotic

BAZI YEŞİL YAPRAKLI SEBZELERDE STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE KOAGULAZ NEGATİF STAFİLOKOK VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Mehmet Emin Erkan^a, Aydın Vural^a, Tuncer Özekinci^b

^a *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı 21280 Diyarbakır, Türkiye*

^b *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 21280 Diyarbakır, Türkiye*

ÖZET : Bu çalışmada toplam 106 adet maydanoz, marul, tere, roka, nane ve dereotu numunesi incelenmiştir. Örneklerin 8'inde *S. aureus* (%7.55) ve 48'inde (%45.28) koagulaz negatif Stafilokok türleri (CS) izole edilmiştir. Koagulaz negatif Stafilokok türlerinden *S. epidermis* 10 (%9.4), *S. arlettae* 8 (%8.49), *S. xylosus* 8 (%7.55), *S. sciuri* 6 (%5.66), *S. simulans* 4 (%3.77), *S. lentus* 3 (%2.83), *S. equorum* 3 (%2.83), *S. warneri* 3 (%2.83), *S. saprophyticus* 1 (%0.9) ve *S. haemolyticus* 1 (%0.9) örnekten tanımlanmıştır. Tanımlanan türlere ayrıca antibiyotik duyarlılık testleri uygulanmıştır.

Anahtar kelimeler : *Staphylococcus aureus*, koagulaz-negatif Stafilokokci, sebze

AN INVESTIGATION ON THE PRESENCE OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND COAGULASE NEGATIVES STAPHYLOCOCCI IN SOME GREEN VEGETABLES

Mehmet Emin Erkan^a, Aydın Vural^a, Tuncer Özekinci^b

^a University of Dicle, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 21280, Diyarbakır, Turkey

^b University of Dicle, Faculty of Medicine, Department of Microbiology, 21280, Diyarbakır, Turkey

Abstract : *A total of 106 samples including parsley, lettuce, cress, rocket, mint and dill were analyzed for Staphylococcus aureus and coagulase negatives staphylococcus CoNS*

According to microbiological analyses, Staphylococcus aureus and the CoNS were found as %7.55 and %45.28, respectively. The coagulase negative staphylococci were identified as S. epidermidis 10 (9.4%), S. arlettae 9 (8.49%), S. xylosus 8 (7.55%), S. sciuri 6 (5.66%), S. simulans 4 (3.77%), S. lentus 3 (2.83%), S. equorum 3 (2.83%), S. warneri 3 (2.83%), S. saprophyticus 1 (0.94%) and S. haemolyticus 1 (0.94%). These staphylococci strains were measured for susceptibility to antibiotics.

Key words Staphylococcus aureus, coagulase-negative Staphylococci CoNS Vegetables

TÜRKİYE'DEKİ BUĞDAY ÇEŞİTLERİNİN MİKROBİYOLOJİK VE FİZİKO-KİMYASAL KALİTE ÖZELLİKLERİ

Aydın Alp^a, Aydın Vural^b, Mehmet Emin Erkan^b, Simten Yeşilmen Alp^c

^a Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı 21280 Diyarbakır, Türkiye

^b Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı 21280 Diyarbakır, Türkiye

^c Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 21280 Diyarbakır, Türkiye

Özet: Bu çalışmada Türkiye’de üretilen 27 farklı buğday çeşidinin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal kalite özellikleri araştırılmıştır. Buğday örneklerindeki ortalama toplam aerobik mezofil bakteri, koliform, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, küf ve maya sayıları sırasıyla $4.5 \times 10^3 \pm 5.5 \times 10^3$, $3.1 \times 10^1 \pm 8.2 \times 10^1$, $1.6 \times 10^1 \pm 3.8 \times 10^1$, $3.5 \times 10^1 \pm 8.0 \times 10^1$, $7.2 \times 10^1 \pm 1.1 \times 10^2$ ve $8.1 \times 10^1 \pm 1.2 \times 10^2$ kob/g olarak bulunmuştur. Örneklerdeki koliform, *S. aureus*, *B. cereus*, küf ve maya bulunma oranları sırasıyla %37.04, %22.22, %18.52, %40.74 ve %37.04 düzeyinde iken örneklerin hiç birinde *Salmonella* spp., *Escherichia coli* ve *Clostridium perfringens* tespit edilememiştir.

Buğday örneklerindeki ortalama kuru madde, rutubet, protein ve kül oranları ise sırasıyla 74.34 ± 36.78 , 6.12 ± 3.12 , 11.30 ± 1.33 ve 1.36 ± 0.71 olarak saptanmıştır. Üretim, muhafaza koşulları, iklim ve yetiştirildiği bölgelere göre buğdayların kalite özelliklerinin değişebildiği görülmüştür. Hasattan son ürüne dönüşüncüye kadarki tüm aşamalarda iyi üretim ve muhafaza tekniklerinin uygulanması ile kaliteli ve sağlıklı ürün elde edilmesinin mümkün olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler : Buğday, mikrobiyolojik özellikler, fiziko-kimyasal özellikler

THE MICROBIOLOGICAL AND PHYSICO-CHEMICAL QUALITY PROPERTIES OF WHEAT SAMPLES, IN TURKEY

Aydın Alp^a, Aydın Vural^b, Mehmet Emin Erkan^b, Simten Yeşilmen Alp^c

^a University of Dicle, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops

^b University of Dicle, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 21280, Diyarbakır, Turkey

^c University of Dicle, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, 21280, Diyarbakır, Turkey

Abstract : In this study, the microbiological and physico-chemical quality properties of 27 different wheat cultivars produced in Turkey were determined. The means total aerob mesophilic bacteria, coliform, *S.aureus*, *B.cereus*, yeast and mould counts were found $4.5 \times 10^3 \pm 5.5 \times 10^3$, $3.1 \times 10^1 \pm 8.2 \times 10^1$, $1.6 \times 10^1 \pm 3.8 \times 10^1$, $3.5 \times 10^1 \pm 8.0 \times 10^1$, $7.2 \times 10^1 \pm 1.1 \times 10^2$ ve $8.1 \times 10^1 \pm 1.2 \times 10^2$ cfu/g at wheat samples, respectively. While coliform, *S.aureus*, *B.cereus*, yeast and mould rates were detected 37.04%, 22.22%, 18.52%, 40.74% and 37.04%, respectively; in none of the samples, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* were not determined.

Dry matter, moisture, protein and ash means in wheat samples were calculated as 74.34 ± 36.78 , 6.12 ± 3.12 , 11.30 ± 1.33 ve 1.36 ± 0.71 . It was seen that the quality of wheat cultivars might change regarding production, storage, climate and other regional conditions. It is thought that it will be possible to get quality and healthy product with good production and protection techniques in all stages from harvest to the last product.

Key words : Wheat, Microbiological properties, Chemical content

BAZI KURUYEMİŞ ÇEŞİTLERİNDE MİKROBİYOLOJİK KALİTENİN İNCELENMESİ

Aydın VURAL^a

Mehmet Emin ERKAN^a

^a Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı 21280
Diyarbakır, Türkiye

Özet :Bu çalışmada 13 farklı kuruyemiş çeşidi (toplam 217 numune) toplam aerobik mezofil bakteri (TAMB), koliform, Escherichia coli, Staphylococcus-Micrococcus spp., küf, maya, Clostridium perfringes ve Bacillus cereus varlığı yönünden analiz edilmiştir. TAMB sayısı yönünde en yüksek değer 3.9×10^6 kob/g olarak karpuz çekirdeğinde, en düşük değer ise 1.0×10^3 kob/g olarak kavun çekirdeğinde tesbit edilmiştir. Örneklerdeki koliform, Bacillus cereus, Clostridium perfringes, Escherichia coli ve Salmonella spp. varlığı sırasıyla %21.2, %16.13, % 8.76, %2.77 ve %2.77 olarak bulunmuştur.

Anahtar kelimeler : kuruyemiş, mikrobiyolojik kalite

THE INVESTIGATION OF MICROBIOLOGICAL QUALITY IN SOME EDIBLE NUTS

Aydın VURAL^a

Mehmet Emin ERKAN^a

^a *University of Dicle, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 21280, Diyarbakır, Turkey*

Abstract : A total of 217 samples of 13 different edible nuts were examined for total aerobic bacteria, total coliform bacteria and E. Coli, Staphilococcus- Micrococcus spp., yeast, mould, Clostridium perfringens and Bacillus cereus. The highest range of bacterial count was noticed in water melon seed and the lowest range in melon seeds. Coliforms, Bacillus cereus, Clostridium perfringes, Escherichia coli and Salmonella spp, in the samples were observed to exist as 21.2%, 16.13%, 8.76%, 2.77% and 2.77%, respectively.

Key words : edible nuts, microbiological quality

BAZI YEŞİL YAPRAKLI SEBZELERİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet Emin ERKAN

Aydın VURAL

*^a Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı 21280
Diyarbakır, Türkiye*

Özet : Bu çalışmada toplam 106 adet maydanoz, marul, tere, roka, nane ve dereotu numunesi toplam aerobik mezofil bakteri, koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus-Micrococcus* spp., küf, maya, *Clostridium perfringens* ve *Bacillus cereus* varlığı yönünden analiz edilmiştir. Maydanoz, marul, tere, roka, nane ve dereotu örneklerindeki ortalama toplam aerobik mezofil bakteri sayıları sırasıyla; 2.3×10^7 kob/g, 4.7×10^6 kob/g, 1.7×10^7 kob/g, 1.1×10^7 kob/g, 3.2×10^6 kob/g ve 7.2×10^6 kob/g olarak bulunmuştur. İncelenen örneklerin halk sağlığı açısından risk oluşturabilecek düzeyde mikroorganizma içerdiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler : sebze, mikrobiyolojik kalite

**THE INVESTIGATION IN MICROBIOLOGICAL QUALITY OF
SOME GREEN VEGETABLES**

Mehmet Emin ERKAN^a

Aydın VURAL^a

^a *University of Dicle, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 21280, Diyarbakır, Turkey*

Abstract : In this study we investigated the microbiological quality of some green vegetables obtained from wholesalers in Diyarbakır, Turkey. A total of 106 samples including parsley, lettuce, cress, rocket, mint and dill were analyzed for total aerobic bacteria, total coliform bacteria and *Escherichia coli*, *Staphylococcus*- *Micrococcus* spp., yeast, mould, *Clostridium perfringens* and *Bacillus cereus*. According to microbiological analyses; total aerobic bacteria counts of parsley, lettuce, cress, rocket, mint and dill were found as 2.3×10^7 cfu/g, 4.7×10^6 cfu/g, 1.7×10^7 cfu/g, 1.1×10^7 cfu/g, 3.2×10^6 cfu/g, and 7.2×10^6 cfu/g, respectively. It was concluded that the samples we investigated could have risk for health.

Key words : *vegetables, Microbiological quality*

AMASYA İLİNDE SATIŞA SUNULAN BEYAZ PEYNİRLERDE AFLATOKSİN M₁, RUTUBET VE ASİDİTE DEĞERLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Yaşar ALKAN* Zafer GÖNÜLALAN** Fulya ÜSTÜN***

* 15. Piyade Eğitim Tugayı Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı, Amasya; yasarakantr@yahoo.com

** Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ab.D. Kayseri; zgonulalan@erciyes.edu.tr

*** İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Ab.D. İstanbul; fustun@istanbul.edu.tr

Özet: Bu çalışmanın amacı, Amasya ilinde satışa sunulan beyaz peynir örneklerinde Aflatoksin M₁ (AFM₁) varlığının belirlenmesi ve rutubet ve asidite değerlerinin incelenmesidir. Bu amaçla Aralık 2005 – Ocak 2006 ayları arasında Amasya ilindeki büyük marketler ile semt pazarlarında satışa sunulan farklı markalardaki 50 adet beyaz peynir örneği analiz edilmiştir.

Araştırmada Aflatoksin M₁ seviyesini tespit etmek için Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi, rutubet ve asidite değerlerini saptamak için ise A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists) yöntemleri kullanılmıştır.

İncelenen beyaz peynir örneklerinin tamamında Aflatoksin M₁ saptanırken, 50 örnekten sadece 1 tanesinin (% 2) AFM₁ yönünden Türk Gıda Kodeksinde belirlenen değerin üzerinde diğerlerinin ise standarda uygun olduğu belirlenmiştir. Beyaz peynir örneklerinin 27 adedinin (% 54) rutubet oranı, Türk Standartları Enstitüsü Beyaz Peynir Standardı'nda (TS 591) belirtilen maksimum limit değerin (% 60) altında, 23 adedinin (% 46) ise rutubet oranı bu değerin üzerinde bulunmuştur. Asidite değerleri bakımından, incelenen beyaz peynirlerin tamamının (% 100), TS 591'de belirtilen maksimum limit değerin (% 3 LA) altında olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizinde, numune olarak kullanılan peynir örneklerinin AFM₁ düzeyi ile rutubet içerikleri arasında önemli bir ilişki bulunamazken ($r=0.078$), AFM₁ miktarı ile asidite değerleri arasında yine istatistiksel açıdan önemsiz ($r=-0.145$) bir ilişki tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Amasya ilinde bir yıl içerisinde satışa sunulan beyaz peynirlerin toplum sağlığı açısından ciddi bir risk olarak değerlendirilen Aflatoksin M₁ içeriği ile rutubet ve asidite değerleri açısından standartlara da büyük ölçüde uygun olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin M₁, beyaz peynir, asidite, rutubet

AN INVESTIGATION ON AFLATOXIN M₁ LEVELS, MOISTURE CONTENT AND ACIDITY VALUES IN WHITE CHEESES RETAILED IN AMASYA PROVINCE

Abstract: The aim of this study was to detect the presence of Aflatoxin M₁ and to determine the moisture, acidity values in white pickled cheese samples retailed in Amasya city of Turkey. For this purpose, fifty white pickled cheese samples were collected from the local markets and bazaars in Amasya through December 2005-January 2006.

ELISA test was used for the determination of Aflatoxin M₁ (AFM₁) levels of samples, also A.O.A.C. procedures were applied to detect moisture and acidity contents.

Different levels of AFM₁ were detected from all of the analysed cheese samples; only one sample (2%) exceeded limits of Turkish Food Codex for AFM₁ and 49 samples met the standards of concern. For moisture content; 27 out of 50 samples (54%) had moisture content under the limits established by Turkish Standards Institute whereas the moisture content of 23 samples (46%) exceeded that limits. The acidity value of all cheese samples (100%) found to be under the maximum limits (3% LA) laid down in quality standart of White Cheese Standart (T.S. 591). The statistical analyses of the data obtained in this study indicated no significant correlation between the AFM₁ levels and moisture content ($r=0.078$) and between AFM₁ levels and acidity ($r=-0.145$) of the cheese samples analysed.

As a result, white cheeses retailed in Amasya province were generally match the standards in respect to moisture contents, acidity values and especially AFM₁ levels which is considered to be a potential risk for public health.

Key words: Aflatoxin M₁, white cheese, acidity, moisture

GİRİŞ

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius*'un sekonder metabolitleri olup, yapısal olarak birbirine son derece benzeyen okside olmuş heterosiklik bileşiklerdir (4, 10, 17). Akut toksik, immunosupresif, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik özelliklere sahip olan aflatoksinlerin toksisite ve karsinojenitede başlıca hedef organları karaciğerdir (19, 9). Aflatoksinler B₁, B₂, G₁ ve G₂ olmak üzere başlıca dört ana fraksiyondan oluşmaktadır (8, 4). Aflatoksin M₁ ve M₂, "milk toxin" yani süt toksininin kısaltılmış şekli olup, çiftlik hayvanları tarafından AFB₁ ve AFB₂ ile bulaşık yemlerin tüketilmesi sonucu süt ile dışarı atılan, AFB₁ ve AFB₂'nin hidroksillenmiş metabolitleridir. Memeli hayvanların AFB₁ ile kontamine yemleri tüketmeleri sonucunda toksini sütleri ile salgıladıkları tespit edilmiştir (Carry-Over etki) (7, 4, 10, 9, 14).

Avrupa Birliği'nin "Gıda Maddelerinde Bazı Bulaşanların Maksimum Düzeylerini Belirleyen Komisyon Direktifi"nde; özellikle AFB₁ olmak üzere, aflatoksinlerin genotoksik karsinojen maddeler olduğu, bu nedenle herhangi bir NOEL (No Observable Effect Level; gözlenebilir etki oluşturmeyen düzey) ve ADI (Acceptable Daily Intake; kabul edilebilir günlük alım miktarı) değerlerinin belirlenemediği bildirilmektedir (12). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği ve Avrupa Birliği tarafından, peynirlerdeki AFM₁ için limit değer 0,25 µg/kg (0,25 ppb) olarak belirlenmiştir (3). Türk Standartları Enstitüsü Beyaz Peynir Standardında (TS 591) beyaz peynirlerde rutubet oranının en çok % 60, titrasyon asitliğinin ise en çok % 3 LA (Laktik asit cinsinden) olması gerektiği belirtilmiştir (1).

Dünyada en önemli süt ürünü olarak kabul edilen peynir, ülkemizde de süt ürünleri içerisinde en çok tüketilen ürün çeşidini oluşturmakta ve Türkiye'de peynir çeşitleri arasında beyaz peynir tüketimi ilk sırada yer almaktadır.

Toplum içerisinde çok sayıda bireyin, günlük yaşamda ve diyet uygulamalarında sıklıkla süt ve süt ürünlerini tercih etmeleri, aynı zamanda süt ve süt ürünlerinin bebekler ve çocuklar tarafından gelişimleri esnasında daha çok tüketilmesi, süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM₁ düzeyinin tespitini halk sağlığı açısından oldukça önemli kılar.

Bu çalışma, Amasya ilindeki farklı satış noktalarından temin edilen beyaz peynir örneklerinde AFM₁ düzeyleri ile rutubet ve asidite değerlerinin tespit edilmesini amaçlamaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Aralık 2005–Ocak 2006 ayları arasında Amasya ilindeki büyük marketler ile semt pazarlarında satışa sunulan farklı markalardaki 50 adet beyaz peynir örneği, AFM₁'in varlığı ve seviyesi, rutubet ve asidite değerleri yönünden incelendi. Örnekler, makroskobik bakıda küflenmenin bulunmadığı belirlenen peynirlerden alınmıştır.

Peynir örneklerindeki AFM₁ düzeyleri ELISA yöntemi (21) ile AFM₁ test kiti (Ridascreen, r-biopharm, Germany) (2), rutubet ve asidite değerleri A.O.A.C yöntemleri (5) kullanılarak saptandı. Çalışmada bütün analizler 2 paralelli ve 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirildi.

Aflatoksin M₁ saptanması: Analiz prosedürü üretici firmanın talimatları doğrultusunda (Art. no: R1101) gerçekleştirildi. ELISA testi sonuçlarının değerlendirilmesinde Ridascreen* (r-biopharm) tarafından üretilen, otomatik okuyucuya özel Rida* Soft Win programı kullanıldı (2).

Rutubet analizi prosedürü: Homojen hale getirilen peynir örneğinden alınan 2-3 g numune rutubet ölçüm tabağının (Santis, SA76154720) zeminine yayıldı. Kapağı açık

bir şekilde, 130 ± 1 °C'de dengeye gelen hava cereyanlı fırına konuldu ve 1 saat 15 dakika kurumaya bırakıldı. Kurutma sonrasında sıkıca kapağı kapatılarak fırından çıkarıldı, soğutuldu ve tartıldı. Tartım sonundaki ağırlık kaybı rutubet olarak kaydedildi (5).

Asidite analizi prosedürü: Homojen hale getirilmiş peynir örneğinden alınan, 10 g numune erlenmayere aktarıldı. Üzerine 40 °C sıcaklıktaki su ilave edilerek 105 ml'ye tamamlandı. Kuvvetlice çalkalandı ve süzgeç kağıdından (Whatman No:1) süzüldü. Süzüntüden 25 ml (2.5 g örnek içerir) alındı ve birkaç damla fenolfitaleyn (Ateks Kimya) ilave edildikten sonra 0.1 M NaOH ile pembe renk oluşup kaybolmayıncaya kadar titre edildi. 1 ml 0.1 M NaOH'in 0.0090 g laktik aside denk geldiği formülasyonundan, harcanan NaOH miktarı formülde yerine konularak laktik asit cinsinden asidite hesaplandı (5).

Çalışmada incelenen örneklerin sahip olduğu AFM₁ düzeyinin rutubet ve asidite ile olan ilişkisini incelemek amacı ile SPSS paket programı kullanılarak korelasyon analizi yapılmış. Spearman korelasyon katsayısı ile parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir (25).

BULGULAR

Amasya ilinde satışa sunulan farklı markalardaki 50 adet beyaz peynirin, AFM₁, rutubet ve asidite değer ortalamaları Tablo I'de, AFM₁ değerleri Tablo II'de, rutubet ve asidite değerleri sırasıyla Tablo III ve Tablo IV'de gösterilmiştir. Çalışmada tespit edilen AFM₁, rutubet ve asidite değerlerinin Türk Gıda Kodeksi (TGK) ve Türk Standartları Enstitüsü Beyaz Peynir Standardı (TS 591) limit değerlerine göre kıyaslanması ise Tablo V, Tablo VI ve Tablo VII'de belirtilmiştir.

Tablo I. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM₁, rutubet ve asidite değer ortalamaları

	Ortalama Değer X	Standart Hata (SH)	Minimum	Maksimum
Aflatoksin (ppt)	115.53	23.62	30.37	1237.80
Rutubet %	57.49	1.15	31.57	70.68
Asidite % (LA)	1.09	0.08	0.19	2.44

Tablo II. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM₁ miktarları (ppt) ve yüzde oranları

Peynirlerdeki AFM ₁ miktarları (ppt) ve yüzde oranları						
	0 – 50	50 – 100	100 – 150	150 – 200	200 – 250	250 > [*]
N ¹	9	22	13	4	1	1
% ²	18	44	26	8	2	2

¹ Analiz edilen numune sayısı² Toplam numune içindeki yüzdesi

* En yüksek değer 1237.80 ppt bir numunede

En düşük değer 30.37 ppt bir numunede

Tablo III. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin rutubet değerleri (%) ve yüzde oranları

Peynirlerdeki rutubet değerleri (%) ve yüzde oranları				
	< 50 %	50 – 60 %	60 – 70 %	70 % > [*]
N ¹	7	20	22	1
% ²	14	40	44	2

¹ Analiz edilen numune sayısı² Toplam numune içindeki yüzdesi

* En yüksek değer % 70.68 bir numunede

En düşük değer % 31.57 bir numunede

Tablo IV. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin asidite değerleri (% LA) ve yüzde oranları

Peynirlerdeki asidite değerleri (% LA) ve yüzde oranları					
	< 0.5 %	0.5 – 1.0 %	1.0 – 1.5 %	1.5 – 2.0 %	2.0 % > [*]
N ¹	10	11	21	4	4
% ²	20	22	42	8	8

¹ Analiz edilen numune sayısı² Toplam numune içindeki yüzdesi

* En yüksek değer % 2.44 bir numunede

En düşük değer % 0.19 bir numunede

Tablo V. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM₁ miktarlarının TGK limit değerine göre kıyaslanması

Numune sayısı	Türk Gıda Kodeksi limit değerinin (0.25 ppb) altında	Türk Gıda Kodeksi limit değerinin (0.25 ppb) üzerinde	Toplam
50	49	1	50
Yüzde oranı (%)	98	2	100

Tablo VI. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin rutubet değerlerinin TS 591 limit değerine göre kıyaslanması

Numune sayısı	Türk Standartları Enstitüsü peynir standardı (TS 591) limit değerinin (% 60) altında	Türk Standartları Enstitüsü peynir standardı (TS 591) limit değerinin (% 60) üzerinde	Toplam
50	27	23	50
Yüzde oranı (%)	54	46	100

Tablo VII. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin asidite değerlerinin TS 591 limit değerine göre kıyaslanması

Numune sayısı	Türk Standartları Enstitüsü peynir standardı (TS 591) limit değerinin (% 3 LA) altında	Türk Standartları Enstitüsü peynir standardı (TS 591) limit değerinin (% 3 LA) üzerinde	Toplam
50	50	0	50
Yüzde oranı (%)	100	0	100

Rutubet ve asidite değerlerinin AFM_1 değerleri ile olan etkileşimini tespit etmek amacıyla SPSS paket programı kullanılarak korelasyon analizi yapılmış, Spearman korelasyon katsayısı ile parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir. Rutubet, asidite ve AFM_1 değerleri arasındaki korelasyon Tablo VIII'de gösterilmiştir.

Tablo VIII. Rutubet, asidite ve AFM_1 değerleri arasındaki korelasyon

Spearman Test		Rutubet	Asidite	AFM_1
Rutubet	Korelasyon Sabiti (r)	1.00	-.003	.078
	Önem (p)	.	.982	.590
	Örnek Sayısı (n)	50	50	50
Asidite	Korelasyon Sabiti (r)	-.003	1.00	-.145
	Önem (p)	.982	.	.316
	Örnek Sayısı (n)	50	50	50
AFM_1	Korelasyon Sabiti (r)	.078	-.145	1.00
	Önem (p)	.590	.316	.
	Örnek Sayısı (n)	50	50	50

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin yapılan istatistiksel analizinde numune olarak kullanılan peynir örneklerinin AFM_1 düzeyi ile rutubet içerikleri arasında önemli bir ilişki bulunamaz iken (0,078), AFM_1 miktarı ile asidite arasında negatif ancak istatistiksel açıdan önemsiz olduğu belirlenen (-0,145) bir ilişki tespit edilmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Toplum içerisinde çok sayıda bireyin, günlük yaşamda ve diyet uygulamalarında sıklıkla süt ve süt ürünlerini tercih etmeleri, aynı zamanda süt ve süt ürünlerinin bebekler ve çocuklar tarafından gelişimleri esnasında daha çok tüketilmesi ve bu yaş gruplarının mikotoksinlerin yan etkilerine karşı daha duyarlı olmalarından dolayı süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM₁ düzeyinin tespiti, halk sağlığı açısından oldukça önem taşır.

Tablo II ve V'den de anlaşılabacağı üzere incelenen peynir örneklerinin % 100'ünde AFM₁ saptanmış; % 2'sinde AFM₁ düzeyleri Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen limitlerin üzerinde bulunmuştur.

Prado ve ark. (20), 1996-1998 yılları arasında Brezilya'da inceledikleri 75 adet "Minas peyniri" numunesinin 56 adedinde (% 74.7) 0.02-6.92 ppb düzeyinde AFM₁ tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca Finoli ve Vecchio (13), Batı Sicilya'daki marketlerden ve çiftliklerden sağlanan farklı çeşitteki 30 adet peynir numunesinin 4'ünde (% 13) AFM₁ tespit etmişler, peynirlerdeki AFM₁ oranlarının ise hiçbir numunede, Hollanda'nın peynirler için belirlediği yasal limit olan 200 ng/kg'ı aşmadığını bildirmişlerdir. Trucksess ve Page (22), A.B.D.'de çeşitli ülkelerden ithal edilen 118 peynir numunesinde aflatoksin analizi yapmışlar, analiz sonucunda 8 peynir numunesinde 100-1000 ng/kg düzeylerinde AFM₁ saptadıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda incelenen 50 adet peynir örneğinin tamamında (% 100) 0.03 µg/kg ve üzerinde AFM₁ tespit edilmiş olup her üç araştırmacının bildirdiği değerlerin üzerindedir.

Gürses ve ark. (16), Erzurum ilinde tüketime sunulan 23 adedi beyaz peynir, 14 adedi kaşar peyniri, 11 adedi tulum peyniri, 9 adedi civil peyniri ve 6 adedi lor peyniri olmak üzere toplam 63 adet peynir örneğini incelemişler, beyaz peynir örneklerinin % 28.08'inde ve toplam örneklerin % 44.44'ünde AFM₁ tespit ettiklerini bildirmişler, Türk Gıda Kodeksi yasal limitinin üzerinde AFM₁ içeren numune bulunmadığını

belirtmişlerdir. Dağoğlu ve ark. (11), Van'dan sağlanan 50 adet otlu peynir ve İstanbul'dan sağlanan 25 adet beyaz peynir numunesinin toplam % 45,2'sinde AFM₁ tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Yaroğlu (24), Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklere alınan beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinin her birinden 100'er adet olmak üzere toplam 300 adet numunenin % 7.66'sında AFM₁ tespit etmiş, % 1.66'sındaki AFM₁ düzeyinin ise Türk Gıda Kodeksi limit değeri olan 0.25 ppb'nin üzerinde olduğunu belirtmiştir. Yaroğlu ve ark. (23), yaptığı bir diğer çalışmada Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden sağlanan beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinin her birinden 200'er adet olmak üzere toplam 600 adet numune'nin %5'inde AFM₁ tespit etmiş ve beyaz peynir örneklerinin % 1'indeki ve toplam örneklerin %1'indeki AFM₁ düzeyinin ise Türk Gıda Kodeksi limit değerinin üzerinde olduğunu belirtmiştir. Yukarıdaki dört çalışmada da AFM₁ tespit edilen numune yüzdeleri, çalışmamızın bulgularından daha düşük oranda, Türk Gıda Kodeksi limit değeri üzerinde olan numune yüzdeleri ise, Gürses ve ark. (16) yaptığı çalışmada çalışmamızdan düşük, Yaroğlu (24) ile Yaroğlu ve ark. (23) yaptıkları çalışmalarda, bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Günşen ve Büyükyörük (15), Bursa'daki marketlerden sağlanan farklı çeşitteki 130 adet peynir numunesinin 110'unda (% 85.46) AFM₁ tespit etmişler, pozitif numunelerin 17'sindeki (% 15.45) AFM₁ düzeyinin, Türk Gıda Kodeksi limit değerini aştığını bildirmişlerdir. Oruç ve Sonal (18), Bursa'daki marketlerden ve sokak sütçülerinden sağlanan 57 adet beyaz peynir ve 10 adet süt örneğini (5 adedi çiğ, 5 adedi pastörize) incelemişler; beyaz peynirlerin % 89.47'sinde ve çiğ sütlerin % 10'unda AFM₁ tespit etmişler, peynirlerin % 12.28'indeki AFM₁ düzeyinin Türk Gıda Kodeksi yasal limiti olan 0.25 ppb'yi aştığını bildirmişlerdir. Ayçiçek ve ark. (6), İstanbul'da askeri birliklere alınan 186 adet beyaz peynir ve 64 adet tereyağı numunelerinin sırasıyla % 65 ve % 81'inde AFM₁ tespit etmişler, beyaz peynirlerin % 19'u ile tereyağı numunelerinin % 31'indeki AFM₁ düzeylerinin, Türk Gıda Kodeksi limit değerlerini aştığını bildirmişlerdir. Her üç çalışmada da AFM₁'in peynirlerde bulunma insidensi çalışmamızın bulguları ile benzerlik göstermekte, Türk Gıda Kodeksi limit değeri

üzerinde olan numune yüzdelерinin sonuçlarımızdan daha yüksek olduğu görölmektedir. Nitekim her üç çalışmada da çeşitli illerde marketlerde satılan peynirler incelenmiş ve Türk Gıda Kodeksi limit değeri üzerinde olan AFM₁ düzeyleri % 10'un üzerinde bulunmuştur. Çalışmamızda bulduğumuz limit değeri üzerindeki oran (% 2) ise tamamen semt pazarlarından temin ettiğimiz köy peynirlerinden kaynaklanmaktadır. Bu durum peynirlerin yapım aşamasında hijyen koşullarına dikkat edilmediğini akla getirmektedir.

Bu araştırmada, Amasya ilinde tüketime sunulan tüm beyaz peynir numunelerinin AFM₁ ile kontamine olduğu, sadece 1 adet beyaz peynir numunesinin Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre peynirlerde bulunmasına müsaade edilen limit değeri olan 0.25 ppb'nin üzerinde AFM₁ içerdіđi gerçeğinden hareketle, AFM₁ ile kontamine beyaz peynirlerin insanlar tarafından uzun süreli tüketilmesi durumunda önemli sağlık sorunlarına yol açabileceği söylenebilir.

Sonuç olarak, Amasya ilinde satışa sunulan beyaz peynirlerin AFM₁ ile kirlenme durumunun tüketici sağlığını ilgilendiren önemli bir sorun olarak ele alınması gerektiğini ifade etmek mümkündür. AFM₁ ile kontamine süt ve süt ürünlerinin insanlar tarafından tüketilmesini önlemek için öncelikle hayvanların tükettiği yemlerin ve yem hammaddelerinin gerek tarlada, gerekse depolama koşullarında AFB₁ ile kontamine olmasının engellenmesi gerekmektedir. Sorunun çözömlenmesinin ancak üreticilerin ve tüketici gruplarının bu konuda bilinçlendirilmesi ve eğitimleri ile mümkün olabileceğini ifade edebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Anonim. Beyaz Peynir Standardı (TS 591) 1995. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara
2. Anonim. R-Biopharm: Ridascreen[®] Aflatoksin M₁, R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany
3. Anonim. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (2002/63)
4. Applebaum R.S, Brackett R.E, Wiseman D.W, Marth E.H. Aflatoxin : Toxicity to dairy cattle and occurrence in milk and milk products. J Food Protect 1982; 45(8):752-777
5. Association of Official Analytical Chemists, International. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC, Arlington, VA
6. Ayçiçek H, Yarsan E, Sarımehtetoğlu B, Çakmak Ö. Aflatoxin M₁ in white cheese and butter consumed in İstanbul, Turkey. Vet Human Toxicol 2002, 44(5):295-296

7. Bankole A.S, Adebajo A. Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it. *African Journal of Biotechnology* 2003 ; 2 (9):254-263
8. Bennett J.W, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(3):497-516
9. Coulombe A.R. Biological action of mycotoxins. *J Dairy Sci* 1993; 76:880-891
10. D'Mello J.P.F, Macdonald A.M.C. Mycotoxins. *Anim Feed Sci Tech* 1997; 69:155-166
11. Dağoğlu G, Keleş O, Yıldırım M. Peynirlerde aflatoksin düzeylerinin ELISA testi ile araştırılması. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg* 1995; 21(2):313-317
12. EC, 1998, Commission Regulation (EC) No.1525/98 of July 1998, Amending Regulation (EC) No.194/97 of 31 Jan. 1997, Setting Maximum Levels For Certain Contaminants in Foodstuffs. *Official Journal of The European Communities*
13. Finoli C, Vecchio A. Occurrence of aflatoxins in feedstuff, sheep milk and dairy products in Western Sicily. *Ital J Anim Sci* 2003; 2:191-196
14. Galvano F, Galofaro V, Ritieni A, Bognanno M, Angelis A, Galvano G. Survey of the occurrence of aflatoxin M₁ in dairy products marketed in Italy: Second year of observation. *Food Addit Contam* 2001; 18 (7):644-646.
15. Günsen U, Büyükyörük İ. Aflatoxins in retail food products in Bursa, Turkey. *Vet Human Toxicol* 2002; 44(5):289-290
16. Gürses M, Erdoğan A, Çetin B. Occurrence of aflatoxin M₁ in some cheese types sold in Erzurum, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28:527-530
17. Henry S.H, Whitaker T, Rabbani I, Bowers J, Park D, et al. Aflatoxin M₁. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Report TRS 906-JECFA 56/8.2001
18. Oruç H.H, Sonal S. Determination of aflatoxin M₁ levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. *Vet Human Toxicol* 2001; 43(5):292-293
19. Peraica M, Radić B, Lucić A, Pavlović M. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization* 1999; 77(9):754-766
20. Prado G, Oliveira M.S, Pereira M.L, Abrantes F.M, Santos L.G, et al. Aflatoxin M₁ in samples of "Minas" cheese commercialized in the city of Belo Horizonte-Minas Gerais/Brazil. *Ciênc Tecnol Aliment* 2000; 20(3)
21. Stroka J, Anklam E. New strategies for the screening and determination of aflatoxins and the detection of aflatoxin-producing moulds in food and feed. *Trends in analytical chemistry* 2002; 21(2):90-95
22. Trucksess M.W, Page S.W. Examination of imported cheeses for aflatoxin M₁. *J Food Protect* 1986; 49(8):632-633
23. Yaroglu T, Oruc H.H, Tayar M. Aflatoxin M₁ levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control* 2005; 16:883-885
24. Yaroglu T. Türk Silahlı Kuvvetlerine Bağlı Askeri Birliklerde Tüketime Sunulan Peynirlerde Aflatoksin M₁ Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa 2002
25. Zar, J.H.; *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. 1984; 718 pp.

SİĞİR KARKASLARINDAN *SALMONELLA* SPP. VARLIĞI'NIN KÜLTÜREL, IMMUNOMANYETİK SEPARASYON VE ENZYME LINKED FLUORESCENT ASSAY TEKNİKLERİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

Ali AYDIN, Hamparsun HAMPİKYAN, Tolga KAHRAMAN, Karlo MURATOĞLU

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Abd., 34320 Avcılar
İstanbul, Türkiye

Özet: Bu çalışmada İstanbul'da bulunan 3 farklı mezbahadan 1 yıl boyunca, aylık olarak temin edilen sığır karkas numunelerinde *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. Her mezbahadan 10'ar adet olacak şekilde, aylık toplam 30 adet numune, sığırların omuz bölgesinden ıslak-kuru swab tekniği ile alınmıştır. Örneklerdeki *Salmonella* spp. varlığı aynı anda kültürel, İmmunomanyetik Separasyon (IMS) ve Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) teknikleri kullanılarak belirlenmeye çalışılmış ve metodların performansları değerlendirilmiştir. Yıllık toplam 360 adet numunenin 8 adedinde (% 2.2) *Salmonella* spp. tespit edilmiş ve daha sonra suşlarda tiplendirme yapılarak 2 adedinin *Salmonella typhimurium* ve 6 adedinin *Salmonella arizona* olduğu belirlenmiştir. Çalışmada Mayıs, Haziran ve Ağustos aylarında 1'er adet (%37.5) numunede, Aralık ayında 2 adet (% 25) numunede ve Mart ayında 3 adet (%37.5) numunede *Salmonella* spp. izole edilmiştir. Kültürel ve ELFA teknikleri ile 6 adet, IMS tekniği ile 5 adet *Salmonella* suşu tanımlanmış olup, metodlar arasında performans açısından önemli bir farklılık görülmemiştir. Çalışmada izole edilen *Salmonella typhimurium* suşlarına, etkenin özellikleri göz önünde bulundurularak, antibiyotik dirençlilik ve faj tiplendirmesi testleri de yapılmıştır. İzole edilen *Salmonella typhimurium* suşlarına uygulanan resistanslık testlerinde, 17 adet antibiyotik diski (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Tetracycline, Sulfanamide, Amoxycillin/clavulanic acid, Colistin, Neomycin, Florfenicol, Ceftiofur, Sulphamethoxazole/Trimethoprim, Spectinomycin, Gentamicin, Trimethoprim, Kanamycin, Ciprofloxacin ve Nalidixic acid) kullanılmış ve bunlara ait direnç gelişimi saptanmamıştır. Faj tiplendirmeleri sonucunda *Salmonella typhimurium*'a ait spesifik faj bulunamamıştır. Sonuç olarak, İstanbul'da kesimi yapılan sığır karkaslarından elde edilen örneklerde izole edilen *Salmonella* insidensinin düşük olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik dirençlilik, ELFA, IMS, *Salmonella typhimurium*, Sığır karkası,

DETECTION OF *SALMONELLA* SPP. FROM BEEF CARCASS BY USING CULTURAL, IMMUNOMAGNETIC SEPARATION AND ELFA TECHNIQUES

Ali AYDIN, Hamparsun HAMPIKYAN, Tolga KAHRAMAN, Karlo MURATOĞLU

Istanbul University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 34320 Avcılar, Istanbul, Turkey.

Summary: In this one year study, the presence of *Salmonella* was researched in beef carcass samples, which were obtained from 3 different slaughterhouses in Istanbul. 30 samples, 10 from each slaughterhouse, were taken by wet-dry swab technique from beef shoulder region on a monthly base. The presence of *Salmonella* spp. on the samples was researched using cultural, Immunomagnetic separation (IMS) and Enzyme Linked Fluorescent (ELFA) techniques. The performances of the methods were also evaluated. *Salmonella* spp. were detected from 8 samples (% 2.2), out of 360 samples annually and these were identified as 2 *Salmonella typhimurium* and 6 *Salmonella arizona*. 2 *Salmonella* spp. (%25) were isolated in December, 3 (%37.5) in March and 1 (%37.5) in each May, June, August, from samples. 6 salmonella strains were identified by cultural and ELFA techniques and 5 strains by IMS technique and there were not seen a significant difference between those techniques. Considering the characteristics of *Salmonella typhimurium*, which were isolated in this study, antibiotic resistance and phage typing tests were applied. In resistance tests 17 antibiotic discs (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Tetracycline, Sulfanamide, Amoxycillin/clavulanic acid, Colistin, Neomycin, Florfenicol, Ceftiofur, Sulphamethoxazole/Trimethoprim, Spectinomycin, Gentamicin, Trimethoprim, Kanamycin, Ciprofloxacin and Nalidixic acid) were used and there were not seen resistance to these antibiotics. According to the result of phage typing analyze, specific *Salmonella typhimurium* phages were not detected. As a conclusion, it is determined that *Salmonella* incidence was found low in beef carcass samples slaughtered in Istanbul.

Keywords: Antibiotic resistance, Beef carcass, ELFA, IMS, *Salmonella typhimurium*

BAL ÖRNEKLERİNİN FİZİKOKİMYASAL VE DUYUSAL ÖZELLİKLERİ

Özlem ERDOĞRUL*

Özer ERGÜN

KSÜ Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş,

İÜ Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, İstanbul

Özet: Çalışmada Kahramanmaraş'ta üretilen 11 adet bal örneğinin pH, asitlik, diastaz sayısı, Hidroksimetil Furfurol (HMF), invert şeker, sakkaroz, ticari glikoz, kül, suda çözünmeyen katı madde, viskozite, elektrik iletkenliği, duysal analiz deneyleri araştırılmıştır.

Çalışılan örneklerin pH değerleri 3,36-4,41, asitlik değerleri 15,76-121,94 meçkg, diastaz sayısı 6,5-29,4, HMF değeri 36,55-47,70 mg/kg, invert şeker % 65-75 arasında, sakaroz %5-7 arasında tespit edilmiştir. Tüm bal örneklerinde ticari glikoz tespit edilmiştir. Kül oranı % 0,004- 0,951, suda çözünmeyen katı madde oranı % 0,003-0,41, viskozite 1892,7- 343572 cp, elektrik iletkenliği 0,044- 1,127 mS arasındadır. Ayrıca çalışmada bal örneklerinin renk, koku, kıvam, görünüş ve lezzet özellikleri incelenmiştir.

Bal örneklerinin % 9'unun HMF içeriği, % 63'ünün asiditesi, % 36'sının Diastaz değeri, %18'inin suda çözünmeyen katı madde varlığı ve % 18'inin ise kül bakımından bal standardına (TS 3036) uygun olmadığı, incelenen diğer özelliklerin ise standartla uyum içerisinde olduğu belirlenmiştir.

PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY PROPERTIES OF HONEY SAMPLES

Özlem ERDOĞRUL*

Özer ERGÜN

**Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, University of Kahramanmaraş Sütçü İmam, Kahramanmaraş, Turkey.*

Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, University of İstanbul

Abstract: In this study the physicochemical and sensory properties of 11 honey samples from Kahramanmaraş, were evaluated. Physicochemical parameters were analysed namely: pH, acidity, diastase, HMF (5-hydroxymethylfurfural), invertase activity, saccharose, commercial glucose, ash, water insoluble solids, viscosity, electrical conductivity and sensory properties (color, odor, consistence, appearance, flavor).

The results about the honey samples were; pH values from 3.36 to 4.41, acidity from 15.76 to 121.94 meç/kg, diastase from 6.5 to 29.4, HMF from 36.55 to 47.70 mg/kg, invertase from 65 to 75 %, saccharose from 5 to 7%, ash from 0.004 to 0.951%, water insoluble solids from 0.003 to 0.41%, viscosity from 1892.7 to 343572 cp, electrical conductivity from 0.044 to 1.127 mS, respectively. In all of the tested samples commercial glucose was determined.

HMF content of 9%, acidity of 63%, diastase of 36%, water insoluble solids of 18%, ash content of 18% of samples were not agreement within the honey standard (TS 3036), but the other parameters were not exceeding the standard.

SIR BARAJINDAKİ BAZI BALIKLARDA CİVA (Hg) DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Özlem ERDOĞRUL

KSÜ Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kahramanmaraş

Çalışmada 2002-2003 yıllarında Kahramanmaraş Sır Barajı'nda balıkçılığı yapılan 33 adet balık örneğinde civa (Hg) analizleri yapılmıştır. Balık örnekleri *Cyprinus carpio* (sazan) ve *Siluris glanis* (Yayın) türlerinden olmak üzere balıkçılardan temin edilmiştir. Analiz sonuçları g/g ka (kuru ağırlık) olarak verilmiştir. Buna göre civa düzeyleri, sazan örneklerinde 0,03-0,18, yayın örneklerinde 0,16-0,38 g/g ka şeklindedir.

Çalışmada incelenen balık örneklerindeki civa düzeyleri düşük olmasına rağmen gelecekte endüstri ve tarımın gelişmesine bağlı bir kirlilik olabilir.

**DETERMINATION OF MERCURY (Hg) LEVELS IN VARIOUS FISH
SAMPLES FROM SIR DAM LAKE**

Özlem ERDOĞRUL

Department of Food Engineering, Faculty of Agriculture, University of
Kahramanmaraş Sütçü İmam, Kahramanmaraş, Turkey

Mercury (Hg) levels in *Cyprinus carpio* (carp) and *Siluris glanis* (wels) (total sample number: 33) from Sir Dam Lake, Kahramanmaraş, were measured during 2002 and 2003. The fish samples were obtained from fishermen.

The mercury levels were ranged from 0.03 to 0.18 $\mu\text{g/g}$ dry weight in carp samples and from 0.16 to 0.38 $\mu\text{g/g}$ dry weight in wels samples.

Even though, there are no high levels of Hg in fish, a possible hazardous may occur in the future depending on the agricultural and industrial development in this area.

KİTOSAN VE GIDA SANAYİİNDE KULLANIM ALANLARI

Tuğba ALDEMİR

Kamil BOSTAN

*İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 34320, Avcılar, İstanbul*

Özet : Tüketicilerde koruyucu kimyasal madde içermeyen gıda maddelerine karşı büyük bir talep vardır. Bu da yeni doğal katkı maddelerinin araştırılmasına neden olmuştur. Bunlardan birisi olan kitosan çok geniş bir uygulama alanı olması nedeniyle son zamanlarda ilgi odağı haline gelmiştir. Kitosan, kitinden deasetilasyon yoluyla elde edilir. Bir aminopolisakkarit olan kitin ise kabuklu deniz ürünlerinin kabuklarında bulunur. Kitosan sindirim yoluyla alındığında bitkisel diyetetik lifler gibi işlev görebilir. Meyve ve sebzelerin kalitesinin ve raf ömrünün artırılması, gıda atıklarının geri kazanılması, suyun arıtılması, meyve sularının saflaştırılması ve asitliğinin giderilmesi gibi çeşitli amaçlarla kullanılabilmektedir. Bunlara ilave olarak, kitosanın birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel etki göstermesi nedeniyle son yıllarda oldukça dikkat çekmiştir. Bu makalede kitosanın antimikrobiyel etkisi ve çeşitli gıda uygulamaları özetlenmiştir.

Summary : The growing consumer demand for foods without chemical preservatives has focused efforts in the discovery of new natural additives. Chitosan, which is one of these, have been of interest in the past few decades due to their potential broad range of industrial applications. Chitosan is obtained from chitin by a deacetylation process. Chitin is an aminopolysaccharide that comes from the shells of shellfish. Deacetylated chitin, or chitosan, is comprised of chains of D-glucosamine. When ingested, chitosan can be considered a dietary fibre. These biopolymers offer a wide range of unique applications such as enhancing of quality and storability of fresh fruit and vegetables, recovery of waste material from food processing discards, purification of water and clarification and deacidification of fruit juices. In addition, the antimicrobial activity of chitosan against different groups of microorganisms has received considerable attention in recent years. This review summarizes the antimicrobial activity and food applications of chitosan.

GİRİŞ

Gıda katkı maddeleri genel anlamda; tek başına gıda olmayan, gıda maddesinin yapısında doğal olarak bulunmayan ancak gıdalara üretim, işleme, depolama veya ambalajlama gibi aşamalarda gıda maddesinin tat, koku, görünüm, yapı ve diğer niteliklerini düzeltmek, kalitesini uzun süre muhafaza etmek, besleyici değerini korumak, raf ömrünü artırmak, güvenli hale getirmek gibi amaçlarla katılan madde veya madde karışımlarıdır. Gıda üreticileri bu ve benzeri amaçlarla izin verilen, bazı hallerde izin verilmeyen oranlarda ve çeşitlilikte katkı maddesi kullanılmaktadırlar. Gerçekten de katkı maddesi kullanılması durumunda ürünün istenen özelliklerinde önemli düzeyde iyileşme sağlanmakta; raf ömründe belirgin bir artış elde edilmektedir. Bu sayede ürünün piyasadaki rekabet şansı artmakta ve bozulmalardan dolayı ekonomik kayıplar azalmaktadır. Diğer taraftan katkı maddesi kullanılarak düşük kaliteli hammaddelerden ürün üretmek söz konusu olduğundan tüketicinin aldatılmasına; daha da önemlisi izin verilen limitlerin üzerinde veya izinsiz kullanımlarda tüketicinin sağlığının bozulmasına yol açılabilmektedir. Özellikle yapay nitelik taşıyan katkı maddelerinin bazılarının sonradan yan etkileri belirlendiğinden izin verilen kullanım miktarları azaltılmış veya kullanımı yasaklanmıştır. Bu nedenlerle son yıllarda gıda üretiminde yapay yerine toksik olmadığı bilinen doğal kaynaklardan elde edilmiş katkı maddeleri tercih edilmekte ve her geçen bunlara yenileri eklenmektedir. Gıda katkı maddeleri arasında antimikrobiyel etkili olanlar ayrı bir öneme sahiptir. Doğal antimikrobiyel maddelerle ilgili ilk çalışmalar sarımsak, kırmızı biber, kekik, tarçın, karanfil vb belli bitki ekstraktları ile gerçekleştirilmiştir. Bunların çoğuyla ilgili laboratuvar koşullarında başarılı sonuçlar alınmıştır. Ancak bunların katıldıkları gıda maddelerinde laboratuvar şartlarındaki kadar etkili olmamaları, fazla miktarlarda katıldıklarında ise gıda maddelerinde istenmeyen lezzet ve aroma oluşumlarına sebep olmaları gibi çeşitli olumsuzlukları tespit edildiğinden kullanımları sınırlı kalmıştır.

Yeni nesil katkı maddeleri arasında yer alan kitosan, günümüzde üzerinde araştırmalar yapılan önemli bir katkı maddesi olmuştur. Bakteri, mantar ve maya gibi farklı mikroorganizma gruplarına karşı antimikrobiyel etkiye sahip olması ve diğer birçok fonksiyonel özellikleri nedeniyle dikkat çekmiş ve gıda endüstrisinde kullanılmaya başlanmıştır (Shahidi,1999).

Kitosanın tanım ve özellikleri

Kitosan, yengeç ve karides gibi kabuklu deniz ürünlerinin dış iskeletlerinde, kelebeklerin kanatlarında, mantarların hücre duvarlarında vb bulunan doğal bir polisakkarit olan kitin'den kısmi deasetilasyon yoluyla elde edilen, reaktif fonksiyonel amino gruplarına sahip; kimyasal yapı olarak seluloza benzeyen ve doğada selulozdan sonra en sık rastlanan biyopolimerdir (Shepherd,1997; Terbojevich ve Muzarelli, 2000). Bir polisakkarit olan kitin kimyasal olarak 2-aset-amido-2-deoksi- β -D-glukoz (N-asetil glukozamin)'dan oluşmaktadır. Kitinin düşük derecede deasetilasyonu yoluyla elde edilen kitosan ise (1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoksi-D-glukoz olarak bilinmektedir (Şekil 1).

Kitin izolatlarının asetilasyon dereceleri, moleküler ağırlıkları ve azot içeriklerine göre birbirlerinden farklılık göstermektedir. Kitinin in vivo ortalama moleküler ağırlığının en az bir milyon dalton olduğu fakat depigmentasyon basamakları ve kimyasal işlemler sırasında ortaya çıkan parsiyel depolimerizasyondan dolayı kitin izolatlarının daha düşük moleküler ağırlığa sahiptir (Kurita,1998; Shepherd,1997). Kitinin çözünürlüğü, yüksek kristalize

yapısından dolayı selulozdan daha zayıftır ve organik çözücülerde çözünmemektedir. Kitosan ise seyreltik asetik asit gibi çözücülerde çözündürülebilmektedir. Buna karşın organik çözücülerde ve pH6 olan solüsyonlarda çözünmemektedir. Saf halde suda çözünmeyen kitosan; asetat, laktat, malat, sitrat, askorbat gibi asidik bir solüsyonla kombine edildiğinde suda çözünen tuz oluşturmaktadır (Terbojevich ve Muzarelli, 2000).

Kitosan, 3 çeşit reaktif fonksiyonel gruba sahiptir. C-2, C-3 ve C-6 pozisyonlarında birinci ve ikinci hidroksil gruplarında birer amino grubu bulunmaktadır. Bu gruplarda kimyasal değişiklikler yapılarak farklı alanlarda kullanılmak üzere birçok sayıda yararlı materyal elde edilmektedir (Shahidi ve ark.,1999). Kitin, kitosan, oligomerleri ve monomerlerinin elde ediliş yolları Şekil 2'de gösterilmiştir.

Kitosanın sağlık üzerine etkileri

Kitosan son yıllarda adından sıkça bahsedilen diyetetik yardımcı maddeler arasında yer almaktadır. Sindirilemez olması, yüksek viskozitesi, yüksek su bağlama yeteneği, polimerit tabiatı vs nedenlerle bitkisel diyetetik liflere benzerlik göstermektedir ve canlı organizmada benzer etkiler oluşturmaktadır. Çeşitli hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda kitosanın bağırsak hareketlerinin ve sindirim faaliyetlerinin düzenlenmesi, bağırsak mikroflorasının (bifidobakterilerin) desteklenmesi, kan kolesterol seviyesinin düzenlenmesi (LDL kolesterolün düşürülmesi, HDL kolesterolün artırılması), kan basıncının düşürülmesi, immunoadjuvant aktivitesi, antitümöral etki, ürik asit atılımının hızlandırılması, karaciğer fonksiyonlarının düzenlenmesi, radyoaktif maddelerin organizmadan atılımının kolaylaştırılması gibi çeşitli yararlı etkilerinin ortaya konulması veya ileri sürülmesi olmuştur (Austin ve ark.,1981; Lee ve ark., 1999; Ormrod ve ark.,1998; Razdan ve Pettersson, 1994; Suzuki ve ark.,1986; Wuolijoki ve ark., 1999).. Bunlara ilave olarak kitosana asıl ilgi sindirim yoluyla alındığında yağ emilimini azaltarak kilo kaybını desteklemesi olmuştur. Bununla ilgili teori kitosanın pozitif yüklü bir bileşik olmasından dolayı negatif yüklü olan yağ asitlerini çekme ve onlara bağlanabilmesi ve bu suretle kendi ağırlığının 5-6 katı kadar yağı (kolesterol dahil) bağlayarak vücut tarafından emiliminin engellenmesi esasına dayanmaktadır (Han ve ark.,1999; Kanauchi ve ark., 1995; Pittler ve ark., 1999).

Düşük toksisiteye sahip doğal bir polimer olması nedeniyle insan vücudunda birikmeden atılmasına karşın kitosanın gaz, şişkinlik ve yağların kalın bağırsaklarda parçalanması sonucu şekillenen ishal gibi yan tesirleri de olabilmektedir. Aynı zamanda yüksek miktarlarda alındığında yağda çözünen vitaminlerin (A,D,E,K), karotenoidlerin (beta-karoten, lutein, zeaksantin gibi) ve bazı minerallerin (çinko gibi) emiliminin de azaltılması söz konusudur.

Kitosanın antimikrobiyel aktivitesi

Gıda maddelerinin muhafazası ve raf ömrünün artırılmasında da bir alternatif olarak kitosandan yararlanılmaktadır. Burada en önemli etki kitosanın antimikrobiyel etki göstermesinden ileri gelmektedir. Bu etkinin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte pozitif yüklü kitosan moleküllerinin mikroorganizmaların faaliyetlerini inhibe edecek şekilde negatif yüklü hücre membranına bağlanması; şelat yapıcı bir ajan olarak rol oynayarak iz elementlere bağlanması ve bu suretle mikrobiyel gelişme ve toksin üretiminin inhibe edilmesi; suyu bağlayarak enzimleri inhibe etmesi; DNA ile bağlanması ve mRNA sentezini engelleyerek üremenin durdurulması gibi çeşitli teoriler ileri sürülmüştür (Chen ve ark.,1998;

Cuero ve ark.,1991; Roller,2003; Shahidi,1999; Sudharshan ve ark., 1992). Kitosanın antimikrobiyel etkinliği molekül ağırlığı, asetilasyon derecesi, sıcaklık, pH gibi faktörlerden az veya çok etkilenmektedir (Gerasimenko ve ark.,2004; Helander ve ark., 2001; Roller,2003; Roller ve Covill,2000; Shaban ve Hesham,2002; Sudharshan ve ark., 1992; Taha ve Swailam, 2002; Tsai ve ark.,2002; Wang,1992). Genel olarak Gram (+) bakterilerin kitosanın antimikrobiyel aktivitesine Gram (-) bakterilerden daha duyarlıdır. Bilindiği üzere Gram (-) bakterilerin hücre duvarı makromoleküllerin geçişine karşı etkili bir bariyer oluşturmaktadır. Polimerik bir makromolekül olan kitosan bu dış membranı kolayca aşamamaktadır. Bununla birlikte polikasyonik moleküllere bağlanma özelliğine sahip kitosanın gram (-) bakterilerin dış membranına bağlanması fonksiyonunun azalmasıyla sonuçlanmaktadır (Helander ve ark.,2000).

Kitosanın patojen mikroorganizmalar üzerine etkisi çeşitli araştırmacılar tarafından ele alınmıştır. Wang (1992). besi ortamında yaptıkları çalışmada kitosanın %1-1,5 gibi yüksek konsantrasyonlarda *Staphylococcus aureus*, %0,5-1 konsantrasyonlarda ası *Escherichia coli* üzerinde tam inhibisyon oluşturduğunu bildirmiştir. Zheng ve Zhu (2003) kullanılan kitosanın molekül ağırlığı arttıkça gram pozitif bir bakteri olan *S. aureus* üzerinde antimikrobiyel etkisinin arttığını; bunun sebebinin de yüksek molekül ağırlığına sahip kitosanın film tabakası oluşturarak hücrenin besin emilimini engellemesi olduğunu ortaya ileri sürmüşlerdir. Aynı araştırmacılar tam tersine molekül ağırlığı azaldıkça gram negatif bir bakteri olan *E. coli* için antimikrobiyel etkisinin arttığını ve bunun da düşük molekül ağırlığına sahip kitosanın hücre duvarından daha kolay geçerek hücre metabolizmasını bozmasından ileri geldiğini iddia etmişlerdir. Ayrıca kitosan konsantrasyonu arttıkça antimikrobiyel etkinin kuvvetlendiğini; %1.0 konsantrasyonunda hem *E. coli* hem de *S. aureus* için %100 inhibisyon oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Buna karşın Darmadji ve Izumimoto (1994) *E. coli*'nin üremesini durdurmak için daha yüksek konsantrasyonlara gerek duyulduğunu rapor etmiştir. Gerasimenko ve ark. (2004), düşük molekül ağırlığına sahip %85 deasetilasyon derecesine sahip, düşük molekül ağırlıklı kitosanların *S. aureus* ve *E. coli* gibi hem Gram (+) hem de Gram (-) bakterilerin üremelerini baskıladıklarını saptamışlardır. Choi ve ark. (2001) ağız patojenleri üzerinde yaptıkları çalışmada %0.1'lik kitosan konsantrasyonunun *Actinobacillus actinomycetemcomitans* sayısında 120 dakikada 4.5 log kob/ml; *Streptococcus mutans* sayısında 0.5 log kob/ml düzeyinde azalmaya neden olduğunu saptamışlardır. Tsai ve ark. (2002) ise kitosanın deasetilasyon derecesi arttıkça antimikrobiyel aktivitenin de arttığını ve yüksek deasetilasyon derecesine sahip kitosanın *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* ve *V. parahaemolyticus* gibi bakterilere karşı minimal letal konsantrasyonun 50-200 ppm arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Bakteriler kadar küf ve mayalar da kitosandan etkilenmektedir. Çoğu küf türlerinin % 1.0'ın altındaki kitosana oldukça hassas oldukları, buna karşılık *Aspergillus flavus* gibi türlerin ise %1'in üstünde konsantrasyonlarda bile kitosana karşı dirençli oldukları rapor edilmiştir (Roller,2003). Fang ve ark. (1994) ise ortama (pH 5.4) 0.1-5 mg/ml. kitosan ilavesinin *Aspergillus niger*'in üremesini durdurduğu; fakat 2 mg/ml'den daha düşük konsantrasyonlarda *Aspergillus flavus*'un gelişimini ve aflatoksin üretimini inhibe etmede etkisiz olduğu sonucuna varmışlardır. Cuero ve ark. (1991) da kitosanın (N-carboxymethyl) *A. flavus* ve *A. parasiticus* gelişimini yarı yarıya; bu küflerin toksin üretimini ise % 90'ın üzerinde bir oranda azalttığını rapor etmişlerdir. Park ve arkadaşları (2005) da kitosanın küfler (*Cladosporium* sp. ve *Rhizopus* sp.) üzerine etkisini hem çileklerde hem de in vitro olarak araştırmışlardır. Yapılan çalışmada kitosan (%2) ile kaplamanın küf gelişimini kontrol altında

tuttuğunu ve bu nedenle meyvelerin raf ömrünü artırmak için kullanılabileceğini; kitosan ile potasyum sorbat (%0.3) beraber kullanıldığında in vitro testlerde kombine bir inhibisyon aktivitesi görülmesine rağmen taze çileklerde böyle bir etkinin görülmediğini; kitosan uygulamasının sadece küf gelişimini değil depolama sırasında aerob mezofil toplam bakteri ve koliform sayısını da azalttığını bildirmişlerdir. Tsai ve ark. (2002) kitosanın mantarlar üzerine etkisinin bakterilerden daha düşük olduğunu; *Candida albicans* ve *Fusarium oxysporum*'a karşı minimal letal konsantrasyonun sırasıyla 200 ppm. ve 500 ppm olduğunu, buna karşın 2000 ppm de bile *Aspergillus fumigatus* or *A. parasiticus*'a karşı antifungal aktivitenin görülmediğini rapor etmişlerdir. Sagoo ve ark. (2002b) kitosanın mayalar üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında kitosanın *Saccharomyces exiguus*, *Saccharomyces ludwigii* ve *Torulaspora delbrueckii* gibi mayalarına karşı sodyum benzoattan daha etkili olduğunu; birlikte kullanıldıklarında ise etkinin daha da arttığını rapor etmişlerdir. Savard ve ark. (2002) *Saccharomyces unisporus*'un üremesini inhibe etmek için 1 g/l konsantrasyonunda kitosan yeterli olurken *Saccharomyces bayanus* için 5 g/l konsantrasyonunda kitosan gerektiğini bildirmişlerdir. Jung ve ark. (1999), 5.75 pH'da yüksek deasetilasyon derecesine sahip kitosanın, *Candida albicans* üzerine antimikrobiyel etkisinin yüksek olduğunu belirtmişler; buna sebep olarak da mantar ve graft kopolimerleri arasındaki özel etkileşimi göstermişlerdir. Gerasimenko ve ark. (2004), *Candida albicans*'ın kitosana karşı oldukça duyarlı olmasına karşın *Candida kruisei*'nin dirençli olduğunu; bunun da kitosanın mantarlar üzerine olan antimikrobiyel etkisinin türe özel olmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Gıdalardaki Kitosanın Uygulamaları ve Etkileri

Et ve et ürünlerinde kitosanın mikrobiyel üremenin engellenmesi veya mikroorganizmaların neden olduğu bozulmaların geciktirilmesi ile ilgili etkinliği birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Darmadji ve Izumimoto (1994), kitosanın %0.5–1.0'lik konsantrasyonlarının köftelerde *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* gibi bozulma yapıcı bakterilerin sayısını 1-2 log azalttığını, lipid oksidasyonu ve kokuşmayı yavaşlattığını ve duyuşal özelliklerini geliştirdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışma %0.1'in üzerindeki konsantrasyonlarda ise *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Micrococcus varians* gibi fermente et ürünlerinde önemli kültür bakterilerinin de üremelerinin engellediğine işaret edilmiştir. Sagoo ve ark. (2002a) %0.3-0.6 konsantrasyonlarında domuz eti kıymasına katılan kitosanın, 4°C'de üç günlük muhafazanın sonunda toplam aerob mezofil mikroorganizma sayısında 3 log kob/g azalmaya yol açtığını; mikroorganizma sayısının 18 günlük muhafaza periyodu boyunca kitosan içermeyen kontrol grubunda diğerlerinden daima daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Roller ve ark. (2002) kitosanın domuz sosislerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, %1.0 konsantrasyonunda kitosan ilave edilmiş sosislerde 7°C'de 18 günlük muhafaza periyodu sonunda toplam bakteri, küf-maya ve laktik asit bakterileri sayısında 1-3 log kob/g azalma görüldüğünü, daha düşük konsantrasyonda (%0.5) ise etkinin olmadığını rapor etmişlerdir. Youn ve ark. (2004) ise baharat katılmış etlerle yaptıkları çalışmada %0.1'den yüksek konsantrasyonlarda kitosanın raf ömrünü arttırdığı ve oksidasyonda belirgin bir azalmaya neden olduğu sonucuna varmışlardır. Darmadji and Izumimoto (1994) da antioksidatif etki ile ilgili olarak etlere ilave edilen % 1.0 konsantrasyonundaki kitosanın üç günlük depolama periyodu sonunda TBA (2-thiobarbituric acid) sayısını % 70 azalttığını bildirmişlerdir. Tsai ve ark.(2002) kitosanın etkisini balık etleri üzerinde araştırmışlardır. Yapılan çalışmada balık fletolarının % 1 kitosan (yüksek deasetilasyon derecesine sahip) ile muamelesinin uçucu bazik nitrojen içeriğindeki artışı geciktirdiği; mezofil, psikrotrof, koliform, *Aeromonas* spp., ve *Vibrio* spp. gelişimini yavaşlattığı; raf ömrünü 5 günden 9 güne uzattığı sonucuna varmışlardır. Taha ve Swailam

(2002) kitosan ile (%0.04) *Aeromonas hydrophila*'nın gelişiminin ve hemolizin üretiminin baskılandığını; baskılayıcı etkinin artan sıcaklık ve azalan pH ile arttığını saptamışlardır.

Kitosanın depolama sırasındaki koruyucu etkisi meyve ve sebzelerde de çalışılmıştır. El Ghaouth ve ark. (1992) çilekler üzerinde yaptığı çalışmada kitosan ile kaplamanın (15 mg/mL) küf gelişiminin ve bunlardan ileri gelen çürümenin önemli derecede geciktirildiğini rapor etmişlerdir. Savage ve Savage (1994) kitosan ile kaplanmış elmalarda 12 haftalık depolama periyodunda küflenme oranını azalttığını bildirmişlerdir. Cheah ve Page (1997) % 2-4 kitosan ile kaplanan havuçlarda çürüme oranının önemli derecede azaldığını (% 88'den % 28'e) saptamışlardır. Du ve ark. (1997) şeftali, armut, kivi gibi meyvelerin saklanması sırasında kitosan ile kaplamanın benzer yararlarını gözlemlemişlerdir.

Oh ve ark. (2001) kitosanın antimikrobiyel etkisini deneysel olarak kontamine edilmiş mayonez ortamında araştırmışlar; 25°C'de *Lactobacillus fructivorans* and *Zygosaccharomyces bailii* sayısını önemli derece azalttığını saptamışlar ve bu nedenle mayonezde bozulma yapıcı mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmek için bir koruyucu olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. Mayonezle ilgili bir başka çalışma Roller ve ark. (2000) tarafından gerçekleştirilmiştir. Asetik asit (%0.16) veya limon suyu (%1.2 ve %2.6) ile kombinasyon halinde kitosan (3 g/l) ilave edilerek hazırlanan mayonezlere deneysel olarak *Salmonella enteritidis*, *Zygosaccharomyces bailii* ve *Lactobacillus fructivorans* inoküle edilmiştir. İki farklı sıcaklıkta (5 ve 25°C) 8 gün süreyle yapılan depolama sırasında asetik asit ve kitosan içeren mayonezlerde *L. fructivorans* ve *Z. bailii* gelişiminin baskılandığı; *S. enteritidis* sayılarında ise önemli bir değişim olmadığı saptanmıştır. Limon suyu ve kitosan içeren örneklerde ise önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Aynı çalışmada 5°C'de depolanan ve kitosan ile kaplanmış (9 mg/g) karideslerde bozulma yapıcı mikroorganizma sayısının önemli derecede azaldığı; ancak 25°C'de muhafaza edilen örneklerde ise kitosanın bir koruyucu madde olarak etkili olmadığı da bildirilmiştir. Araştırmacılar kitosanın asetik asit ve soğuk depolama ile kombine edildiğinde bir koruyucu olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Kitosanın denendiği bir başka ürün pizza olmuştur. Rodríguez ve ark. (2003) pizzalarda kitosanın hem yenilebilir film olarak hem de bir hamur ingredienti olarak kullanıldığında antifungal kapasitesini araştırmışlardır. Yenilebilir film şeklinde kitosan kullanımının (0.079 g/100 g pizza) *Alternaria* sp, *Penicillium* sp ve *Cladosporium* sp gelişimini yavaşlattığını, *Aspergillus* sp üzerine aynı derecede etki göstermediğini ve kitosanın hamur içine ilave edildiğinde ise hiçbir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Lee ve ark. (2004) ambalaj materyalinin kitosan ile kaplanmasının süt ve portakal suyunun mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Yapılan analizler sonucunda düşük sıcaklıklarda (3°C ve 10°C) saklanan ürünlerde mikrobiyel gelişimin önemli derecede baskılandığı; buna karşın 20°C'de saklanan ürünlerde önemli bir fark olmadığını gözlemlemişlerdir.

Son yıllarda taze veya dondurulmuş gıdaların kalitesini arttırmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla yenilebilir filmlerin kullanılabilirliği üzerine bir çok çalışma yapılmaktadır. Bu film tabakaları yararlı etkilerini kaplandıkları gıda maddelerinde fizyolojik, morfolojik ve fizikokimyasal değişimleri kontrol altında tutarak gerçekleştirmektedirler (Kittur ve ark.,1998). Sahip oldukları özelliklerden dolayı gıdaların film ile kaplanmasından başarılı sonuçlar alınan maddelerin arasında yer almaktadır. Yarı geçirgen özellikteki kitosan filminin sert, dayanıklı, esnek ve kolayca yırtılmayan bir materyal olması önemli avantajları olarak

değerlendirilmektedir ve bu özellikleri çoğu ticari polimerle karşılaştırılabilir niteliktedir. Kittur ve ark. (1998) kitosan filmlerinin orta derecede su geçirgenliğine sahip olduğunu ve yüksek su aktivitesi değerine sahip taze ürünlerin raf ömrünü artırmak için kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte Butler ve ark. (1996), nispeten düşük buhar geçirgenliğine karşı oksijen geçişi için tam manasıyla iyi bir bariyer olduğunu gözlemlemişlerdir.

Gıdaların kitosan filmi ile kaplanması ambalaj içindeki kısmi oksijen basıncının azaltmakta, gıda ile çevresi arasındaki nem transferi ile sıcaklığı kontrol altında tutmakta; su kaybını azaltmakta, meyvelerde enzimatik kahverengileşmeyi geciktirmekte, solunumu kontrol etmekte; meyvelerde olgunlaşmayı geciktirmekte vb etkiler göstermektedir (Butler ve ark.,1996; El Ghaouth ve ark.,1991a; El Ghaouth ve ark.,1991b; Kittur ve ark.,1998; Knorr,1986). Antimikrobiyel maddelerle birlikte kullanıldığında ise muhafaza sırasında film tabakasından gıda maddesinin yüzeyine koruyucu maddelerin kontrollü bir şekilde salınması mikrobiyel üremeyi uzun süreli olarak yavaşlatmaktadır ve bu suretle depolama ömrünü daha da artırmaktadır (Chen ve ark.,1996).

Sebze ve meyvelerde hasat sırası ve sonrası mekanik hasarlanmasına bağlı olarak şekillenen enzimatik kahverengileşme reaksiyonu önemli kalite ve değer kayıplarına neden olmaktadır. Günümüzde kahverengileşmeyi önlemek yaygın olarak sülfite kullanılmaktadır. Ancak sülfitin tüketici sağlığı açısından ters etkilerinin olduğu bilindiğinden alternatif inhibitörlere gereksinim duyulmuştur. Bu anlamda kitosan filmlerinin kullanılabilişliği Zhang ve Qantick (1997) tarafından araştırılmış ve kitosanın meyvelerde fenolik bileşiklerdeki değişiklikleri geciktirdiği, polifenol oksidaz aktivitesindeki artışı yavaşlattığı, peroksidaz aktivitesindeki artışı kısmen inhibe ettiği sonucuna varılmıştır.

Kitosanın bir başka kullanım alanı sıvıların arıtılması olmuştur. Kitosan tuzlarının taşıdıkları güçlü pozitif yüklerden dolayı meyve sularında bulanıklığı gidermek için etkili bir ajan olduğu, aynı zamanda meyve sularında asitliğin kontrol altında tutulması için kullanılabileceği bildirilmiştir (İmeri ve Knorr,1988). Elma ve üzüm suyu için de benzer sonuçlar alınmıştır. (Chen ve Li,1996; Rwan,J., Wu,1996; Soto-Perlata ve ark.,1989). Kitosan, aynı özelliği nedeniyle atık suların arıtılmasında polikationik bir çöktürücü olarak da işlev görmektedir. Özellikle gıda işletmelerinin atıklarından proteinlerin uzaklaştırılmasında oldukça etkilidir (Shahidi ve ark.,1999). Peynir altı suyundan protein ve peptidlerin ayrılmasında kitosandan yararlanılabilmektedir (Fernandez ve Fox,1997). Endüstriyel atık sular ağır metaller ve benzeri toksik maddelerden dolayı çevre ve sağlık sorunu oluşturmaktadır. Bunların desarj edilmeden önce arıtılmaları gerekmektedir. Geleneksel yöntemlerle ağır metallerin uzaklaştırılması oldukça pahalıdır ve bazen yetersiz kalabilmektedir. Biyopolimerler bu amaçla bir alternatif olarak değerlendirilebilmektedir. Kitosan da metal iyonlarıyla amino grupları vasıtasıyla kompleks oluşturarak atık suların arıtılmasında yararlı olabilmektedir (Volesky,1987).

Sonuç

Gıda maddelerinin uzun süre bozulmadan muhafaza edilmesi ve bu esnada kalitelerini korumaları günümüzde hala katkı maddesi kullanımı ile başarılabilmektedir. Ancak kullanılan katkı maddelerinden bir çoğunun tüketici sağlığına olumsuz etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir. Buna alternatif olarak da zararlı etkisinin olmadığı bilinen bitkisel veya hayvansal kaynaklardan elde doğal koruyucu maddeler önerilmiş, hatta bunlardan bazıları ticari olarak üretilip piyasaya sürülmüştür. Ancak yapılan çalışmalarda bunlardan bazılarının

iddia edildiği gibi beklenen performansı göstermediği sonradan anlaşılmıştır. Makale içinde de ifade edildiği gibi çok yönlü kullanım alanına sahip olan kitosanın çok çeşitli mikroorganizmalara karşı etkili olduğu ve gıda maddelerin raf ömrünü artırdığı çeşitli bilimsel çalışmalarda ifade edilmiştir. Bununla birlikte konunun daha çok araştırılmasında fayda vardır. Özellikle et ve et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine kitosanın etkisi yapılacak çalışmalar bu anlamdaki açığı kapatacaktır. İddia edildiği gibi bu üründe istenen etkiyi gösterirse et teknolojisinde koruyucu katkı maddesi kullanımı ile ilgili sorunun çözülmesine önemli katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Austin,P.R., Brine,C.J., Castle,J.E., Zikakis,J.P. Chitin: New facets of research. Science, 1981; 212: 749-753

Butler,B.L., Vergano,P.J., Testin,R.F., Bunn,J.N., Wiles,J.L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. J. Food Sci., 1996; 61:953-955, 961.

Cheah,L.H., Page,B.B.C. Chitosan coating for inhibition of sclerotinia rot of carrots. New Zealand J. Crop Hort. Sci., 1997; 25:89-92.

Chen,Y., Li,C. Studies on the application of chitosan to clarification of grapefruit Juice. Food Science, Taiwan, 1996;23:617-628.

Chen,C., Liao,W., Tsai,G. Antibacterial effects of N-Sulfonated and N-Sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. J. Food Protection, 1998; 61:1124-1128

Chen,M., Yeh,G.H., Chiang,B. Antimicrobial and physicochemical properties of methylcellulose and chitosan films containing a preservative. J. Food Proc. Preserv., 1996;20: 379-390

Choi, B.K., Kim, K.Y., Yoo, Y.J., Oh, S.J., Choi, J.H., Kim, C.Y. In vitro antimicrobial activity of a chitoooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. Int. J. Antimic. Agents, 2001; 18: 553-557.

Cuero, R.G., Osuji, G., Washington,A. N-Carboxymethyl chitosan inhibition of aflatoxin production: Role of zinc. Biotechnology Letters, 1991; 13:441-444.

Darmadji, P., Izumimoto, M. Effect of chitosan in meat preservation. Meat Science, 1994; 38 (2): 243-254.

Du,J., Gemma,H., Iwahori,S. Effect of chitosan coating on the storage of peach, japanese pear, and kiwifruit. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 1997; 66:15-22.

El Ghaouth,A., Arul,J., Asselin,A., Benhamou,N. Antifungal activity of chitosan on two post-harvest pathogens of strawberry fruits. Phytopathology, 1992; 82:398-402

El Ghaouth, A., Arul,J., Ponnampalam,R., Boulet,M. Chitosan coating effect on storability and qality of fresh strawbe rries. J. Food Sci., 1991b; 56:1618-1620.

El Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *J. Food Proc. Preserv.*, 1991a; 15:359-368.

Fang, S.W., Li, C.F., Shih, D.Y.C. Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low sugar candied kumquat. *J. Food Prot.* 1994; 56: 136-140.

Fernandez, M., Fox, P.F. Fractionation of cheese nitrogen using chitosan. *Food Chem.*, 1997; 58:319-322

Gerasimenko, D.V., Avdienko, I.D., Bannikova, G.E., Zueva, O.Yu., Varlamov, V.P. Antibacterial effects of water-soluble low-molecular-weight chitosans on different microorganisms. *Appl. Biochem. Microb.*, 2004; 40(3): 253-257.

Han L.K., Kimura, Y., Okuda, H. Reduction in fat storage during chitin-chitosan treatment in mice fed a high-fat diet. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1999; 23(2):174-179.

Helander, I.M., Nurmiaho-Lasilla, E.-L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., Roller, S. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 71: 235-244.

Imeri, A.G., Knorr, D. Effect of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. *J. Food Sci.* 1988; 53: 1707-1709

Jung, B.O., Kim, C.H., Choi, K.S., Lee, Y.M., Kim, J. Preparation of amphiphilic chitosan and their antimicrobial activities. *J. Applied Polymer. Sci.*, 1999; 72: 1713-1719.

Kanauchi O, Deuchi K, Imasato Y, Shizukuishi M, Kobayashi E. Mechanism for the inhibition of fat digestion by chitosan and for the synergistic effect of ascorbate. *Biosci Biotechnol. Biochem.* 1995; 59(5):786-790.

Kittur, F.S., Kumar, K.R., Tharanathan, R.N. Functional packaging properties of chitosan films. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.*, 1998; 206:44-47

Knorr, D. Nutritional quality, food processing and biotechnology. Aspects of chitin and chitosan: A Review. *Proc. Biochem.*, 1986; 6:90-92.

Lee, J.K., Kim, S.U., Kim, J.H. Modification of chitosan to improve its hypocholesterolemic capacity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1999; 63:833-839.

Lee, C.H.A., Park, H.J.B., Lee, D.S.A. Influence of antimicrobial packaging on kinetics of spoilage microbial growth in milk and orange juice. *J. Food Eng.*, 2004; 65(4): 527-531

Oh, H.I., Kim, Y.J., Chang, E.J., Kim, J.Y. Antimicrobial characteristics of chitosans against food spoilage microorganisms in liquid media and mayonnaise. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2001; 65(11): 2378-2383.

Omrod,D.J., Holmes,C.C., Miller,T.E. Dietary chitosan inhibits hypercholesterolemia and atherosclerosis in the apolipoprotein E-deficient mouse model of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1998; 138:329-334.

Park, S.L.A., Stan, S.D.B., Daeschel, M.A.A., Zhao, Y.A. Antifungal coatings on fresh strawberries (*Fragaria x ananassa*) to control mold growth during cold storage. *J. Food Sci.*, 2005;70(4): 197-201

Pittler MH, Abbot NC, Harkness EF, Ernst E. Randomized, double-blind trial of chitosan for body weight reduction. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1999; 53(5):379-381.

Razdan, A., Pettersson, D. Effect of chitin and chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. *Br. J. Nutr.*, 1994;72(2):277-288.

Rodríguez, M.S., Ramos, V., Agulló E. Antimicrobial action of chitosan against spoilage organisms in precooked Pizza. *J. Food Sci.*, 2003; 68(1): 271-274.

Roller, S. Chitosan: New food preservative or laboratory curiosity. Woodhead Publishing Ltd. Press., 2003.

Roller, S., Covill, N. The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads. *J. Food Protect.* 2000; 63: 202-209.

Roller, S., Sagoo, S., Board, R., O'Mahony, T., Caplice, E., Fitzgerald, G., Fogden, M., Owen, M., Fletcher, H. Novel combinations of chitosan, camocin and sulphite for the preservation of chilled pork sausages. *Meat Science*. 2002; 62: 165-177.

Rwan,J., Wu,J. Deacidification of grapefruit juice with chitosan. *Food Science, Taiwan*, 1996;23:509-519.

Sagoo, S., Board, R., Roller, S. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. *J. Food Mic.* 2002; 19: 175-182.

Sagoo, S., Board, R., Roller, S. Chitosan potentiates the antimicrobial action of sodium benzoate on spoilage yeasts. *Letters Appl. Microbial.* 2002; 34/3: 168.

Soto-Perlata,N.V., Muller,H., Knorr,D. Effect of chitosan treatments on the clarity and color of apple juice. *J. Food Sci.*, 1989; 54:495-496.

Savage,P.J., Savage,G.P. The effect of coating apples on the quality of stored apples. *Proceedings of the Nutrition Society of New Zealand*, 1994;19:129-133

Savard, T., Beaulieu, C., Boucher, I., Champagne, C.P. Antimicrobial action of hydrolyzed chitosan against spoilage yeasts and lactic acid bacteria of fermented vegetables. *J. Food. Prot.* 2002; 65 (5): 828-833.

Shaban, M.A., Hesham, M.H.S. Antibacterial activity of chitosan against *Aeromonas hydrophila*. *Nahrung*. 2002; 46 (5): 337-340.

Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., Jeon, Y.J. Food applications of chitin and chitosans. Trends Food Sci. Tech. 1999; 10: 37-51.

Shepherd, R., Reader, S., Falshaw, A. Chitosan functional properties. Glycoconjugate Journal, 1997; 14: 535-542.

Sudharshan, N.R., Hoover, D.G., Knorr, D. Antibacterial action of chitosan. Food Biotech., 1992; 6: 257-272

Suzuki, K., Mikami, T., Okawa, Y., Tokoro, A., Suzuki, S., Suzuki, M. Antitumor effect of Hexa-*N*-acetylchitohexaose and Chitohexaose. Carbohydr. Res., 1986; 151:403-408

Terbojevich, M., Muzarelli, R. A. A. Chitosan. Woodhead Publishing Ltd. Press., 2000.

Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C., Pan, C.L. Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. Fisheries Sci., 2002; 68(1): 170-177.

Wang, G.H. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. J. Food Protect. 1992; 55: 916-919

Youn, S.K., Her, J.H., Kim, Y.J., Choi, J.S., Park, S.M., Ahn, D.H. Studies on the improvement of shelf-life in spicy beef meat using chitosan. J. Korean Soc. Food Nutr. 2004; 33 (1): 207-211

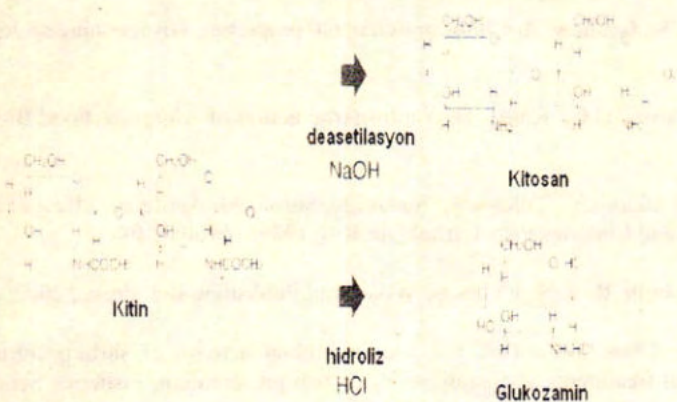
Volesky, B. Biosorbents for metal recovery. Trends Biotech., 1987; 5:96-99.

Wuolijoki, E., Hirvela, T., Ylitalo, P. Decrease in LDL-cholesterol with microcrystalline chitosan. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1999; 21:357-361.

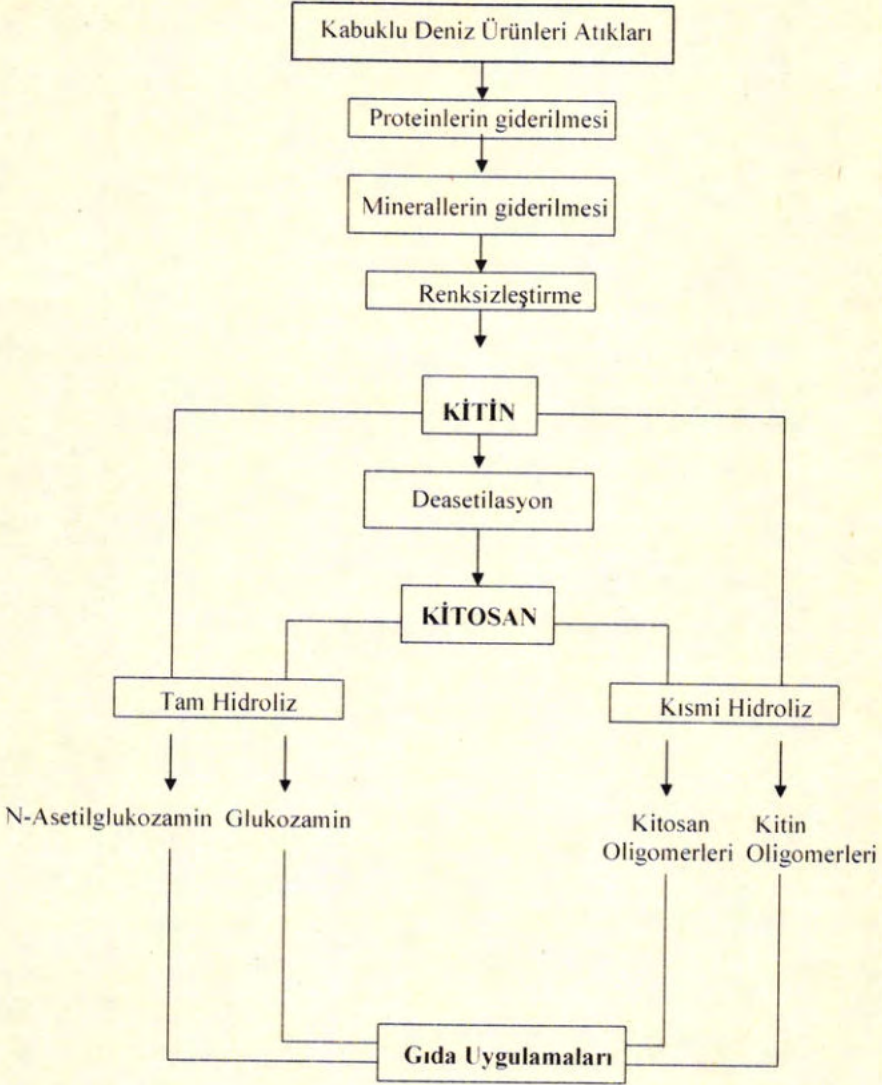
Zhang, D., Qantick, C. Effect of chitosan coating on enzymatic browning and decay during post-harvest storage of litchi (*Litchi Chinensis* Sonn.) fruit. Postharvest Biol. Technol., 1997; 12:195-202

Zheng, L.Y., Zhu, J.F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. Carbonhy. Polym. 2003; 54: 527-530.

Şekil 1. Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları



Şekil 2. Kabuklu deniz ürünleri atıklarından kitin, kitosan, oligomerleri ve monomerleri hazırlanması (Shahidi,1999)



AYDIN BÖLGESİNDE ÜRETİLEN ÇİNE KÖFTELERİNİN MİKROBİYOJİK KALİTELERİNİN İNCELENMESİ

Filiz KÖK¹ Dilek KESKİN² Sadık BÜYÜKYÖRÜK¹

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Işıklı, AYDIN.

²Adnan Menderes Üniversitesi, Süleyman Pekgüzel Meslek Yüksek Okulu, Çine, AYDIN.
Email: filiz_root@yahoo.com, fkok@adu.edu.tr

ÖZET: Bu araştırma, Aydın bölgesindeki Çine köftelerinin hijyenik kalitesini saptanmak ve hazırlanmış et karışımları tebliğine uygunluğunu araştırmak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla 100 Çine köftesi mikrobiyolojik olarak incelendi. Araştırma sonucunda 100 Çine köftesinde mikrobiyolojik olarak ortalama genel canlı sayısı 2.8×10^4 - 3.4×10^7 , maya ve küf sayısı 9.0×10^2 - 4.4×10^5 , koliform sayısı 5.5×10^2 - 2.1×10^6 , *S. aureus* sayısı 1.6×10^3 - 4.3×10^5 ve 100 örneğin 18'inde (%) 18) ise salmonella türlerine rastlanmıştır.

Sonuç olarak Aydın ilinde satışa sunulan Çine köftelerinin mikrobiyolojik olarak hazırlanmış et karışımları tebliğine uygun olmadığı gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Çine Köftesi, Mikrobiyoloji, salmonella.

DETERMINATION OF THE MICROBIOLOGIC QUALITY OF CINE MEATBALLS PRODUCED IN AYDIN PROVINCE

This research was carried out in order to determine suitability of Çine meat balls according to prepared meat mixture standards in Aydın region. This purpose, 100 çine meat ball samples were investigated for microbiology analysis. The meat ball samples contained viable aerobes 2.8×10^4 - 3.4×10^7 cfu/g, *Staphylococcus aureus* 1.6×10^3 - 4.3×10^5 cfu/g, coliform 5.5×10^2 - 2.1×10^6 and yeast-mold 9.0×10^2 - 4.4×10^5 cfu/g. Eighteen of 100 çine meat ball sample (18%) examined were found to be *Salmonella* spp. positive.

The results of this study showed that hygienic quality of çine meat balls were very poor and it did not suit with prepared meat mixture standards of the Ministry of Agriculture of Turkish Republic.

Key words: Cine Meat Ball, Microbiologic, Salmonella.

GİRİŞ

Köfte, mikroorganizmaların üremesi için oldukça elverişli olan kıymadan yapılmakta ayrıca işleme sırasında gerek içine katılan katkı maddeleri ve gerekse yapılan karıştırma işlemleri esnasında sekonder olarak kontamisanyona uğraması bakımından riskli bir gıda maddesidir (11,12,14).

Köfte, genel olarak taze kıymadan ve köfte hamuruna değişik şekiller verilerek hazırlanan ve çoğunlukla ızgara türü pişirilmeye tüketilen bir et ürünüdür (13).

Hazır veya yarı hazır gıdalara talep her geçen gün artmaktadır. Kolay hazırlanabilmesi bakımından hazır köfteler de çok tercih edilenler arasında yer almaktadır. Bu tip ürünler çiğ olarak, pazarlama süresine kadar bekletildiklerinden, muhafaza sırasında kolayca bozulmaktadırlar. Aynı zamanda değişik kaynaklardan bulaşan çok sayıda patogen mikroorganizmayı içerebilmesi bakımından tüketici sağlığı bakımından risk oluşturmaktadırlar (1,15). Ülkemizde üretilen hazır köfte ve benzeri ürünlerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine ve muhafaza sürelerini uzatmak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır (1,2,4-9,15,16).

Bu araştırma, Aydın bölgesindeki Çine köftelerinin hijyenik kalitesini saptamak ve hazırlanmış et karışımları tebliğine uygunluğunu araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırmada, geleneksel olarak Aydın ili, Çine ilçesine özgü olan çine köfteleri incelendi. Bu amaçla farklı zamanlarda olmak üzere toplam 150-200 gramlık 100 çine köftesi örneği; ilçedeki köftecilerden alınıp, soğuk zincirle laboratuvara getirildikten sonra hemen mikrobiyolojik analizleri yapıldı.

Örneklerin bakteriyolojik analizler için hazırlanması

Aseptik koşullarda 10 g köfte örneği parçalayıcının beherine alındı ve üzerine 90 ml % 0.1'lik pepton water ilave edilerek 3 dak. homojenize edildi ve 10^{-1} 'lik seyreltisi hazırlandı. Sonra $\frac{1}{4}$ Ringer çözeltisi kullanılarak diğer desimal seyreltileri hazırlanıp plak dökme yöntemiyle ekimleri yapıldı. 30-300 arasında koloni içeren plaklar değerlendirmeye alındı (3).

Aerob genel canlı sayımı: Plate Count Agar (Oxoid CM 325) besi yeri kullanıldı. Plaklar 30 ± 1 °C'de 3 gün inkübe edildi (3).

Koliform grubu mikroorganizmaların sayımı: Violet Red Bile Agar (Difco B12) besi yeri kullanıldı. 30 ± 1 °C'de 24 saat inkübe edilerek oluşan tipik koloniler sayıldı (3).

Maya ve küflerin sayımı: Potato Dextrose Agar (Difco B 13) besi yeri kullanıldı. 22 ± 1 °C'de 5 gün inkübe edildi (3).

Stafilokok-mikrokokların sayımı:

Baird Parker (BP) agar (Oxoid, CM 275) kullanıldı. 37 ± 1 °C'de iki gün inkübe edildikten sonra değerlendirildi (3).

Salmonella'ların izolasyonu: Ön zenginleştirme aşamasında 25 g numune 225ml tamponlanmış peptonlu suda (TPS) homojenize edilerek 37⁰ C'de 24 saat inkübe edildi. Selektif zenginleştirme aşamasında ise Rappaport Vassiliadis (RV) broth'a (Oxoid, CM 669) 0.1 ml TPS'den geçilerek 42⁰ C'de 24-48 saat inkübe edildi. RV broth'dan Brilliant Green Agar (BGA) (Oxoid, CM 263)'a yuvarlak uçlu öze ile geçilerek 37⁰ C'de 20-24 saat inkübe edildi. BGA'da etrafı parlak kırmızı zon ile çevrili pembe-kırmızı renkli koloniler salmonella şüpheli olarak değerlendirildi. Salmonella şüpheli kolonilerden biyokimyasal doğrulama testleri yapılmak üzere Triple Sugar Iron Agar (TSIA) (Oxoid, CM 277) ve Lysine Iron Agar (LIA) (Oxoid, CM 381) yatık agarlara ekimleri yapılarak 37⁰ C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda TSIA ve LIA'daki renk değişimine göre tüplerin pozitiflik değerlendirilmesi yapıldı. Serolojik olarak da Salmonella şüpheli kolonilerde Salmonella antiserumu (Salmonella O Poly A-1 and Vi-Difco 2264-47-2) ile test edilerek aglütinasyon oluşumu pozitif olanlar değerlendirildi (3).

Koagulaz Pozitif Staphylococcus Türlerinin Sayımı: *Staphylococcus* sayımı için Baird Parker (BP) agar (Oxoid, CM 275) kullanılmıştır. Ekim sonrası petri plakları 36±1 ⁰C'de 30 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra petrilere gelişen etrafı açık renkli bir alanla çevrili zon oluşturan siyah renkli tipik veya atipik kolonilerden 5'i seçilerek koagulaz testi uygulandı. Koagulaz test sonucu pozitif çıkan tüp sayısı ile *Staphylococcus* mikroorganizmasının sayısı çarpıldı, sonuç pozitif tüp sayısına bölünerek koagulaz pozitif mikroorganizma sayısı belirlendi (3).

Bulgular

Tablo 1. Çine Köftelerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (kob/g)

	Ortalama	En Düşük Değer	En Yüksek Değer
Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayısı	6.8×10^6	2.8×10^4	3.4×10^7
Stafilokok-Mikrokok Sayısı	2.8×10^5	1.8×10^3	1.4×10^6
Maya ve Küf Sayısı	6.9×10^4	9.0×10^2	4.4×10^5
Coliform Bakteri Sayısı	2.6×10^5	5.5×10^2	2.1×10^6
<i>S. aureus</i> Sayısı	1.0×10^5	1.6×10^3	4.3×10^5

100 Çine köftesinde mikrobiyolojik olarak ortalama genel canlı sayısı 2.8×10^4 - 3.4×10^7 , maya ve küf sayısı 9.0×10^2 - 4.4×10^5 , koliform sayısı 5.5×10^2 - 2.1×10^6 , *S. aureus* sayısı 1.6×10^3 - 4.3×10^5 arasında olduğu ve 100 örneğin 18'inde (% 18) ise salmonella türlerine rastlanıldığı görülmüştür.

Tartışma ve Sonuç

Tablo 2. Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları İçin Mikrobiyolojik Kriterler (10)

	n	c	m	M
Aerob mezofilik bakteri	5	2	5×10^5	5×10^6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	5×10^2	5×10^3
Toplam küf ve maya	5	2	1×10^3	1×10^4
<i>Salmonella</i> spp	5	0	25 g'da bulunmamalı	

n ; analize alınacak numune sayısı

c ; m ile M arasındaki sayıda mikroorganizma ihtiva eden kabul edilebilir en fazla analize alınacak numune sayısı

m ; (n - c) sayıdaki analize alınacak numunenin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

M ; c sayıdaki analize alınacak numunenin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı

Çine köfte örnekleri toplam mezofil aerob bakteri sayısı bakımından hazırlanmış et karışımları tebliğine göre % 30'nun, *S. aureus* bakımından % 68'nin, toplam maya ve küf bakımından % 56, *Salmonella* bakımından % 18'inin uymadığı gözlenmiştir.

Mikroorganizma yükünün zaman zaman standartların üzerine çıkması köfte üretiminde kullanılan kıymanın ve katkı maddelerinin hijyenik kalitesinin iyi olmamasından, karıştırma esnasında hijyen kurallarına dikkat edilmemesinden ve muhafaza yerinin ısısının yetersiz oluşundan ve muhafaza süresinin uzun tutulmasından kaynaklanabileceği düşündürmektedir. Yeterli ısı işlem uygulanmadığı takdirde halk sağlığı için risk oluşturabileceği göz önüne alınırsa köftelerin hazırlandıktan hemen sonra 4 °C'nin altında ısı derecelerinde ve üretimden kısa bir süre sonra yeterli ısı işlemi uygulanarak tüketilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1.Çetin, B ve Bostan, K. Hazır Köftelerin Mikrobiyolojik Kalitesi ve Raf Ömrü Üzerine Sodyum Laktatın Etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 2002, 26,843-844
- 2.Elmalı M, Yaman H. Microbiological quality of raw meat balls produced and sold in the eastren of Turkey. *Pakistan Journal of Nutrition* 2005,4(4):197-201.
- 3.I.C.M.F.S., *Microorganisms in Foods. 1. Their Significance and Methods of Enumeration*. Univ. Toronto Pres.,1982.
- 4.Karaboz, İ ve Dinçer, B. Microbiological Investigation on Some of the Commercial Frozen Meat in İzmir. *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, 2002, p18-23.
- 5.Kaymaz Ş. Ankara'da tüketime sunulan hamburgerlerde halk sağlığı yönünden önemli bazı bakterilerin saptanması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1987; 34 (3): 377-393.
- 6.Küplülü Ö, Sarımehtemioğlu B, Oral N. The microbiological quality of çiğ köfte sold in Ankara. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 2003, 27,325-329.
- 7.Sarımehtemioğlu B, Küplülü Ö, Kaymaz Ş. Hamburger ve İnegöl köftelerinde *Escherichia coli* 0157:H7 izolasyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1988, 45:221-227
- 8.Soyutemiz, E.G. Bursa'da tüketilen pişmiş ve ızgara köftelerin mikrobiyolojik kalitesi ve bileşimi üzerine araştırmalar. *Uludağ Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1993, 12 (1):21-28.
- 9.Soyutemiz, E.G. Bursa'da satışa sunulan çeşitli hazır köftelerin hijyenik kalitesinin saptanması. *Gıda*, 1999, 24(3): 163-169.
10. Taze Kırmızı Et ve Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları Tebliği, 2005.
- 11.Tekinşen, C.O., Sarıgöl, C. Elazığ yöresinde tüketime sunulan bazı öğütülmüş baharatların mikrobiyal florası. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1982, 7(1-2) 151-162.
- 12.Tekinşen,C.O.,Yurtyeri,A., Mutluer, B.1980. Ankara'da satılan hazır kıymaların bakteriyolojik kalitesi, A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi., 27(1-2) 45-63.
- 13.Türk Standartları Enstitüsü, TS 10581 Köfte-İnegöl Köfte-Pişmemiş, 1992.Ankara.
- 14.Yıldırım, Y. Et Teknolojisi, Yıldırım Basımevi, 1988, Ankara.
- 15.Yıldız A, Karaca T, Çakmak Ö, Yörük M, Başkaya R. İstanbul'da tüketime sunulan köftelerin histolojik, mikrobiyolojik ve serolojik kalitesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2004, 15(1-2): 53-57.
- 16.Yılmaz İ, Yetim H, Ockerman H.W. The effect of different cooking procedures on microbiological and chemical quality charactersitics of Tekirdağ meatballs. *Nahrung/ Food*, 2002, 46(4) 276-278.

GIDA PERSONELİ HİJYEN DENETİMLERİNDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOKLARDA EKSTRASELLÜLER ENZİM ÜRETİMİNİN ARAŞTIRILMASI

Sıla APPAK¹,

Mert SUDAĞIDAN²,

Ali AYDIN³,

Hatice GÜNEŞ⁴

¹ Biyoloji Bölümü, ² Biyoteknoloji ve Biyomühendislik AD, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Gülbahçe Kampüsü, Urla, 35430, İZMİR

³ Besin Hijyeni ve Teknolojisi AD, Veteriner Fak., İstanbul Üniversitesi, Avcılar Kampüsü, İSTANBUL

⁴ Biyoloji Bölümü, Muğla Üniversitesi, Kötekli, MUĞLA

ÖZET: Gıdalara patojenler üretim, işleme, hazırlanma ve dağıtım safhalarında bulaştıklarından, gıda sektöründe çalışanların bu hastalıkların insanlara geçişinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Gıda hijyen denetimlerinde bu bakterilerin varlığının saptanması gıda kalitesini düşürerek insan sağlığı için bir tehdit oluşturabilmektedir. Çalışmamızda gıda sektöründe çalışan personelin hijyen denetimlerinden alınan örneklerden izole edilen bakteriler biyokimyasal testlerle ve 16S-ITS rRNA RFLP metoduyla tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bakterilerden 37 adedi stafilocok türüne ait olduğu tespit edilmiş ve bu bakterilerin enfeksiyon süreçlerinde rolü olduğu düşünülen proteaz, lipaz gibi enzimlerle ksinalaz, amilaz, sellülaz gibi endüstriyel öneme sahip enzimlerin varlığı enzimlere özel substratlar içeren besiyerlerinde taranmıştır. Aynı zamanda proteaz, lipaz, termonükleaz enzimlerinin genlerinin varlığı PCR ile incelenmiştir. Biyokimyasal testlerin sonuçları 37 stafilocok suşundan 2 tanesinin DNaz ve 5 tanesinin amilaz pozitif olduğunu göstermiştir. Bakterilerdeki lipaz aktivitesini saptamak amacıyla dört farklı besiyeri kullanılmış ve Tween 80 içeren besiyerinde 7 adet, Tween 20 içeren besiyerinde 14 adet, lipid emülsiyonu içeren besiyerinde 9 adet ve tributyrinli besiyerinde 21 adet stafilocok pozitif olarak bulunmuştur. Pozitif sonuç koloniler etrafında zon oluşumu şeklinde gözlemlenmiştir. Proteaz aktivitesi iki farklı besiyerinde incelenmiş ve skim milk içeren besiyerinde 21 adet, casein içeren besiyerinde 6 adet stafilocok suşunda pozitif sonuç elde edilmiştir. Sellülaz enzimi açısından iki suş pozitif sonuç verirken, ksinalaz enzimi üreten 3 suş saptanmıştır. Stafilocok suşlarında serin V8 proteaz (sspA), sisteine proteaz (sspB), metalloproteaz (aur) ve serin proteaz (prt) enzimlerini kodlayan genlerin varlığı PCR ile araştırılmış ve sspA içeren 13, sspB içeren 2, aur içeren 7 ve prt içeren 2 stafilocok tespit edilmiştir. Diğer yandan lipaz enzimi üretiminden sorumlu geh genini içeren 7 adet stafilocok ve termonükleaz üretiminden sorumlu nuc genini içeren 14 stafilocok suşu PCR analiziyle saptanmıştır. Çalışmalarımız gıda sektörü hijyen denetimlerine farklı bir bakış açısı sağlayıp bu alanda daha hassas denetim ve uygulamaların yapılmasını teşvik edecektir.

Anahtar kelimeler : Stafilocok, ekstrasellüler enzim

INVESTIGATION OF EXTRACELLULAR ENZYME PRODUCTION OF STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM THE HYGIENE CONTROL OF THE FOODHANDLERS*

Sıla APPAK¹

Mert SUDAĞIDAN²

Ali AYDIN³

Hatice GÜNEŞ⁴

¹ Dept. of Biology, ² Dept. of Biotechnology and Bioengineering, Gulbahce Campus, Urla, 35430. İZMİR

³ Dept. of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, İstanbul University, İstanbul

⁴ Dept. of Biology, Muğla University, Kötekli, MUĞLA

Abstract : Since the pathogens are spread to food during production, processing, distribution and preparation, the foodhandlers are thought to play an important role in the transmission of these diseases to people. The presence of these bacteria in the hygiene control would probably decrease the quality of the food and would also threaten the human health. In our study, bacteria isolated from the hygiene detection of the foodhandlers' working in the food industry were identified by the biochemical tests and 16S-ITS rRNA RFLP method at the species level. 37 of these bacteria were identified as *Staphylococcus* sp. The presence of the enzymes protease and lipase which are thought to be important in the infection processes of these bacteria, as well as the industrially important enzymes xylanase, amylase, cellulase were investigated in the media containing unique substrates. The presence of the protease, lipase, thermonuclease coding genes were detected with PCR. The results of the biochemical tests revealed that out of the 37 staphylococci strains 2 were DNase and 5 were amylase positive. Four different media were used for the determination of the lipase activity of the bacteria. 7 of the isolates were positive in Tween 80 medium, 14 of them were positive in Tween 20 medium, 9 of them were positive in lipid emulsion medium and 21 of them were positive tributyrin medium. The positive result was observed as a zone production around the colonies. In order to determine the protease activity two media were used, in skim milk medium 21, in casein medium 6 positive results were obtained. Two strains were cellulase positive, whereas three strains were xylanase positive. The presence of the genes responsible for the production of serine V8 protease (*sspA*), cysteine protease (*sspB*), metalloprotease (*aur*) ve serine protease (*prt*) were investigated by PCR and 13 bacteria containing *sspA*, 2 bacteria containing *sspB*, 7 bacteria containing *aur* and 2 bacteria containing *prt* were detected. Also, 7 *Staphylococci* strains containing *geh* gene responsible for the lipase production and 14 strains containing *nuc* gene responsible for the production of the thermonuclease were determined by PCR analysis. Our study will serve another perspective for the foodhandler's hygiene control in the food industry and will encourage us to do more sensitive controls and applications on this field.

Key words : *Staphylococci*, Extracellular enzyme

YAZAR İNDEKSİ

ADIGÜZEL, G.	424, 444
AĞAOĞLU, S.	649
AKCANKALE, S. A.	450
AKGÜN, S.	604
AKKAYA, A. M.	741
AKKAYA, L.	310, 373, 375, 473, 475, 477, 487
AKSU, F.	712
AKSU, H.	360
ALDEMİR, T.	793
ALEMDAR, S.	649
ALİŞARLI, M.	310, 377, 392, 473, 475, 477
ALKAN, Y.	775
ALP, A.	769
ANAR, Ş.	571
APPAK, S.	813
ARDIÇ M.	155, 697
ARSLAN, A.	176, 222, 760
AŞKIN, M.V. Z.	683
ATASEVER, M.	231, 414, 424, 444, 739
ATASEVER, MERYEM	414
ATEŞ, G.	126
AVAN, T.	392
AYAZ, N.D.	108, 116
AYDIN, A.	87, 787, 813
AYDIN, I.	176, 222, 760
AYGÜN, O.	279, 489
BAŞKAYA, R.	373, 450, 739, 741
BERKTAŞ, M.	339
BEYAZ, D.	571
BİLİR ORMANCI, F.S.	116
BİNGÖL, B.E.	185, 260
BİRDANE, O.Y.	373, 375, 487
BOSTAN, K.	793
BOZKURT, P.	126, 222, 760
BULUT, S.	373, 375
BÜYÜKÜNAL, S. K.	683
BÜYÜKYÖRÜK, S.	807
CEMEK, M.	373, 375, 487
CEPOĞLU, H.	124
CEYHAN, H.	456
CEYLAN, G. Z.	323, 414
COŞKUN, Y.	672, 747
ÇADIRCI, Ö.	193, 241, 559
ÇAKMAK, Ö.	739, 741
ÇALICIOĞLU, M.	126, 176, 294, 594
ÇALIM, H.D.	29
ÇETİN, B.	683
ÇETİN, Ö.	683

ÇETİNKAYA, F.	269, 690
ÇETİNKAYA, Z.	473, 475
ÇİBIK, R.	269, 690, 734
ÇINAR, Ç.	745
ÇIRAK, N.	743
ÇİFTÇİOĞLU, G.	712
ÇOLAK, H.	185, 260
ÇÖL, G. B.	360
DEMİRKAYA, K. A.	323, 414
DİKİCİ, A.	126, 176, 294, 594, 723
DİNÇOĞLU, A. H.	528
DOĞRUEK, Y.	155, 697
DOKUZLU, C.	629
DURMAZ, H.	279
DÜLGAR, M.	377
EKİCİ, K.	339, 355, 725
ER, B.	436
ERDOĞRUL, Ö.	789, 791
ERGEZER, H.	165
ERGİNKAYA, Z.	94, 343
ERGÜN, Ö.	699, 789
ERKAN, M. E.	765, 767, 769, 771, 773
EROL, İ.	108, 116
ERTAŞ, N.	528, 538
ERTÜRK, Y. E.	29
ERYİĞİT, A.	672
GÖK, V.	473
GÖKÇE, R.	165
GÖKMEN, M.	58
GÖKSOY, E. Ö.	569
GÖNCÜOĞLU, M.	286, 467, 604
GÖNÜLALAN, Z.	538, 775
GÖZ, Y.	339
GÜNER, A.	155, 252, 697
GÜNEŞ, H.	813
GÜNŞEN, U.	629, 672, 747
GÜRBÜZ, Ü.	58, 80
HALLAÇ, B.	212
HAMPİKYAN, H.	185, 260, 787
HARSA, Ş.	745
İLHAK, Ö. İ.	126, 594
İNAT, G.	202
İNAT, Ö.	559
İŞERİ, Ö.	116
İŞLEYİCİ, Ö.	138, 212
KABAK, B.	341, 664
KAHRAMAN, T.	787
KAINZ, R.	1
KALE, M.	549
KARA, H. H.	310

KARA, R.	475, 477
KARAKAYA, Y.	231, 414, 424
KASIMOĞLU, A.	604
KAV, K.	697
KAYA, Ö.	569
KELEŞ, A.	155, 252
KENAR, B.	310
KESKİN, D.	807
KIRKAN, Ş.	569
KOCA, Ç.	586
KONUK, M.	375
KÖK, F.	807
KÖPRÜLÜ, Ö.	406
KÖRKOCA, H.	339
KURŞUN, Ö.	450, 549, 641
KURTOĞLU, G. M.	339
METLİ, M.	672
MOR, F.	641, 643
MURATOĞLU, K.	787
MUTLU, S.	68
NAZLI, B.	185
NİSPET, C.	456
NİZAMLIOĞLU, M.	80, 231
OĞUZ, H.	487
OKUKLU, B.	87
ORAL, N.	124
OVALI, B.B.	747
ÖKSÜZTEPE, G.	294, 723
ÖZAKIN, C.	690
ÖZDEMİR, H.	149
ÖZDEMİR, M.	193
ÖZDEMİR, P.	176, 222, 760
ÖZEKİNCİ, T.	765
ÖZMEN TOĞAY, S.	495
ÖZÖĞRETMEN, D.	629
ÖZTURAN, K.	231, 414, 424
PAMUK, Ş.	620
PATIR, B.	294, 723
PEHLİVANLAR, S.	467, 489
PEHLİVANOĞLU, F.	450
SAĞUN, E.	138, 355, 503, 725
SALTAN EVRENSEL, S.	743
SANCAK, C.Y.	212
SANCAK, H.	503, 725
SANCAK, Y.C.	138
SANDIKÇI ALTUNATMAZ, S.	699, 712
SARAÇ, N.	456
SARIGÜZEL, D.	116

SARİMEHMETOĞLU, B.	202, 586
SAVAŞCI, M.	149
SERTER, M.	193
SIRIKEN, B.	193, 241, 559
SMULDERS, F.J.M.	1
SOYUTEMİZ, E.G.	690
SUDAĞIDAN, M.	87, 813
ŞAHİN DOKUYUCU, F.	643
ŞAHİN, İ. B.	456
ŞEKER, P.	126, 294, 723
ŞEKER, S.	436
ŞEN, C.	571
ŞİRELİ, T. U.	467
TAŞCI, F.	450
TEKBIYIK, S.	569
TELLİ, R.	473, 475
TEMELLİ, S.	571
TERZİ, G.	456
TORLAK, E.	58, 80
UÇAR, G.	155, 252
ULUSOY, B.	260
URAZ, G.	436
ÜNAL, C.	406
ÜNSAL, C.	231, 414, 424
ÜSTÜN, F.	775
VAR, İ.	341, 664
VARLIK, C.	360
VATANSEVER, L.	124
VURAL, A.	765, 767, 769, 771, 773
WEIJTENS, M.J.B.M.	1
YALÇIN, H.	176
YAMAN, M.	279
YENİDÜNYA, F. A.	745
YENİSEY, Ç.	193
YENTÜRK, G.	436
YEŞİLMEN ALP, Y.	769
YILDIRIM, Y.	517, 528, 538
YILDIZ, A.	739, 741
YILMAZ, E.	436
YÖRÜK, İ.	725
YURDAKUL, N.E.	94, 343
YURDAKUL, O.	68
YÜKSEK, N.	743

EMİN CATERING

- İş merkezleri
Fabrikalar
Okullar
Sanayi kuruluşları
gibi kurumların
personel yemek
ihtiyacının temini
- Kafeterya hizmetleri
- Kokteyl
Piknik
Açılış vb.
Outside catering
hizmetlerini güvenle sunar

yaşam hassas bir çizgidir...



önce güven...



Mermere San. Sit. 13. Cad. A Blok No: 85 / 86 Beylikdüzü / İstanbul
Tel: (0 212) 876 26 26 pbx Faks: (0 212) 875 66 39
www.emintabldot.com.tr e-mail: info@emintabldot.com.tr



Tavuk etini vazgeçilmez kılan 10 neden



Beslenme uzmanları
“tavuk eti en değerli besinlerden biridir” diyor.
Neden mi?

- 1. Sağlıklı** Tavuk eti en sağlıklı hayvansal protein kaynağı.
- 2. Ekonomik** Tavuk eti en ekonomik hayvansal protein kaynağı.
- 3. Lezzetli** Sofralara sayısız yemek çeşidi armağan eden lezzetli bir seçenek.
- 4. Besleyici** Vücuttaki hücrelerin sürekli yenilenmesi ve çoğalması için gerekli.
- 5. Kalp dostu** Derisiz tavuk eti, kolesterolü yüksek olanlar ve kalp-damar hastaları için tüketimi tavsiye edilen en ideal et türü.
- 6. Vitaminli** Vitamin B2, niasin, vitamin B6 ve vitamin B12 bakımından iyi bir kaynak.
- 7. Hazmı kolay** Sindirimi en kolay besinlerden biri.
- 8. Pratik** Kolayca hazırlanan, çabuk pişen, en pratik yemek türü.
- 9. Yeterli, Dengeli** Yeterli ve dengeli beslenmek için zorunlu.
- 10. Vazgeçilmez** Sağlıklı bir yaşam sürdürmek için vazgeçilmez.



www.sagliklitavuk.org

Sağlıklı Tavuk Bilgi Platformu, gıda güvenliği alanındaki uluslararası sistemleri ve yüksek üretim standartlarını, üretimin tüm aşamalarında faaliyet gösteren kuruluşlara yaygınlaştırmayı, kamuoyunu sağlıklı tavuk eti üretimi ve tüketimi konusunda bilinçlendirmeyi amaçlamaktadır. Bu platforma Türkiye’de tavuk eti üretiminin yüzde 85’ini gerçekleştiren,

kanatlı sektörünün önde gelen 19 firması üyedir. Sağlıklı Tavuk Bilgi Platformu’na üye firmalarda tavuklar yüksek biyogüvenlik önlemleri ile donatılmış çiftliklerde üretilir. “Sağlık sertifikası” olmayan hayvanlar kesimhaneye sevk edilmez. Kesimhanelerde tüm işlemler hijyen kurallarına en üst seviyede uyularak yapılır.