



www.vetgida2011.org

4.

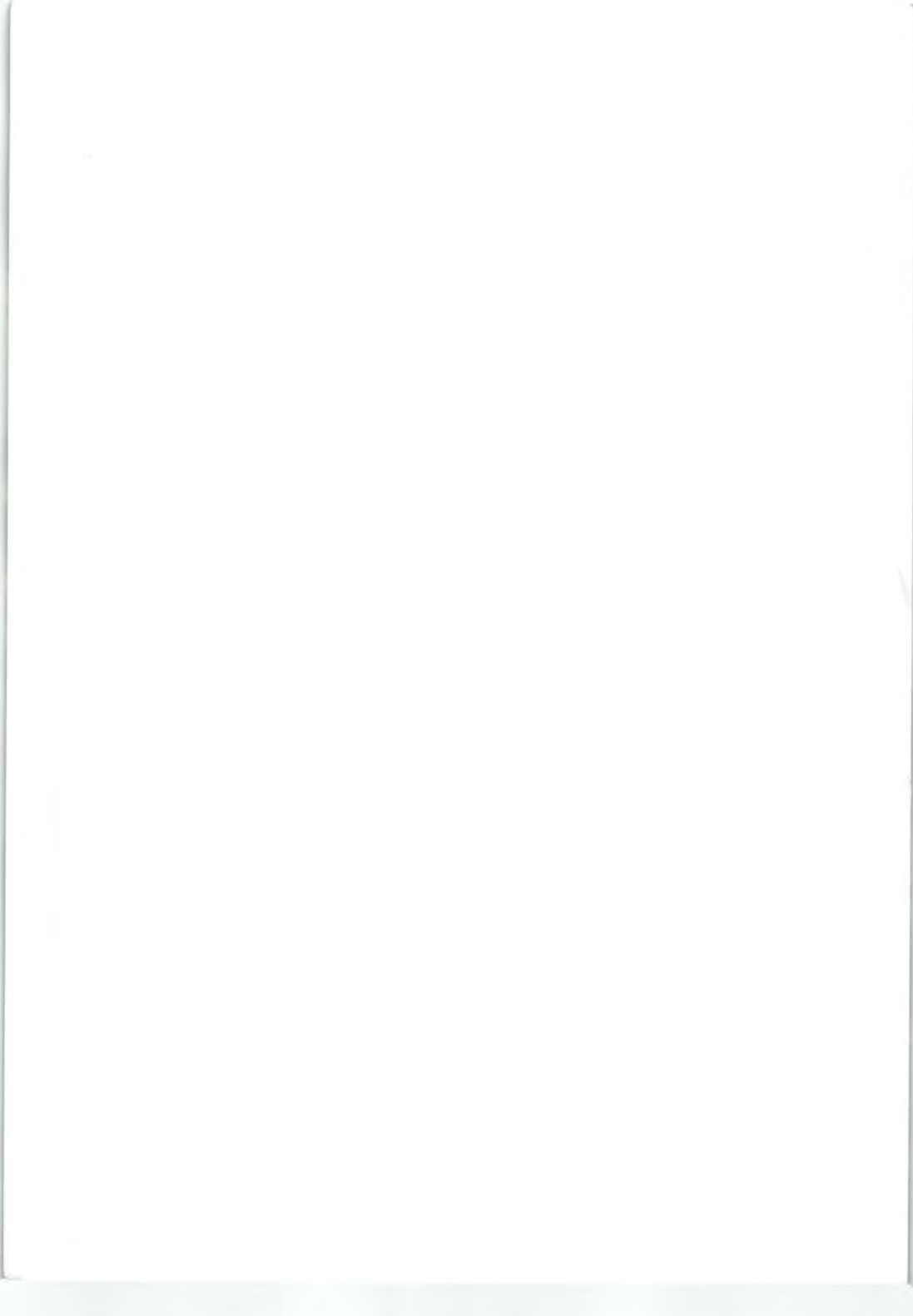
**ULUSAL VETERİNER
GIDA HİJYENİ
KONGRESİ**

13-16 EKİM 2011
PAPILLON ZEUGMA HOTEL
ANTALYA

4. ULUSAL VETERİNER
GIDA HİJYENİ KONGRESİ



BİLDİRİ KİTABI





**4. Ulusal Veteriner
Gıda Hijyeni Kongresi**
13-16 Ekim 2011
Papillon Zeugma Hotel / Belek-Antalya

www.vetgida2011.org

Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi

Değerli Meslektaşlarım,

Bilim ve Teknolojide baş döndürücü gelişmelerin yaşandığı günümüzde, Veteriner Gıda Hijyeni alanındaki yeniliklerin aktarılması ve tartışılması için en uygun ortamı sağlayan bilimsel kongrelerimizin dördüncüsünü 13-16 Ekim 2011'de Belek-Antalya'da Papillon Zeugma Hotel'de gerçekleştireceğiz.

Günümüzde gıda güvenliği konusunda kamuoyunun duyarlılığının ve taleplerinin geçmişe göre daha da arttığı gözlemlenmektedir. Veteriner hekimlerin gıda hijyeninin ve güvenliğinin sağlamadaki görevlerini başarıyla yerine getirebilmeleri için bilimsel ve teknolojik gelişmelerden uzak kalmaları düşünülemez. "Çiftlikten Sofraya Gıda Güvenliği" stratejisinin hayata geçirilmesinde Veteriner Hekimlere çok önemli görevler düşmektedir. Bu kongrede üniversitelerde, kamu ve özel sektörde gıda hijyeni, teknolojisi ve kontrolü ile ilgili araştırma, analiz, üretim, muayene ve kontrol sorumlulukları taşıyan tüm meslektaşlarımızı buluşturarak Dünyadaki ve ülkemizdeki gelişmeler ışığında bilimsel ve teknolojik yenilikleri değerlendirmek, sorunlarımızı paylaşmak ve çözüm önerileri üretmek amaçlanmaktadır.

Kongremizde, yerli ve yabancı bilim insanlarının gıda hijyeni ve güvenliği kapsamında güncel konularla ilgili değerlendirme konuşmalarının ve araştırma sunumlarının yanında, alanımızla ilgili spesifik konularda yüksek lisans, doktora öğrencileri ve sahada görev yapan meslektaşlarımızla akademisyen ve uzmanları bir araya getiren çalıştay veya özel oturumlara da yer verilmesi planlanmaktadır. Kongremiz ayrıca, gıda üretimi, analizi, ve hijyeninin sağlanması ile ilgili üretim ve/veya satış yapan firmaları hedef kitlelerle buluşturarak, bu alanlardaki yeniliklerin tanıtılması sağlanacaktır.

Kongremizi onurlandırmanız, sosyal ve bilimsel birlikteliğimize katkıda bulunacaktır.

13-16 Ekim 2011'de Antalya'da buluşmak dileğiyle sağlıklı günler dileriz.

Kongre Düzenleme Kurulu Adına
Prof.Dr.Mehmet ÇALICIOĞLU

KURULLAR

Düzenleyen Kuruluşlar:

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü
Veteriner Gıda Hijyenistleri Derneği

Kongre Onur Kurulu:

Prof.Dr. A. Feyzi BİNGÖL (Rektör)
Prof.Dr. P. Sema Temizer OZAN (Dekan)

DÜZENLEME KURULU

Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU (Fırat Ün. Başkan)
Prof.Dr. Bahri PATİR (Fırat Ün.)
Prof.Dr. İrfan EROL (Ankara Ün.)
Prof.Dr. Kamil BOSTAN (İstanbul Ün.)
Prof.Dr. Mustafa NİZAMLIOĞLU (Selçuk Ün.)
Prof.Dr. Mustafa TAYAR (Uludağ Ün.)
Prof.Dr. Yakup Can SANCAK (Yüzüncüyıl Ün.)
Prof. Dr. Abamüslüm GÜVEN (Kafkas Ün.)
Prof.Dr. Mustafa ATASEVER (Atatürk Ün.)
Prof.Dr. Mustafa ALIŞARLI (19 Mayıs Ün.)
Doç.Dr. Ömer ÇETİN (İstanbul Ün., VGHD Bşk.)

YEREL DÜZENLEME KURULU

Prof.Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU (Başkan)
Prof.Dr. Bahri PATİR
Prof. Dr. Ali ARSLAN
Doç.Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE
Yrd.DoçDr. O. İrfan İLHAK (Kongre Sekreteri)
Yrd.Doç.Dr. Abdullah DİKİCİ
Arş. Gör. Hüsnü Şahan GÜRAN
Arş.Gör. Gökhan K. İNCİLİ

KONGRE BİLİM KURULU

Prof.Dr. Bahri PATİR (Fırat Ün.)
Prof.Dr. Ali ARSLAN (Fırat Ün.)
Prof.Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU (Fırat Ün.)
Prof.Dr. İrfan EROL (Ankara Ün.)
Prof.Dr. Sadi AKGÜN (Ankara Ün.)
Prof.Dr. Belgin SARIMEHMETOĞLU (Ankara Ün.)
Prof.Dr. T. Haluk ÇELİK (Ankara Ün.)
Prof.Dr. Özlem KÜPLÜLÜ (Ankara Ün.)
Prof.Dr. Haydar ÖZDEMİR (Ankara Ün.)
Prof.Dr. U. Tansel ŞİRELİ (Ankara Ün.)
Prof.Dr. Özer ERGÜN (İstanbul Ün.)
Prof.Dr. Muammer UĞUR (İstanbul Ün.)
Prof.Dr. Kamil BOSTAN (İstanbul Ün.)
Prof.Dr. Harun AKSU (İstanbul Ün.)
Prof.Dr. Gürhan Ralif ÇİFTÇIOĞLU (İstanbul Ün.)
Prof.Dr. Yusuf DOĞRUER (Selçuk Ün.)
Prof.Dr. Ümit GÜRBÜZ (Selçuk Ün.)
Prof.Dr. Suzan YALÇIN (Selçuk Ün.)
Prof.Dr. Yakup Can SANCAK (Selçuk Ün.)
Prof.Dr. Şahsene ANAR (Uludağ Ün.)
Prof.Dr. Ece SOYUTEMİZ (Uludağ Ün.)
Prof.Dr. Mustafa TAYAR (Uludağ Ün.)
Prof.Dr. Yakup Can SANCAK (Yüzüncüyıl Ün.)
Prof.Dr. Emrullah SAĞUN (Yüzüncüyıl Ün.)
Prof.Dr. Sema AĞAOĞLU (Yüzüncüyıl Ün.)
Prof.Dr. Aba Müslüm GÜVEN (Kafkas Ün.)
Prof.Dr. Mustafa ATASEVER (Atatürk Ün.)
Prof.Dr. Mustafa Ali ŞARLI (19 Mayıs Ün.)

4. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi Bilimsel Programı

13 Ekim Perşembe Otel Giriş

14 Ekim Cuma

A Salonu

08:30-09:45

Kayıt İşlemleri

09:45-10:00

Açılış Töreni ve Açılış Konuşması
Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU

I. Oturum
Moderatör

Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU

10:00-10:30

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Müsteşar Yardımcısı
Dr. Nihat PAKDİL
Yeni Adı ve Vizyonu ile Gıda, Tarım ve Hayvancılık
Bakanlığının Hayvancılığa ve Veteriner Gıda Hijyenine
Bakışı

10:30-11:00

Prof. Dr. John N. SOFOS
Current Challenges in Safety of Foods of Animal Origin

11:00-11:20

Çay-Kahve Arası

II. Oturum
Oturum Başkanları

A Salonu
Prof.Dr. Bahri PATİR
Prof.Dr. Mustafa TAYAR

11:20-11:35

A. Aydın, M. Sudağıdan, K. Muratoğlu,
F. Yılmaz, K. Bostan
Marmara Bölgesinden İzole edilen Gıda Kaynaklı
Staphylococcus aureus Suşlarında Antibiyotik Dirençliliğinin
Fenotipik ve Moleküler Yöntemler ile Araştırılması

11:35-11:50

İ. Erol, N Deniz Ayaz
Hindi Etlerinden İzole Edilen Listeria monocytogenes'lerin
Serotip Dağılımının Multipleks PCR ile Belirlenmesi

11:50-12:05

A. Yıbar, F. Çetinkaya, E. Soyutemiz
Tavuk Etlerinde Kloramfenikol Antibiyotik Kalıntılarının ELISA
ve LC-MS-MS ile Tespiti ve Doğrulanması

12:05-12:20

S. Dicle Kahraman, Ö. Küplülü
Süzme Ballarda HMF Değeri ve Diastaz Aktivitesinin
Belirlenmesi

12:30-14:00

Öğle Yemeği

III. Oturum
Oturum Başkanları

14:00-14:30

A Salonu
Prof.Dr. Kamil BOSTAN
Prof.Dr. Mustafa ATASEVER

Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ
Türkiye'de Mezbahaların Durumu ve Et Muayenesi
Hizmetlerinin Değerlendirilmesi

14:30-14:45

A. Dikici, E. Özpolat, A. Koluman, B. Patir, M. Çalicioğlu
Bütün Haldeki Gökkuşuğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1972) Farklı Konsantrasyonlardaki Biberiye Ekstraktı İle Dekontaminasyonun Raf Ömrü Üzerine Etkisi

14:45-15:00

A. Yaman, K. Candoğan
Soğukta Depolanan PSE Hindi ve Tavuk Göğüs Etlerinin Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

15:00-15:15

S. Temelli, Z. Ata, A. Eylgör
Perakende süt ürünlerinde *Listeria spp.* ve *Listeria monocytogenes* varlığının VIDAS ve ISO 11290-1 ile belirlenmesi

15:15-15:35

Çay-Kahve Arası

IV. Oturum
Oturum Başkanları

A Salonu
Prof.Dr. Belgin SARIMEHMETOĞLU
Prof.Dr. Ali ARSLAN

15:35-16:05

Bilgehan SÜER
Riboprinter ve Bax Sistemleri

16:05-16:20

K. Bostan, F. Yılmaz, K. Muratoğlu, A. Aydın
Döner kebaplarda pişirme sırasında *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium perfringens*'in canlılığı üzerine bir araştırma

16:20-16:35

A. Fidanboyu, F. Bakırcı, G. Türköz
Etlerin Yapısındaki Değişiklikler Ve Muhafaza Yöntemleri

16:35-16:50

A. Gül Mutlu, Ö. Kurşun
Bazı Et Ürünlerinde Soya Varlığının PCR ve ELISA ile Tespiti ve Kantitasyonu

19:00-

Akşam Yemeği

15 Ekim Cumartesi

IV. Oturum
Moderatör

A Salonu
Prof. Dr. Gürhan Raif ÇİFTÇİOĞLU

9:00-09:30

Prof. Dr. Sava BUNCIC
Modernization of Meat Inspection in the European Union to Improve Meat safety

09:30-09:40 Vet. Hekim Dr. Ahmet YÜCESAN (ETBİR)
Kırmızı Et Sektörü Günceli

09:40-09:50 Çay-Kahve Arası

VI. Oturum
Oturum Başkanları

A Salonu
Prof.Dr. Ece SOYUTEMİZ
Prof.Dr. Yusuf DOĞRUER

09:50-10:20 Prof. Dr. Gürhan Ralf ÇİFTÇİOĞLU
AB Komisyonu FP7 Projeleri ve Projelerin Değerlendirme Süreci

10:20-10:50 Vet. Hekim Dr. Can DEMİR
Denetimin Akreditasyonu ve Kırmızı Et Sektörünün İç Denetimi

10:50-11:05 A Güner, K. Kav, K. Kaan Tekinşen, Y. Doğruer, N. Telli
Helicobacter pylori'nin Fermentasyon Süresince Türk Sucuğunda Canlılığının Araştırılması

11:05-11:25 Çay-Kahve Arası

VII. Oturum
Oturum Başkanları

A Salonu
Prof.Dr. Kezban CANDOĞAN
Prof.Dr. Kamuran AYHAN

11:25-11:40 M. Aydemir Atasever, H. Özlü, S. Urçar, M. Atasever
Farklı Etçi Siğir Irklarına Alt Et Örneklerinin Bazı Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

11:40-11:55 F. S. Bilir Ormancı, M. Göncüoğlu, N. Deniz Ayaz, İ. Erol
Siğir Safrasında Salmonella spp. Varlığı ve İzolatlarda PhoPQ Geninin Tespiti

11:55-12:10 Ö. Pelin Can, B. Patır
Kitosan ile Kaplamanın Gökkuşluğu Alabalığı (Oncorhynchus mykiss, W. 1792) Filetolarının Raf Ömrü Üzerine Etkisi

12:10-12:25 H. Şahan Güran, G. Öksüztepe, Ö. Emir Çoban,
G. Kürşad İncil
Bazı Esansiyel Yağların Palamut Balığından (Sarda sarda Bloch, 1793) Yapılan Köftelerin Raf Ömrü Üzerine Etkisi

12:30-14:00 Öğle Yemeği

VIII. Oturum
Oturum Başkanları

14:00-14:30

A Salonu
Prof.Dr. Mustafa ALIŞARLI
Doç.Dr. Ömer ÇETİN

Doç. Dr. Ali AYDIN
Gıdalarda antibiyotik kalıntıları ve Gıda Kaynaklı Patojen
Bakterilerde Antibiyotiklere Dirençlilik: Dünyada ve Türkiye'de
Son Durum

14:30-14:45

A. Güner, Y. Doğruer, M. Ali Cebirbay, S. Yalçın, S. Gülşen,
N. Telli
Toz Bebek Mamalarının Cronobacter sakazakii (Enterobacter
sakazakii) Varlığı Yönünden İncelenmesi

14:45-15:00

A. Koluman
En 14569 Standardı Kullanılarak Gıda İşinlanmanın Tespiti

15:00-15:20

Çay-Kahve Arası

IX. Oturum
Oturum Başkanları

A Salonu
Prof.Dr. Mustafa NİZAMLIOĞLU
Doç.Dr. Leyla VATANSEVER

15:20-15:50

Doç Dr. Aysun YILMAZ
Gıda Güvenliği Araçları; Risk analizi ve Laboratuvar Analizleri

15:50-16:05

H. Özlü, M. Aydemir Atasever, S. Urçar, M. Atasever
Erzurum'da Tüketime Sunulan Kaşar Peynirlerinin Mineral
Madde ve Ağır Metal İçerikleri

16:05-16:20

B. Patır, Ö. Pelin Can, Ö. Emir Çoban, E. Özpolat
Eugenol' ün Vakum Ambalajlı Gökkuşluğu Alabalığı
(Oncorhynchus mykiss, W. 1792) Marinatları Üzerine Etkisi

16:20-16:35

A. Teoman Ünlü, A. Koluman, A. Dikici, S. Özkök
Ankara, Bolu, Elazığ ve Tunceli İllerinden Alınan Piliç Eti
Örneklerindeki Salmonella Prevalansı ve Antibiyotik
Dirençlilikleri

19:30

Gala Yemeği

16 Ekim Pazar

09:30-10:30

Poster Tartışmaları

11:00-11:30

Değerlendirme Toplantısı ve Kapanış

SÖZEL BİLDİRİLER

Bildiri No: 138

Kategori: Genel

CURRENT CHALLENGES IN SAFETY OF FOODS OF ANIMAL ORIGIN AND POTENTIAL SOLUTIONS

Sunum Tipi: Oral

John N. SOFOS, Center for Meat Safety & Quality, Colorado State University

Abstract

Current challenges associated with the safety of foods of animal origin, and specifically meat products, include the need to control traditional and emerging or evolving pathogenic microorganisms, including strains of high virulence and low infectious doses, as well as those that are resistant to antibiotics or to stresses such as those associated with mild food processing treatments. Additional related concerns include cross-contamination of water and foods, other than those of animal origin, with enteric pathogens of animal origin; associated with this are meat animal manure treatment and hygienic disposal issues. Pathogens of highest concern are *Escherichia coli* O157:H7 and other hemorrhagic shigatoxin-producing serotypes, *Salmonella* and *Campylobacter* affecting the safety of raw meat and poultry, while *Listeria monocytogenes* is of most concern in ready-to-eat processed products. Viral pathogens are main causes of foodborne illness episodes at foodservice. Other issues for consideration are foodborne illness surveillance and food attribution improvements, and potential use of food safety programs at the farm during food animal and plant production. International food safety challenges include animal health, welfare, identification and traceability issues, the safety and quality of organic and natural products, risk based regulatory and inspection harmonization issues at the national and international level, harmonization of responsibilities for zoonotic diseases among animal health and regulatory public health agencies worldwide, and completion of implementation of the hazard analysis critical control point (HACCP) food safety management principles at the production and processing level on the basis of proper food handler training and consumer education. Additional meat safety concerns include potential presence of chemical residues in meats, the safe use of food additives in processed products, the need for and development of improved and rapid testing and pathogen detection methodologies, consumer concerns related to products of food biotechnology or genetically modified organisms, and bioterrorism concerns that may involve intentional contamination of foods with harmful agents. Worldwide concerted efforts are needed to resolve meat and other food safety issues.

Introduction

As discussed by Sofos (2011a,b), the safety of animal derived food products and other foods has become a major concern for consumers, industry, regulatory authorities, public health agencies, and research scientists in recent years (Doyle and Erickson, 2006; Sofos, 2008a; 2009a,b; Sofos and Geornaras, 2010). Major food safety issues and challenges of current worldwide concern include the need to control traditional as well as emerging or evolving pathogenic microorganisms, some of which may be more virulent and exhibit low infectious doses. In addition, some pathogens may be resistant to antibiotics or to food processing and preservation associated stresses, including those caused by physical (heat, cold, drying, radiation) and chemical (sanitizers, acids, salts, etc.) agents. Other current safety issues and concerns are associated with cross-contamination of water and foods of plant origin (fruits and vegetables) with enteric pathogens from food-producing animal species and wildlife, associated animal manure disposal issues, and their potential for control through implementation of control interventions and programs at the farm level (Sofos, 2008a; 2009a; Sofos and Geornaras, 2010).

Additional animal food product safety concerns, listed by Sofos (2008a; 2009a) include foodborne illness surveillance and food attribution activities, food safety management through establishment of risk-assessment-based food safety objectives, routine implementation of hazard analysis critical control point (HACCP) principles or concepts by all segments of the food continuum through proper food handler training and consumer education, food-related animal health issues, transmissible spongiform encephalopathies (TSE) such as bovine spongiform encephalopathy (BSE), potential presence of chemical residues in meats, the safe use of food additives in processed products, efficient animal identification and product traceability programs, the safety and quality of foods labeled as organic or natural, the development of improved and rapid pathogen detection methodologies, national and international regulatory harmonization issues, consumer concerns related to products of food biotechnology or genetically modified organisms, the humane treatment of animals, and bioterrorism concerns that may involve intentional contamination of foods with harmful agents ((Sofos, 2008a; 2009a; 2011a,b).

These challenges become more important, as well as complex, due to changes in animal production, product processing and distribution; increased international trade; changing consumer needs and increased preference for minimally processed products; increased worldwide meat consumption; higher numbers of consumers at-risk for infection; and, increased interest, awareness and scrutiny of food-related issues by consumers, news media, and consumer activist groups (Sofos, 2008a; 2009a; 2011a,b).

Since food safety remains a major concern and challenge that needs attention worldwide, this paper provides an overview of current food safety associated challenges and their potential solutions in animal food products and some specific information of meatborne bacterial pathogens and their control.

Current Challenges in Safety of Foods of Animal Origin

General

As indicated, food safety challenges associated with products of animal origin have become a growing concern in recent years, and indications exist that such issues will continue being important in the future. The main goal and challenge is related to prevent foodborne illness outbreaks involving deaths, associated recalls of potentially contaminated products from the marketplace, and regulatory compliance issues and friction nationally and worldwide. According to Sofos (2008a; 2009a; 2011a,b) and Sofos and Geornaras (2010), potential reasons for the increased food safety challenges of recent years are: modernized food production, processing, marketing and distribution practices; globalization of the food industry as indicated by the increased international trade, the increased transportation of foods among countries, and the multi-sourcing of food ingredients; the modernization of food preparation and food service practices; the continuous development of new food products to meet consumer demands and expectations for minimally processed and convenient foods; the increased urbanization and the associated need for transportation of large amounts of food products from centralized production and processing locations to urban population centers as food products need a shelf life adequate for distribution, marketing and consumption in distant areas; the increased travel which may enhance transfer of pathogens between countries; the changing consumer demographics, lifestyles, eating habits and increased life expectancy; the greater numbers of sensitive consumers who are at-risk for food transmitted infections; climate changes as well as associated natural environmental stresses which may induce biological changes and lead to new or emerging pathogens that may be resistant to control interventions or more virulent; advances in microbial pathogen detection methodologies; inadequate food-handler and consumer education and training in food safety and proper food handling; and increased interest, awareness and scrutiny of food safety issues by news media and consumer advocate groups as well as consumers (Sofos, 2008a,b; 2009a; 2011a,b). The important food safety challenges listed above and discussed by Sofos (2008a; 2009a) are discussed in following paragraphs.

Animal Welfare and Humane Treatment

It is now well recognized that food animals should be treated humanely during growth and harvest for conversion into food (Grandin, 2006). This issue is receiving worldwide attention for ethical, food quality and safety reasons. Evidence exists that animal handling may affect product safety as animal stressing may increase pathogen shedding leading to more contamination of animals and cross-contamination of resulting food products. However, irrespective of whether good animal husbandry practices improve the safety or quality of animal food products, it should be stressed that humane treatment of animals is essential for ethical reasons and should be practiced by all involved in animal handling (Sofos, 2008a; 2009a).

Animal Health Issues

Animal health challenges, such as avian influenza, swine influenza and foot and mouth disease, appear as major worldwide epidemics at various times and become major public concerns influencing consumer confidence in food safety. Even though they are not transmitted through consumption of properly cooked meat and poultry, such animal disease agents may result in major economic losses affecting local, domestic or international markets. As such, they have the potential to become major trade, political or diplomatic issues. It is the obligation of health authorities throughout the world to address such issues as effectively as possible. Although early detection and diagnosis is key for containment, the goal should be prevention and eradication of animal pandemics. Such efforts should be based on global cooperation for risk-based contingency pre-planning, and for establishment and monitoring of effective preventive and protective measures or firewalls (Sofos, 2008a; 2009a).

Transmissible Spongiform Encephalopathies

Major animal health challenges, irrespective of their potential for major or minor threat to human health, such as transmissible spongiform encephalopathies (TSE) and specifically BSE, have been contained with established firewalls and preventive measures (e.g., feed bans and control of specified risk materials). Such controls should be maintained and potentially enhanced based on worldwide collaboration and coordination for prevention of outbreaks (Sofos, 2008a; 2009a).

Animal Identification and Traceability

Identification and traceability of animals with technologies such as electronic ear tags or retinal scanning, as well as food product traceability for recalls, are issues that have gained worldwide interest and importance in recent years, especially following detection of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in animals. Animal, food and pathogen traceability have food safety implications as they allow tracking, containment and recalls of animals and products if needed due to public health or other concerns (Sofos, 2008a; 2009a).

Food Attribution

Another currently important food safety issue is to better link foodborne illness episodes with specific food sources. Thus, more effort is needed to resolve causes of foodborne illness episodes and more specifically to track foodborne illnesses, their causes and vehicles of pathogen transmission. Specifically, this food attribution activity involves tracing (blot tracing) pathogens through proper surveillance activities, and microbial source tracking based on phenotypic and genotypic methods (Doyle and Erickson, 2006). In the United States the Centers for Disease Control and Prevention (CDC), the federal public health agency, is emphasizing tracking foodborne illnesses through intense epidemiological and molecular investigations conducted by its Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) and the pathogen tracking and DNA fingerprinting program (PulseNet). These efforts have contributed to faster and better identification of foodborne illness outbreaks with victims in various parts of the country. Overall, knowledge obtained through food attribution activities and efforts should contribute to the determination of microbial control needs, evaluation of progress toward pathogen control, help in microbial risk

assessments, and identify potential new challenges (Sofos, 2008a; 2009a).

Consumer Behavior and Expectations

In general, meat consumption increases as the standard of living is improved. However, meat consumption in developed countries may be approaching saturation levels, as consumers in such countries express a preference for foods with no additives or chemical residues, exposed to minimal processing, convenient and needing little preparation, safe, and economic. These changes in food preferences are associated with changes in demographics, lifestyles, life expectancy, and educational experiences. It should be noted, however, that food safety risks may become even greater in minimally processed foods as well as because consumers eat more meals away from home; the number of "take home" meals has increased; the use of pre-prepared or pre-packaged meals, salads and other food items has increased; more consumers prefer or follow special diets; and, present-day consumers are exposed to limited education relative to proper food handling practices. Minimally processed foods of low fat, reduced salt and other additives may be less safe, as for example, a lower fat content in a food is associated with higher moisture, which leads to dilution and further reduction of the already lower levels of salt and other additives. This further dilutes the preservative contribution of additives in a product that may also be minimally processed (Samelis and Sofos, 2003; Sofos, 2008a; 2009a).

Environmental Contamination and Organic and Natural Foods Concerns

Pathogens such as enterohemorrhagic *E. coli* and *Salmonella* serotypes have been associated with illnesses caused through transmission with, not only beef or poultry, respectively, but also through a variety of other food products (not both of them with all listed products), including apple juice/cider, alfalfa/radish/bean sprouts, mayonnaisse, spinach, lettuce, peppers, onions cantaloupes, watermelon, tomatoes, chocolate, dry breakfast cereal, etc. (www.cdc.gov). Such foodborne illness episodes demonstrate the role of the environment in cross-contamination transfer of enteric pathogens from their animal hosts to a variety of foods of non-animal origin. This impact of food and wild animals on environmental, water and food contamination with pathogens through their feces has gained attention in recent years, as water or fruit and vegetable enteric bacterial outbreaks have increased with worldwide implications (e.g., *E. coli* O104:H4 sprouts outbreak in Germany). Since such concerns are likely to increase in the future there is a need for efforts to minimize the role of animals in human illness outbreaks through drinking water and cross-contaminated raw produce. Therefore animal manure should be properly composted, processed and handled to limit environmental pollution and water contamination with enteric pathogens (Sofos, 2008a; 2009a).

Related to this is the safety and quality of "organic" and "natural" food products which continue to be controversial, as such labeled products become more popular for consumers. This issue will need careful and responsible attention, and should be researched more thoroughly in terms of nutritional quality and food safety characteristics. It should be recognized, however, that irrespective of consumer preferences and quality or safety of such products, compared to those of conventional agriculture, the existence and increase in production of "organic" or "natural" products will not solve the world's hunger and food safety problems. It is evident, however, that the demand for meat increases as the economic conditions of people improve. Further, as the world population grows so does the tendency for urbanization, and such developments lead to food shortages and associated needs for efficient production of food. This makes it doubtful that conventional animal production will be completely replaced by organic or natural production systems (Sofos, 2008a; 2009a).

Microbial Detection

The need for development of improved rapid pathogen detection methodologies for laboratory, and especially for field use, will continue, as testing increasingly becomes a component of food safety enhancement efforts. Advances in pathogen detection are needed for use in finding pathogen sources, evaluating pathogen control interventions,

evaluating pathogen control interventions, and developing, validating and verifying critical control points and critical limits for pathogen control through HACCP programs. However, microbial testing is inadequate for use as a routine means of HACCP monitoring or as a final step in assuring food product safety (Sofos, 2008a; 2009a).

HACCP Implementation, Education and Training

Food safety may be properly and effectively assured through adequate and proper implementation of validated and verified HACCP programs throughout the food chain. To be effective, process control and food safety management systems, such as HACCP, should be implemented on the basis of collaboration, cooperation and coordination among all sectors involved, industry, scientific community, regulatory authorities, and public health agencies (Sofos, 2008a; 2009a).

HACCP plans (FSIS, 1996; NACMCF, 1998) should be based on a strong foundation of effective prerequisite programs, including good manufacturing practices (GMP) and good hygiene practices (GHP), as well as in adequate and hygienically designed facilities and equipment. In addition, specific standard operating procedures (SOP) or job instructions should be developed for use in employee training and during operations. Complete and effective SOPs should address: what is to be done in the operation; by whom; when; why; and how. The SOP should be understandable to workers and should also provide guidance as to what to do if a deviation or other problem develops during operations (Sofos, 2008a; 2009a).

HACCP implementation will be complete when its principles are applied throughout the chain of a production of a given product based on adequate, complete, and routine education and training of management and employees in understanding the importance of hazard control, the meaning and function of HACCP, and the proper and continuous application of its principles. This is crucial because management provides funding for materials, equipment, and adequate time for training and education of employees, while day-to-day HACCP implementation is not complete until there is complete worker training (Sofos, 2008a; 2009a).

Evidence shows that human errors such as poor hygiene, improper food handling and inadequate heating, lead to most foodborne illness events. Thus, in addition to food workers, it is important to teach consumers the basics of food safety. These include proper cooking of animal foods, thorough washing of raw vegetables, separation of uncooked from ready-to-eat foods, and washing of hands, cutting boards, knives, etc. Individuals at-risk for severe foodborne illness should be instructed to avoid or properly cook risky foods, and to avoid raw or unpasteurized products (Sofos, 2008a; 2009a).

Risk Assessment-based Food Safety Objectives

It is currently recognized, that food safety regulations and funding of research activities should be based on data gaps and knowledge needs, respectively, identified by proper risk assessments. The concept of risk analysis and risk assessment component are finding their value for implementation in microbial food safety, as several microbial food safety risk assessments have been undertaken by individual scientists, national agencies and international organizations such as World Health Organization and the Food and Agriculture Organization (WHO/FAO) in recent years. Examples of risk assessments include the FSIS draft *E. coli* O157 ground beef risk assessment and its review by the United States National Academy of Science (NAS), the listeriosis risk assessment completed by Food and Drug Administration (FDA), the Food Safety and Inspection Service (FSIS) and CDC, and the Salmonella in broilers and eggs risk assessment of WHO/FAO (FDA/FSIS, 2003).

As progress in risk assessments is achieved, efforts have been initiated in order to base foodborne hazard control measures on performance, process and product criteria developed to achieve feasible food safety objectives (ICMSF, 2002). The criteria developed through risk assessments to meet established food safety objectives will then be managed by HACCP. Such transparent approaches are developed and advanced to allow better international cooperation, collaboration and harmonization, leading to improved

control of foodborne hazards and International food trade (ICMSF, 2002; Sofos, 2008a; 2009a).

Regulatory Modernization and Harmonization

As the international food trade is expanding, there is a need for harmonization of food-safety-related process management and regulatory requirements need among countries coordinated by national and international agencies and organizations such as the WHO, the FAO, the Codex Alimentarius Commission (Codex), the World Trade Organization (WTO), and the International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). In addition, there is a need to determine and assign responsibilities for zoonotic diseases among animal health and regulatory or public health agencies, nationally (Animal, Plant Health Inspection Service (APHIS), FSIS, and CDC in the United States) and internationally (World Organization for Animal Health-OIE, Codex, WHO). Harmonization of activities should lead to optimized use of resources, facilitate trade, eliminate friction, and enhance food safety (Sofos, 2008a; 2009a).

Other Meat Associated Challenges

An important food safety challenge for sensitive consumers is presence of allergenic ingredients in some foods, including composite meat products. Proper processing, cleaning of processing lines to avoid cross-contamination, labeling of products, and consumer education are needed to prevent exposure of sensitive individuals to such danger. Issues of interest and concern to certain consumer groups remain residues of agricultural agents and chemical additives such as salt and nitrite that may be present in certain products. Compounds such as salt and nitrite are used for a long time in meat products and re-emerge from time-to-time as issues of concern. However, their contribution to meat product quality and safety remains undisputed, while their potential for adverse health effects is non-existent, minor, or limited to small populations. Residues of certain compounds, such as dioxins, are of continuous concern. Although the debate over the positive and negative contributions of meat to the human diet will continue, meat, even in reduced portions, will remain a main component of the human diet, and its consumption will increase as populations of developing countries become economically stronger (Sofos, 2008a; 2009a).

Progress in food biotechnology and in the production of genetically modified organisms may be less controversial among some consumer groups in the future as their undeniably positive contributions in treating disease and helping feed the undernourished or malnourished become better recognized. It should be noted, however, that animal cloning in routine production of food animals is unnecessary and should not be practiced (Sofos, 2008a; 2009a).

Further, increased concern in recent years relative to potential intentional introduction of hazards in foods to cause food safety problems through bioterrorism activities is being addressed in countries such as the United States (Sofos, 2008a; 2009a).

Microbial Foodborne Pathogens

General. Microbial pathogens, and especially foodborne pathogenic bacteria are considered as of the highest concern in the safety of meat products. As indicated, reason for this is the high number of illnesses and especially the deaths caused, when contaminated foods are consumed, and especially by sensitive consumers (Scallan et al., 2011a,b). Meatborne bacterial pathogens include *Campylobacter* spp., *Salmonella*, diarrheagenic *E. coli* serotypes, especially shiga-toxin producing / verotoxigenic (STEC/VTEC) enterohemorrhagic (EHEC) serotypes, *Yersinia enterocolitica*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Aeromonas*, *Arcobacter*, *Brucella*, *Shigella*, and *Enterobacter* (Bacon and Sofos, 2003). Important parasitic agents include *Trichinella spiralis*, *Sarcocystis* spp., *Toxoplasma gondii*, *Taenia* spp. and *Sarcocystis* spp. Viral agents involved in human foodborne illness are Norovirus, hepatitis A and enteroviruses; their transmission is mostly due to poor sanitation, cross-contamination during preparation and serving, or inadequate cooking (Sofos, 2011a,b).

Foodborne illness epidemiological data and surveillance estimates, by the United States

CDC FoodNet and the PulseNet, indicate that approximately 60-70% of the outbreaks and 40-50% of the cases of reported foodborne illness remain unresolved and with the etiologic agent unknown (www.cdc.gov). Therefore, it should not be surprising that numerous pathogens of recent concern (e.g., *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *C. jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, etc.) were unknown or not suspected as causes of foodborne illness in the past. Also it should not be unexpected if additional agents of foodborne illness are identified in the future. A number of new (not previously known; e.g., *Escherichia coli* O157:H7), emerging (known but not associated with foodborne transmission; e.g., *L. monocytogenes*), or evolving (those that become more potent or become associated with other products; e.g., *Salmonella*) pathogenic microorganisms have been associated with documented foodborne illness episodes in the past 20-30 years, and their number appears to be increasing. In addition to the above, additional foodborne pathogens recognized since 1970 include *Vibrio cholerae* nonO1, *Vibrio vulnificus*, Norovirus, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayentanensis*, *Cronobacter* (*Enterobacter*) *sakazakii*, prions, and resistant bacteria. Other potentially important pathogens may be *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *Escherichia albertii*, and *Clostridium difficile*. However, progress in methodologies of detection is needed before their role in the safety of meat and other foods is determined (Sofos, 2008a; 2009a).

The most important meatborne bacterial pathogens attracting attention in recent years are enterohemorrhagic (EHEC) STEC/VTEC *E. coli* serotypes and *Salmonella*, including antibiotic resistant strains, in raw meat, *Campylobacter* spp., in poultry, and *L. monocytogenes* in ready-to-eat processed meat and poultry products. Therefore, it is important to control these bacterial pathogens in order to assure the safety of meat products. (Koutsoumanis and Sofos, 2004; Koutsoumanis et al., 2006; Scallan et al., 2011a,b; Sofos, 2008a; 2009a; 2011a,b). Brief descriptions of these pathogens were extracted from Sofos (2008c), as follows:

Campylobacter. Although first isolated in 1909, the organism became known as a cause of foodborne gastroenteritis in the late 1970s. *Campylobacteriosis* or *Campylobacter enteritis* has a low (0.001) case fatality rate of 0.001 but is recognized as the first or second (after *Salmonella*) most common bacterial foodborne illness in the United States and other countries in the past 10-20 years. *Campylobacteriosis* may result from ingestion of as few as 500 cells. Symptoms appear within 2-5 days, may persist for up to 10 days, and include acute colitis, fever, malaise, abdominal pain, headache, watery or sticky diarrhea with traces of blood (occult), inflammation of the lamina propria, and abscesses (Lund et al., 2000; Bacon and Sofos, 2003).

Campylobacter and *Arcobacter* (until recently was included in *Campylobacter*) are members of *Campylobacteraceae* that includes 18 and four species and subspecies within each genus, respectively. The most common foodborne species are *C. jejuni* and *C. coli* (Bacon and Sofos, 2003). *Campylobacter* is associated with poultry and migratory birds, as well as rodents, insects and natural water sources.

The Gram-negative nonspore-forming, slender and curved rods are characterized by corkscrew-type motility. As microaerophilic, they grow optimally at 2.0-5.0% oxygen and 5.0-10.0% carbon dioxide, while growth is inhibited by 21% oxygen. The optimum temperature range for growth of *Campylobacter* is 37-42°C, while under favorable nutritional, atmospheric and environmental conditions, growth occurs at 30-45°C. They grow at pH values 4.9-8.0, but prefer pH 6.5-7.5. As they are sensitive to drying, *Campylobacter* require an aw above 0.912 (ICMSF, 1996; Lund et al., 2000).

Foods commonly implicated in *Campylobacter* infections include milk, eggs, meats, poultry, and water. The pathogenesis of the infection is not well understood; however, it is believed that *C. jejuni* or *C. coli* result in extra intestinal interaction with cellular constituents as indicated by high serum IgG and IgM antibody levels following infection. Determinants of *Campylobacter* virulence include motility, adherence, invasion, and toxin production. Toxins produced include a heat-labile enterotoxin (i.e., denatured at 56°C for 1 h), which is destroyed at pH 2.0 or 8.0, a trypsin-sensitive cytotoxin, which is more,

heat-stable than the enterotoxin (i.e., denatured at 60°C for 30 min), and a cytolethal distending toxin (CDT) (Bacon and Sofos, 2003).

Diarrheagenic *Escherichia coli*. The organism was isolated by Dr. Theodor Escherich in the late 1800s and was first known as *Bacterium coli*. Isolates were associated with gastroenteritis and mortality in infants by the 1940s. Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) was associated with foodborne illness in 1982. Currently, overall diarrheagenic *E. coli* are estimated as implicated in over 170,000 cases of foodborne disease annually in the United States, with a case fatality rate of 0.0083 for STEC serotypes (ICMSF, 1996; Bacon and Sofos, 2003).

All *E. coli* strains are commonly found in the gastrointestinal tract of mammals and are fairly ubiquitous in the environment. Human illness results through fecal-oral transmission, and through contaminated water or foods of animal or plant origin. In the past, the majority of EHEC outbreaks have been associated with consumption of undercooked ground beef. Other foods that have served as vehicles for transmission include water, cantaloupes, apple juice/cider, potatoes, coleslaw, radish and alfalfa sprouts, lettuce, and spinach (Bacon and Sofos, 2003).

Diarrheagenic or enterovirulent *E. coli* serotypes of the family Enterobacteriaceae are Gram-negative, facultatively anaerobic, nonspore-forming, mostly motile rods. Diarrheagenic *E. coli* can be categorized into: (i) Shiga-toxin or verocytotoxin-producing *E. coli* (STEC or VTEC), which include the enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) strains (approximately 112 serotypes), the most common serotype isolated from individuals with diarrheagenic *E. coli* is O157:H7; (ii) Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), which include approximately 32 serotypes and produce a heat-labile (LT) enterotoxin, and/or a heat-stable (ST) enterotoxin; (iii) Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) with approximately 23 noninvasive and no toxin producing serotypes; (iv) Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) of approximately 14 nonmotile serotypes, which have the ability to invade peripheral host tissues; (v) Enteragggregative *E. coli* (EAEC); (vi) Diffusely adherent *E. coli* (DAEC); (vii) Necrotoxic or cell-detaching *E. coli* (NTEC or CDEC); and (viii) Cytolethal distending toxin (CLDT or CDT)-producing *E. coli*. The last four have no established clinical or foodborne significance (Bacon and Sofos, 2003).

Serotypes of *E. coli* can grow at temperatures as low as 7-8°C and as high as 44-46°C, with an optimum in the range 35-40°C, and a minimum required *aw* of 0.95. Although their optimum pH is 6.0-7.0, they can grow in the range 4.4-9.0, and the EHEC O157 are known to tolerate acid more than other pathogens (Bacon and Sofos, 2003; Samelis and Sofos, 2003).

Common STEC/EHEC serotypes such as O157:H7, O157:NM, O26, O45, O103, O111, O121 and O145 can cause mild diarrhea, severe bloody diarrhea (hemorrhagic colitis) or in some cases hemolytic uremic syndrome (HUS), characterized by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia and acute renal failure. The symptoms appear 3-9 days after ingestion of >10 cells and last for 2-9 days. It is estimated that serotype O157 is involved in 80% of the HUS cases in North America, while approximately 6% of individuals infected with STEC serotype O157 develop HUS (Bacon and Sofos, 2003).

The pathogenetic process differs among various serotypes groups following intestinal colonization. STEC produce either Shiga toxin 1 (Stx1), which is essentially identical to the *Shigella dysenteriae* type 1 toxin, Shiga toxin 2 (Stx2), or a combination of both toxins. The Shiga-like toxins, or verocytotoxins, are the major virulence factor, resulting in death in certain individuals. In addition to Shiga toxins, virulence factors include a plasmid encoded enterohemolysin; a heat stable enterotoxin; plasmid encoded catalase-peroxidase and serine protease enzymes, an outer membrane protein synthesized in response to a low iron environment, an intestinal adherence factor (e.g., intimin), and the presence of O157 antigen which may enhance the cytotoxicity of Shiga toxins (Bacon and Sofos, 2003).

Listeria monocytogenes. The pathogen was first described in the 1910s and the first reported human case involved a soldier inflicted with meningitis during World War I;

however, foodborne transmission was not documented until 1981. Because of its high fatality rate (exceeds 0.2), listeriosis, is considered a major foodborne infection. Available estimates indicate that *L. monocytogenes* is responsible for approximately 1,500 cases of foodborne disease in the United States annually (Bacon and Sofos, 2003).

Species of the genus *Listeria* include *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, and *L. grayi* (it now includes *L. murrayi*). *L. monocytogenes* are nonspore-forming, psychrotrophic, aerobic, microaerophilic or facultative, Gram-positive rods that are motile at 28°C (Ryser and Marth, 2007). Newly recognized species include *L. marthii* and *L. rocourtii*.

Of the 13 known *L. monocytogenes* serovars, 1/2a, 1/2b and 4b, account for 95% of human isolates, with serovar 4b strains involved in 33-50% of human cases worldwide. Strains show major differences in virulence; however, no major correlation has been established between virulence and origin (human, animal, food, etc.) or characteristics (serovar, genotype, etc.). At this time, all strains of *L. monocytogenes* are considered capable of causing listeriosis (Lund et al., 2000; Bacon and Sofos, 2003).

L. monocytogenes is a major concern because it grows at high humidity, low temperatures, and limited nutrient levels in floor drains, stagnant water, floors and food residues on processing equipment (Ryser and Marth, 2007). The pathogen grows at temperatures as low as -0.4°C and as high as 45°C, with optimum growth at 30-37°C. The pH range allowing growth is 4.39-9.40, with optimum growth at pH 7.0. Growth requires an aw above 0.92, while the pathogen survives at sodium chloride levels of up to 30% (ICMSF, 1996; Bacon and Sofos, 2003).

Instead of being a typical gastrointestinal foodborne illness, listeriosis is characterized by a variety of serious syndromes of the central nervous system such as meningitis and meningoencephalitis. Pregnant women may experience a flu-like illness, while the fetus is affected by meningitis, neonatal septicemia, stillbirth, fetal death or spontaneous abortion (Bacon and Sofos, 2003). The incubation period of listeriosis may be as long as a few days to 2-3 months. The pathogen affects mostly immunocompromised individuals exhibiting a case-fatality rate of 38-40% among these individuals. Additional complications of listeriosis have been reported in as many as 30% of individuals surviving a central nervous system infection. The infectious dose should be greater than 100 cells/g; however, the possibility of lower infectious doses should not be ignored, especially for sensitive individuals (Bacon and Sofos, 2003; Ryser and Marth, 2007).

When contaminated food is consumed, cells of the pathogen, if present, may cross the intestinal barrier, become internalized by macrophages and then transported to lymph nodes via the blood stream; eventually they are transported to the liver, which is the primary site of infection. Internalized cells cause lysis of vacuoles and are released into the cytosol where they multiply. Through polymerization and redistribution of actin the cells can spread directly from one cell to another, thus spreading through tissue without leaving the intracellular environment and subsequently remaining protected from host antibodies (Bacon and Sofos, 2003).

Salmonella. *Salmonella* Typhi was discovered in 1880 as the etiologic agent of typhoid fever and in 1900 it was named after Dr. Salmon who worked on *S. Cholerae-suis* isolated from swine with hog cholera. Currently it is first or second most common among bacteria implicated in foodborne disease outbreaks, with a case fatality rate of 0.0078 (ICMSF, 1996).

As a member of the Enterobacteriaceae, cells are Gram-negative, facultative, nonspore-forming rods. The genus has two recognized species, *S. enterica* with six subspecies, and *S. bongori*. Strains of *S. enterica* subspecies *enterica* are present in warm-blooded animals, while the other subspecies and *S. bongori* are found in cold-blooded animals or in the environment. There are approximately 2,500 *Salmonella* serotypes. *Salmonella* grows at temperatures in the range 5.2-46.2°C but prefers 35-43°C. The pH range allowing growth is 3.8-9.5 with its optimum at 6.5-7.5, while the minimum aw is at 0.93 (ICMSF, 1996; Bacon and Sofos, 2003).

The organism is widely distributed in the environment, while foods involved in human salmonellosis include animal products, such as beef, pork, poultry, eggs, and raw milk; however, salmonellosis has also been associated with many other foods, including fruits, vegetables, and dry foods. The blood infection known as typhoid fever has been virtually eradicated in the United States, but it may still be a problem in developing countries (ICMSF, 1996).

The incubation period of nontyphoidal *Salmonella* strains is 5 h to 5 days, and the symptoms of the infection include diarrhea, nausea, mild fever, chills, and vomiting and abdominal cramps. The duration of the symptoms is 1-2 days, but may last longer. The infectious dose in foods may be even as low as 10-100 cells, depending on serotype, vehicle of transmission, and the immune state of the individual (Bacon and Sofos, 2003).

The pathogen invades, multiplies and colonizes the lumen of the small intestine, and enters the intestinal columnar epithelial and M cells overlying Peyer's patches. It releases a thermolabile protein enterotoxin in the cytoplasm of host cells and activates adenyl cyclase causing increased cyclic AMP concentrations in the cytoplasm. In addition to the enterotoxin, a thermolabile cytotoxin is also formed and released extracellularly in response to environmental stress. The cytotoxin inhibits protein synthesis and promotes cell lysis, facilitating cell dissemination in the host tissue (Lund et al., 2000; Bacon and Sofos, 2003).

Control of Bacterial Foodborne Pathogens

General. Control of bacterial pathogens in animal food products has become a major concern for the industry, public health agencies, regulatory authorities, and consumers worldwide (Sofos, 2011a,b). The common sense strategy for bacterial pathogen control, with the goal of improving meat safety, is (Koutsoumanis and Sofos, 2004; Koutsoumanis et al., 2006) to apply adequate cleaning, good sanitation, proper hygiene, and effective antimicrobial intervention technologies in order to: ship for slaughter food animals with reduced contamination levels; reduce the potential for transfer of microorganisms to carcasses and meat from live animals and form the environment; apply safe, approved and effective decontamination interventions, when allowed, as an extra insurance for reduction of contamination levels on carcasses or meat when accidentally may be higher than those achieved by proper sanitation and hygiene; apply physical processes (e.g., heat, high pressure, irradiation, etc., when approved and useful) in order to reduce or eliminate, by killing, contamination on processed or cooked products; avoid or minimize cross-contamination at all stages of the meat processing chain, from production, to slaughter, processing, preparation and consumption; and, apply antimicrobial inhibitors and store products under low temperature and packaging conditions that delay or inhibit growth of surviving pathogen cells. Proper selection of interventions as well as design, validation, implementation, verification and documentation of this common sense approach, through HACCP, is the best available strategy for assurance of meat product safety, as well as quality (Juneja and Sofos, 2001; 2009; Sofos, 2002; 2005; 2008a; 2009a,b; 2011a,b; Sofos and Geornaras, 2010; Stopforth and Sofos, 2006).

Control of bacterial foodborne hazards and enhancement of food safety is the responsibility of all involved in the food chain, from farm-to-table; from producer to packer, processor, distributor, retailer, foodservice, and consumers. All should be involved through an integrated approach, employing multiple simultaneous and sequential interventions, and based on the principles and philosophy of HACCP (Sofos, 2008a; 2009a). The target of pathogen control approaches at the pre-harvest level should be to minimize contamination sources and access or transfer of contamination to food animals or plants (Sofos, 2011a,b). During harvest and product processing, the goal should be to avoid cross-contamination, remove/reduce contamination through washing, sanitization or decontamination interventions, inactivation of contamination through heat or other lethal interventions, and inhibition, delay or retardation of growth in products still contaminated with pathogens. The aim of efforts to control pathogens at the foodservice and consumer level should be to apply procedures that inhibit growth, inactivate contamination through

cooking, and prevent transfer of contamination or cross-contamination. The strategy for control of foodborne pathogens also includes proper food labeling, as well as proper education and training of food handlers (Koutsoumanis and Sofos, 2004; Koutsoumanis et al., 2006; Sofos, 2002; 2005; 2008a,b; 2009a,b; 2011a,b; Stopforth and Sofos, 2006).

The goal of all efforts and interventions is to control levels of contamination. This may be accomplished at the pre-harvest level as well as at every stage of the food chain through proper cleaning, sanitation and hygienic activities, and by application of food product cleaning, washing, and decontamination programs. Destruction of contamination is accomplished through cooking, pasteurization or sterilization (canning) thermal treatments, as well as nonthermal novel treatments including irradiation, ultrahigh hydrostatic pressures, etc. Inhibition of microbial growth is achieved through cold storage, drying to reduce water activity, acidification to reduce pH or fermentation to reduce pH and produce antimicrobials such as acids and bacteriocins, addition of chemical antimicrobial agents, and packaging to protect from additional contamination or modify the gas atmosphere surrounding the product. Frequently, inhibitory interventions are applied at sublethal levels in the form of multiple sequential or simultaneous hurdles. In general, antimicrobial interventions or hurdles used to control bacterial pathogens in meat and other foods include those of physical nature, such as low and high temperature, nonthermal processes, such as irradiation (gamma, electron beam, x-rays) or high hydrostatic pressure treatments, and packaging methods, such as modified atmosphere packaging, including vacuum packaging, high oxygen, low oxygen, oxygen-free controlled atmosphere packaging, active packaging, smart packaging, edible packaging films, etc. (Koutsoumanis and Sofos, 2004; Koutsoumanis et al., 2006; Sofos, 2002, 2005, 2006; 2008a, b; 2009a, 2011a,b; Sofos and Geomaras, 2010; Stopforth and Sofos, 2006).

Biofilms, cleaning and sanitation. The first important step in bacterial pathogen control, irrespective of what additional pathogen control interventions will follow, is to keep initial levels of contamination of meat as low as possible in order for subsequent processes to effectively control and render the products safe for consumption. This is achieved through proper and effective cleaning and sanitation programs. In general, the prerequisite for adequate microbial control at every stage of the food chain is application of proper cleaning, sanitation and hygienic practices, which limit sources and levels of contamination, remove soil residues, and prevent formation of biofilms which serve as sources of cross-contamination (Koutsoumanis and Sofos, 2004; Koutsoumanis et al., 2006; Sofos, 2002; 2005; 2006; 2008a; 2009c; 2010; 2011a,b; Sofos and Geomaras, 2010; Stopforth and Sofos, 2006). Inadequate cleaning and sanitation, which may allow persistence of food residues and other organic soil residues in food processing environments, leads to creation of microbial cell harborage sites, niches and biofilms, which serve as sources of cross-contamination for new product. Biofilms consist of bacterial cells encapsulated in an exopolysaccharide matrix, which allows them to adhere to each other and to surfaces, and also protects the cells from adverse environmental conditions and agents, such as detergents and sanitizers (Sofos, 2009c; 2010; 2011a,b).

Biofilms may be present on floors, walls, pipes, drains, and equipment surfaces including stainless steel, aluminum, nylon, teflon, rubber, plastic, glass, etc. Specifically, in meat processing, food-contact surfaces such as conveyor belts, pasteurizers, crevices, gaskets, dead spaces, as well as areas that are hard to clean and sanitize, may be sites for biofilms (Sofos, 2011a,b). Attachment of microorganisms on food surfaces may affect the efficacy of interventions applied to carcasses or meat to reduce contamination. Evidence exists that pathogens may persist in processing environments for a long time (Sofos, 2009c; 2010; 2011a,b); *L. monocytogenes* has been found to persist in food plants for months and up to several years (Tompkin, 2002).

Sanitation may fail if biofilms have formed in the environment, while failures or inadequacy of cleaning and sanitation programs lead to biofilm formation in the first place. The first step in prevention of biofilm formation is to avoid conditions that lead to cell attachment, while selection of processing conditions that make the environment

unfavorable for microbial growth is essential for inhibition of biofilm growth; this approach, however, is not always possible. Effective cleaning and sanitation programs prevent biofilm formation. If prevention of formation fails, however, biofilm removal and inactivation becomes necessary, which is achieved by combining mechanical action (such as scrubbing) with application of proper cleaning and sanitizing agents, and adequate exposure time at the proper temperature. This combination dissolves the biofilm and the organic material to which it adheres allowing the sanitizer to inactivate the released cells, which are sensitive. Therefore, biofilm removal requires extensive scrubbing with proper chemical solutions. It should be noted that incomplete biofilm removal might promote growth of remaining cells, while appearance of sporadic bacterial colonies on agar plates from sanitized equipment swabs may indicate presence of biofilms. Control of contamination levels in meat products assures that subsequent pathogen control interventions applied to reduce, inhibit or kill pathogens will be successful and the product will be safe for consumption (Sofos, 2009c; 2010; 2011a,b; Sofos and Geornaras, 2010).

Pre-harvest pathogen control. Pre-harvest pathogen control is important because it may reduce pathogen levels and sources. This limits direct animal-to-human transmission of pathogens, and contamination of the environment and water. Contaminated manure and water transfer pathogens to foods of plant origin, such as fruits and vegetables (Sofos, 2011a,b). Antimicrobial interventions considered or explored for use in the field to control contamination on animals include animal diet modifications, use of feed additives or supplements, antibiotic treatments, bacteriophage therapy, vaccination/immunization, competitive exclusion, prebiotics or probiotics, and implementation of proper animal management practices such as animal pen management, clean feed and chlorinated water, clean and unstressful transportation of animal to slaughter, and clean lairage before slaughter. However, there is no silver bullet; with the exception of good management practices, and feeding of probiotics to some extent, the remaining approaches are still in the experimental stage or of limited use (Koutsoumanis and Sofos, 2004; Koutsoumanis et al., 2006; Sofos, 2002; 2005; 2006; 2008a,b; 2011a,b; Stopforth and Sofos, 2006).

Decontamination at slaughter and boning. In efforts to meet regulatory requirements and industry-imposed specifications for lower contamination, and to provide safer products to consumers, the meat industry has employed various decontamination interventions for carcasses and raw meat. In the United States and some other countries, fresh meat pathogen control programs include activities and interventions aimed at reducing or controlling contamination on animals pre-slaughter through external animal cleaning or washing with water or solutions of chlorine, cetylpyridinium chloride, sodium hydroxide, trisodium phosphate, and acids at slaughter (Sofos and Smith, 1998; Stopforth and Sofos, 2006). Cattle hide decontamination may also be achieved by chemical dehairing, which consists of hydrolyzed hair and dehairing chemical residues of sulfide and hydrogen peroxide, but the process is not in commercial use due to issues associated with disposal of generated waste (Sofos, 2005; 2006; 2008c; Sofos and Smith, 1998; Stopforth and Sofos, 2006).

Common meat industry interventions applied to reduce contamination during slaughter and dressing include knife-trimming or steam-vacuuming of visibly soiled carcass spots, and washing/spraying/rinsing of carcasses before evisceration and after washing final carcass sides, with hot water or pressurized steam, and/or chemical solutions (e.g., lactic acid, peroxyacetic acid preparations, acidified sodium chlorite, trisodium phosphate, etc.), either cold or warm, followed by chilling of carcasses. Frequently, these interventions are applied as multiple or combined, sequential or simultaneous interventions (Sofos and Smith, 1998). Thus, decontamination with multiple interventions is the sequential application of animal hide cleaning, potentially followed or preceded by partial hair removal, knife-trimming and/or steam-vacuuming as the hide is been removed, pre-evisceration carcass washing, final carcass spray-cleaning after "zero tolerance" inspection for visible soil, chemical and/or thermal decontamination, and carcass chilling; certain interventions (e.g., acid solutions, acidified sodium chlorite, peroxyacetic acid)

are also applied as carcass sides exit the cooler for boning as well as on meat cuts and trimmings during packaging or before grinding (Sofos, 2005; Sofos, 2009b; 2011a,b; Sofos and Geomaras, 2010).

As summarized by Sofos (2008b,c), in addition to the above common interventions applied to reduce initial levels of contamination on carcasses and fresh meat, numerous studies have examined chemical, physical, biological, nonthermal and combination treatments for pathogen reduction and control in fresh meat, processed meat products, and other foods with variable results. They include (Sofos, 2008b): acids (lactic, acetic, citric, peroxyacetic, octanoic, oxyoctanoic, 1-hydroxyethylidene-1-diphosphoric), chlorine (hypochlorite; chlorine dioxide, aqueous or gaseous), acidic calcium sulfate, acidified sodium chlorite, trisodium phosphate, electrolyzed oxidizing water, hydrogen peroxide, calcium hydroxide, ozone (aqueous/gaseous), potassium sorbate, sodium benzoate, sodium bisulfate, sodium lauryl sulfate, cetylpyridinium chloride, lauricidin, activated lactoferrin, bacteriocins (nisin, pediocin, colicin E1, enterocin), bacteriophages, essential oils, and combinations such as chlorine dioxide (aqueous) / ultrasonication, hot water / gaseous ozone, ozone / chlorine, ozone (gaseous; supplied with CO gas), ozone (aqueous) / organic acids, grapefruit seed extract / nisin / citric acid, high-intensity pulsed electric fields / citric acid, hydrogen peroxide / nisin / lactate / citric acid, ultraviolet light / hydrogen peroxide, edible alginate coating / essential oils and malic acid, edible yam starch coating / chitosan, alginate films with essential oils, alginate films treated with calcium chloride and containing essential oils of oregano / cinnamon / savory, chitosan-coated films / nisin / lactate / diacetate / sorbate / benzoate, edible chitosan film containing lactoferrin or lysozyme or lysozyme / lactoferrin or nisin, bacteriophages / nisin, essential oil (thyme) / nisin, high pressure / nisin or enterocins and/or lactate / diacetate (in formulation), high pressure processing / active packaging, high pressure processing / antimicrobial films (enterocins A and B, sakacin K, nisin A, K-lactate, K-lactate / nisin), liquid smoke / post-process pasteurization, monocaprylin / acetic acid, nisin and/or lysozyme / in-package pasteurization, reuterin / nisin / lactoperoxidase system, and -polylysine / nisin (Sofos, 2008b,c; 2011a,b).

Pathogen control in processed products. In addition to proper application of sanitation and hygienic procedures contamination in processed products is controlled through inactivation or destruction of bacterial cells with physical hurdles such as heat processing, ionizing radiation, high hydrostatic pressure, and electric shock treatments (Sofos, 2005). Growth of surviving microbes is inhibited during storage through manipulation of factors affecting microbial growth such as storage temperature, gas atmosphere, pH, water activity and added antimicrobials (Koutsoumanis and Sofos, 2004; Koutsoumanis et al., 2006). Chemicals used include salt, nitrite, lactate, diacetate, etc. Packaging technologies are also important and involve variations of modified atmospheres such as vacuum packaging, high-oxygen packaging, low-oxygen packaging, oxygen-free controlled atmosphere packaging, active packaging, and use of edible coatings and films. Biopreservation may use lactic acid bacteria and/or bacteriocins, and bacteriophages. Other technologies with possible application in the meat industry include pulsed-field electricity, ultrasonic energy, UV light, oscillating magnetic fields (ohmic heating, dielectric heating, microwaves) and controlled instantaneous decompression (Koutsoumanis and Sofos, 2004; Koutsoumanis et al., 2006; <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift-toc.html>).

A recent regulation in the United States (FSIS, 2003) the use by the industry of one of three alternatives for the control of *L. monocytogenes* through prevention of contamination and inactivation or control of growth. The alternatives are: (i) application of a post-lethality treatment (may be an antimicrobial agent) that reduces or eliminates microorganisms on the product and an antimicrobial agent or process that suppresses growth of *L. monocytogenes*; (ii) application of a post-lethality treatment (may be an antimicrobial agent) that reduces or eliminates microorganisms on the product or an antimicrobial agent or process that suppresses or limits growth of *L. monocytogenes*; and, (iii) a combination of sanitation and microbiological testing programs for food contact

surfaces and holding of the product when results of testing are positive (FSIS, 2003). The zero tolerance (absence in two 25 g samples) for *L. monocytogenes* in ready-to-eat products in the United States is still in effect, and product found contaminated is recalled and destroyed. The new regulation, however, offers the industry alternatives that they can put in place in order to resume production when there is a zero tolerance failure, provided that the selected alternative is validated and introduced in their HACCP plan or pre-requisite programs.

Pathogen control with multiple hurdles. In most situations (with the exception of foods that are frozen, dried, canned or acidified) control of pathogenic bacteria in foods is commonly achieved through application of more than one, individually sublethal, antimicrobial treatment (Leistner and Gould, 2002) as multiple sequential or simultaneous hurdles (hurdle technology concept). Optimization of multiple hurdles in order to maximize their efficacy is the goal for effective pathogen control, but foods and microbes are complex systems, and thus, selection of proper combinations and sequences of hurdles is complicated. Instead of empirical design of multiple hurdle systems, the goal should be to achieve synergistic antimicrobial effects against weak microbial cell targets; this would maximize antimicrobial effects and food product safety. Improper selection and design of multiple hurdle systems may lead to antimicrobial failures and potentially to selection or adaptation of pathogen cells exhibiting higher resistance to certain hurdles (Samelis and Sofos, 2003; Sofos, 2008a; 2009a; 2011a,b; Sofos and Geornaras, 2010).

Stress adapted resistant pathogens may also develop in efforts of the industry to provide consumers with foods that are exposed to only minimal processing, contain no antimicrobial additives, and are convenient to consume; foodborne pathogenic bacteria in these foods may be only stressed and become resistant to subsequent sublethal food processing stresses such as acid, cold, heat, drying, anaerobiosis, decontamination interventions, sanitizers, etc. In general, this phenomenon of stress-adaptation or selection of resistant populations, which may develop multiple resistances or cross-protection to other stresses, is an important issue that may be involved in failure of food preservation programs (Samelis and Sofos, 2003). This may be avoided through understanding of mechanisms of action of antimicrobial hurdles, as well as microbial cell functions, that will allow us to optimize antimicrobial hurdle systems by applying the correct sequence of hurdles to avoid pathogen cell stress adaptation and resistance development; proper hurdle implementation will lead to microbial death through multiple cell injuries or metabolic exhaustion (Samelis and Sofos, 2003; Sofos, 2008a; 2009a; 2011a,b).

Summary, Implications and Future Outlook

The most important of all meat safety challenges presented, contamination with bacterial pathogen and their control is the one needing most attention. Some of the other (e.g., animal welfare, foodborne illness attribution, proper HACCP implementation, risk based food safety approaches, pathogen detection, etc.) concerns, however, also owe their importance to their relationship with pathogenic bacterial contamination and control. Raw foods of animal origin are naturally contaminated with microorganisms, including pathogens. Contamination is introduced during production in the field, harvesting, storage, distribution, further processing, retailing, preparation and consumption, and it originates from soil, decaying material, and animal fecal waste, which contaminate water, air, animals, plants, processing facilities, equipment, and humans; leading to a complete contamination cycle (Sofos, 2004a,b).

Pathogen control at the pre-harvest level is difficult because knowledge is still limited relative to pathogen reservoirs, methodology limitations, ubiquitous presence of some pathogens, numerous and complicating variables involved, and economic issues. Although it is impossible to produce food products of animal or plant origin free of contamination, efforts should continue to minimize levels of microbial pathogens on raw foods, and to control contamination through inhibition of growth or destruction (Sofos, 2004a,b). Reduction of pathogen prevalence on animals pre-harvest may lead to a reduced probability that errors occurring in subsequent parts of the food chain will lead to foodborne illness.

Decontamination processes are applied on animals, carcasses, and raw fruits and vegetables and include animal cleaning at slaughter, spot-cleaning of carcasses before evisceration by knife-trimming or steam and vacuum, spraying, rinsing, or deluging of carcasses before evisceration and/or before chilling with steam, hot water or chemical solutions (e.g., organic acids, acidified sodium chlorite, etc.). Additional interventions to help in enhancing food safety are applied during processing and include heating, chilling, freezing, drying, fermentation, use of chemicals as acidulants or antimicrobials, packaging, proper storage and distribution, and appropriate handling and preparation for consumption. Indeed, food safety assurance involves activities and responsibilities throughout the food chain. However, reliance only on controls applied at the final stage of product preparation for consumption may not be always effective. Contamination control efforts should be in place even early in food production in order for subsequent food processes to be effective.

In general, every effort should be made to control contamination in raw foods, irrespective of further processing before consumption. Raw foods should have contamination levels as low as possible. This may be accomplished through proper production, sanitation and decontamination practices. Contamination should then be kept low at all stages of the food processing chain including packing, processing, distribution, storage, retailing, etc. Reduction of pathogen prevalence on animals and plants pre-harvest and on raw products of plants and animal origin is beneficial because it should lead to a reduced probability that food handling, processing and preparation errors that may occur during subsequent parts of the food chain will result in foodborne illness; it will result in products meeting regulatory standards and commercial criteria and specifications, respectively, including zero tolerance requirements for pathogens such as *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes*; products consumed raw or without further processing for pathogen destruction will be safer; processes designed to inactivate target populations of pathogens will not fail due to excessive initial contamination levels; it will contribute to meeting pathogen reduction goals set by regulatory and public health agencies; it will minimize risks from pathogens of high infectious dose and will improve the safety of products contaminated with pathogens of low infectious doses; it will minimize cross-contamination risks at all stages of food processing including preparation for consumption and serving; etc.

Summarizing, the microbial quality and safety of meat products that reach consumers depends, first, on the extent of exposure to contamination, and subsequently by the control of such contamination during food production, processing, distribution, storage, retailing and preparation for consumption. For improved meat safety, there is a need to continue efforts that: (i) maintain contamination levels in food as low as possible by minimizing access of microorganisms to products (live animal, carcasses, fresh meat) and by reducing contamination through decontamination, when permitted; (ii) inactivate microorganisms on products without cross-contamination; (iii) prevent or inhibit growth of microorganisms which have gained access to the meat and have not been inactivated; (iv) properly cook or prepare products for consumption; and, (v) avoid development of stress-hardened pathogens that may be more difficult to control and of higher virulence. New knowledge is needed in order to design effective multiple hurdle technologies without potential development of stress-adapted, resistant to control, and potentially more virulent pathogens.

Acknowledgements

This work was supported in part by the National Integrated Food Safety Initiative of the United States Department of Agriculture Cooperative State Research, Education and Extension Service, by the National Cattlemen's beef Association (NCBA), National Pork Board (NPB), American Meat Institute Foundation (AMIF), and by the Colorado State University Agricultural Experiment Station.

References

- Bacon, R. T. and J. N. Sofos. 2003. Food hazards: biological food; characteristics of biological hazards in foods. In *Food Safety Handbook*, R.H. Schmidt and G. Rodrick, Editors. Wiley Interscience, New York, NY. pp. 157-195.
- CAST (Council of Agricultural Science and Technology). 1996. Radiation pasteurization of food. Issue Paper Number 7, Ames, IA.
- Davidson, P. M., J. N. Sofos, and A. L. Branen (Editors). 2005. *Antimicrobials in Foods*, 3rd edition, CRC/Taylor & Francis, Boca Raton, FL. ISBN 0-8247-4037-8, 706 p.
- Doyle, M. P. and L. R. Beuchat (Editors). 2007. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Third Edition. ASM Press, Washington D.C., USA.
- Doyle, M. P., and M. C. Erickson. 2006. Emerging microbiological food safety issues related to meat. *Meat Sci.* 74:98-112.
- FDA/FSIS (Food and Drug Administration/Food Safety and Inspection Service). 2003. Quantitative assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Available at: <http://www.foodsafety.gov/~dms/lmr2-toc.html>.
- FSIS (Food Safety and Inspection Service). 1996. Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems: Final Rule. 9CFR Part 304, et al., Federal Register 61:38805-38989.
- FSIS (Food Safety and Inspection Service). 2003. Control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products; Final Rule. Fed. Regist. 68:34208-34254.
- Grandin, T. 2006. Progress and challenges in animal handling and slaughter in the US. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 100:129-139.
- ICMSF (International Commission for Microbiological Specifications in Foods). 1996. *Microorganisms in Foods 5: Characteristics of Microbial Pathogens*. Blackie Academic & Professional, London, UK.
- ICMSF (International Commission for Microbiological Specifications in Foods). 2002. *Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY, USA.
- IFT (Institute of Food Technologists). 2006. *Antimicrobial Resistance – Implications for the Food System*. Chicago, IL. 137 p.
- Juneja, V. K. and J. N. Sofos (Editors). 2001. *Control of Foodborne Microorganisms*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA. 535 pp.
- Juneja, V. K. and J. N. Sofos (Editors). 2009. *Pathogens and Toxins in Foods: Challenges and Interventions*. ASM Press, Washington, D.C., USA. 512 pp.
- Koutsoumanis, K. and J. N. Sofos. 2004. Microbial contamination of carcasses and cuts. In *Encyclopedia of Meat Sciences*, W.K. Jensen, Editor. Elsevier Academic Press, Amsterdam, The Netherlands. pp. 727-737.
- Koutsoumanis, K. P., I. Geornaras, and J. N. Sofos. 2006. Microbiology of land animals. In *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*. Y. H. Hui, Editor, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA. Vol. 1, chapter 52.1, pp. 52.1-52.43.
- Leistner, L. and G. Gould. 2002. *Hurdle Technologies*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY, USA.
- Lund, B. M., T. C., Baird-Parker, and G. W. Gould (Editors). 2000. *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, MD, USA.
- Mossel, D. A. A., J. E. L. Corry, C. B. Struljk, and R. M. Baird. 1995. *Essentials of the Microbiology of Foods: A Textbook for Advanced Studies*. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- NACMCF (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods). 1998. Hazard analysis and critical control point principles and application guidelines. *J. Food Prot.* 61:1246-1259.
- Ryser, E. T. and E. H. Marth (Editors). 2007. *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, Third Edition. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

- Samells, J. and J. N. Sofos. 2003. Strategies to control stress-adapted pathogens and provide safe foods. In *Microbial Adaptation to Stress and Safety of New-Generation Foods*. A. E. Yousef and V. K. Juneja, Editors. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, USA, pp. 303-351.
- Scallan, E., P. M. Griffin, F. J. Angulo, R. V. Tauxe, and R. M. Hoekstra. 2011a. Foodborne illness acquired in the United States—unspecified agents. *Emerg. Infect. Dis.* 17:16-22.
- Scallan, E., R. M. Hoekstra, F. J. Angulo, R. V. Tauxe, M. -A. Widdowson, S. L. Roy, J. L. Jones, and P. M. Griffin,. 2011b. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.* 17:7-15.
- Sofos, J. N. 1994. Microbial growth and its control in meat, poultry and fish. pp. 359-403, In: *Quality Attributes and Their Measurement in Meat, Poultry, and Fish Products*. A. M. Pearson and T. R. Dutson (Eds.). Blackie Academic and Professional, Glasgow, U.K.
- Sofos, J. N. 2001. Microbial control in foods: needs and concerns. In *Control of Food-borne Microorganisms*, V.K. Juneja, and J.N. Sofos, Editors. Marcel Dekker, Inc., New York, NY. pp. 1-11.
- Sofos, J. N. 2002. Approaches to pre-harvest food safety assurance. In *Food Safety Assurance and Veterinary Public Health; Volume 1, Food Safety Assurance in the Pre-Harvest Phase*. F. J. M. Smulders and J. D. Collins, Editors. pp. 23-48. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Sofos, J. N. 2004a. Pathogens in animal products: major biological hazards. In *Encyclopedia of Animal Science*, W. Pond and A. Bell, Editors. pp. 698-700. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA.
- Sofos, J. N. 2004b. Pathogens in animal products: sources and control. In *Encyclopedia of Animal Science*, W. Pond and A. Bell, Editors. pp. 701-703. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA.
- Sofos, J. N. (Editor). 2005. *Improving the Safety of Fresh Meat*. CRC/Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK. 780 p.
- Sofos, J. N. 2006. Field data availability and needs for use in microbiological risk assessment. In *Food Safety Assurance and Veterinary Public Health. Vol. 4. Towards a Risk-based Chain Control*. F. J. M. Smulders, Editor. pp. 57- 74. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Sofos, J. N. 2008a. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Sci.* 78:3-13.
- Sofos, J. N. 2008b. Bacterial foodborne diseases. *Proceedings of the 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Associations, FAVA-OIE Joint Symposium on Emerging Diseases*, October 27-30, Bangkok, Thailand, S19-S34.
- Sofos, J. N. 2008c. Bacterial foodborne diseases. *Proceedings of the 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Associations, FAVA-OIE Joint Symposium on Emerging Diseases*, October 27-30, Bangkok, Thailand, S19-S34.
- Sofos, J. N. 2009a. ASAS centennial paper: Developments and future outlook for post-slaughter food safety. *J. Anim. Sci.* 87:2448-2457.
- Sofos, J. N. 2009b. Preparing safe nonintact meat products - a review. *Fleischwirtschaft Int.* 24:68-73.
- Sofos, J. N. 2009c. Biofilms: Our constant enemies. *Food Safety Magazine*, February/March, 38, 40-41.
- Sofos, J. N. 2009d. Biofilms and the need to control them through cleaning and sanitation. *Proceedings of the 11º Congreso Internacional, Inocuidad de Alimentos, XXVI Reunión Nacional de Microbiología, Higiene y Toxicología de los Alimentos*, November 5-7, Puerto Vallarta, Jalisco, Mexico. pp. 27-28.
- Sofos, J. N. 2010. Biofilms - importance and need for control. *Fleischwirtschaft Int.* 25:27-30.
- Sofos, J. N. 2011a. Biofilms and pathogens: Control in meat processing and meat products. Presented at the VI Congresso Brasileiro de Ciência E Tecnologia de Carnes. 24-27 October 2011, Campinas, Brazil.

- Sofos, J. N. 2011b. Current worldwide microbial meat safety issues and controls. 2nd Veterinary CPD Meeting of Portuguese Veterinary Association (Ordem dos MédicosVeterinários) Lisbon, Portugal, 8-9 October.
- Sofos, J. N., and G. C. Smilth. 1998. Nonacid meat decontamination technologies: model studies and commercial applications. *Int. J. Food Microbiol.* 44:171-189.
- Sofos, J. N., and I. Geomaras. 2010. Overview of current meat hygiene and safety risks and summary of recent studies on biofilms, and control of *Escherichia coli* O157:H7 in nonintact, and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, meat products. *Meat Sci.* 86:2-14.
- Stopforth J. D. and J. N. Sofos. 2006. Recent advances in pre- and post-slaughter intervention strategies for control of meat contamination. In: Juneja V.J., Cherry J.P., Tunick M.H., editors. *Advances in microbial food safety, ACS Symposium 931. Recent advances in intervention strategies to improve food safety.* Washington, D.C.: American Chemical Society, Oxford University Press, UK. pp. 66-86.
- Tompkin, R. B. 2002. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. *J. Food Prot.* 65:709-725.

**MARMARA BÖLGESİNDEN İZOLE EDİLEN GIDA KAYNAKLI STAPHYLOCOCCUS AU-
REUS SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİĞİNİN FENOTİPİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLER İLE ARAŞTIRILMASI**

Sunum Tipi: Oral

Ali AYDIN, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Mert SUDAGIDAN, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji ve
Biyomühendislik Merkezi Araştırma Laboratuvarı
Karlo MURATOĞLU, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Funda YILMAZ, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Kamil BOSTAN, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Özet

Staphylococcus aureus özellikle halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından önemli patojenlerdendir. Araştırmamızda Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Edirne, İstanbul, Kırklareli ve Tekirdağ illerinden toplanan 1070 gıda örneğinden 154 *S. aureus* suşu izole edilmiştir. Suşların 21 antibiyotiğe karşı duyarlılığı agar disk difüzyon testiyle, dirençli suşlarda MIC değerleri E-test ile ve çoklu-direnç gösteren suşlarda genetiksel ilişki Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) analiziyle belirlenmiştir. Ayrıca *vanA*, *mecA* ve *ermABC* genlerinin varlığı PCR yöntemi ve indüklenebilir klindamisin direnci D-test ile araştırılmıştır. Disk difüzyon testi sonuçlarında toplam 139 suş en az 1 antibiyotiğe dirençli, 39 suş çoklu-dirençli sahlıp olduğu ve 15 suşun tüm antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu bulunmuştur. Suşların %71.4, %23.4, %18.2 ve %15.6'sının penisilin, linezolid, eritromisin ve tetrasikline dirençli olduğu ve tüm suşların vankomisin, oksasilin, sefoksitin ve imipenem'e karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. MIC değerleri incelendiğinde suşların %99.1'inde penisilin, %58.3'ünde tetrasiklin, %33'ünde linezolid, %21.4'ünde eritromisin ve %5'inde sülfametiksazol/trimetoprim bakımından maksimum tespit limitlerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. PCR analizlerinde *vanA* ve *mecA* genleri hiçbir suşta tespit edilememiştir. Çalışmamızda 6 suşta indüklenebilir klindamisin direnci tespit edilmiş ve bu suşların sadece *ermC* genini taşıdığı saptanmıştır. PFGE analizi sonuçlarında farklı gıda maddelerinden ve illerden izole edilen çoklu-direnç gösteren suşların %100 homoloji göstermesi yanında bazı çoklu-direnç gösteren suşlarda %60 ve daha yukarı genetiksel ilişki bulunmuştur. Sonuç olarak, izole edilen gıda kaynaklı *S. aureus* suşlarının birçoğunun yüksek düzeyde çoklu-direnç göstermesi yanında dirençli bakteriler ile kontamine gıdaların tüketiminin halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturabileceği değerlendirilmiştir.

Anahtar sözcükler: *Staphylococcus aureus*, PCR, çoklu direnç, indüklenebilir klindamisin direnci, PFGE

Investigation Antibiotic Resistance of Foodborne *Staphylococcus aureus* Strains Isolated in the Marmara Region by Phenotypic and Molecular Methods

Ali AYDIN¹, Mert SUDAĞIDAN², Karlo MURATOĞLU¹, Funda YILMAZ¹, Kamil BOSTAN¹
¹Istanbul University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Avcılar Campus, Istanbul
²Izmir Institute of Technology, Biotechnology and Bioengineering Central Research Laboratory, Gulbahce Campus, Izmir

Abstract

Staphylococcus aureus is one of the important pathogens especially for public health and food safety. In this study, 154 *S. aureus* strains were isolated from 1070 food samples collected from Balıkesir, Bursa, Çanakkale, Edirne, İstanbul, Kırklareli and Tekirdağ. Antibiotic susceptibility of the strains against 21 antibiotics were determined by agar disc diffusion test, MIC values of those resistant isolates were investigated by E-test and the genetic-relatedness among multi-drug resistant strains were analyzed by Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE). In addition, the presence of *vanA*, *mecA* and *ermABC* genes in the strains were searched by PCR and the inducible clindamycin resistance were determined using D-test. According to disc diffusion test results, a total of 139 strains were resistant to at least one tested antibiotic, 39 strains were multi-drug resistant and 15 strains were susceptible to all antibiotics. Although, 71.4%, 23.4%, 18.2% and 15.6% of the strains were resistant to penicillin, linezolid, erythromycin and tetracycline, respectively, all strains were found to be susceptible to vancomycin, oxacillin, cefoxitin and imipenem. On the basis of MIC values, 99.1%, 58.3%, 33%, 21.4%, and 5% of the strains were found higher resistance than maximum detection limits for penicillin, tetracycline, linezolid, erythromycin and sulfamethoxazole/trimethoprim, respectively. PCR analysis revealed that the presence of *vanA* and *mecA* genes was not detected in all strains. In this study, inducible clindamycin resistance was found in 6 strains and these strains carried only *ermC* gene. According to PFGE analysis results, it's noteworthy that some multi-drug resistant strains from different cities and food sources showed 100% homology, but some of multi-drug resistant strains showed 60% or higher homology. As a result of this study, most of the isolated foodborne *S. aureus* strains were found to be multi-drug resistant, therefore, the consumption of foods, which were contaminated by resistant bacteria, may cause a significant risk to public health.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, PCR, multi-drug resistance, inducible clindamycin resistance, PFGE

Bildiri No: 95

Kategori: Genel

HİNDİ ETLERİNDEN İZOLE EDİLEN LİSTERIA MONOCYTOGENES'LERİN SEROTİP DAĞILIMININ MULTİPLEKS PCR İLE BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Oral

İrfan EROL, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Naim Deniz AYAZ, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Özet

Çalışmada, Ankara'daki marketlerde paketli olarak satışa sunulan taze hindi etlerinden elde edilen *Listeria monocytogenes* izolatlarının serotiplerinin belirlenerek mevsimsel dağılımının multipleks PCR yöntemiyle tespiti amaçlanmıştır. Analizler sonucunda, 180 hindi eti örneğinden izole edilen 37 *L. monocytogenes* izolatından 19'unun (% 51,4) 4b (veya 4d, 4e), 10'unun (% 27,0) 1/2a (veya 3a) ve 8'inin (% 21,6) 1/2b serotipi olduğu belirlenmiştir. Yaz aylarında alınan örneklerde serotip 1/2a ve 4b'nin, kış aylarında alınan örneklerde ise serotip 4b'nin hindi etlerinde en sık rastlanılan *L. monocytogenes* serotipleri olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, hindi kuşbaşı ve butlarda 4b en sık izole edilen serotipken, göğüs etlerinde en yaygın serotip 1/2b olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hindi eti, *Listeria monocytogenes*, serotip dağılımı, multipleks PCR.

Serotype Distribution of *Listeria monocytogenes* Isolated from Turkey Meat by Multiplex PCR

Abstract

The objectives of this study were to identify the serotypes of *Listeria monocytogenes* isolated from packaged fresh turkey meat samples marketed in Ankara and to determine the seasonal distribution of the serotypes. Out of 37 *L. monocytogenes* isolates obtained from 180 turkey meat samples, 19 (51.4%), 10 (27.0%) and 8 (21.6%) were serotyped by multiplex PCR as 4b (or 4d, 4e), 1/2a (or 3a) and 1/2b (or 3b), respectively. Serotypes 1/2a and 4b were dominant in turkey meat samples collected in the summer; and 4b was the most prevalent *L. monocytogenes* serotype during the winter. Serotype 4b was the most prevalent serotype in turkey meat cuts and legs, whereas 1/2b was the dominant serotype in turkey breast samples.

Keywords: Turkey meat, *Listeria monocytogenes*, serotype distribution, multiplex PCR.

Giriş

Listeria soyunda *L. monocytogenes*, *L. ivanovi*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. wesli* meri ve *L. grayi* olmak üzere 6 tür bulunmasına karşın bunlardan *L. monocytogenes* insanlar, *L. ivanovi* de hayvanlar için patojen türler olarak kabul edilmektedir (15).

Listeria monocytogenes başta tüketime hazır gıdalar olmak üzere kontamine kanatlı eti, kırmızı et, süt ve süt ürünleri gibi gıdalarla alınmasıyla insanlarda menenjit, septisemi ve abortlarla karakterize infeksiyonlara neden olabilmektedir. Hatta listeriozda risk grubu bireylerde ölüm oranı % 30'lara varmaktadır (12).

Bu nedenle epidemiyolojik çalışmalar ve halk sağlığı taramaları açısından *L. monocytogenes* izolatlarının karakterizasyonu büyük önem taşımaktadır. Çeşitli karakterizasyon yöntemleri bulunmasına karşın serotiplendirme en yaygın olarak kullanılan ve epidemiyolojik açıdan önem taşıyan yöntemdir (16). Yapılan çalışmalara göre 13 *L. monocytogenes* serotipinden gıdalardan en sıklıkla izole edilenleri 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b'dir (14, 15).

Serotiplendirme, rutin olarak aglütinasyon metoduyla yapılıyor olmasına karşın multilokus enzim elektroforezi, mikrorestriksiyon DNA analizi ve pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) gibi çeşitli moleküler tekniklerle de yapılabilmektedir. Fakat belirlenen bu moleküler teknikler rutin analizlerde kullanmak için oldukça pahalı ve analiz süreleri uzundur (5, 16). Son yıllarda *L. monocytogenes*'in başlıca dört serotipi olan 1/2a, 1/2b, 1/2c ve 4b'yi yüksek bir doğrulukla tanımlayan multipleks PCR yöntemi geliştirilmiştir (3, 8, 13). Bu çalışmada, Ankara'daki marketlerde paketlenmiş olarak satılan taze hindi etlerinden elde edilen *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplerinin belirlenerek mevsimsel dağılımının multipleks PCR yöntemiyle tespiti amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bakteri suşları

Bu çalışmada, paketlenmiş formda tüketime sunulan değişik firmalara ait 180 taze hindi eti (kuşbaşı, göğüs ve but) örneğinden IMS bazlı kültür tekniği ile saptanan ve PCR ile doğrulanan 37 *L. monocytogenes* izolatı (2) materyal olarak kullanıldı.

Yapılan multipleks PCR çalışmalarının optimizasyonunda ve serotiplerin belirlenmesinde *L. monocytogenes* ATCC 19111 (1/2a), *L. monocytogenes* N7144 (1/2b), *L. monocytogenes* ATCC 7644 (1/2c) ve *L. monocytogenes* RSKK 475 (4b) referans suşları pozitif kontrol olarak kullanıldı.

Multipleks PCR ile *L. monocytogenes* İzolatlarının Serotiplerinin Belirlenmesi

Çalışmada *L. monocytogenes* izolatlarının serotiplerinin belirlenmesi amacıyla Doumth ve ark. (8) tarafından geliştirilen primerler (Tablo 1) ve multipleks PCR tekniği kullanıldı. İzolatların DNA ekstraksiyonunda Chelex-100 (Bio-Rad, Hercules, CA, ABD) resin bazlı metod uygulandı (1).

Elektroforez sonuçlarına göre;

691 bp ağırlığında bant veren örnekler serotip 1/2a (veya 3a),

471 bp ağırlığında bant veren örnekler serotip 1/2b (veya 3b),

691 ve 906 ağırlığında bant veren örnekler serotip 1/2c (veya 3c),

471 ile 597 bp ağırlığında bant veren örnekler serotip 4b (veya 4d, 4e) olarak değerlendirildi.

Bulgular ve Tartışma

Çalışmada, paketlenmiş, taze hindi etlerinden önceki bir çalışmada (2) izole edilen ve doğrulukları PCR ile belirlenen 37 *L. monocytogenes* izolatının serotipi dağılımı mevsimlere ve hindi eti örneklerine (kuşbaşı, göğüs ve but) göre multipleks PCR ile belirlendi. Buna göre 37 *L. monocytogenes* izolatının 19'sü (% 51,4) serotip 4b (veya 4d, 4e), 10'u (%27,0) serotip 1/2a (veya 3a) ve 8'i (% 21,6) serotip 1/2b (veya 3b) olarak tanımlandı. Çalışmada, Ankara'da marketlerde satılan hindi etlerinden en sık rastlanan serotip, 4b (veya 4d, 4e) olarak tespit edildi. *L. monocytogenes* ile kontamine 23 hindi etinin 12'sinin (% 52,2) serotip 4b (veya 4d, 4e), 7'sinin (% 30,4) serotip 1/2a (veya 3a) ve 4'ünün (% 17,4) serotip 1/2b (veya 3b) olduğu belirlendi. Çalışmada, hindi eti örneklerinde çoklu *L. monocytogenes* serotip kontaminasyonu tespit edilmedi. Bir başka deyişle, aynı örnekten izole edilen farklı *L. monocytogenes* kolonilerinin aynı serotip olduğu ortaya kondu (Tablo 2).

Mevsimsel dağılım açısından yapılan değerlendirmede, yaz aylarında izole edilen 14 *L. monocytogenes*'in 6'sının (% 42,9) 4b (veya 4d, 4e), 6'sının (% 42,9) 1/2a (veya 3a) ve 2'sinin (% 14,2) 1/2b (veya 3b) serotipi olduğu belirlendi. Kış aylarında ise 23 *L. monocytogenes* izolatından 13'ü (% 56,5) serotip 4b (veya 4d, 4e), 6'sı (% 26,1) serotip 1/2b (veya 3b) ve 4'ü (% 17,4) serotip 1/2a (veya 3a) olarak tanımlandı. Buna göre yaz aylarında hindi etlerinde *L. monocytogenes* 1/2a (veya 3a) ve 4b (veya 4d, 4e) en yaygın serotipler iken kış aylarında dominant serotip 4b (veya 4d, 4e) olarak belirlendi.

Hindi eti parçalarına göre de *L. monocytogenes* serotip dağılımında farklılıklar tespit edildi.

L. monocytogenes ile kontamine olduğu belirlenen hindi kuşbaşı eti örneklerinden elde edilen 20 koloninin (20/37 - % 54,1) 14'ü (% 70,0) ve 6'sı (% 30,0) sırasıyla serotip 4b (veya 4d, 4e) ve 1/2a (veya 3a) olarak identifiye edildi. Göğüs eti örneklerinden izole edilen 11 (11/37 - % 29,7) *L. monocytogenes*'in 6'sı (% 54,5) serotip 1/2b (veya 3b), 3'ü (% 27,3) serotip 1/2a (veya 3b) ve 2'si (% 18,2) serotip 4b (veya 4d, 4e) olarak belirlendi. Son olarak, *L. monocytogenes* ile kontamine hindi but örneklerinden elde edilen 6 (6/37 - % 16,2) izolattan 3'ünün (% 50,0) serotip 4b (veya 4d, 4e), 2'sinin (% 33,3) serotip 1/2b (veya 3b) ve 1'inin (% 16,7) serotip 1/2a (veya 3b) olduğu tespit edildi. Çalışma bulgularına göre, *L. monocytogenes* 4b'nin hindi kuşbaşı ve but örneklerinde, 1/2b'nin ise hindi göğüs eti örneklerinde en yaygın serotipler olduğu belirlendi.

Yapılan çeşitli çalışmalarda gıdalardan en sık izole edilen *L. monocytogenes* serotipi 1/2a iken listeriaz vakalarından en sıklıkla sorumlu tutulan serotip 4b'dir (3, 11, 14, 15). Ankara'da donmuş broyler karkaslarında *L. monocytogenes* varlığı üzerine yapılan bir çalışmada 1/2a serotipine %73,3 oranında rastlanırken, 1/2b, 1/2c, 3c ve 4b serotiplerinin her biri % 6,7 oranında identifiye edilmiştir (9). Bir başka çalışmada, Japonya'da satışa sunulan 46 tavuk kıyma örneğinin % 37,0'ından *L. monocytogenes* 1/2a ve 1/2b tespit edildiği rapor edilmiştir (10). Bu çalışmada, kış aylarında hindi etlerinde *L. monocytogenes* 4b'nin diğer serotiplere kıyasla daha yaygın olduğu belirlenmiştir. Bu konuda yapılmış olan bir çalışmaya (4) dayanılarak bu durum, serotip 4b'nin soğuk şartlarda üreme kabiliyetinin serotip 1/2a'dan daha iyi olmasıyla ilişkilendirilebilir.

Çalışmada kullanılan multipleks PCR metodunda 4 farklı primer çiftiyle *L. monocytogenes*'in başlıca 4 serotipi belirlenebilmektedir. Metot serotip identifikasyonu nun doğruluk ve güvenilirlikle yapılmasına olanak sağlarken aynı zamanda analizlerin düşük maliyetle kısa süre içinde yapılmasına da imkân tanımaktadır. Metodun, belirtilen avantajlarına karşın, daha önce çeşitli araştırmacılar (6, 7) tarafından da bahsedilen dezavantajı serotip 1/2a'yı 3a'dan 1/2b'yi 3b'den, 1/2c'yi 3c'den ve 4b'yi 4d ve 4e'den ayırt edememesidir. Fakat bu dezavantaj 3a, 3b, 3c, 4d ve 4e'nin gıdalardan nadiren izole edilen serotipler olmasından dolayı Chen ve Knabel (6) tarafından uzun soluklu epidemiyolojik çalışmalar için önemsiz ve göz ardı edilebilir olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç ve Öneriler

Çalışmada *Listeria* enfeksiyonlarından sıklıkla izole edilen *L. monocytogenes* 4b, Ankara'da satışa sunulan hindi etlerinde dominant serotip olarak belirlenmiştir. Çalışma bulgularına göre hindi etleri halk sağlığı açısından potansiyel risk oluşturmaktadır. Bu nedenle hindi etlerinin hijyenik ve teknolojik koşullarda üretilmeleri ve tüketilmeden önce iyice pişirilmeleri gerekmektedir. Hindi etlerinin *L. monocytogenes* kontaminasyonu açısından takibi düzenli olarak yapılmalıdır. Ayrıca, multipleks PCR'in *L. monocytogenes* serotiplerinin belirlenmesinde daha etkin olarak kullanılabilmesi için ileride yapılacak olan çalışmaların 4 ana serotipin yanında gıdalarda nadiren rastlanan serotiplerin identifikasyonuna imkân sağlayan primerlerin geliştirilmesine odaklanması gerekmektedir.

Kaynakça

- Ayaz N.D. and Erol I. (2010). Relation between serotype distribution and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from ground turkey. *Journal of Food Protection*, 73(5), 967-972.
- Bilir Ormanci F.S., Erol I., Ayaz N.D., Iseri O. and Sariguzel D. (2008). Immunomagnetic separation and PCR detection of *Listeria monocytogenes* in turkey meat and antibiotic resistance of the isolates. *British Poultry Science*, 49, 560-565.
- Borucki M.K. and Call D.R. (2003). *Listeria monocytogenes* serotype identification by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 41, 5537-5540.
- Buncic S., Avery S.M., Rocourt J. and Dimitrijevic M. (2001). Can food related environmental factors induce different behavior in two key serovars, 4b and 1/2a, of *Listeria monocytogenes*? *International Journal of Food Microbiology*, 65, 201-212.
- Capita R., Prieto M., Mereghetti L. and Alonso-Calleja C. (2005). Characterization of

- Listeria monocytogenes* isolates from poultry by serotyping and phage typing. *Food Science and Technology International*, 11, 55-65.
- Chen Y. and Knabel S.J. (2007). Multiplex PCR for simultaneous detection of bacteria of the genus *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, and major serotypes and epidemic clones of *L. monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 6299-6304.
- De Santis E.P.L., Pilo A.L., Cosseddu A.M., Canu N.A., Scarano C. and Marongiu P. (2007). Multiplex PCR for the identification and serotyping of *L. monocytogenes* isolated from sheep cheese-processing plants. *Veterinary Research Communications*, 31, 359-363.
- Doumith M., Buchrieser C., Glaser P., Jacquet C. and Martin P. (2004). Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 3819-3822.
- Erol I. and Sireli U.T. (1999). Incidence and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* in frozen broiler carcasses. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 23, 765-770.
- Inoue S., Nakama A., Arai Y., Kobubo Y., Maruyama T., Saito A., Yoshida T., Terao M., Yamamoto S. and Kumagai S. (2000). Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 73-77.
- Jacquet C., Gouin E., Jeannel D., Cossart P. and Rocourt J. (2002). Expression of actA, ami, inlB, and listeriolysin O in *Listeria monocytogenes* of human and food origin. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 616-622.
- Jay J.M., Loessner M.J. and Golden D.A. *Foodborne listeriosis*, *Modern Food Microbiology* 7th. Edition, Springer Science and Business Media, New York (2005) pp. 591-611.
- Jinneman K.C. and Hill W.E. (2001). *Listeria monocytogenes* lineage group classification by MAMA-PCR of the listeriolysin gene. *Current Microbiology*, 43, 129-133.
- Kathariou S. (2002). *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *Journal of Food Protection*, 65, 1811-1829.
- Swaminathan B., Cabanes D., Zhang W. and Cossart P. *Listeria monocytogenes*. In *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* 3rd. Edition, (M.P. Doyle and Beuchat L.R. eds.) ASM Press, Washington DC, (2007) pp. 457-491.
- Wagner M. and Allerberger F. (2003). Characterization of *Listeria monocytogenes* recovered from 41 cases of sporadic listeriosis in Austria by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 35, 227-234.

Tablo 1. *Listeria monocytogenes* izolatlarının serotiplerinin belirlenmesinde kullanılan primerler (8).

Primerler	Nükleotid dizilimi (5'-3')	Baz çifti (bp)
lmo0737	F: AGG GCT TCA AGG ACT TAC CC	906
	R: ACG ATT TCT GCT TGC CAT TC	
lmo1118	F: AGG GGT CTT AAA TCC TGG AA	691
	R: CGG CTT GTT CGG CAT ACT TA	
ORF2819	F: AGC AAA ATG CCA AAA CTC GT	471
	R: CAT CAC TAA AGC CTC CCA TTG	
ORF2110	F: AGT GGA CAA TTG ATT GGT GAA	591
	R: CAT CCA TCC CTT ACT TTG GAC	

Tablo 2. *Listeria monocytogenes* izolatlarının serotip dağılımı.

Örnek no	Mevsim	Örnekleme tarihi	Hindî eti bölümü	İzolat sayısı ^a	Serotip ^b
01	Yaz	28.06.05	But	1	4b (4d, 4e)
02		28.06.05	Kuşbaşı	2	4b, 4b (4d, 4e)
03		28.06.05	Kuşbaşı	2	4b, 4b (4d, 4e)
04		05.07.05	But	1	1/2a (3a)
05		05.07.05	Göğüs	2	1/2a, 1/2a (3a)
06		05.07.05	But	1	4b (4d, 4e)
07		12.07.05	Göğüs	2	1/2b, 1/2b (3b)
08		01.08.05	Göğüs	1	1/2a (3a)
09		01.08.05	Kuşbaşı	2	1/2a, 1/2a (3a)
10	Kış	08.11.05	Kuşbaşı	2	1/2a, 1/2a (3a)
11		08.11.05	Göğüs	2	1/2b, 1/2b (3b)
12		23.11.05	Kuşbaşı	1	1/2a (3a)
13		19.12.05	Göğüs	2	1/2b, 1/2b (3b)
14		19.12.05	Kuşbaşı	1	1/2a (3a)
15		19.12.05	Kuşbaşı	2	4b, 4b (4d, 4e)
16		26.12.05	Kuşbaşı	2	4b, 4b (4d, 4e)
17		26.12.05	Göğüs	1	4b (4d, 4e)
18		26.12.05	Kuşbaşı	2	4b, 4b (4d, 4e)
19		02.01.06	Kuşbaşı	2	4b, 4b (4d, 4e)
20		02.01.06	Kuşbaşı	2	4b, 4b (4d, 4e)
21		02.01.06	Göğüs	1	4b (4d, 4e)
22		02.01.06	But	1	4b (4d, 4e)
23		23.01.06	But	2	1/2b, 1/2b (3b)

^a Toplam 23 örnekten elde edilen 37 izolat.^b Nadiren rastlanılan serotipler.

Bildiri No: 110

Kategori: Genel

TAVUK ETLERİNDE KLORAMFENİKOL ANTİBİYOTİK KALINTILARININ ELISA VE LC-MS/MS İLE TESPİTİ VE DOĞRULANMASI

Sunum Tipi: Oral

Artun YIBAR, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
Figen ÇETİNKAYA, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
Ece SOYUTEMİZ, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

Özet

Bursa'da, 2008 Aralık ile 2009 Ağustos dönemleri arasında 90 göğüs eti ve 90 but eti olmak üzere toplam 180 adet tavuk kas doku toplandı. Toplanan bu örnekler kloramfenikol (CAP) antibiyotik kalıntısı yönünden ELISA tekniği ile tarama ve LC-MS/MS tekniği ile doğrulama analizlerinden geçirildi. Çalışmada kullanılan LC-MS/MS tekniği Avrupa Birliği 2002/657/EC sayılı Komisyon Kararı'na göre valide edildi. ELISA ile tarama sonucunda 15 (% 8.3) örnek kloramfenikol bakımından 12.64 ve 226.22 ng/kg aralığında ortalaması 45.32 ng/kg seviyesinde pozitif verdi. LC-MS/MS ile doğrulaması yapılan ELISA pozitif 15 örnekten 2'si ve ELISA negatif 45 örnekten 1'i 150 ile 361 ng/kg aralığında değişen seviyelerde pozitif bulundu. Kütle spektrasi ölçümü, negatif iyon modunda, seçici iyon taraması (SRM) da m/z 321 --> 152 ve m/z 321 --> 194 iyon değişiminde gerçekleşti. LC-MS/MS kalibrasyon eğrisi R2 değeri 0.9966, geri kazanım oranı % 97.3 ile % 104.0 aralığında, laboratuvar-ıçi tekraredilebilirlik değeri de % 5'den az olarak gerçekleşti. Karar limiti (CC α) 0.10 μ g/kg ve tespit edebilme kapasitesi (CC β) 0.11 μ g/kg olarak hesaplandı.

Anahtar Kelimeler: kloramfenikol, tavuk eti, ELISA, LC-MS/MS, validasyon

Screening and Confirmation of Chloramphenicol Residues in Chicken Muscle by ELISA and LC-MS/MS

Abstract

In the period December 2008 - August 2009, 180 chicken meat samples including 90 thigh and 90 breast meats in Bursa province, Turkey, were collected. The determination of chloramphenicol (CAP) residues in the samples were screened by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and a confirmatory method based on liquid chromatography-coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was described and validated. The LC-MS/MS method was validated according to Commission Decision 2002/657/EC. The results showed that 15 (8.3%) of the chicken meat samples was positive for CAP residues from 12.64 to 226.22 ng/kg, with a mean of 45.32 ng/kg. By LC-MS/MS, CAP was confirmed in 2 of 15 ELISA positive samples and 1 of 45 negative samples, with concentration levels that varied between 150 and 361 ng/kg. The mass spectral acquisition was done in the negative ion mode applying selective reaction monitoring (SRM) with the following ions: m/z 321 --> 152 and m/z 321 --> 194 for CAP. The calibration curves were linear with typical R2 value of 0.9966. The recovery values ranged from 97.3% to 104.0% and within-laboratory repeatability was lower than 5%. Decision limit (CC α) was 0.10 μ g/kg and detection capability (CC β) was 0.11 μ g/kg.

Key Words: chloramphenicol, chicken muscle, ELISA, LC-MS/MS, validation

Giriş

Kloramfenikol (CAP) geniş spektrum etkili ve geçmişte hayvan ve insanların çeşitli hastalıklarının sağaltımında sıklıkla başvurulmuş bir antibiyotiktir (1). Tıp alanında tifo ve bakteriyel menenjit gibi ciddi hastalıkların sağaltımında kullanımı, kan hücreleri üretimini sağlayan kemik iliği üzerine baskı yaparak aplastik anemi gelişimine neden olması gibi önemli yan etkilerinden dolayı sınırlandırılmıştır (2). CAP antibiyotiği etkinliğinden ve insanlarda meydana gelebilecek ciddi potansiyel yan etkilerinin hayvanlarda bildirilmiş olmadığından dolayı hayvan sağlığında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (3). Ancak kloramfenikolün özellikle gıda değeri taşıyan hayvanlarda yasal olmayan şekillerde kullanımı tükettiğimiz gıdaların üretim zincirinde sağlığa zararlı kalıntıların oluşum riskini arttırabilmektedir (4, 5). Günümüzde, ilaç kalıntıları ile kontamine gıdaların tüketimi ile ilgili birçok görüş ve tartışma vardır. Bunlardan biri bu kalıntıların sebep oldukları kimyasal zehirlenmeler veya alerjik reaksiyonların oluşumudur. Hayvanlar üzerinde gerekenden fazla kullanılmaları dirençli bakterilerin gelişimini sağlayarak insan sağlığında kullanılan antibiyotiklerin güçlerini önemli ölçülerde azaltması ile sonuçlanan etkilere neden olabilirler (2,6).

Gıda değeri taşıyan hayvanların tedavilerinde düşük dozlarda bile kloramfenikol kullanımı yenilebilir hayvansal dokularda kalıntı oluşturabilir ve dahası tüketiciler süt, et, su ürünleri, bal ve yumurta ile ilaç kalıntılarının sağlığa zararlı etkilerine maruz kalabilirler (1). Bu sebeplerden dolayı, Avrupa Birliği'ne (AB) üye ülkelerde, Amerika'da, Türkiye'de ve diğer birçok ülkede kloramfenikolün gıda değeri taşıyan hayvanlarda uygulanması yasaklanmıştır. İlacın toksik etkileri doza bağlı olmadığı için hayvansal gıdalarda maksimum kalıntı limiti (MRL) hesaplanmamıştır. 2077/90 sayılı Konsül Kararı'nda Ek 4'e göre kloramfenikol yenilebilir dokularda "0-tolerans kalıntı seviyesi" ilaçlar grubuna dahil edilmiştir (7). Avrupa Birliği hayvansal gıdalarda kloramfenikol tespitinde kullanılmak üzere asgari gerekli analitik method performans limiti değerini de (minimum required analytical methods performance limit; MRPL) 0.3 µg/kg olarak belirlemiştir (8). Tüm bunlara rağmen bu antibiyotik gıda değeri taşıyan hayvanların yetiştirilmesinde yasal olmayan şekillerde kullanılmaktadır.

Bu sebeplerden dolayı, hayvansal gıdalarda CAP seviyelerinin izlenmesi için spesifik ve duyarlı analitik metodlara ihtiyaç vardır. CAP kalıntı analizleri için likit kromatografi (LC) (9), gaz kromatografi (GC) (10) ve immunoassay (9,11) gibi birtakım farklı metodlar bildirilmiştir. Ancak, 2002/657/EC sayılı Komisyon Kararı'na (12) göre şüpheli pozitiflerin doğrulaması için kütle spektrometri (MS) etkili bir kromatografik ayırma metoduyla beraber kullanılmak zorundadır. Bu, hayvansal dokularda "0-tolerans kalıntı seviyesi"ne sahip ilaçlar için tartışmasız en güvenilir analitik methoddur. Birçok araştırmacı tavuk etinde (1,13-15), deniz ürünlerinde (13,14,16,17), sütte (14,18) ve balda (19,20,21) LC-MS/MS ile CAP analizlerini rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada, tavuk etinde CAP kalıntılarının analitik tarama ve doğrulama metodları anlatılmıştır. ELISA tavuk etlerini taramada, LC-MS/MS de şüpheli örneklerin doğrulaması için kullanılmıştır. Doğrulamada kullanılan LC-MS/MS metodu 2002/657/EC sayılı A.B. Kararı'na göre valide edilmiştir.

Materyal-Metod

Örnekler

2008 Aralık ile 2009 Ağustos döneminde 90 göğüs ve 90 but eti olmak üzere yerel ve ulusal ticari markalara alt toplam 180 adet tavuk eti örneği Bursa ili içindeki süper market ve kasaplardan satın alınarak soğuk zincir altında laboratuara getirildi.

ELISA Analizi

CAP varlığının araştırılması için ticari R-Biopharm, Germany marka ELISA kiti kullanıldı ve ekstraksiyon firmanın talimatları doğrultusunda yapıldı. Kiti CAP'a olan spesifliği % 100, tespit limit değeri (LOD) 12.5 ng/kg ve geri kazanım oranı % 80 olarak belirtilmektedir. Toplanan örnekler 100 g olacak şekilde hazırlanarak Janke&Kunkel, Ika-Werk, Germany marka ultra-turrax ile homojenize edildi. Sonrasında homojenize haldeki örnekten 3 g alınarak 50 ml'lik santrifüj tüpüne koyuldu. Üzerine 3 ml distile su ve 6 ml etil asetat eklenerek karıştırıldı. 10 dakika vortekslenerek 3000 g'de 10 dak ve oda sıcaklığında santrifüj edildi. Santrifüj işlemini takiben 4 ml'lik süpernatant kısmı (2 g numuneye denk gelen kısım) yeni bir tüpe alındı ve 60°C'de N2 akışı altında kurutuldu. Kuruyan kalıntı 1 ml n-hekzan ile çözdürüldü. 0.5 ml CAP buffer bu solüsyon üzerine eklenerek 1 dak vortekslenildi. 3000 g'de 10 dak ve oda sıcaklığında santrifüj edilerek üstteki sıvı kısmın 50 µl'si ELISA analizinde kullanılmak üzere alındı. ELISA analizi 6 standart (0, 25, 50, 100, 250 ve 750 ng/kg), içinde CAP olmadığını bildiğimiz kör numune ekstraktı ve değişik seviyelerde yükleme yapılmış numune ekstraktları (50, 100 ve 200 ng/kg) ile gerçekleştirildi. ELISA analizi sonucunda Rayto RT-2100C, Shenzhen, China marka ELISA okuyucu ile 450 nm'lik absorbans değerinde ölçüm yapılarak sonuçlar RIDAWIN programı ile hesaplanarak değerlendirildi.

LC/MS-MS Analizi

Örnek Hazırlığı

Ekstraksiyon Bogusz ve ark.'nın (22) izlediği metod üzerinde birtakım küçük değişiklikler gerçekleştirilerek yapılmıştır. Kısaca, 2 g homojenize tavuk eti örneği 50 ml polipropilen santrifüj tüpleri içine tartılarak üzerine 50 µl CAP-d5 dahilli standart eklendi. Sonrasında üzerine 6 ml etil asetat eklendi ve karışım Edmund Bühler KS-15, Hechingen, Germany marka çalkalayıcı inkübatörde 200 rpm'de 15 dak karıştırıldı. Süre sonunda 4000 g'de 15 dak santrifüj işlemine tabi tutuldu ve üstteki 5 ml'lik sıvı faz başka bir tübe aktararak 40°C'lik N2 akışı altında kurutuldu. Kalıntı üzerine 500 µl karışım (su/MeOH, 85:15, v:v) eklenerek 2000 rpm'de 5 dak santrifüj edildi. Karışım RC 0.45 mikronluk filtreden geçirilerek viallere alındı ve 50 µl'si LC-MS/MS analizinde sisteme verildi.

Enstrümental Durum

LC-MS/MS analizi TSQ Tandem Gold Triple Quadrupole mass spectrometer ile yapıldı. Kromatografik ayırım Synergy MAX-RP 80, 150 x 2.0 mm i.d., 4.0 µm genişliğinde (Phenomenex, Torrance, USA) kolon ile gerçekleştirildi. Mobil faz A, suda % 0.2 oranında asetik asit ve mobil faz B, metanol ile hazırlandı. Akış oranı 0.25 ml/min seviyede 0 - 2 dak % 85 A, 2 - 10 dak % 90 A, 10 - 13 dak % 90 A ve 13 - 20 dak % 85 A olacak şekilde ayarlandı. Enjeksiyon hacmi 50 µl ve kolon ısı 40°C ayarlandı.

Kütle spektrometre dedektörü negatif iyonize moda kullanıldı. Kaynak blok ısı 350°C ve elektrospay kapıllar voltajı -5000 V da tutuldu. Kolizyon gazı olarak nitrojen kullanıldı. CAP ve CAP-d5 pik zamanı (R.T.; retention time) 7.95 ± 0.2 dak da gerçekleşti. CAP ve CAP-d5 için kullanılan seçilmiş iyonlar ve ayrımlarındaki kolizyon enerjileri Tablo 1'de verilmiştir. Negatif seçici reaksiyon izlemesi modunda (SRM), CAP için iyon değişimi m/z 321 → 152 ve m/z 321 → 194, CAP-d5 için de m/z 326 → 157 olarak gerçekleşti.

Tablo 1. İyon değişimi ve kloramfenikol sayımı için ilişkili kolizyon enerjileri

Analit	İyon değişimi (m/z)	Kolizyon enerjisi (eV)
CAP	321 --> 152	20
	321 --> 194	16
CAP-d5	326 --> 157	20

Kalibrasyon Eğrileri

CAP sayısal tespiti "matris-eşleşmeli" kalibrasyon eğrileri kullanılarak yapıldı. "matris-eşleşmeli" kalibrasyon standartlarının hazırlanması işlemi, 0.1 µg/ml CAP çalışma standartından 50, 100, 150 ve 200 µl alınarak 2 g'lık negatif 4 örneğe eklenerek gerçekleştirildi. Sonrasında bu örneklerle ekstraksiyon prosedürü uygulanarak sırasıyla 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4 ng/µl'lik seviyelerinde meydana getirdikleri kalibrasyon eğrilerine bakıldı.

Metod Validasyonu

Metod validasyonu 2002/657/EC sayılı Avrupa Komisyonu Kararı'na göre yapılmıştır. (8). Validasyon parametreleri: özgüllük, doğrusalılık, geri kazanım, laboratuvar-ici tekrar edilebilirlik, karar limiti (CC α) ve tespit edebilme kapasitesi (CC β) olarak ölçüldü. Metodun özgüllüğü 20 farklı kör örneğin CAP pik zamanında vermiş olduğu interferasyonlar gözlenerek gerçekleştirildi. Doğrusallık 0.1, 0.2, 0.3 ve 0.4 ng/µl'lik seviyelerde yüklenmiş ve ekstrakte edilmiş paralel analizlerde hesaplandı. 0.5 ng/g seviyesinde CAP-d5 iç standart da tüm örneklerle eklendi. Doğrusallık, korelasyon katsayısı (R2) olarak gösterildi. 4 farklı seviyede CAP ile yüklenerek 6'şar tekrar yapıldı. CC α ve CC β da 2002/657/EC sayılı Komisyon Kararı'nda anlatılan kalibrasyon eğrileri prosedürüne göre hesaplandı.

Tartışma ve Sonuç**ELISA ile Tavuk Etlerindeki CAP'ın Taranması**

CAP geçmişte hayvan ve insan hastalıkları tedavisinde çok yaygın kullanım alanı bulan hem gram pozitif hem de gram negatifler üzerine etkili geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Bununla birlikte birçok yan etkisi de bilinmektedir (16). Bu çalışma tavuk etlerinde CAP kalıntılarının ELISA ile taranması ve elde edilen sonuçların da LC-MS/MS metoduna göre doğrulanması temeline dayanmaktadır.

Tarama için ticari bir ELISA kiti kullanıldı. Bursa ilinde satışa sunulan 90 but ve 90 göğüstün oluşan toplam 180 adet örnekten 15'i (% 8.3) CAP bakımından pozitif olarak değerlendirildi. Elde edilen CAP kalıntısı değeri 12.64-226.22 ng/kg aralığında, ortalamada 45.32 ng/kg bulundu. Geri kalan 165 (% 91.6) örnek kalıntı seviyesi de LOD (12.5 ng/kg) değeri altında sonuç vererek negatif olarak değerlendirildi. ELISA ile tespit edilen CAP seviye ve dağılımları sırası ile Tablo 2 ve Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 2. Tavuk etinde ELISA analizi sonucunda elde edilen CAP (ng/kg) kalıntı seviyeleri

Örnek	Örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı (%)	Ortalama seviye $\pm$ SD	Minimum	Maksimum
But	90	10 (11.1)	31.32 $\pm$ 15.23	12.64	56.45
Göğüs	90	5 (5.5)	73.34 $\pm$ 88.60	13.32	226.22
Toplam	180	15 (8.3)	45.32 $\pm$ 53.03	12.64	226.22

Tablo 3. ELISA analizine göre CAP içeriğinin örnekler arası dağılımı

CAP seviyesi (ng/kg)	Örnek sayısı	Dağılım (%)
< 12.5 ¹	165	91.6
12.5 - 37.5	9	5
37.5 - 62.5	4	2.2
62.5 - 87.5	1	0.5
> 87.5	1	0.5

¹ Tespit limiti (LOD).

Tavuk etlerinde ve diğer hayvansal gıdalarda CAP kalıntıları ile ilgili bildirilen birçok rapor vardır. Mehdizadeh ve ark. (11), broiler böbrekleri, karaciğeri ve kas dokuda ELISA ile % 54.8 sıklığında CAP kalıntısı tespit etmişlerdir. Tajik ve ark. (9) tarafından yürütülen bir çalışma göstermiştir ki, 22 karaciğer, 21 böbrek ve 14 kas doku örneği CAP bakımından pozitif sonuç vermiştir. Kadim ve ark. (23) ve Mahgoub ve ark. (24)'ün yaptıkları çalışmalarda sırası ile broiler etlerindeki antibiyotik kontaminasyon seviyesi 5.0 - 74.0 ng/kg (ort; 14.38 ng/kg) ve koyun-keçi etlerinde 0.0-0.08 ng/kg (ort; 0.02 ng/kg) bulunmuştur.

LC-MS/MS ile Tavuk Etlerinde CAP'ın Doğrulaması

CAP'ın potansiyel sağlık riskleri sebebiyle, 1994 yılında Avrupa Birliği Komisyonu gıda değeri taşıyan hayvanlarda kullanımını yasaklamıştır (25). Hayvansal gıdalarda MRL değeri de ilacın doz-bağımlı toksik etkisi olmadığından dolayı hesaplanmamıştır. Avrupa Birliği de hayvansal gıdalarda CAP analizinde laboratuvarlar için MRPL değerini 0.3 µg/kg (8). Aynı şekilde Türkiye'de de gıda değeri taşıyan hayvanlarda CAP kullanımı yasaklanmış (26) ve hayvansal gıdalarda MRL değeri hesaplanmamıştır (27).

15 ELISA pozitif (kalıntı seviyesi > 12.5 ng/kg, LOD) ve 45 negatif (kalıntı seviyesi < 12.5 ng/kg, LOD) tavuk eti örneği LC-MS/MS ile doğrulama analizine alındı. ELISA pozitif örneklerden 2 tanesi, ELISA negatif örneklerden 1 tanesi LC-MS/MS ile pozitif olarak doğrulandı (Tablo 4). Diğer 57 tavuk eti örneği CAP negatif sonuç verdi. LC-MS/MS pozitif örneklerden 150 ng/kg-361 ng/kg aralığında sonuç alındı. Böylece, ELISA ile 15 tavuk etinden 13'ü yanlış pozitif ve 45 örnekten 1'i de yanlış negatif sonuç vermiştir.

ELISA metodu ile yanlış pozitif sonuçların alındığı Impens ve ark. tarafından da belirtilmiştir (16).

Tablo 4. CAP için LC-MS/MS analizi sonuçları.

ELISA		LC-MS/MS	
Örnek sayısı	Kalıntı seviyesi (ng/kg)	Pozitif örnek sayısı	Kalıntı seviyesi (ng/kg)
45 ¹	< 12.5 ³	1	150
14 ²	12.5 - 100	1	259
1 ²	> 100	1	361

¹ Negatif örnek sayısı.

² Pozitif örnek sayısı.

³ Tespit limiti (LOD).

Metod Validasyonu

Metod validasyonu 2002/657/EC sayılı Avrupa Birliği Komisyon Kararı'na göre yürütülmüştür (8). Metodun özgüllüğü 20 boş örneğin CAP pik zamanında verdiği potansiyel interferasyonlar gözlenerek ölçülmüştür. MS reaksiyonları sonucunda herhangi bir interferasyon gözükmemesi uygulanan metodun kloramfenikol tespitinde yüksek özgüllüğe sahip olduğunu göstermektedir. 0.1 µg/kg'dan 0.4 µg/kg seviyesine kadar ki 4 ayrı seviyede yüklenen tavuk eti örneklerinden elde edilen kalibrasyon eğrilerinden doğrusalılık elde edildi. Kalibrasyon eğrileri için her seviyeden 6 tekrar yapıldı. CAP-d5 konsantrasyonu 0.5 µg/kg olarak ayarlandı. 0.9966 gibi iyi bir doğrusal korelasyon katsayısı (R²) elde edildi (CAP alanı/ CAP-d5 alanı) (Tablo 5). Yine Tablo 5'de gösterilmektedir ki, CCα ve CCβ değerleri sırası ile 0.10 ve 0.11 µg/kg olarak bulunarak Avrupa Birliği'nin olmasını istediği MRPL seviyesinin (0.3 µg/kg) altında gerçekleşmiştir.

Tablo 5. CAP için korelasyon katsayısı (R²), karar limiti (CCα) ve tespit edebilme kapasitesi (CCβ) değerleri

Kalibrasyon eğrisi korelasyon katsayısı (R ²)	0.9966
CCα (µg/kg)	0.10
CCβ (µg/kg)	0.11

Geri kazanım çalışmaları da 6 tekrarlı 4 farklı seviyede yüklenmiş tavuk eti örnekleri ile 3 farklı günde gerçekleştirildi. Sonuçlar, % 97.3 ve % 104 aralığında gerçekleşerek metodun iyi bir geri kazanım oranına sahip olduğunu gösterdi. Laboratuvar-ıçi tekraredilebilirlik yukarıda belirtilen 4 farklı seviyede hesaplandı ve değişim katsayısı oranı (%CV) % 2 bulundu. Uygulanan metod 2002/657/EC'ye göre yeterli hassasiyete sahiptir. Geri kazanım ve tekraredilebilirlik sonuçları da Tablo 6'da verilmektedir. Tüm bulunan sonuçlar son derece memnun edicidir.

Sonuca bakıldığında, elde edilen bulgular Bursa ili içinde satışa sunulan yerel ve ulusal ticari marka tavuk etlerinde kloramfenikol yasak olmasına rağmen tavuk kümeslerinde kullanılmış olup CAP kalıntısı tavuk etleri ile beraber sofralarımıza kadar ulaşmaktadır. Ayrıca, mevcut bulgular tavuk etlerinde ELISA analizlerinin CAP'ın yasal olmayan kullanımında tarama için uygun olabileceğini ama elde edilen sonuçların da LC-MS/MS gibi uygun kromatografik metodlar ile doğrulanması gerektiğini ortaya koymuştur. Validasyon metodu A.B. tavuk eti CAP tespiti kriterlerine dayanmaktadır. CCα (0.10 µg/kg) ve CCβ (0.11 µg/kg) değerleri de A.B.'nin belirlediği MRPL (0.3 µg/kg) değerinin altındadır. Geri kazanım % 97 ve % 104 aralığında, laboratuvar-ıçi tekraredilebilirlik değerleri % 5'in altı olarak tespit edilmesi istenilen amaca uygunluğu göstermektedir. Sonuç olarak, elde edilen validasyon sonuçları 2002/657/EC sayılı Avrupa Komisyon Kararı'na uygunluk göstermiş olup, bu metod tavuk etlerinde CAP kalıntılarının doğrulanması ve sayısal tespitinde başarılı olmuştur.

Tablo 6. Metoda bağılı geri kazanım ve tekraredilebilirlik değerleri (n = 6)¹

Performans kriterleri	Validasyon verileri
Geri kazanım (% ± SD)	
0.1 µg/kg	98.5 ± 1.76
0.2 µg/kg	97.3 ± 3.38
0.3 µg/kg	104.0 ± 1.67
0.4 µg/kg	98.5 ± 1.87
Laboratuvar-İç tekraredilebilirlik (% ± SD)	
0.1 µg/kg	2 ± 0.002
0.2 µg/kg	4 ± 0.007
0.3 µg/kg	2 ± 0.006
0.4 µg/kg	2 ± 0.007

¹ Örnek sayısı.**Teşekkür**

V(U)-2009/20 no'lu bu çalışma Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

1. Siqueira, S.R.R., J.L. Donato, G. de Nucci, and F.G.R. Reyes. (2009). A high-throughput method for determining chloramphenicol residues in poultry, egg, shrimp, fish, swine and bovine using LC-ESI-MS/MS. *J. Sep. Sci.* 32: 4012-4019.
2. Ferguson, J., A. Baxter, P. Young, G. Kennedy, C. Elliott, S. Weigel, R. Gattermann, H. Ashwin, S. Stead, and M. Sharman. (2005). Detection of chloramphenicol and chloramphenicol glucuronide residues in poultry muscle, honey, prawn and milk using a surface plasmon resonance biosensor and Qflex kit chloramphenicol. *Anal. Chim. Acta.* 529: 109-113.
3. Guy, P.A., D. Royer, P. Mottier, E. Gremaud, A. Perisset, and R.H. Stadler. (2004). Quantitative determination of chloramphenicol in milk powders by isotope dilution liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1054: 365-371.
4. Penney, L., A. Smith, B. Coates, and A. Wijewickreme. (2005). Determination of chloramphenicol residues in milk, eggs and tissues by liquid chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 88: 645-653.
5. Chen, X.B., Y.L. Wu, and T. Yang. (2011). Simultaneous determination of clenbuterol, chloramphenicol and diethylstilbestrol in bovine milk by isotope dilution ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 879: 799-803.
6. Nisha, A.R. (2008). Antibiotic residues- a global health hazard. *Vet. World* 1: 375-377.
7. Council of the European Communities. (1990). Council Regulation (EEC) No. 2377/90-laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. *Off. J. Eur. Commun.* L224:1.
8. European Commission. (2003). Commission Decision 2003/181/EC of 13 March 2003 amending decision 2002/657/EC as regards the setting of minimum required performance limits (MRPLs) for certain residues in food of animal origin. *Off. J. Eur. Commun.* L71:17.

9. Tajik, H., H. Malekinejad, S.M. Razavi-Rouhani, M.R. Pajouhi, R. Mahmoudi, and A. Haghnazari. (2010). Chloramphenicol residues in chicken liver, kidney and muscle: a comparison among the antibacterial residues monitoring methods of four plate test, ELISA and HPLC. *Food Chem. Toxicol.* 48: 2464-2468.
10. Zhang, S., J. Zhou, J. Shen, S. Ding, and J. Li. (2006). Determination of chloramphenicol residue in chicken tissues by immunoaffinity chromatography cleanup and gas chromatography with a microcell electron capture detector. *J. AOAC Int.* 89: 369-373.
11. Mehdizadeh, S., H.R. Kazerani, and A. Jamshidi. (2009). Screening of chloramphenicol residues in broiler chickens slaughtered in an industrial poultry abattoir in Mashhad, Iran. *Iranian J. Vet. Sci. Technol.* 1: 25-32.
12. European Commission. (2002). Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results, *Off. J. Eur. Commun.* L221:8.
13. Mottier, P., V. Parisod, E. Gremaud, P.A. Guy, and R.H. Stadler. (2003). Determination of the antibiotic chloramphenicol in meat and seafood products by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 994: 75-84.
14. Rønning, H.T., K. Einarsen, and T.N. Asp. (2006). Determination of chloramphenicol residues in meat, seafood, egg, honey, milk, plasma and urine with liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and the validation of the method based on 2002/657/EC. *J. Chromatogr. A* 1118: 226-233.
15. Zhang, S., Z. Liu, X. Guo, L. Cheng, Z. Wang, and J. Shen. (2008). Simultaneous determination and confirmation of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in chicken muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 875: 399-404.
16. Impens, S., W. Reybroeck, J. Vercammen, D. Courtheyn, S. Ooghe, K. de Wasch, W. Smedts, and H. de Brabander. (2003). Screening and confirmation of chloramphenicol in shrimp tissue using ELISA in combination with GC-MS2 and LC-MS2. *Anal. Chim. Acta* 483: 153-163.
17. Santos, L., J. Barbosa, M.C. Castilho, F. Ramos, C.A.F. Ribeiro, and M.I.N. da Silva. (2005). Determination of chloramphenicol residues in rainbow trouts by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 529: 249-256.
18. Nicolich, R.S., E. Werneck-Barroso, and M.A.S. Marques. (2006). Food safety evaluation: detection and confirmation of chloramphenicol in milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 565: 97-102.
19. Ashwin, H.M., S.L. Stead, J.C. Taylor, J.R. Startin, S.F. Richmond, V. Homer, T. Bigwood, and M. Sharman. (2005). Development and validation of screening and confirmatory methods for the detection of chloramphenicol and chloramphenicol glucuronide using SPR biosensor and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 529: 103-108.
20. Forti, A.F., G. Campana, A. Simonella, M. Multari, and G. Scortichini. (2005). Determination of chloramphenicol in honey by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 529: 257-263.
21. Rodziewicz, L., and I. Zawadzka. (2007). Rapid determination of chloramphenicol residues in honey by liquid chromatography tandem mass spectrometry and the validation of method based on 2002/657/EC. *APIACTA* 42: 25-30.
22. Bogusz, M.J., H. Hassan, E. Al-Enazi, Z. Ibrahim, and M. Al-Tufail. (2004). Rapid determination of chloramphenicol and its glucuronide in food products by liquid chromatography-electrospray negative ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 807: 343-356.

23. Kadim, I.T., O. Mahgoub, W. Al-Marzooqi, R. Al-Maqbaly, K. Annamali, and S.K. Khalaf. (2010). Enzyme linked immunosorbent assay for screening antibiotic and hormone residues in broiler chicken meat in the Sultanate of Oman. *J. Muscle Foods* 21: 243-254.
24. Mahgoub, O., I.T. Kadim, A. Mothershaw, S.A. Al Zaslali, and K. Annamalai. (2006). Use of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibiotic and anabolic residues in goat and sheep meat. *World J. Agr. Sci.* 2: 298-302.
25. Council of the European Communities. (1996). Council regulation (EEC No. 2377/90-laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin, amending regulation no. 1430/94 of 22 June 1994, *Off. J. Eur. Commun.* L156:6.
26. Türk Gıda Kodeksi. 2002a. Tebliğ No. 2002/68. Gıda değeri olan hayvanlara uygulanması yasak olan maddeler hakkında tebliğ. *Resmî Gazete*: 19.12.2002/24968. <http://www.kkgm.gov.tr/teblig/2002-68.html>.
27. Türk Gıda Kodeksi. 2002b. Tebliğ No. 2002/30. Hayvansal kökenli gıdalarda veteriner ilaçları maksimum kalıntı limitleri tebliği. *Resmî Gazete*: 28.04.2002/24739. http://www.kkgm.gov.tr/TGK/Tebliğ/2002-30_son.html.

SÜZME BALLARDA HMF DEĞERİ VE DİASTAZ AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Oral

Seda Dicle KAHRAMAN, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Ankara Üniversitesi
Özlem KÜPLÜLÜ, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Ankara Üniversitesi

Özet

Bu çalışmada, Türkiye'nin farklı illerine ait (Ankara, Antalya, Muğla, Hatay, İzmir, Konya, Adana) çeşitli satış noktalarında orijinal ambalajlarında satışa sunulan ve raf ömrü firmalarca belirlenmiş süzme balların Hidroksi metil furfural (HMF) değerleri ve diastaz aktivitelerinin saptanması, bu değerlere göre balların Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne uygunluğunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, farklı satış noktalarından alınan 25 süzme çiçek ve 25 süzme çam balı olmak üzere toplam 50 adet bal örneğinin HMF değerleri HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), diastaz aktiviteleri UV spektrofotometre ile belirlenmiştir.

Analiz sonuçlarına göre, 25 çiçek balı örneğinin 10'u (% 40) ile 25 çam balı örneğinin 5'inin (% 20) HMF değeri ve/veya diastaz aktivitesi yönünden Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne uygun olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca 4 çiçek ve 4 çam balı örneğinde saptanan sınır değerdeki HMF miktarı ve diastaz aktivitesi, örneklerin son tüketim tarihleriyle birlikte değerlendirilerek balların son tüketim tarihi öncesinde sınır değerleri aşabileceği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak tüketime sunulan süzme ballarda, gerek üretim sırasında uygulanan ısı işlemi, gerekse muhafaza sıcaklığına bağlı olarak artan HMF değeri ile azalan diastaz aktivitesi firmalarca belirlenen raf ömrünü kısaltmaktadır. Balda oluşan HMF'nin gıda güvenliği ve halk sağlığı yönünden potansiyel risk olduğu bilinmektedir. Bala ait uygun üretim ve muhafaza koşulları sağlanarak, başta HMF ve diastaz olmak üzere tüm kalite kriterlerinin Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliği'ne uygunluğu raf ömrünün sonuna kadar hedeflenmelidir.

Anahtar kelimeler: : Bal, HMF, Diastaz aktivitesi, HPLC, Spektrofotometre, Raf ömrü

*Bu bildiri "Süzme Ballarda depolama sıcaklığının HMF Değeri ve Diastaz Aktivitesi Üzerine Etkisi" adlı doktora tez çalışmasının bir bölümünden özetlenmiştir.

Determination of HMF Value and Diastase Activity in Strain Honey

Abstract

The aim of this study was to determine HMF values and diastase activities of the strained honeys collected from various markets in several cities of Turkey (Ankara, Antalya, Muğla, Hatay, İzmir, Konya, Adana) and to evaluate of their suitability to Turkish Food Codex, Honey Directive for the above mentioned criterias. The honey samples were obtained with original package and their shelf lifes were remarked by the companies. A total of fifty honey samples, twenty-five were flower honey and twenty-five were honeydew honey, were analysed for HMF by using HPLC (High Performance Liquid Chromatography) and for diastase activity by using UV spectrophotometer.

According to results, it was observed that the 40 % of flower honey samples (10 samples) and the 20% of honeydew honey samples (5 samples) were not fulfill the HMF value and/or diastase activity standards of Turkish Food Codex. Furthermore, 4 of 25 flower honey and 4 of 25 honeydew honey samples were in critical limits for the mentioned standards, the samples could be evaluated as a non-standard pattern if they were considered with their expiration date.

In conclusion, the shelf life of the products remarked by companies reduce with both heat treatment during process and decreasing diastase activity by the reason of increasing HMF value depending on conservation temperature in consumptive strained honeys. It is known that increased HMF value on the honey is a potential threat for food safety and public health. Hence, the aim must be providing the optimal production and storage conditions for the honey. Thus the suitability of the all quality criterias in particular HMF and diastase to Turkish Food Codex, Honey Directive should be targeted to the end of shelf life.

Key words: Diastase activity, Honey, HMF, HPLC, Shelf life, Spectrophotometer

BÜTÜN HALDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (ONCORHYNCHUS MYKISS, W. 1972) FARKLI KONSANTRASYONLARDAKİ BİBERİYE EKSTRAKTI İLE DEKONTAMİNASYONUN RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

Sunum Tipi: Oral

Abdullah DİKİCİ, Gıda Mühendisliği, Tunceli Üniversitesi
Emine ÖZPOLAT, Avlama ve İşleme Bölümü, Fırat Üniversitesi
Ahmet KOLUMAN, Mikrobiyoloji, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı
Bahri PATIR, Gıda Hijyeni ve teknolojisi, Fırat Üniversitesi
Mehmet ÇALICIOĞLU, Gıda Hijyeni ve teknolojisi, Fırat Üniversitesi

Özet

Bu çalışmada, farklı dozlardaki biberiye ekstraktının (%0.5, %1, %2) sindirim sistemi çıkartılmamış bütün haldeki gökkuşağı alabalıklarının raf ömrü üzerine etkisi incelenmiştir. Her grupta 6'şar adet balık dekontaminantlarla 20 oC'de 2 dakika muamele edilmiş ve polietilen plastik tabaklarda streç film ile kaplandıktan sonra 4 oC'de muhafaza-ya alınmıştır. Örnekler 0., 3., 6., 9., 12. ve 15. günlerde mikrobiyolojik olarak mezofil aerob bakteriler, psikrofil aerob bakteriler, laktik asit bakterileri, *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* sayımları ve kimyasal olarak pH, toplam uçucu bazik azot (TVB-N) ve tiobarbiturik asit (TBA) analizleri yapılmıştır. Mikrobiyolojik örnekler, USDA/FSIS tarafından kanatlı karkasları için onaylanmış metod da değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Bu amaç için yaklaşık 250+25 g ağırlığındaki balıklar karıştırıcı steril poşete konulmuş ve 100 ml peptonlu su ilave edilerek el ile 2 dakika sert şekilde karıştırılmıştır. Kullanılan mikrobiyolojik metodun sonuçları diğer çalışmalardaki veriler ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edildiği saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre gökkuşağı alabalıklarında dekontaminasyon yönteminin raf ömrünü arttırdığı saptanmıştır. Ayrıca kullanılan mikrobiyolojik örnek alma yönteminin kullanım kolaylığı ve sonuçların tutarlılığı yönünden bilimsel çalışmalarda kullanılması tavsiye edilmektedir.

Anahtar kelimeler: Balık, biberiye, dekontaminasyon, raf ömrü, antimikrobiyal.

Effect of different concentrations of Rosemary exctract decontamination on shelf life of whole Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1972)

Abstract

This study was designed to determine effect of decontamination with rosemary extract concentrations (0.5 %, 1 %, 2%) on shelf life of whole Rainbow trouts. Water was applied in control groups. In every group 6 fish were applied decontaminants at 20 oC for 2 min and placed in polyethylene ware and covered with stretch films and stored at 4 oC. Samples were analyzed on the analysis day (day 0), 3th, 6th, 9th, 12th and 15th days of application for mesophilic counts, psychophilic counts, lactic acid bacteria, *Pseudomonas* spp. and *Enterobacteriaceae* for microbiological counts and for chemical quality pH, total volatile alkaline nitrogen (TVB-N), tiobarbituric acid (TBA) were determined. Microbiological samples were evaluated with a modification in USDA/FSIS chicken carcass method. For this purpose samples weighting 250+25 g were put in sterile bags and added 100 ml peptone water and massaged with hand for 2 min. The results of microbiological analysis were similar with the data of other studies. The results of this study indicate that decontamination extends the shelf life of Rainbow trout. Additionally microbiological

sampling protocol which is easy and gives coherent results, can be used in similar studies.

Key words: Fish, Rosemary, Decontamination, Shelf life, antimicrobial

Giriş

Balıklar ve diğer su canlıları insanların protein ihtiyaçlarını karşılama açısından büyük öneme sahiptirler. Hayvansal kaynaklı proteine duyulan dünya ihtiyacının yaklaşık dörtte biri su ürünleri aracılığıyla karşılanmaktadır. Balıklar yaklaşık %11-25 oranında protein içerirler. Su ürünleri proteinini önemli yapan sistin, metionin, treonin, serin, izoleüsin, valin gibi esansiyel aminoasitleri içermesi ve yüksek biyolojik değere sahip olup çok iyi hazmedilebilme özelliğine sahip olmasıdır (Çaklı, 2007). Alabalıklar genelde kırmızı etli balıklar olarak bilinmesine karşılık kültür ortamında et rengi yem rasyonuna bağlı olarak değişim göstermektedir. Et verimi yaklaşık %60,73'tür. Gökkuşağı alabalıklarının hızlı büyümeleri ve besin değerlerinin yüksek olması nedeniyle ülkemizde ve dünyada giderek yetiştiriciliği yaygınlaşan bir türdür. 2008 İstatistiklerine göre ülkemizdeki alabalık üretimi yaklaşık 65.928 tondur (Köprücü ve Özdemir, 2000; Dönmez ve Tatar, 2001; URL, 2010).

Yapısındaki uçucu yağdan kaynaklanan kokusundan dolayı baharat olarak kullanılan biberiye (*Rosmarinus officinalis*) gıdalarda antioksidan olarak kullanılmaktadır. Antioksidan özelliği, içerdiği karnosol, karnosik asit ve rosmarinik asitten kaynaklanmaktadır. Biberiye'nin antioksidan etkisi öncelikle türüne, varyetesine, hasat zamanına, işlem tipine ve gelişme ortamına bağlıdır (Kırıcı ve İnal, 2002; Çoban, 2010).

Su ürünleri sahip olduğu yapısı itibarıyla hızla bozulabilen gıdalardır. Bu sebepten avlandığı andan itibaren hızla işlenmeli ve sağlıklı bir şekilde tüketiciye sunulmalıdır. Bu yüzden çeşitli su ürünleri işleme şekilleri ortaya çıkmış ve bu konuda gelişmelerde devam etmektedir (Varlık vd. 2004). Taze ve işlenmiş alabalıkların raf ömrünü uzatmak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Farklı paketleme yöntemlerinin denemesi, çeşitli katkı maddelerinin kullanımı, ışınlama gibi pek çok yöntemin etkisi araştırılmıştır. Son zamanlarda gıdalarda sentetik maddelerin kullanımlarıyla ilgili muhtemel teratojenik ve karsinojenik etkileri konusunda tartışmalar ortaya atılmıştır. Bu nedenle sentetik maddeler yerine doğal esansiyel yağların kullanılması günümüzde yaygınlık kazanmıştır. Esansiyel yağlar, tek başlarına ya da diğer muhafaza teknikleriyle kombine kullanıldıklarında, gıdaların raf ömrünü artıran doğal antimikrobiklerdir. Esansiyel yağların insan sağlığı açısından, antikanserijen etkiyi de kapsayan çok sayıda olumlu biyolojik etkilere sahip oldukları tespit edilmiştir (Blaszyk, and Holley, 1998, Farag vd.,1989).

Bu çalışmada farklı dozlardaki biberiye ekstraktının (%0.5, %1, %2, kontrol) sindirim sistemi çıkarılmamış gökkuşağı alabalıklarının mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Elazığ bölgesinde kültür alabalık yetiştiriciliği yapan bir işletmeden elde edilen balıklar kullanıldı. Çalışma 3 tekrar halinde yapıldı. Farklı dekontaminatların kullanıldığı 4 deneysel grubun 0., 3., 6., 9., 12. ve 15. günlerinde kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapıldı. Çalışma boyunca toplam 72 adet balık (250+25 g) numunesi değerlendirildi. Çalışmada kullanılan biberiye ekstraktı (Herbalox® Seasoning, Kalsec® Inc, Kalamazoo, MI, USA) suda ve yağda kolayca çözünbilme özelliğine sahip bileşiklerdi.

Deneysel Gruplar

1. Grup: Kontrol (Herhangi bir daldırma işlemi yapılmamış)
2. Grup: %0.5 Biberiye
3. Grup: %1 Biberiye
4. Grup: %2 Biberiye

Yöntem

Her tekrarda bir grup için toplam 6 balık numunesi (0., 3., 6., 9., 12. ve 15. gün) kullanıldı. Balıklar 2 litrelik tankta 20 °C'de 2 dakika dekontamine edildikten sonra polietilen plastik tabaklara yerleştirildi ve üzeri streç filmle kaplandıktan sonra +4 °C'de muhafaza edildi.

Mikrobiyolojik Örnek Alma Yöntemi ve Analizler

Tavuk karkaslarında karkas başına 400 ml steril peptonlu su ilave edilip 2 dakika çalkalama sonrası, çalkalama sıvısından örnek alma metodu (USDA/FSIS, 2002) modifiye edilerek kullanıldı. Bu amaçla yaklaşık 200 g ağırlığındaki sindirim sistemi çıkartılmamış balık karkaslarına 100 ml steril peptonlu su ilave edilip 2 dak. elde sert bir şekilde çalkalandı. Çalkalama sıvısından 1/10'luk düzende 1/108'e kadar seyreltilerek çeşitli bakteriler için ekimleri yapıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Mikrobiyolojik analizler için kullanılan besiyeri, inkübasyon yöntemi ve referanslar.

Mikroorganizma	Besiyeri	İnkübasyon		Referans
		*C	Zaman	
Mezofil aerob bakteri	Plate count agar (PCA)	30	72 saat	Jayz (2002)
Psikrofil aerob bakteri	Plate count agar (PCA)	7	10 gün	Cousin ve ark. (2001)
Enterobacteriaceae	Violet red bile glucose agar (VRBGA)	35	24 saat	Baired ve ark. (1987)
Laktik asit bakterisi	Man, Rogosa, Sharpe (MRS) agar	30	72 saat	Baired ve ark. (1987)
Maya	Rose Bengal Agar Base (RBC), Kloramfenikol katkı ilaveli	25	3-5 gün	Zeitoun ve Debevere (1990)
Pseudomonas spp.	Pseudomonas Agar Base, cetrimide, fucidin, and cephaloridine (CFC) katkı ilaveli	25	48 saat	Sallam (2007)

Kımyasal Analizler

pH ölçümü taze balıkların anterior-dorsal bölgelerinde bulunan kaslardan cam elektrodun (pH 2001, Selecta, Spain) direkt batırılması sonu elde edilmiştir. Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) miktarları su buharı distilasyonu cihazı kullanılarak Varlık vd. (1993) bildirdiği yöntemle göre belirlendi. TBA sayısı ise, spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve 1000 g örnekteki malonaldehit miktarı üzerinden hesaplanmıştır (Tarlacıs vd. 1960).

İstatistiksel Analiz

Log10 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 interaksyonlar 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 System (SAS) programı kullanıldı.

Bulgular

Kimyasal ve mikrobiyolojik sonuçlar tablo 2 ve tablo 3'de verilmiştir.

Tartışma

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlardaki biberiye ekstraktının (%0.5, %1, %2) organları çıkarılmamış bütün haldeki gökkuşağı alabalıklarında raf ömrü üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırmada farklı bir mikrobiyolojik örnek alma metodu kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm deneysel gruplar içerisinde özellikle %2 biberiye ekstraktı ile dekontamine edilen grubun kontrol grubu ile arasında mikrobiyolojik yönden istatistiksel anlamda önemli bir fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Kullanılan mikrobiyolojik metodun bu konuda yapılan diğer çalışmalar ile uyum içinde olduğu saptanmıştır (Sallam, 2007; Yalçın ve Arslan, 2011; Zeitoun ve Debevere, 1990). Özellikle uygulama kolaylığı nedeniyle ve yüzey örnekleme metodu ile alınan örneklerle arasında uyumsuzluk bulunmamasından dolayı bu yeni metodun laboratuvarlarda örnek almak amacıyla kullanılması tavsiye edilmektedir.

Kaynaklar

- Blaszyk M. and Holley R.A. (1998). Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 39, 175-183.
- Çaklı Ş. (2007). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Ege Üniversitesi Yayınları. Su Ürünleri Fakültesi Yayın No: 76 Bornova-İzmir.
- Çoban Ö. (2010). Bazı esansiyel yağların tütsülenmiş ve vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının raf ömrüne etkisi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 121s.
- Dönmez M. ve Tatar O. (2001). Fileto ve bütün olarak dondurulmuş Gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) muhafazası süresince yağ asitleri bileşimindeki değişimlerin araştırılması. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18 (1-2), 125-134.
- Farag R.S., Daw Z.Y., Hewedi F.M. and El-Baroty G.S.A. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, 52 (9), 665-667.
- Kıncı, S. ve İnan M. (2002). Effect of Different harvesting time on the essential oil content of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in the Çukurova conditions, In Proceedings of the Workshop on Agricultural and Quality Aspects of Medicinal and Aromatic plants, Adana, May 29-June 01-2001.
- Köprücü K. ve Özdemir Y. (2000). Farklı esansiyel amino asit düzeylerinin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın büyüme performansına etkisi. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 12(1), 353-362.
- Sallam K.I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18, 566-575.
- Tarladgis B.G., Watts B.M., Yountnathan M.T., Dugan L.R. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc*, 37, 44-48.
- URL, 2010. www.tuik.gov.tr
- Varlık C., Erkan N., Özden Ö., Mol S. ve Baygar T. (2004). Su Ürünleri İşleme, Teknolojisi. İstanbul Üniv., Su Ürünleri Fak., İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, 491s.
- Varlık C., Uğur M., Gököğlu N. ve Gün H. (1993). Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:17, İstanbul.
- Yalçın H., Arslan A. (2011). *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* İle Kontamine Edilmiş Broiler Karkaslarında Laktik Asit, Cetylpyridinium Chloride ve Trisodyum Fosfat'ın Tekil ve Kombine Etkilerinin İncelenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 17(4): 625-630.
- Zeitoun A.A.M., Debevere J.M. (1990). The effect of treatment with buffered lactic acid on microbial decontamination and on shelf life of poultry. *International Journal of Food Microbiology*, 11, 305-311

Tablo 2. Farklı dekontaminantlar ile muamele sonucu organları çıkartılmamış gökkuşağı alabalıklarındaki mikrobiyolojik değişimler (log10 kob/ml) (n:3, N:2).

	Gün	Kontrol	Biberiye %0.5	Biberiye %1	Biberiye %2
Aerobik Mezofil Canlı Sayısı	0	3.8±0.22 ^{aY}	3.01±0.2 ^{aXY}	2.58±0.28 ^{aX}	2.76±0.31 ^{aX}
	3	5.29±0.27 ^{bY}	4.78±0.22 ^{bY}	3.76±0.1 ^{bX}	3.51±0.15 ^{bX}
	6	6.78±0.48 ^{cZ}	5.35±0.19 ^{cY}	4.34±0.29 ^{cX}	4.85±0.14 ^{cXY}
	9	7.59±0.17 ^{dZ}	6.27±0.38 ^{dY}	5.92±0.31 ^{dXY}	5.5±0.49 ^{dX}
	12	8.84±0.24 ^{eY}	8.03±0.29 ^{eX}	7.5±0.2 ^{eX}	7.51±0.38 ^{eX}
	15	9.8±0.38 ^{fZ}	9.11±0.34 ^{fY}	8.78±0.42 ^{fXY}	8.43±0.29 ^{fX}
Aerobik Psikrofil Bakteri Sayısı	0	3.08±0.61 ^{aY}	2.26±0.13 ^{aX}	2.00±0.51 ^{aX}	1.9±0.77 ^{aX}
	3	4.28±0.13 ^{bY}	3.48±0.26 ^{bXY}	3.37±0.13 ^{bX}	2.89±0.21 ^{bX}
	6	6.24±0.54 ^{cY}	4.96±0.46 ^{cX}	4.77±0.27 ^{cX}	4.48±0.23 ^{cX}
	9	7.39±0.21 ^{dY}	5.77±0.18 ^{dX}	5.49±0.21 ^{dX}	5.31±0.33 ^{dX}
	12	7.95±0.67 ^{eY}	6.69±0.22 ^{eX}	6.45±0.3 ^{eX}	6.1±0.39 ^{eX}
	15	9.11±0.24 ^{fY}	8.09±0.39 ^{fX}	7.96±0.56 ^{fX}	7.72±0.16 ^{fX}
Laktik Asit Bakterisi	0	3.51±0.37 ^{aZ}	3.07±0.14 ^{aY}	2.98±0.19 ^{aXY}	2.6±0.53 ^{aX}
	3	4.59±0.31 ^{bZ}	4.15±0.14 ^{bY}	3.49±0.53 ^{bX}	3.63±0.57 ^{bX}
	6	5.7±0.21 ^{cY}	5.69±0.44 ^{cY}	4.8±0.18 ^{cX}	4.39±0.32 ^{cX}
	9	6.57±0.69 ^{dY}	6.35±0.65 ^{dXY}	5.98±0.21 ^{dXY}	5.5±0.79 ^{dX}
	12	7.65±0.53 ^{eX}	7.6±0.51 ^{eX}	7.25±0.77 ^{eX}	7.14±0.32 ^{eX}
	15	8.38±0.27 ^{fX}	8.49±0.75 ^{fX}	8.36±0.24 ^{fX}	8.01±0.13 ^{fX}
<i>Pseudomonas</i> spp.	0	1.92±0.18 ^{aY}	1.29±0.52 ^{aXY}	1.21±0.57 ^{aXY}	0.96±0.4 ^{aX}
	3	2.85±0.43 ^{bY}	1.75±0.75 ^{aX}	2.2±0.11 ^{bXY}	1.56±0.68 ^{bX}
	6	3.83±0.11 ^{cY}	2.59±0.12 ^{bX}	2.95±0.23 ^{bX}	2.78±0.18 ^{bX}
	9	4.88±0.16 ^{dY}	4.56±0.36 ^{cY}	4.11±0.21 ^{cXY}	3.57±0.26 ^{cX}
	12	6.49±0.42 ^{eY}	6.06±0.34 ^{dXY}	5.22±0.19 ^{dX}	5.29±0.19 ^{dX}
	15	7.53±0.19 ^{fY}	7.08±0.27 ^{eY}	6.24±0.15 ^{eX}	6.11±0.25 ^{eX}
Enterobacteriaceae	0	1.82±0.61 ^{aY}	1.82±0.13 ^{aY}	1.33±0.11 ^{aXY}	1.07±0.31 ^{aX}
	3	2.54±0.29 ^{abY}	2.25±0.27 ^{aXY}	2.5±0.65 ^{bY}	1.66±0.13 ^{abX}
	6	3.03±0.13 ^{bY}	2.35±0.37 ^{aXY}	3.39±0.35 ^{cY}	2.28±0.1 ^{bX}
	9	4.55±0.19 ^{cY}	4.02±0.54 ^{bXY}	4.29±0.27 ^{dXY}	3.52±0.19 ^{cX}
	12	6.15±0.29 ^{dY}	6.44±0.35 ^{cY}	6.03±0.27 ^{cY}	4.97±0.19 ^{dX}
	15	6.91±0.42 ^{eXY}	7.45±0.19 ^{dY}	7.03±0.51 ^{fXY}	6.3±0.14 ^{eX}
Maya	0	2.14±0.78 ^{aY}	1.91±0.54 ^{aXY}	1.37±0.13 ^{aXY}	1.02±0.39 ^{aX}
	3	2.18±0.1 ^{aX}	2.49±0.14 ^{aX}	1.82±0.14 ^{aX}	1.76±0.51 ^{abX}
	6	3.02±0.22 ^{bXY}	3.6±0.25 ^{bY}	2.97±0.2 ^{bXY}	2.54±0.13 ^{bX}
	9	3.6±0.24 ^{bX}	4.18±0.2 ^{bX}	3.99±0.43 ^{aX}	3.38±0.23 ^{bX}
	12	5.14±0.34 ^{cXY}	5.42±0.12 ^{cY}	4.84±0.11 ^{cdXY}	4.39±0.33 ^{cX}
	15	6.37±0.19 ^{dY}	6.16±0.15 ^{cY}	5.6±0.22 ^{dXY}	5.2±0.12 ^{cX}

abcd: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).
XYZW: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).

Tablo 3. Farklı dekontaminantlar ile muamele sonucu bütün haldeki gökkuşağı alabalıklarındaki kimyasal değişimler (n:3, N:2).

	Gün	Kontrol	%0.5 Biberiye	%1 Biberiye	%2 Biberiye
pH	0	6.51±0.16 ^{aX}	6.51±0.11 ^{aX}	6.53±0.39 ^{aX}	6.5±0.17 ^{aX}
	3	6.48±0.19 ^{aX}	6.52±0.12 ^{aX}	6.53±0.09 ^{aX}	6.53±0.22 ^{aX}
	6	6.47±0.24 ^{abX}	6.54±0.2 ^{aX}	6.55±0.18 ^{aX}	6.56±0.26 ^{aX}
	9	6.43±0.2 ^{abX}	6.57±0.07 ^{aY}	6.56±0.15 ^{abY}	6.58±0.22 ^{abY}
	12	6.4±0.29 ^{abX}	6.58±0.18 ^{aY}	6.62±0.23 ^{abY}	6.65±0.46 ^{bY}
	15	6.36±0.28 ^{bX}	6.59±0.19 ^{aY}	6.65±0.15 ^{bY}	6.61±0.11 ^{abY}
TVB	0	4.27±0.2 ^{aX}	4.42±0.31 ^{aX}	4.37±0.17 ^{aX}	4.12±0.15 ^{aX}
	3	8.03±1.42 ^{aY}	8.29±0.58 ^{bY}	8.13±0.42 ^{bY}	5.93±0.93 ^{abX}
	6	11.54±1.86 ^{bY}	10.54±0.65 ^{cY}	11.33±0.45 ^{cY}	7.61±0.25 ^{bX}
	9	14.72±2.4 ^{cZ}	12.98±0.37 ^{dY}	15.62±0.55 ^{dZ}	10.32±0.52 ^{cX}
	12	17.82±2.24 ^{dXY}	18.21±0.65 ^{cY}	17.05±0.69 ^{eXY}	15.73±1.13 ^{dX}
	15	21.18±1.51 ^{eY}	20.81±1.51 ^{cY}	19.24±0.61 ^{cXY}	18.38±1.41 ^{cX}
TBA	0	0.34±0.13 ^{aX}	0.29±0.11 ^{aX}	0.3±0.09 ^{aX}	0.29±0.1 ^{aX}
	3	0.36±0.12 ^{aX}	0.44±0.12 ^{aX}	0.43±0.16 ^{aX}	0.49±0.15 ^{aX}
	6	1.16±0.32 ^{bX}	0.99±0.23 ^{bX}	1.41±0.29 ^{bX}	1.12±0.47 ^{bX}
	9	2.62±0.54 ^{cY}	2.76±0.43 ^{cY}	1.76±0.59 ^{cX}	1.79±0.35 ^{cX}
	12	4.89±0.72 ^{dY}	3.84±0.43 ^{dX}	3.58±0.95 ^{dX}	3.15±0.95 ^{dX}
	15	6.74±0.77 ^{eY}	5.91±0.93 ^{cXY}	5.07±0.97 ^{cX}	5.12±0.89 ^{cX}

abcd: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).

XYZW: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).

SOĞUKTA DEPOLANAN PSE HİNDİ VE TAVUK GÖĞÜS ETLERİNİN BAZI MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Oral

Ahmet YAMAN, Gıda Mühendisliği, Abant İzzet Baysal Üniversitesi
Kezban CANDOĞAN, Gıda Mühendisliği, Ankara Üniversitesi

Özet

PSE (pale, soft, exudative- soluk, yumuşak, sulu) et, stres oluşturan koşullar karşısında kasaplık hayvanların kesiminden sonra glikolizin çok hızlı gelişmesi sonucu, et pH'sının normal düzeyin altına düşmesi olarak tanımlanan bir kalite kusurudur. Dünyada daha çok domuz etinde görülen bu kusurun, son yıllarda tavuk ve hindi etlerinde de sorun teşkil ettiği ve önemli ölçüde ekonomik kayba neden olduğu bildirilmektedir. PSE etler soluk rengi, zayıf tekstürü ve düşük su tutma kapasitesiyle karakterize edilir ve etin pH, gevreklik ve marinyasyon verimi gibi birçok fonksiyonel özelliğini olumsuz yönde etkiler. Şu ana kadar PSE kanatlı etleri üzerine yapılan çalışmalarda bu kusurun mikrobiyolojik özellikler üzerine etkisinin belirlendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, PSE ve normal hindi ve tavuk göğüs etlerinin soğuk depolama süresince mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesidir. İşletmelerde nihai pH ve CIE açıklık-koyuluk (L^*) değerlerine göre sınıflandırılan normal ($pH > 5,8$ ve $L^* < 54$) ve PSE ($pH < 5,8$ ve $L^* > 54$) hindi ve tavuk göğüs etleri, ayrı ayrı porsiyonlara ayrılarak strafor tabaklarda ambalajlanmış, 40C'de depolama süresince 0., 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerde, pH değeri ile toplam mezofilik aerob, toplam psikrofilik aerob, toplam koliform ve *S. aureus* bakteri sayıları belirlenmiştir. PSE ve normal hindi göğüs etlerinde başlangıçta sırasıyla ortalama 5,69 ve 5,97; tavuk göğüs etlerinde sırasıyla ortalama 5,66 ve 6,06 olarak belirlenen pH değerleri depolama süresince önemli bir değişim göstermemiştir. Özellikle soğuk depolamanın ilk periyotlarında PSE etlerin normal etlere göre daha yüksek bakteri sayılarına sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: tavuk eti, hindi eti , soluk, yumuşak, sulu (PSE) et, mikrobiyolojik kalite

Determination of Some Microbiological Characteristics of PSE Turkey and Chicken Meats During Refrigerated Storage

Abstract

PSE (pale, soft, and exudative) meat is a quality default characterized by ultimate meat pH lower than normal as a result of rapid postmortem glycolysis development when the animals are subjected to stress. In pork this phenomenon is well known all over the world whereas in chicken and turkey it has discovered recently, and research in poultry area has been directed to the PSE incidence in chicken and turkey meat. PSE meat is characterized by meat's pale color, soft texture and poor water holding capacity, and this phenomenon has a negative impact on the functional characteristics of the meat. To the best of our knowledge, no research has been conducted on microbiological characteristics of PSE poultry meats during refrigerated storage. The aim of the present study was to evaluate some microbiological characteristics of PSE and regular (control) chicken and turkey breast meats during refrigerated storage. PSE and control chicken and turkey breast meats classified in the processing plants according to ultimate pH and CIE lightness (L^*) values were cut into pieces, packaged in polystyrene trays individually, and the pH, and counts of total mesophilic aerobic bacteria, total psychrophilic aerobic bacteria, total coliform and *S. aureus* were determined at Days 0, 2, 4, 6, 8 and 10 of refrigerated storage at 4°C. Initial pHs of PSE and control turkey and chicken breast meats measured as an average of 5.69 and 5.97, and 5.66 and 6.06, respectively, did not show significant change over the refrigerated storage. PSE meats possessed generally higher microbial counts as compared to control meats, particularly at early periods of storage

Keywords: chicken meat, turkey meat, pale soft exudative (PSE) meat, microbiological quality

PERAKENDE SÜT ÜRÜNLERİNDE LİSTERİA SPP. VE LİSTERİA MONOCYTOGENES VARLIĞININ VIDAS VE ISO 11290-1 İLE BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Oral

Seran Temelli¹, Zafer Ata^{1, 2 *}, Ayşegül Eyiğör¹

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

² Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkezi Komutanlığı, Gemlik, Bursa

Bu çalışmada, İnsan sağlığı yönünden önem arz eden infeksiyonlara neden olan *Listeria monocytogenes*'in ve diğer *Listeria* türlerinin perakende süt ürünlerindeki varlığının VIDAS hızlı deteksiyon metodu ve ISO 11290-1 standart metodu ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Bursa bölgesi perakende satış yerlerinden rastgele örnekleme ile alınan 100 adet süt ürünü örneği (10 pastörize süt, 10 kaşar peyniri, 20 beyaz peynir, 18 mihalic peyniri, 12 lor peyniri, 20 dondurma, 10 tereyağı) VIDAS LDUO ve ISO 11290-1 metotları ile analiz edilmiştir.

Çalışma sonucunda, incelenen süt ürünlerinden sadece bir adet mihalic peyniri örneği (% 1) her iki metotla hem *Listeria* spp. hem de *Listeria monocytogenes* varlığı yönünden pozitif bulunmuştur. Bu durum, çiğ süttten üretilen peynirlerin bu patojenin varlığı yönünden tehlike oluşturabileceğinin göstergesidir.

Anahtar kelimeler: *Listeria*, süt ürünü, VIDAS, ISO 11290-1

Detection of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* In Retail Dairy Products by VIDAS and ISO 11290-1

This study aims to determine the presence of *Listeria monocytogenes*, an important infectious agent in humans, and other *Listeria* spp. in retail dairy products by VIDAS rapid detection method and ISO 11290-1 standard method. One hundred dairy products (10 pasteurized milk, 10 kashar cheese, 20 white cheese, 18 mihalic cheese, 12 curd cheese, 20 ice cream, 10 butter), collected randomly from food stores in Bursa, were analyzed by VIDAS LDUO and ISO 11290-1 methods.

Results showed that one dairy sample (1%), a mihalic cheese, was positive for both *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*. This finding is an indication of hazard in cheese manufactured from raw milk for the presence of this pathogen.

Giriş

Gıdaların *Listeria* türleri ile sıklıkla kontamine olması ve özellikle patojen bir tür olan *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) ile kontaminasyonu, halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır (17). *Listeriosis* insanlarda risk grubu olarak adlandırılan gençler, yaşlılar, immun sistemi baskılanmış bireyler ve hamilelerde mortalitenin artmasına neden olmaktadır (7). Avrupa'da, *listeriosis* insidansı 2000 yılında 100,000'de 0.1 vaka iken 2006'da 0.3 vakaya yükselmiştir (4). Son 30 yıl içinde dünyada farklı ülkelerden (33), örneğin 1985 yılında California'dan (18), 2001'de Japonya'dan (20), 2008'de de Kanada'dan (24) süt ürünlerine bağlı rapor edilen salgınlar, özellikle bu gıda grubunun *listeriosis* salgınlarında ve vakalarında önemli bir kaynak olduğunu göstermektedir (6, 23).

Halk sağlının korunması ve ekonomik kayıpların azaltılması için üretimden tüketime hijyenik kurallara uyulması, bunun yanı sıra Gıda Mevzuatı kapsamında risk analizini esas alan resmi kontrollerin 'uluslararası kabul görmüş yöntemlerle' hızlı, güvenilir ve ekonomik olarak yapılması ülkemizde de yasal bir zorunluluk haline gelmiştir. Nitekim; Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (2001/19) (29)' nde *L. monocytogenes*'in gıdaların 25 g'ında bulunmaması gerektiği bildirilmektedir.

Günümüzde gıdalarda *L. monocytogenes* aranmasında, Amerika Birleşik Devletleri'nde FDA-BAM ve AOAC; Avrupa Birliği'nde ise ülkelere göre farklılık göstermekle birlikte ISO 11290-1 Standardı uygulanarak mikrobiyolojik yönden analiz edilmesi gerekmektedir. Bu konvansiyonel yöntemler 'gold standard' yöntemler olarak kabul edilmektedir. Ancak, bu yöntemlerin dezavantajları uzun zaman (4-6 gün) almaları ile gıda türüne göre izolasyon ve identifikasyonda farklı yollar izlenmesi gerekliliğidir. Bu ve benzeri nedenlerle günümüzde gıdalarda *Listeria spp.* ve *L. monocytogenes* aranmasında sensitivite ve spesifisite açısından standard yöntemlere eşdeğer olduğu bildirilen, çok daha az komplike, tam otomatize, hızlı (2 gün) ve daha az iş gücü gerektiren Enzyme Linked Fluorescent Immuno Assay (ELFA) temeline dayalı bir sistem olan VIDAS sistemi (12,21,22,25,26,27,28,30,32) başarı ile uygulanmaktadır.

Bu çalışmada, insan sağlığı yönünden önem arz eden infeksiyonlara neden olan *L. monocytogenes*'in ve diğer *Listeria* türlerinin perakende süt ürünlerindeki varlığının VIDAS hızlı deteksiyon metodu ve ISO 11290-1 standart metodu ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Gereç

Örnekler

Çalışmada Bursa bölgesindeki perakende satış yerlerinden 100 adet süt ürünü örneği (10 pastörize süt, 10 kaşar peyniri, 20 beyaz peynir, 18 mihalıc peyniri, 12 lor peyniri, 20 dondurma, 10 tereyağı) orijinal ambalajlarında steril örnek alma koşulları göz önünde bulundurularak alınmış ve +4°C'deki saklama kutularında laboratuara getirilerek en fazla bir saat içerisinde incelemeye alınmıştır.

***Listeria monocytogenes* standart suşu**

L. monocytogenes ATCC 7677, Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi, Ankara, Türkiye'den tedarik edilmiş ve ISO 11290-1 standart metodu ve VIDAS LDUO protokolü uygulamalarında pozitif kültür olarak kullanılmıştır.

Yöntem

Süt ürünü örnekleri, Şekil'de verilen ISO 11290-1 standart metodu ve VIDAS LDUO protokolü doğrultusunda test edildi. ISO 11290-1 standart metodu uygulanmasında alınan 25 ml/g süt ürünü örneği 225 ml Half Fraser Broth (Oxoid CM0895B)'da homojenize edildikten sonra 30°C'de 24 saat ön zenginleştirmeye bırakıldı. İnkübasyon sonunda, ön zenginleştirmeden 0.1 ml 10 ml Fraser Broth'a (Oxoid CM0895B) inokule edilerek 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Ön ve selektif zenginleştirme aşamalarından ALOA (Chromogenic *Listeria* Agar [ISO], Oxoid CM1084B) ve Oxford (*Listeria* Selective Agar Base, Oxford, Oxoid CM856B) Agarlara ekim yapılan ve sırasıyla, 37°C'de 48 saat ve 35°C'de 48 saat bekletilen pleytlerdeki tipik üreyen koloniler biyokimyasal identifikasyona (API *Listeria*, Biomerieux 10300) tabi tutuldu. *Listeria spp.* ve *L. monocytogenes* olarak identifiye edilen izolatların uygun koşullarda stok kültürü oluşturuldu (1).

VIDAS LDUO protokolünde 25 ml/g süt ürünü örneği 225 ml *Listeria* XPress Broth (LX Broth, Biomerieux 42626)'da homojenize edildikten sonra 30°C'de 24 saat ön zenginleştirmeye bırakıldı. İnkübasyon sonunda, ön zenginleştirmeden 0.1 ml, 6 ml LX Broth'a (Biomerieux 42117) inokule edilerek 30°C'de 24 saat inkübe edildi.

Zenginleştirme aşamasından sonra 1 ml örnek 95°C'de 5 dakika ısıtıldı (kalan zenginleştirme kültürü +4°C'de bekletildi), oda sıcaklığına soğutulduktan sonra 500 µl'si VIDAS LDUO stripine (Biomerieux 30225) inokule edilerek miniVIDAS cihazına yerleştirildi (Biomerieux, Marcy L'Etoile, France). Elde edilen ≥ 0.05 rölatif floresan değeri örnek için olası pozitif kabul edilerek *Listeria* spp. (DLIS) ve *L. monocytogenes* (DLMO) yönünden doğrulama aşamasına geçildi. Bunun için örneğe ait +4°C'de bekletilen zenginleştirme kültüründen Ottaviani Agosti Agar (OAA Biomerieux 43641) ve Oxford Agar (*Listeria* Selective Agar Base, Oxford, Oxoid CM856B) selektif besli yerlerine ekim yapıldı ve 37°C'de 24 saat bekletildi. Pleytlerde tipik üreyen koloniler biyokimyasal identifikasyona (API *Listeria*, Biomerieux 10300) tabi tutuldu. *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* olarak identifiye edilen izolatların uygun koşullarda stok kültürü oluşturuldu.

Bulgular ve Tartışma

Çalışma sonucunda, incelenen süt ürünlerinden sadece bir adet mihaliç peyniri örneği (% 1) ISO 11290-1 standart metodu ve VIDAS LDUO metodu ile hem *Listeria* spp. hem de *L. monocytogenes* varlığı yönünden pozitif bulunmuştur. Ülkemize özgü çiğ süttten yapılan ve tuz oranı yüksek bir peynir olan Mihaliç peynirinde *L. monocytogenes*'in pozitif bulunması, bu patojenin çiğ sütte yaygın olarak bulunmasının, geniş pH aralıklarında üreyebilmesinin ve % 10-25 tuz içeren ortamlarda canlılığını sürdürebilmesinin bir göstergesidir. Bulgularımız Arda ve ark. (2) tarafından 186 sert peynir örneğinde % 2.7, Jacobsen ve ark. (11) tarafından çiğ inek sütünden yapılan peynirlerde % 1.4 ve Little ve ark. (19) tarafından çiğ süttten yapılan peynirlerde % 1 oranında rapor edilen *L. monocytogenes* sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Çalışmada incelenen pastörize süt örneklerinin hiçbirinde *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* bulunmamıştır. Bu sonuç Kells ve Gilmour (15)'un pastörize sütlerde % 5.6 ve % 0 olarak rapor ettiği *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes*, oranlarına göre düşük bulunmaktır. Araştıncılar pastörize sütlerde *Listeria* spp.'nin bulunmasının pastörizasyon sonrası şişelerden kaynaklanan bir kontaminasyondan kaynaklandığını belirtmişlerdir. Nitekim süt ve süt ürünlerinden kaynaklanan *Listeria* infeksiyonlarında özellikle pastörizasyon sonrasında süt işletmelerindeki alet-ekipmandan kaynaklanan kontaminasyonların büyük önem taşıdığı bilinmektedir.

İncelenen 10 adet kaşar peyniri örneğinde *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* bulunmaması sert ve yarı sert peynirlerde *L. monocytogenes* bulunmadığını bildiren Johansson ve ark. (13)'nın bulguları ile paralellik göstermektedir. Bulgularımızın aksine ülkemizde kaşar peyniri örnekleri ile yapılmış olan iki çalışmada *L. monocytogenes* oranı Dümen ve ark. (5) tarafından % 2.7, Oktay ve Heperkan (22) tarafından ise % 7.1 olarak belirtilmiştir.

Her iki yöntemle test edilen 12 adet lor peynirinde *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* bulunmamıştır. Bulgularımız Uysal ve Anđ (31) tarafından *L. monocytogenes* varlığının incelendiği çalışma ile uyum göstermekte, Gebretsadık ve ark. (9)'nın Cottage peynirlerinde % 4 oranında *Listeria* spp. ve % 1 oranında *L. monocytogenes* tespit ettikleri çalışma ile uyum göstermemektedir.

Benzer şekilde çalışmada test edilen 20 adet beyaz peynir örneğinde, *Listeria* spp. ve patojen tespit edilmemiştir. Bu bulgu, Johansson ve ark. (13)'nin taze peynirlerde *L. monocytogenes* oranını % 0 olarak belirledikleri çalışma ile benzerlik göstermekte olup, *L. monocytogenes* varlığı ile ilgili diğer çalışmalardan Little ve ark. (19) tarafından pastörize sütlerden yapılan peynirlerde % 0.2, Frece ve ark. (8) tarafından taze peynirlerde % 3, Dümen ve ark. (5) tarafından % 2, Kara ve ark. (14) tarafından % 2.94 ve Uysal ve Anđ (31) tarafından % 4 olarak buldukları sonuçlardan daha düşük bulunmuştur.

Bu çalışmada, dondurmalarda *Listeria* spp ve *L. monocytogenes*'e rastlanmamış olup bulgularımız Keskin ve ark. (16)'nın bulguları ile uyumludur. Bunun aksine sade ve meyveli dondurma örneklerinde Gönülalan ve Gönülalan (10) tarafından *Listeria* spp.'nin varlığı % 18 olarak rapor edilirken başka bir çalışmada (3) bu oran % 1,36 olarak belirtilmiştir.

Çalışmada tereyağı örneklerinin hiçbirinde *Listeria* spp ve *L. monocytogenes*'e bulunmamış olup bulgularımız Oktay ve Heperkan (22)'in bulguları ile benzerlik göstermektedir. Krema örnekleri ile yapılan diğer bazı çalışmalarda ise *L. monocytogenes* oranı Uysal ve Anç (31) tarafından % 12, Dümen ve ark. (5) tarafından % 1 ve Frece ve ark. (8) tarafından % 8,3 olarak bulunmuştur.

Çalışmada elde ettiğimiz bulgular ile diğer araştırmacıların bulguları arasındaki farklılıkların başlıca alınan örnek tipli, kullanılan analiz metodu, örneklerin üretim koşul ve teknolojilerindeki farklılık, saklama koşulları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada, test edilen örneklerden sadece mihaliç peynirinde *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* tespit edilmesi, özellikle çiğ süttan üretilen peynirlerin bu patojenin varlığı yönünden halen bir tehlike kaynağı oluşturabileceğinin göstergesidir.

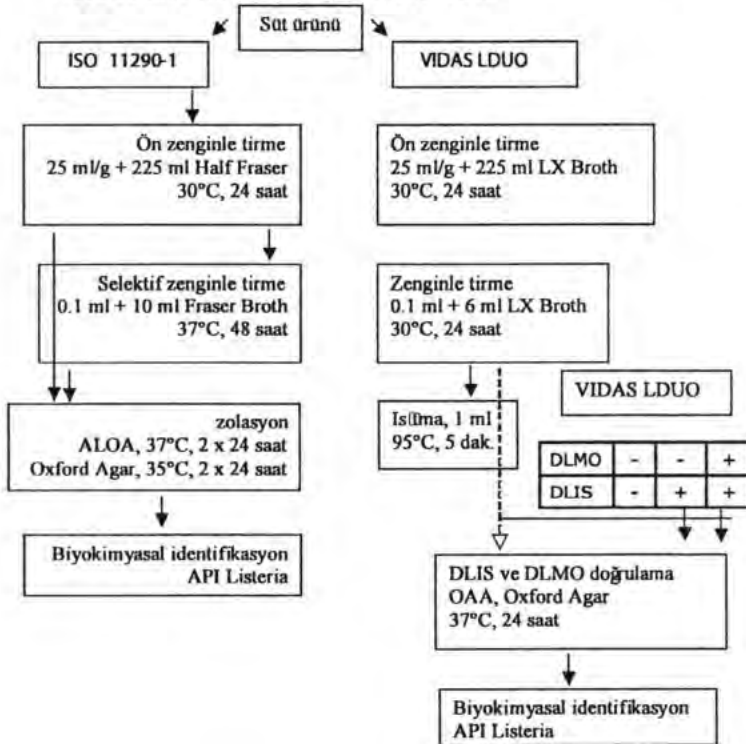
Süt ve ürünlerinin üretiminde işletme teknolojisinin hijyen koşullarına uygun olması ve özellikle ham madde olarak kullanılan tüm materyalde ve sütte *L. monocytogenes* kontaminasyonunun olmaması, üretimde pastörizasyonun yeterli düzeyde uygulanması ve pastörizasyon sonrası işlenecek süte kontaminasyonun üretim sonrasında, paketieme, depolama, taşıma, toptan/perakende satış aşamalarında da engellenmesi, bu patojenin son ürünlerdeki varlığının önüne geçilmesi açısından alınması gereken en önemli tedbirlerdir.

Kaynakça

1. Anonymous. (2004). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*, Part 1: Detection method Amendment 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data, Vol. EN ISO 11290-1: 1996/A1: 2004. European Committee for Standardization-Brussels.
2. Arda G., Özsoy M.F., Koçak N., Çavuşoğlu Ş., Keskin K. ve Yenen O.Ş. (1996). Süt ve süt ürünlerinde *Listeria* araştırılması. *Klinik Dergisi*, 9, 152-155.
3. Arslan A., Gönülalan Z., Ateş G. and Güven A. (1996). Determination of *Listeria*, *Salmonella*, *E.coli* Type 1 and *K.pneumoniae* in Ice cream samples marketed in Elazığ. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 20, 109-112.
4. Denny D. and McLauchlin J. (2008). Human *Listeria monocytogenes* infections in Europe - An opportunity for improved European surveillance. *Eurosurveillance*, 13, 1-3.
5. Dümen E., Issa G., İkiz S., Bağcıgil F., Özgür Y., Kahraman T., Ergin S. and Yeşil O. (2011). Determining existence and antibiotic susceptibility status of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy products; serological and molecular typing of the isolates. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17 (Suppl A), 111-119.
6. EFSA, A.E.d.S.d.A., (2007). Rapport annuel de l'EFSA-ECDC sur les infections transmissibles de l'animal à l'homme. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753816_1178671312912.htm
7. Farber, J.M. and Peterkin, P.I. (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 55, 476-511.
8. Frece J., Markov K., Cvek D., Kolarec K. and Delas F. (2010). Comparison of conventional and molecular methods for the routine confirmation of *Listeria monocytogenes* in milk products produced domestically in Croatia. *Journal of Dairy Research*, 77, 112-116.

9. Gebretsadik S., Kassa T., Alemayehu H., Huruy K. and Kebede N. (2011). Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in foods of animal origin in Addis Ababa, Ethiopia. *Journal of Infection and Public Health*, 4, 22-29.
10. Gönülalan S. and Gönülalan Z. (2010). Detection of *Listeria monocytogenes* in ice cream samples retailed in Kayseri city of Turkey. *Journal of Health Sciences*, 19, 191-195.
11. Jakobsen R.A., Heggebø R., Sunde E.B. and Skjervheim M. (2011). *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. *Food Microbiology*, 28, 492-496.
12. Jasson V., Jaccxsens L., Luning P, Rajkovic A. and Uyttendaele M. (2010). Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. *Food Microbiology*, 27, 710-730.
13. Johansson T. (1998). Enhanced detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* from foodstuffs and food-processing environments. *International Journal of Food Microbiology*, 40, 77-85.
14. Kara A.A., Algur Ö.F. ve Kaya M. (1999). Erzurum piyasasından temin edilen beyaz ve civil peynirlerden, *Listeria* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu. *Turkish Journal of Biology*, 23, 331-337.
15. Kells J. and Gilmour A. (2004). Incidence of *Listeria monocytogenes* in two milk processing environments, and assessment of *Listeria monocytogenes* blood agar for isolation. *International Journal of Food Microbiology*, 91, 167-174.
16. Keskin Y., Başkaya R., Özyaral O. ve Kıyan P. (2007). Sade dondurmaların mikrobiyolojik incelenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37, 51-58.
17. Lianou A. and Sofos J.N. (2007). A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. *Journal of Food Protection*, 70, 2172-2198.
18. Linnan M.J., Mascola L., Xiao D.L., Goulet V., May S., Salminen C., Hird D.W., Yonekura M.L., Hayes P., Weaver R., Audurier A., Plikaytis B.D., Fannin S.L., Kleks A. and Broome C.V. (1988). Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *The New England Journal of Medicine*, 319, 823-828.
19. Little C.L., Rhoades J.R., Sagoo S.K., Harris J., Greenwood M., Mithani V., Grant K. and McLauchlin J. (2008). Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiology*, 25, 304-312.
20. Makino S.I., Kawamoto K., Takeshi K., Okada Y., Yamasaki M., Yamamoto S. and Igimi S. (2005). An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan, during 2001. *International Journal of Food Microbiology*, 104, 189-196.
21. Meyer C., Fredriksson-Ahomaa M., Sperner B. and Märtlbauer E. (2011). Detection of *Listeria monocytogenes* in pork and beef using the VIDAS® LMO2 automated enzyme linked Immunoassay method. *Meat Science*, 88, 594-596.
22. Oktay H.I. and Heperkan D. (2006). Evaluation of ISO method and VIDAS automated system for identifying *Listeria* and *Salmonella* in selected foods. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 14, 133-145.
23. Omiccioli E., Amagliani G., Brandi G. and Magnani M. (2009). A new platform for real-time PCR detection of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 in milk. *Food Microbiology*, 26, 615-622.
24. Public Health Agency of Canada. (2009). *Listeria monocytogenes* outbreak. http://www.phac-aspc.gc.ca/alert-alerte/listeria_200808-eng.php Accessed August 19th 2011.
25. Rijpens N., Vlaemynek G., Rossau R., Herman L. and Jannes G. (1998). Unidentified *Listeria*-like bacteria isolated from cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 27, 198-202.

26. Sakai F., Aoyama K., Shinozawa E., Yamagata H., Maruyama T., Igimi S., and Yanahira S. (2005). Detection of *Listeria monocytogenes* in natural cheese by enzyme-linked fluorescent assay. *Japanese Journal of Food Microbiology*, 22, 17-23.
27. Sewell A.M., Warburton D.W., Boville A., Daley E.F. and Mullen K. (2003). The development of an efficient and rapid enzyme linked fluorescent assay method for the detection of *Listeria* spp. from foods. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 123-129.
28. Silbernagel K.M., Carver C.N., Jechorek R.P. and Johenson R.L. (2004). Evaluation of VIDAS *Listeria monocytogenes* II (LMO2) Immunoassay method for the detection of *Listeria monocytogenes* in foods: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 87, 1123-1132.
29. Türk Gıda Kodeksi. (2001). Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği, Tebliğ No: 2001/19.
30. Ueda S. and Kuwabara Y. (2010). Evaluation of enzyme linked fluorescent assay for the detection of *Listeria monocytogenes* from food. *Biocontrol Science*, 15, 91-95.
31. Uysal H.K. ve Anç Ö. (2003). Süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Listeria* türleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 33, 163-169.
32. Vaz-Velho M., Duarte G. and Gibbs P. (2000). Evaluation of mini-VIDAS rapid test for detection of *Listeria monocytogenes* from production lines of fresh to cold-smoked fish. *Journal of Microbiological Methods*, 40, 147-151.
33. Warriner K. and Namvar A. (2009). What is the hysteria with *Listeria*? *Trends in Food Science and Technology*, 20, 245-254.



Bildiri No: 143

Kategori: Genel

RIBOPRINTER® VE BAX® SİSTEMLERİ

Sunum Tipi: Oral

Bilgehan SUER, KROMO-GEN Biyoteknoloji San, DuPont

RiboPrinter® Sisteminin Avantajları

RiboPrinter® mikrobiyolojik tanımlama sistemi, bakterileri tanımak ve sonra verimli ve tutarlı tanımlama için bunları tür düzeyinde karşılaştırmak için gerekli hız, hassaslık ve çözünürlük değerlerini sağlamaktadır. Güçlü DNA tabanlı bilgiler kullanan RiboPrinter® sistemi, sekiz saatten kısa bir sürede herhangi bir bakteri türünün otomatik olarak genetik bir resmini (RiboPrint® şablonu) elde etmektedir. RiboPrint® şablonları eczacılık, kişisel bakım ve gıda güvenliği endüstrileri için önemli olan, çevresel olarak yalıtılmış yerler, patojenler, gıda bozucu organizmalar, kontrol türleri, yararlı organizmalar veya herhangi bir bakteriyi tanımakta ve tanımlamaktadır.

Otomatik performans

Şimdiye kadar bakterilerin genetik tanımlama yöntemleri için yüksek yeterlikli teknisyenler gerekmekteydi. Bu yöntemler standardizasyon ve tutarlılıktan yoksunlardı. RiboPrinter® sistemi mümkün olmayan hızı ile çoğaltılabilirlik ve güvenilirlik hususlarında diğer yöntemlere göre daha fazla başarı sağlamaktadır. Başlangıçtan sonuna kadar RiboPrinter® sistemi otomatikleştirilmiştir, operatör eğitimi kolaylaştırılmıştır ve uygulanan teknikten kaynaklanan hatalar asgariye indirilmiştir. Tanımlama biriminin yüklenmesi ve çalıştırılması kolaydır ve sezgilerle anlaşılabilir. İş istasyonu yazılımının kullanımı da kolaydır ve sonuçların sübjektif olarak yorumlanması ihtiyacını ortadan kaldıran ileri veri analizi sağlamaktadır.

Kullanışlı bilgiler

Mikrobik bir sorunun tanınması ve belgelendirilmesinin ötesine geçmek üzere otomasyon ve DNA'nın gücünü birleştiren tek sistem RiboPrinter® sistemidir. Bir numune her incelenişinde RiboPrinter® sistemi önceki verilerle ilişkili olarak organizmaların kesin bir genetik resmini üretmektedir. Teknisyenler herhangi bir mikroorganizmanın kapsamlı ve dinamik bir resmini kullanarak verileri tür düzeyinde takip edip yönetebilmekte, böylece daha önce olmadığı kadar hızlı, kolay ve kesinlik içinde kontaminasyonu belirleyebilmektedirler.

Her duruma uyacak esneklik

RiboPrinter® sisteminin sınırlandırma enzim esnekliği sayesinde, önceden ambalajlanmış sınırlandırma enzimi ya da özel bir konfigürasyon kullanılarak bakteriler ribotyping (Ribozomal DNA Tiplendirmesi) işlemine tabi tutulabilmekte aynı zamanda tam otomasyon avantajları da korunabilmektedir. Tek seferde en çok sekize kadar bakteriyel yalıtılmış ortam test edilebilmekte, numune girişinden sonra sekiz saat içinde sonuçlar elde edilebilmektedir. Sistem her iki saatte bir yeni parti alabildiği için normal bir iş günü içinde en çok 32'ye kadar numune girişi yapılabilmektedir. Böylece test edilen herhangi bir üründe daha yüksek güvenilirlik değerleriyle hızlı ve doğru sonuçlar elde edilebilmektedir.

BAX® Sistemi

Ödüllü BAX® algılama sistemi, gıda ve çevre örneklerindeki patojenlerin veya diğer organizmaların saptanması için kullanılan hızlı ve kesin bir yöntemdir. Sistem, bakterileri ve diğer mikropları kesin bir şekilde saptamak amacıyla polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) gücünü kullanarak genetik düzeyde numuneler almaktadır.

BAX® Sistem Q7 İleri Teknolojisi

Applied Biosystems (Uygulamalı Biyosistemler)'in yenilikçi PCR teknolojisini kullanan yeni BAX® Q7 Sistemi, bileşenlerden son ürünlere kadar geniş bir örnekleme ve uygulama yelpazesi için gelişmiş DNA tabanlı bir saptama işlemi sağlamaktadır. BAX® Q7 Sistemi, mevcut analiz yöntemleriyle tamamen uyumlu olsa da, yeni sistem daha hızlı işleme, gerçek zamanlı PCR ve prob bazlı saptama sağlamak için gelişmiş yetkinlikler sunmaktadır. Gelecekteki BAX® Q7 analizleri, mevcut olma/olmama bilgilerine ek olarak niceliklendirme veya tür ayrımı gibi bilgileri kullanarak, aynı kuyuda birden çok hedef tespiti sağlamak amacıyla, bu özellikleri esneklik içinde kullanabilme imkanı sağlayacaklardır.

Çoğu bakteri için tek bir programın yapıldığı BAX® sistemi, aynı çalışma serisi içinde birden çok hedefi (parti başına 96'ya kadar numuneyi) test edebilme olanağı sağlamaktadır. Standart laboratuvar teknikleri kullanılarak uygulama süresinin asgariye indirilmesini sağlayan tablet halindeki yüzey aktif maddeler uzun raf ömrü ve tutarlılık sağlarlar. Kullanımı kolay ekran bilgi pencereleri, bütün süreç boyunca kullanıcıya yol göstererek yüksek donanımlı teknisyen ve pahalı eğitime olan ihtiyacı azaltmaktadır. Mevcut analizler, hazırlanmış numuneler için, dört saat içerisinde sonuçları vermekte ve bu sonuçlar aslında uzman yorumu ihtiyacını ortadan kaldıran basit bir pozitif veya negatif ikonlarla ekranda açıkça görüntülenebilmektedir. Elektronik dosyalar, sonuçlarınızı çıktı olarak basabilmenizi, paylaşabilmenizi ve basit bir arşivleme ve yeniden kullanma süreci içinde saklayabilmenizi sağlamaktadır.

Dünyanın her tarafındaki kullanıcılar, işlemler üzerindeki muhteşem etkisinden ötürü BAX® sistemini kalite kontrol sistemlerinin bütüncül bir parçası haline getirmiş bulunmaktadırlar. Çünkü BAX® sistemi hatalı pozitif sonuçları büyük oranda azaltarak yeniden test etme gereksinimini asgariye indirmekte, uzman personel ihtiyacını azaltmakta ve ürünün piyasaya çıkma süresini kısaltmaktadır.

DNA tabanlı saptamanın hızı ile doğruluk oranı ve PCR işlemi gerçekleştirmek için gerekli lisans, "Yükle ve bırak" işleminin kolaylığı, Microsoft® Windows® ara yüzüne benzerliği sayesinde BAX® sistemi, işlem boru sistemi içindeki her aşamada düzgün ve rahat test süreci elde etmek için bütün bunları birleştirmektedir.

DÖNER KEBABLARDA PIŞİRME SIRASINDA STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS'İN CANLILIĞI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Sunum Tipi: Oral

**Kamil BOSTAN, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, İÜ Veteriner Fakültesi
Funda YILMAZ, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, İÜ Veteriner Fakültesi
Karlo MURATOĞLU, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, İÜ Veteriner Fakültesi
Ali AYDIN, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, İÜ Veteriner Fakültesi**

Özet

Döner kebab, etten yapılan geleneksel bir Türk yemeğidir. Isıl işlem görmüş bir ürün olmakla birlikte çeşitli çalışmalar pişmiş dönerlerin patojen bakterileri içerebildiğini ve halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturduğunu göstermektedir. Dönerlerin mikrobiyolojik kalitesi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Potansiyel sorunlardan birisi dönerlerin pişirilmesi sırasında merkezi kısımlarının bakteri gelişimine izin veren sıcaklıklarda uzun bir süre kalmasından kaynaklanmaktadır. Bu çalışma dönerlerin pişirilmesi sırasında Staphylococcus aureus ve Clostridium perfringens'in canlı kalma potansiyelini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla geleneksel yöntemlere göre deneysel iki ayrı döner üretimi yapılmıştır. Çiğ döner materyalleri 105 kob/g düzeylerinde olacak şekilde S. aureus ve C. perfringens ile kontamine edilmiştir. Oniki saatlik marınasyondan sonra döner materyali silindirik görünümü verecek şekilde bir şişe takılarak elektrikli döner ocağında altı saat süreyle döndürülerek pişirilmiştir. Pişirme sırasında pişen yüzeyler kesilerek ayrılmıştır. Isıl işlem sırasında her saat başı pişmiş yüzeylerden ve dönerin merkezi (çiğ) kısımlarından örnek alınarak mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Başlangıç ortalama S. aureus sayısı pişirme sırasında zamanla azalmış, ancak pişirmenin sonunda bile sayılabilir düzeyde bulunmuştur. C. perfringens sayısı ise önemli derecede değişmemiştir. Dönerlerin merkezi kısımlarından alınan örneklerde ise sıcaklık uygun seviyelere ulaşmış olsa bile mikrorganizma sayılarında çok önemli olmayan değişimler görülmüştür. Elde edilen bulgulara göre döner kebabların çiğ kısımlarının pişirme sırasında ilk altı saat S. aureus ve C. perfringens gelişimini desteklemediğini, ancak pişirme işlemine uzun süre ara verilmesinin tüketici sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturduğuna işaret edecek şekilde test organizmalarının sayısında önemli bir artışa neden olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: döner kebab, S. aureus, C. perfringens, mikrobiyel gelişim, halk sağlığı

A Study on Survival of Staphylococcus aureus and Clostridium perfringens in Doner Kebab During Roasting Process

Abstract

Döner kebab is a traditional Turkish dish made from meat roasted vertically on a spit. Although it is a heat-treated product, several studies indicated that the cooked doners may contain the pathogenic bacteria and could be an important risk factor for public health. Microbiological quality of döner is affected by many factors. One of the potential problems might arise from the fact that the core of döner is exposed in critical temperatures ranges during cooking, for a long period of time allowing bacteria to grow. The main objective of this study was to evaluate of survival of Staphylococcus aureus and Clostridium perfringens in doner kebabs during roasting.

For this purpose, two experimental döner kebabs were made from minced beef meat using traditional methods. Raw doner kebab material was contaminated with *S. aureus* and *C. perfringens* at the level of 10⁵ cfu/g. After the marination for 12 hours, raw döner material was fixed on a spit to give a cylinder shape and cooked by slowly rotating in front of a heating element (gas burners) for six hours. During cooking process, the roasted surfaces were cut continually using an electric doner knife. Microbial counts in both roasted and raw (center) parts of doners were determined each hour interval during thermal processing. The average initial *S. aureus* count was significantly reduced during cooking process, but the organism was countable level at the end process. In case of *C. perfringens* count, the average initial counts were not significantly changed. A very negligible changes in microbial counts in the central (raw) sections of döner bulk was found although the temperature reached the appropriate levels. According to the result of this study, it was concluded that the raw parts of doner kebab is not supported the growth of *S. aureus* and *C. perfringens* for first six hours during heat processing, but interruption to cook for a long time resulted in significant increase in the counts of test organisms which indicates a serious threat to public health.

Keywords: Doner kebab, *S. aureus*, *C. perfringens*, microbial growth, public health

ETLERİN YAPISINDAKİ DEĞİŞİKLİKLER VE MUHAFAZA YÖNTEMLERİ

Sunum Tipi: Oral

Aynur Fidanboy lu¹ Fahtih Bakırcı¹ Gözde Türköz¹

¹Aybak Natura Analiz Laboratuvarı, İzmir

Özet

Et; protein, aminoasit, B vitamini ve mineraller açısından insanların beslenmesinde önemli olmakla birlikte, biyolojik yapısı nedeniyle çabuk bozulabilen bir besindir. Sıcaklık, oksijen, enzimler, nem, ışık gibi etkenler ve mikroorganizmalar, etin raf ömrünü ve kalitesini etkiler. Bütün bu etkenler ayrı ayrı ve birlikte etin renginde, kokusunda, dokusunda ve lezzetinde olumsuz değişikliklere neden olur. Etteki besin içeriği, ette bozulmaya neden olan ve gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların gelişmesi için ideal bir ortam oluşturmaktadır. Ete bulaşan mikroorganizmalar; insanlarda hastalığa sebep olan patojen mikroorganizmalar, indikatör mikroorganizmalar ve bozulmaya neden olan saprofit mikroorganizmalar olarak sınıflandırılabilir. İndikatör mikroorganizma olarak aerobik mezofilik bakteri, toplam koliform, *Escherichia coli*'nin sayıları önemlidir. Karkaslarda ve kıyılmış etlerde bu mikroorganizmaların saptanması; kesim ve kesim sonrası işlemlerde sanitasyon uygulamalarının etkinliği, bağırsak orijinli ve çevreden kaynaklanan kontaminasyon düzeyi hakkında bilgi verir. Etin yapısında bulunan enzimler ve mikrobiyal aktivite sonucu, ette kesimden sonra yüzeyde yapışkanlık, renk değişimi, küf gelişimi, ekşime ve putrefikasyon gibi değişiklikler meydana gelir. Et ve et ürünlerinin tüketimi ile insanlarda gıda enfeksiyonları ve zehirlenmelerine neden olan en önemli mikroorganizmalar ise *Salmonella* türleri, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium perfringens*'dir. Et muhafaza yöntemleri; sıcaklık kontrolü, nem kontrolü ve bakterisidal-bakteristatik yöntemlerdir. Etin muhafazası için; kesim ve kesim sonrasında uygulanan tüm işlemlerde mikroorganizmaların ete bulaşması engellenmelidir. Et ve et ürünleri için en iyi muhafaza yöntemleri; yüksek hidrostatik basınç (HHP) gibi termal olmayan inaktivasyon yöntemi, modifiye atmosfer paketlenme (MAP) ve aktif ambalaj (AP) gibi yeni paketlenme sistemleri ve doğal antimikrobiyal bileşiklerin kullanımıdır. Bu alternatif yöntemler, etin görünüşü ve dokusunu bozmadan patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaları ortadan kaldırır.

Anahtar kelimeler: Et, Mikrobiyal Kontaminasyon, Muhafaza Yöntemleri, Paketlenme

Alterations in Meat Structure and Preservation Techniques

Abstract

Meat; together with its important place in human nutrition for protein, amino acid, vitamin B and minerals, is a quickly perishable foodstuff because of its biological structure. Temperature, oxygen, enzymes, moisture and microorganisms affect the shelf life and the quality of meat. All these parameters, individually or in combination lead to negative color, flavor, texture and savor changes in meat. The microorganisms contaminating meat and can be classified in the following groups: pathogen microorganisms causing diseases in humans, indicator microorganisms and saprophyte microorganisms leading to spoiling. Aerobic mesophilic bacteria, total coliforms and *Escherichia coli* counts are important for indicator microorganisms.

The detection of these microorganisms in carcasses and minced meat gives information concerning the efficacy of sanitation applications during and after slaughtering and enteric-based or environment-based contamination level. Due to the enzymatic and microbial activities present in meat structure, modifications such as superficial stickiness alteration, color change, mould development, souring and putrefaction appear. In relation to this, the most common microorganisms provoking food infections and food poisoning following meat consumption in humans are *Salmonella* species, *Staphylococcus aureus* and *Clostridium perfringens*. Meat preservation techniques are temperature control, moisture control and bactericidal and bacteriostatic techniques. Thus, to ensure the correct preservation of meat, the contamination of meat by microorganisms during all the operations during and after the slaughtering must be prevented. The best meat preservation techniques are based on new packaging systems such as non-thermal inactivation techniques such as High Hydrostatic Pressure (HHP), Modified Atmosphere Packaging (MAP) and Active Packaging (AP) and the utilization of natural antimicrobial compounds. These alternative techniques enable to remove pathogens and microorganisms responsible for meat spoiling without affecting meat aspect and texture.

Keywords: Meat, Microbial Contamination, Preservation Techniques, Packaging

DETECTION AND QUANTITATION OF SOY INGREDIENTS IN SOME MEAT PRODUCTS BY PCR AND ELISA

Sunum Tipi: Oral

Ayşe Gül Mutlu¹, Özen Kurşun²

¹ Mehmet Akif Ersoy University, Arts and Sciences Faculty, Department of Biology, Burdur, TURKEY

² Mehmet Akif Ersoy University, Veterinary Sciences Faculty, Department of Food Hygiene and Technology, Burdur, TURKEY

Soy protein products are being used at an increasing rate in various processed meat systems. Soy adding in meat products is an industrial choice. Important factors in the use of textured soy protein are cost control, improved functionality, fat control, and nutrition. Also soy has some health benefits. There are some data that suggest a role for soy products in human cholesterol homeostasis, preventing the heart disease and some types of cancer. However the soy is one of the 8 foods have been identified as the most frequent human food allergens. Therefore indication of soy existence in product labels is important in terms of soy allergies. In current research 54 meat product samples that were obtained from supermarkets were evaluated. Soy existence was detected in all samples by PCR and ELISA but this was indicated by the producers in only 11 product labels.

Bazı Et Ürünlerinde Soya Varlığının PCR ve ELISA ile Tesbiti ve Kantitasyonu

Soya proteinini türevleri, değişik işlenmiş et sistemlerinde artan bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Et ürünlerine soya eklenmesi endüstriyel bir seçimdir. Soya proteininin kullanılmasında önemli faktörler, maliyet kontrolü, artmış fonksiyonellik, yağ kontrolü ve beslenmedir. Soyanın sağlığa bazı faydaları da vardır. Kolesterol dengesinin korunmasında, kalp hastalıklarının önlenmesinde ve bazı tip kanserlerde soyanın koruyucu etkisi ile ilgili literatürde bir çok veri mevcuttur. Bununla birlikte soya, insanlarda en sık alerji yapan 8 besin alerjeninden birisidir. Bu yüzden, soya varlığının ürün etiketlerinde belirtilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışmada, marketlerden satın alınan sucuk, salam ve sosislerden oluşan toplam 54 et ürünü örneği incelenmiştir. Soya varlığı tüm örneklerde PCR ile gösterilmiş ve ELISA metodu ile soya miktarları belirlenmiştir. Fakat sadece 11 ürün etiketinde soya varlığı ile ilgili bilgi verildiği gözlenmiştir.

Bildiri No: 126

Kategori: Genel

MODERNIZATION OF MEAT INSPECTION IN THE EUROPEAN UNION TO IMPROVE MEAT SAFETY

Sunum Tipi: Oral

Sava BUNCIC, Department of Veterinary Medicine, University of Novi Sad

Introduction

A connection between health problems in animals used for food and those in people was probably recognised early in human history, but the first written proofs of such considerations can be traced to Aristotle, Virgil and Hippocrates. Better understanding of the significance of food for human health led to the beginnings of meat inspection in Europe: in France in the mid-12th century, in England in the early 14th century, and in Germany in the late 14th century; traditional meat inspection system was fully developed in Germany in mid-19th century. It contributed significantly to controls of classical zoonotic diseases in food animals as well as to prevention of their transmission to humans via meat, and current meat inspection procedures are still based on the fundamental publication "Handbuch der Fleischbeschau" (von Ostertag, 1899).

However, in more recent times, a consensus of opinion that traditional meat inspection is no longer capable of assuring the consumers' health adequately has been formed. Nowadays, based on available monitoring/surveillance data, the main threats to public health in developed countries are: a) bacterial zoonotic agents that can be carried and excreted (primarily via faeces) by animals without symptoms, such as *Campylobacter*, *Salmonella* and *Y. enterocolitica* species; and b) the presence of residues of pharmacologically-active substances (authorised and unauthorised) and/or contaminants in slaughter animals (Buncic, 2006; EFSA, 2011). All those are undetectable by traditional meat inspection. In Europe since the 1980s, there has been a stream of published expert opinions making a case for, and gradually leading to, necessary revisions of traditional meat inspection system.

Very recently, starting in 2010, there has been a major move by the European Commission towards revision and modernization of meat inspection. This includes ongoing work on a series of scientific opinions by the European Food Safety Authority (EFSA) on what needs to be changed and how, so to improve the meat safety and public health benefits from meat inspection. The first related document, EFSA's scientific opinion on pig meat inspection - in preparation of which the author of this paper was significantly involved - was published in September 2011 (EFSA, 2011) and some parts of the text are incorporated below. Related work on all other meat-producing animal species will continue until 2013. In this paper, the main issues associated with, and directions for necessary changes of, meat inspection are discussed.

The current EU meat inspection

The current EU legislation (Reg. (EC) No 854/2004/EU) requires that Food Chain Information (FCI) for incoming animals (including farm production data, epidemiological intelligence data, animal health data, identification of whether from integrated or non-integrated systems, etc) is analysed before slaughter.

Then, the animals are subjected to ante-mortem examination. When it is found that animals have a disease or condition that may be transmitted to animals or humans through handling or eating meat and, in general, that they show clinical signs of systemic

disease or emaciation, they are not to be slaughtered for human consumption. Such animals must be killed separately, under conditions such that other animals or carcasses cannot be contaminated, and they are also declared unfit for human consumption. Furthermore, the slaughter of animals suspected of having a disease or condition that may adversely affect human or animal health is to be deferred. Such animals are to undergo detailed post-mortem and, if necessary, laboratory examination in order to make a diagnosis and are to be slaughtered separately from those undergoing routine slaughtering. Also, visually excessively dirty animals are to be cleaned and/or slaughtered separately i.e. after clean animals.

Furthermore, the current EU legislation (Reg. (EC) No 854/2004/EU) requires post-mortem examination (visual, and in some cases by palpation/ incision) of the skin, carcass (including skin, joints, pleura/peritoneum, cut carcass muscles), head, liver, lungs, heart, kidneys, spleen and all other visible organs/tissues carcasses and organs of slaughtered animals for signs of abnormalities during post-mortem inspection - aiming at detecting a range of diseases and conditions. Based on the ante- and post-mortem inspection findings, meat/organs are judged as fit or unfit (inedible) for human consumption.

Global assessment of the performance of the current EU meat inspection system

As indicated previously (Buncic, 2006; Nordic Council of Ministers, 2006; Alban et al., 2008; EFSA, 2011), the current meat inspection system has some advantages and significant disadvantages. Good performance of ante-mortem inspection includes utilising FCI (although currently only to a limited extent), particularly with respect to animal identification enabling traceability along the whole the meat chain, as well as detection of animal health-welfare hazards in live animals. Detection of these hazards is irrelevant both for feeding the information back to the farm, and for prevention of conditions detrimental to meat quality. Furthermore, good performance of post-mortem inspection particularly relates to detection of classical zoonotic hazards, even though these are nowadays absent/rare or globally less important for public health.

On the other hand, significant shortcomings of current ante-mortem inspection include the facts that incoming animals are not categorized with respect to the risk they pose to meat safety/public health, as well as the practical inability to clinically examine animals individually. Also, current post-mortem inspection has these significant weaknesses: a) hazards not causing macroscopically visible abnormalities/lesions are not detected, even though these include the most currently relevant biological hazards causing the majority of foodborne diseases (such as *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157 and other VTEC, *Yersinia enterocolitica*); b) palpation/incision inspection techniques mediate cross-contamination with the most relevant bacterial hazards; c) most agents present in detected lesions (e.g. pneumonia agents, abscess agents; some parasites, etc.) are not human health threats via the foodborne route but via other routes; and d) judgement of fitness of meat for human consumption does not differentiate foodborne risks from other reasons the meat can be considered unfit (e.g. controlling animal health hazards, unacceptable meat quality).

Therefore, to address these shortcomings of the current meat inspection system and improve its overall meat safety/public health performance, its revision is required - with the main aims of making it really risk-based (i.e. to target the most relevant meat safety/public health hazards) and fully meat chain-orientated.

Global consideration: meat inspection is the main control for which hazards?

The starting point in hazard prioritization is based on following main assumptions. Public health is a priority goal in meat inspection, whilst animal health and animal welfare hazards are important but secondary to public health if/where opposing interests exists. Chilled carcass is the main issue and the main target for meat inspection; food chain stages post-abattoir are relevant for foodborne risk but could be presumed as a "fixed" factor in the context of meat inspection. Finally, the focus of meat inspection is on, and the main efforts and resources are to be directed towards, priority hazards—those that are the most relevant in the EU situation and which are transmitted via food-borne route.

All zoonotic hazards that may be associated with final, chilled carcasses need to be enlisted and considered globally, so to identify which are foodborne and for which the main controls are applicable during farm-to-abattoir stages of the meat chain. For example, the main controls for microbial hazards such as *Salmonella*, *Y. enterocolitica*, *Campylobacter*, *VTEC* and zoonotic mycobacteria, as well as for parasitic hazards *Toxoplasma gondii*, *Trichinella*, *Sarcocystis hominis/sui hominis* and *T. saginata/solium*, are applicable during farm-to-abattoir stages. Then, those hazards need to be subject to a prioritization analysis (see below), so to identify the most relevant hazards to be specifically addressed by meat inspection. On the other hand, other hazards - those for which main controls are implemented during post-abattoir stages, or are occupational health- or environment-related problems - are to be addressed by other risk management strategies.

Prioritization of foodborne hazards in the context of meat inspection in the EU

Again, it is necessary to prioritize foodborne hazards, with the aim of directing the main efforts and resources towards control of those posing the highest public health relevance. Either qualitative (faster, simpler, but only descriptive) or quantitative approaches (slower, complex, but numerical) can be used. A qualitative approach recently used by EFSA for the purpose of pig meat inspection included conducting qualitative risk ranking (EFSA, 2011).

For each hazard, the data to be analysed include prevalence on final, chilled carcasses, incidence and severity of human disease, and source attribution (% of the cases caused from pork). For source attribution, a combination of outbreak data, microbial subtyping, epidemiological studies and comparative exposure assessment can be used. However, because available source attribution data is often scarce, structured expert opinion can also be used. Such a priority analysis indicates that – overall – the most relevant hazards to be addressed by meat inspection include bacterial e.g. *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *VTEC* and/or parasitic e.g. *Toxoplasma* and *Trichinella* zoonotic pathogens presently causing the majority and/or the most serious foodborne diseases. However, understandably, the relevance of each of these hazards is animal species-specific and - for some species – some additional hazards may be included in the "priority list". Other hazards are of lower priority in this respect at EU level.

Addressing the priority hazards in the EU: the fundamental facts determining the approach

The large majority of the priority hazards indicated above are macroscopically undetectable, so they have to be addressed by a meat safety assurance approach including a range of integrated control measures applicable at various points along the farm-to-abattoir chain of events, rather than by the classical meat inspection approach.

On-farm situation and controls determine if incoming batches are hazard-free, or lower prevalence positive, or higher prevalence positive. data, incoming

Hence, using FCI data, incoming animal batches can be risk-categorized, and the most appropriate control measures can be selected for each of the risk category.

Bacterial hazards (e.g. *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni/coli*, VTEC, etc) can be faecally excreted by healthy animals and cross-contaminate other animals during transport-lairaging. Furthermore, surface carcass cross-contamination with microbial hazards occurs along the slaughterline. Testing of each carcass for microbial hazards is impractical and unreliable, so control measures are based on preventing the carcass cross-contamination through optimization of both the slaughterline technology and the abattoir process hygiene. Additionally, appropriate air-chilling regimes can be used to enhance drying-off of some hazards (e.g. *Campylobacter*) during carcass chilling, as well as - in case of higher-risk batches of animals - effective carcass surface decontamination treatments to reduce microbial hazards.

Parasitic hazards (e.g. *Trichinella* spp., *Toxoplasma gondii*, etc) are located intramuscularly so there are no transport-lairaging-slaughterline-cross-contamination issues associated with them. Testing of each carcass is possible but not necessarily practical. Alternatively, in case of higher-risk batches of animals, effective carcass heat/freezing treatment can be used to inactivate the parasites.

Converting meat inspection into carcass meat safety assurance: the key aspects

Targets to be achieved in/on final, chilled carcasses need to be set with respect to each of the priority hazards. This enables better focusing of the control measures used in the abattoir, and also informs what has to be achieved during earlier, pre-abattoir stages of the meat chain. Setting these targets and establishing related numerical criteria and methodologies for incoming animals and abattoir processes are responsibilities of the regulators.

Risk categorisation of both incoming animals (based on batch prevalence differentiation) and of abattoirs (based on process hygiene differentiation) with respect to the priority hazards are crucial aspects of FCI. Based on FCI and ante-mortem inspection findings, the risk manager - playing the central and pivotal role in the carcass meat safety assurance system - is in a position to make informed decisions on all main aspects affecting the safety of chilled carcasses produced. The risk manager can optimally balance risk categories of pig batches and abattoirs and decide whether normal slaughter and routine post-mortem, or "suspect" slaughter and detailed post-mortem is to be used. Also, proper generation and utilisation of FCI is a pre-requisite for the use of visual-only (i.e. without use of palpation/incisions) post-mortem inspection in routine slaughter, which would have overall beneficial public health effects, because the risk of microbial cross-contamination is higher than the risk of reduced detection of lesions targeted by palpation/incision techniques. On the other hand, any reduced detection of animal health/welfare hazards, due to omitting palpation/incision during post-mortem examinations, can be addressed through related alternative controls.

Risk controls for the large majority of priority hazards should be HACCP-based and subject to regulatory verification-auditing. Removal of slaughtered animals from the meat chain, which are unfit/inedible on meat quality grounds, could be handled through a documented and audited meat quality assurance system.

Global pre-requisites for implementation of the indicated changes of meat inspection

As indicated by EFSA (2011), because the hazard prioritization (hazard identification and risk ranking) is considered as related to the EU as a whole and based on data available at the time of the prioritization, refinements reflecting differences between regions or production systems are recommended if/where hazard monitoring data so indicate. Furthermore, as new hazard(s) might emerge and/or hazards that presently are not a priority might become more relevant over time or in some regions, the risk ranking is to be revisited regularly.

To provide a better evidence base for future rankings, studies should be carried out to systematically collect data for source attribution and collect data to identify and rank emerging pork-borne hazards.

Should these indicated changes of meat inspection system be implemented, their overall public health impact - as compared to the current status - should be evaluated regularly after its implementation in practice. Also, before the implementation of the modified system, it is necessary that all parties involved in the proposed carcass meat safety assurance system, including official veterinarians, official auxiliaries and abattoir staff, be trained in the skills required for this system.

References

Alban L, Vilstrup C, Steenberg B, Jensen HE, Aalbæk B, Thune-Stephensen F and Jensen S (2008) Assessment of risk for humans associated with Supply Chain Meat Inspection - The Danish Way. Danish Ministry of Food, Agriculture and Fisheries, Danish Veterinary and Food Administration, Copenhagen, Denmark

Buncic S. (2006) Integrated Food Safety and Veterinary Public Health. CABI International Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK

EFSA (2011) Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat from swine. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

Nordic Council of Ministers (2006) Risk-Based Meat Inspection In a Nordic Context. 2006:585, TemaNord, Copenhagen

von Ostertag R. (1892) Handbuch der Fleischschau für Tierärzte, Ärzte und Richter. Editor: F. Enke, Stuttgart, Germany

Hence, using FCI data, incoming animal batches can be risk-categorized, and the most appropriate control measures can be selected for each of the risk category.

Bacterial hazards (e.g. *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni/coli*, *VTEC*, etc) can be faecally excreted by healthy animals and cross-contaminate other animals during transport-lairaging. Furthermore, surface carcass cross-contamination with microbial hazards occurs along the slaughterline. Testing of each carcass for microbial hazards is impractical and unreliable, so control measures are based on preventing the carcass cross-contamination through optimization of both the slaughterline technology and the abattoir process hygiene. Additionally, appropriate air-chilling regimes can be used to enhance drying-off of some hazards (e.g. *Campylobacter*) during carcass chilling, as well as - in case of higher-risk batches of animals - effective carcass surface decontamination treatments to reduce microbial hazards.

Parasitic hazards (e.g. *Trichinella* spp., *Toxoplasma gondii*, etc) are located intramuscularly so there are no transport-lairaging-slaughterline cross-contamination issues associated with them. Testing of each carcass is possible but not necessarily practical. Alternatively, in case of higher-risk batches of animals, effective carcass heat/freezing treatment can be used to inactivate the parasites.

Converting meat inspection into carcass meat safety assurance: the key aspects

Targets to be achieved in/on final, chilled carcasses need to be set with respect to each of the priority hazards. This enables better focusing of the control measures used in the abattoir, and also informs what has to be achieved during earlier, pre-abattoir stages of the meat chain. Setting these targets and establishing related numerical criteria and methodologies for incoming animals and abattoir processes are responsibilities of the regulators.

Risk categorisation of both incoming animals (based on batch prevalence differentiation) and of abattoirs (based on process hygiene differentiation) with respect to the priority hazards are crucial aspects of FCI. Based on FCI and ante-mortem inspection findings, the risk manager - playing the central and pivotal role in the carcass meat safety assurance system - is in a position to make informed decisions on all main aspects affecting the safety of chilled carcasses produced. The risk manager can optimally balance risk categories of pig batches and abattoirs and decide whether normal slaughter and routine post-mortem, or "suspect" slaughter and detailed post-mortem is to be used. Also, proper generation and utilisation of FCI is a pre-requisite for the use of visual-only (i.e. without use of palpation/incisions) post-mortem inspection in routine slaughter, which would have overall beneficial public health effects, because the risk of microbial cross-contamination is higher than the risk of reduced detection of lesions targeted by palpation/incision techniques. On the other hand, any reduced detection of animal health/welfare hazards, due to omitting palpation/incision during post-mortem examinations, can be addressed through related alternative controls.

Risk controls for the large majority of priority hazards should be HACCP-based and subject to regulatory verification-auditing. Removal of slaughtered animals from the meat chain, which are unfit/inedible on meat quality grounds, could be handled through a documented and audited meat quality assurance system.

Global pre-requisites for implementation of the indicated changes of meat inspection
As indicated by EFSA (2011), because the hazard prioritization (hazard identification and risk ranking) is considered as related to the EU as a whole and based on data available at the time of the prioritization, refinements reflecting differences between regions or production systems are recommended if/where hazard monitoring data so indicate. Furthermore, as new hazard(s) might emerge and/or hazards that presently are not a priority might become more relevant over time or in some regions, the risk ranking is to be revisited regularly.

Bildiri No: 85

Kategori: Genel

AB KOMİSYONU FP7 PROJELERİ VE PROJELERİN DEĞERLENDİRME SÜRECİ

Sunum Tipi: Oral

Gürhan ÇİFTÇİOĞLU, Dış Kaynaklı Projeler Birimi AB Ofisi, Kurumsal İrtibat Noktası, İstanbul Üniversitesi

Özet

İlki 1984 yılında başlayan Çerçeve Programları (ÇP) çok yıllı programlar olup, kapsamı ve programa ayrılan bütçe miktarı her bir programda artmaktadır. ÇP'nin stratejik hedefleri, Avrupa endüstrisinin teknolojik ve bilimsel temelini güçlendirmek ve uluslararası alanda rekabet gücünü desteklemektir. Türkiye, AB Çerçeve Programlarına 6.Çerçeve Programı (FP6) kapsamında 2002 yılında dahil olmuştur. Yürürlükte olan 7.ÇP (FP7) 53.27 milyar EURO bütçe ile 2007-2013 yılları arasında sürecektir. Çerçeve programlarına İşbirliği(Cooperation), Fikirler(Ideas), Kişiyi Destekleme(Marie Curie-People), Kapasiteler(Capacities) Programları, Ortak-Araştırma-Kurumu (JRC) işbirlikleri gibi çok çeşitli alanda başvuru mümkündür.

AB Komisyonu hakem havuzunda çeşitli ülke ve tematik alandan hakemler (değerlendiriciler) bulunmaktadır. İlgili tematik alanında bilgi ve deneyime sahip olan; üniversitelerden, araştırma kurumlarından, özel sektörden, kamu kurumlarından, sivil toplum kuruluşlarından, mesleki birlik ve örgütlerden araştırmacı ve meslek sahipleri hakemlik için başvuru yapabilirler. Bir çağrı için hakemler belirlendikten sonra, 1-Bilimsel Teknolojik Kalite, 2-Uygulama ve 3-Yaygın etki'den oluşan üç temel kriter üzerinden öncelikli olarak "Bireysel Değerlendirme"ler tamamlanır ve daha sonra Brüksel'de bağımsız değerlendirici panellerinde "Uzlaşma Raporu" ile değerlendirme sonuçlandırılır. Değerlendirme süreci dikkate alındığında, proje hazırlanmasında başvuruda belirtilen her konunun doğru, titizlikle ve eksiksiz doldurulması, çağrıya uygun olma kriterlerinin iyi kontrol edilmesi, projenin çalışma programına (WP) göre ve öz ve açık bir şekilde hazırlanması gibi konulara dikkat edilmelidir.

Anahtar kelimeler: Çerçeve programları, ÇP7, proje değerlendirme

European Commission FP7 Projects and Evaluation Period of Project Proposals

Abstract

Framework Programme for Research and Technological Development (FP), which started in 1984, are multi-annual programs and their extent and budget increase program-by-program. The main strategic objectives of FP's are to strengthen the scientific and technological base of European industry and to encourage its international competitiveness. Turkey has joined to FP in 2002 within the context of FP6. Recent FP7 will take place between 2007-2013 with Euro 53.27 billion budget. It would be possible to join the program by means of various building blocs such as Cooperation, Ideas, People, Capacities and JRC activities.

There are evaluators from different key thematic areas and different countries in the evaluator database. Professionals from universities, research centers, industry, public institutions, civil society organizations and associations can apply for being an evaluator.

Once evaluators have been appointed, "Remote Individual evaluations" have been run and later evaluation process has been completed at "Evaluation Panels" in Brussel according to the main evaluation criterion 1-S/T Quality, 2-Implementation and 3-Impact. Therefore, filling out of proposals in complete, precise and correct manner, controlling the objectives by means of appropriateness to the specific call and preparing the proposal clear and inherently regarding to the work program should be carefully considered.

Keywords: Framework Programs, FP7, project evaluation

Bildiri No: 116

Kategori: Genel

HELICOBACTER PYLORI'NİN FERMENTASYON SÜRESİNCE TÜRK SUCUĞUNDA CANLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Sunum Tipi: Oral

Ahmet GÜNER, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Kürşat KAV, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Kemal Kaan TEKİNŞEN, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Yusuf DOĞRUER, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Nihat TELLİ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Özet: Sucuk hamuru yaklaşık 5×10^6 kob/g düzeyinde *H. pylori* ile kontamine edildi. Grup I, $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de yedi gün süreyle fermentasyona, Grup II, 72. Saat $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de yapılan fermentasyondan sonra gün içersinde 35°C sıcaklıkta 4 gün ısı işlemine, Grup III, 72. saat $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de yapılan fermentasyondan sonra ısı işlemine (43°C 'de 10 dakika, 50°C 'de iç sıcaklık 38°C 'ye erişinceye kadar, 55°C 'de 20 dakika, 63°C 'de iç sıcaklık 50°C 'ye erişinceye kadar ve 70°C 'de iç sıcaklık 65°C 'ye erişinceye kadar) maruz bırakıldı. Fermentasyonun birinci gününde bütün gruplarda bir log birimlik azalma ile 5.47 ile 5.74 $\log_{10}$ kob/g düzeyinde saptandı. Fermentasyonun üçüncü gününde her üç gruptaki *H. pylori* sayısının 6.67 ile 6.82 arasında değiştiği tespit edildi. Grup III'te uygulanan ısı işlem sonrası *H. pylori* kültürel olarak tespit edilmedi. Fermentasyonun beşinci ve yedinci gününde Grup I ve Grup II'deki *H. pylori* sayılarında herhangi bir değişiklik saptanmadı. Bulgular *H. pylori*'nin sucuk üretimindeki fermentasyon süresince gelişebildiği ve canlılığını muhafaza ettiğini ve ısı işlem uygulamasının, *H. pylori*'nin canlılığını ortadan kaldırmada oldukça etkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, fermentasyon, ısı işlem, canlı kalma

Investigations on the Survival of Helicobacter pylori in Turkish Sucuk During the Fermentation Process

Abstract: Sucuk batter was contaminated with *H. pylori* approximately 5×10^6 cfu/g. Group I was subjected to fermentation at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ for a period of seven days. Group II, after the fermentation within 72 hours, heat treatment at 35°C was performed during the day for four days, Group III was exposed to heat processes (for 10 minutes at 43°C , oven temperature at 50°C reaching the core temperature at 38° , for 20 minutes at 55°C , oven temperature at 63°C reaching the core temperature 50°C , oven temperature at 70°C reaching the core temperature at 65°C) after the fermentation up to 72 hours at $20 \pm 2^\circ\text{C}$. The first day of fermentation, a log-unit reduction was quoted in all groups. On the third day of fermentation, the number of *H. pylori* in each group was found to range from 6.82 to 6.67. In the fifth and seventh day of fermentation, there were no change in the number of *H. pylori* in Group I and Group II. Findings show that *H. pylori* may develop and maintain the viability during fermentation and heat treatment applied in the production of sausage was found to be highly effective in eliminating the viability of *H. pylori*.

Giriş

Kolonize olduğu bireylerde aktif kronik gastritis, peptik ve duodenal ülser, mide kanseri ve mukoza lenfoid dokusunda lenfomaya sebep olan *Helicobacter pylori* (Goodwin ve ark. 1989, Koneman ve ark. 1992, Velazquez ve Feirtag 1999, Ernst ve Gold 2000), onkuzuncu yüzyılın sonlarından itibaren Avrupalı patolojistler tarafından mide mukozasının biyopsi örneklerinin histolojik analizlerinde bükük bakteriyel hücreler olarak bildirilmesinin rağmen (Goodwin ve ark. 1986, Vale ve Vitor 2010), ilk kez 1982 yılında Warren ve Marshall tarafından insanın mide mukozasından alınan endoskopik biyopsi örneğinden izole edilmiştir (Warren ve Marshall 1983, Goodwin ve ark. 1985, Goodwin ve ark. 1986). Mide mukoza biyopsisinden izole edilenler spiral, katı besiyerlerinde kültürü yapılanlar bükük çubuk, katı veya sıvı besiyerlerinde kültür süresinin uzamasıyla kokold görünümde olan bir bakteridir (Dunn ve ark. 1997). *H. pylori* spor oluşturmaz, ancak oksijen, düşük su aktivitesi, besin unsurlarının yetersizliği, antimikrobiyel maddelere maruz kalma ve uzun inkubasyona tutulma sonucunda canlı fakat kültüre edilemeyen (Viable but non-culturable, VBNC) bir forma dönüşmektedir. VBNC formuna dönüşen bakterinin hücre yapısı da basil görünümünden kok görünümüne değişmektedir (Gomes ve Martinis 2004). Minimal enfeksiyon dozu gönüllü insanlarda 105 (Vale ve Vitor 2010), farelerde vejetatif formda 104-106, VBNC formunda ise 102 düzeyinde (Velazquez ve Feirtag 1999), buna karşın antibiyotik tedavisi sonrasında tekrar görülen enfeksiyonda sayının 10-100 kez azaldığı bildirilmiştir (Vale ve Vitor 2010).

Bulaşması, insandan insana ve çevresel kaynaklardan olarak başlıca iki ana grupta kategorize edilmesine karşın (Vale ve Vitor 2010), *H. pylori*'nin taşınması zoonotik, insandan insana, su ve gıda kaynaklı olmak üzere muhtemelen birçok yolu içermektedir (Gomes ve Martinis 2004). *H. pylori* taşınma yolu kesin olarak bilinmediği için henüz su ve besin kaynaklı bir patojen olarak sınıflandırılmamıştır. Bununla birlikte yayılma ve bulaşmasında besinlerin önemli bir kaynak olduğu kabul edilmeye başlanmıştır (Meng ve Doyle 1998, Velazquez ve Feirtag 1999). Besin patojenleri gıdalar vasıtasıyla insanları enfekte edebilmek için besin maddelerinde uzun süre yaşamak zorundadırlar. Besinler vasıtasıyla bulaşmasında *H. pylori*'nin canlı kalma özellikleri, diğer bazı gıda patojenlerinde olduğu gibi, gıdada çoğalma özelliklerinden daha da önem arz etmektedir. Bu bilgi aynı zamanda *H. pylori*'nin enfeksiyöz dozu oldukça düşük olduğu içinde önemlidir (Quaglia ve ark. 2007). *H. pylori*'nin rutubetli ve soğuk ortamlarda muhafaza edilen düşük asitli besinlerde belirli sürelerde canlı kaldığı (Poms ve Tatini 2001), bakterinin kokoid formlarının nehir sularında 20 günden fazla aktif kaldığı fakat kültüre edilemediği (Shahamat ve ark. 1993), sularda kültürel tekniklerle ortaya konulamayan mevcudiyetinin mikroskopik tekniklerle belirlendiği (Hegarty ve ark. 1999) ve su kaynaklarına yapılan klorlama ve ozonlama işlemlerine *Escherichia coli*'den daha dayanıklı olduğu bildirilmektedir (Vale ve Vitor 2010). Vakumlu veya vakumsuz paketlenen *H. pylori*'nin canlılığı üzerinde çok az bir etkisinin olduğu (Stevenson ve ark. 2000), soğutulmuş ve dondurulmuş olarak muhafaza edilen kıymalarda belirli bir süre canlı kalabildiği (Stevenson ve ark. 2000), kontamine UHT sütlerde 12. günde 101 kob/ml düzeylerinde izole edildiği (Quaglia ve ark. 2007), otoklav ve irradiasyondan sonra kontamine edilen kıymalardan otoklav edilen kıymada 3-7 gün geliştiği, fakat iradiye edilmiş kıymada 7. günde gelişmediği ancak pH'nin 5.5'e ayarlanmasıyla irradiye edilmiş kıymada da 7. günde yaklaşık 2 log10 düzeyinde geliştiği (Jiang ve Doyle 2002) saptanmıştır. Fermente sucuğun güvenilirliği; ilave edilen tuz ve nitrat ve/veya nitrit gibi katkı maddelerinin yanı sıra fermentasyon sırasında oluşturulan, antimikrobiyel metabolitler, laktik asit, düşük pH ve su aktivitesi değerlerinden ileri gelmektedir (Acton ve Keller 1974,

Tekinşen ve Doğruer 2000). Buna karşın, kontamine çiğ hammaddenin kullanılması, pastörizasyonun olmayışı, uygun olmayan fermentasyon ve muhafaza koşulları ile pişirmeden tüketilebilme özellikleri, fermente gıdaların güvenilirliğini azaltan başlıca hususlardır (Nout 1994). Bunun yanı sıra *Salmonella* spp., (Sinken ve ark., 2006), *S. aureus*, (Kaban ve Kaya 2006), *L. monocytogenes* (Sinken ve ark., 2006, Çolak ve ark., 2007) vb birçok gıda patojeninin fermentasyon ve kurutma işlemleri sırasında canlılığını devam ettirebilmesi, sucuğun güvenilirliği bakımından başlıca problemidir (Tornadijo ve ark. 2001).

Bu araştırma ile ısı işlemi uygulanarak ve uygulanmadan olgunlaştırılan Türk sucuklarında fermentasyon-kurutma süresince ve ısı işlem sonrası *H. pylori*'nin canlı kalabilme düzeyleri araştırıldı.

Materyal ve Metot

Materyal

***Helicobacter pylori* suşu**

H. pylori ATCC 43504 nolu suşu ATCC'nin önerileri doğrultusunda aktive edildi (Anonymous 2010). Aktive edilen *H. pylori*, %5 defibrine koyun kanı içeren tryptic soy broth'da (TSB) çoğaltıldı (Poms ve Tatini, 2001).

Sucuk numunelerinin yapımı

Sucuk hamuru baharat ve kimyasal katkıların ilavesinden (Tekinşen ve Doğruer 2000) sonra *H. pylori*'nin varlığı yönünden kültürel yöntem ve PCR ile kontrol edildi. *H. pylori* negatif çıkan sucuk hamuruna, sayısı Mac-Farland'da ayarlanan *H. pylori* suşu yaklaşık 5×10^6 kob/g düzeyinde inokule edildi. Sucuk hamuru üç eşit gruba ayrıldıktan sonra kılıflara dolduruldu. Grup I, $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de yedi gün süreyle fermentasyona tabi tutuldu. Grup II, 72. saat $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de fermentasyondan sonra gün içersinde 35°C sıcaklıkta ısı işlemi uygulanarak 7. güne kadar fermentasyon ve kurutma gerçekleştirildi. Grup III, $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 72. saat yapılan klasik fermentasyondan sonra, farklı sıcaklık ve sürelerden oluşan ısı işlemlerine (43°C 'de 10 dakika, 50°C 'de iç sıcaklık 38°C 'ye erişinceye kadar, 55°C 'de 20 dakika, 63°C 'de iç sıcaklık 50°C 'ye erişinceye kadar ve 70°C 'de iç sıcaklık 65°C 'ye erişinceye kadar) maruz bırakıldı. Sucuk üretimi, farklı zamanlarda üç kez ve her üretimde her grup için 2 kg sucuk karışımı kullanılarak gerçekleştirildi.

Metot

Numunelerin mikrobiyolojik analizi

Numunelerin mikrobiyolojik analizinde dökme plak yöntemi kullanıldı. Toplam mezofilik aerobik (TMA) mikroorganizmaların sayımı için plate count agar (PCA, Oxoid CM463) besiyerinde 30°C 'de 72 saat, koliform grubu bakteriler violet red bile agar (VRBA, Oxoid CM107) besiyerinde 30°C 'de 24 saat, *Lactobacillus*'ların sayımı için Rogosa'nın acetate agarıyla (Oxoid, CM 0627) çift tabakalı olarak hazırlanan plaklarda, $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 5 gün, maya ve küf mikroorganizmaları potato dextrose sgar (PDA, Oxoid CM139) besiyerinde 20°C 'de 5 gün süreyle inkübasyon sonrası oluşan koloniler sayıldı (Harrigan, 1998).

Numunelerin fiziko-kimyasal analizi

Numunelerin rutubet miktarları Kett Infrared Moisture Meter cihazı (Model F-1A), pH değerleri pH değeri elektronik bir pH metre (InoLab pH 720 model; WTW GmbH, Hamburg, Germany) ile tayin edildi (Association of Official Analytical Chemist 1984).

Helicobacter pylori sayımı

Numunenin her bir seyreltisinden 0.1ml, %5 koyun kanı ve *Helicobacter pylori* selektif supplemet (Oxoid, SR0147E) ilaveli selektif Wilkins-Chalgren agar ve *Helicobacter pylori* special peptone agara (special peptone 10g/l, granulated agar 15g/l, sodium chloride 5g/l, yeast extract 5g/l, beef extract 5g/l, pyruvic acid sodium salt 0.5g/l) yüzeye yayma yöntemiyle inoküle edildi. Plaklar 37°C'de mikroaerofilik (%6 oksijen, %10 karbondioksit ve %84 nitrojen) ve yüksek rutubete sahip koşullarda inkübasyona alındı (Poms ve Tatini, 2001; Stevenson ve ark., 2000). Plaklarda üreyen 0.5-1.5mm çapında pigmentsiz, yarı şeffaf ve konveks özellikteki koloniler şüpheli *H. pylori* olarak dikkate alındı. Şüpheli koloniler biyokimyasal testlerde kullanılmak üzere WCA ve HPSPA agarda inkübe edilerek çoğaltıldı. Şüpheli koloniler karbol fuksin boyama metodu ile boyandı, katalaz, oksidaz, H₂S, üreaz ve hippurat hidroliz testleri uygulandı (Harrigan, 1998). Morfolojik olarak Gram negatif, tipik bükük çubuk şeklinde, katalaz, oksidaz, üreaz ve H₂S pozitif, hippurat hidroliz negatif olanlar *H. pylori* olarak değerlendirildi (Koneman ve ark., 1992; Holt ve ark., 1994, Quaglia ve ark., 2007). *H. pylori* pozitif kabul edilen kolonilere PCR analizi uygulanarak identifikasyonun doğruluğu teyit edildi (Poms ve Tatini, 2001).

İdentifiye edilmiş H. pylori kolonilerinin PCR ile doğrulanması

H. pylori'ye yönelik yapılan PCR analizinde; Metabion International AG (Lena-Christ-Strasse 44/1 D-82152 Martinsried/Deutschland) firması tarafından sentezlenmiş 375 bp primer çiftleri (HP Adhesin-1, GAATTACCATCCAGCTAGCG; HP Adhesin-2, GTAACCTTGACAAAAC-CCGC) kullanılarak, sucuk yapımının farklı aşamalarından kültürel yöntemle izolasyon ve identifikasyonu yapılan *H. pylori* izolatları PCR ile doğrulandı.

Bulgular

Araştırmada sucuk üretiminde kullanılan hammaddenin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri Tablo 1'de, fermentasyon süresince meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler ile *H. pylori* kontaminasyon düzeyindeki değişimler Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Sucuk Üretiminde Kullanılan Hammaddenin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri

	Toplam mezoofilik aerobik mikroorganizma	Koliform bakterisi	Maya-küf	Laktik asit bakterileri	pH	Rutubet (%)	<i>Helicobacter pylori</i>	
							WC	WC
Et	5,46±0,323	1,72±0,729	1,57±0,655	3,584±0,221	3,584±0,221	67.89±0,632		
Sucuk hamuru	5,62±0,238	1,33±0,929	1,50±0,677	3,51±0,120	5,887±0,058	56,78±0,577	Üreme görülmedi	Üreme görülmedi

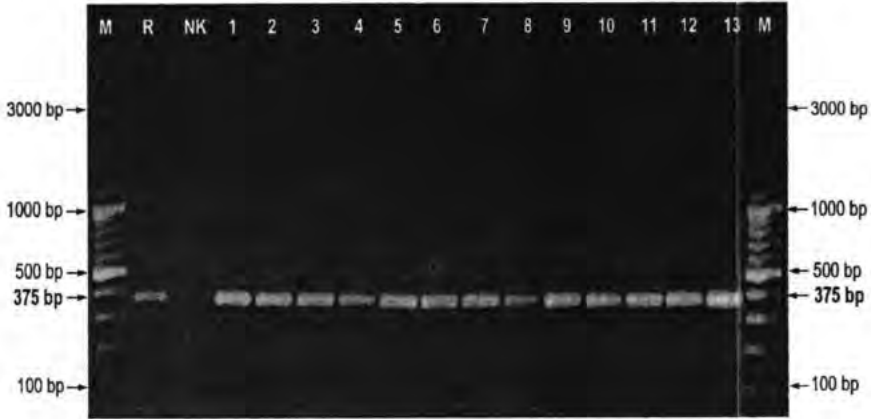
Tablo 2. Fermentasyon Süresince Mikrobiyolojik, Kimyasal ve *Helicobacter pylori* Sayılarındaki Değişimler

Grup	Fermentasyon süresi (saat)	Sıcaklık	Toplam mezofilik aerobik mikroorganizma	Kolliform bakterisi	Maya-köf	Laktik asit bakterileri	pH	Rutubet (%)	<i>Helicobacter pylori</i>	
									WC	HPSPA
1	0-24	20±2	7,12±0,47	4,02±0,26	3,40±0,17	6,68±0,39	5,70±0,26	54,96±1,17	5,47±0,31	5,49±0,30
	25-72	20±2	8,35±0,18	2,59±0,70	1,44±0,74	8,65±0,03	5,05±0,04	48,3±1,97	6,70±0,22	6,67±0,14
	73-120	20±2	8,47±0,03	1,092±1,09	Üreme yok	8,22±0,13	5,07±0,07	44,28±0,59	6,87±0,03	6,90±0,01
	121-154	18±2	8,52±0,36	Üreme yok	Üreme yok	8,27±0,52	5,04±0,09	41,24±2,34	6,82±0,12	6,79±0,18
2	0-24	20±2	7,24±0,44	4,27±0,27	2,88±0,25	6,99±0,38	5,62±0,15	56,14±1,03	5,74±0,06	5,74±0,05
	25-72	20±2	8,39±0,33	2,37±1,20	1,49±0,75	8,76±0,20	5,16±0,08	52,09±2,19	6,77±0,06	6,82±0,05
	73-120	35±2	8,80±0,19	1,048±1,04	2,30±2,30	2,30±2,30	5,26±0,08	43,25±0,35	6,801±0,08	6,804±0,03
	121-154	35±2	8,36±0,08	0,82±0,82	3,11±1,98	7,78±0,54	4,97±0,10	40,55±1,97	6,78±0,91	6,78±0,76
3	0-24	20±2	7,61±0,76	3,07±0,58	2,82±0,34	6,83±0,43	5,66±0,13	57,19±1,38	5,68±0,09	5,72±0,06
	25-72	20±2	8,31±0,42	1,97±1,107	0,77±0,77	8,71±0,33	5,13±0,01	51,35±1,30	6,778±0,07	6,771±0,09
	73-78	65***	6,52±0,31	Üreme yok	0,86±0,86	5,53±0,73	5,01±0,09	41,66±1,93	Üreme yok	Üreme yok

H. pylori'nin fermente Türk sucuğunda canlı kalabilmesi üzerine etkili olabilecek yukarıda belirtilen parametrelerden bazıları olan rutubet ve pH değerleri ile antagonizmada etkili olabilecek bazı mikroorganizmaların (örn., toplam mezofilik aerobik mikroorganizma, laktik asit bakterileri) sayısı ve gelişimi de incelenmiştir.

Yaklaşık 5x10⁶ kob/g düzeyinde kontamine edilen sucuk numunelerinden fermentasyonun birinci gününde bir log birimlik azalma ile 5.47 ile 5.5.74 log₁₀ kob/g düzeyinde bir geri alıntı saptandı. İzolatların mikroskopik görüntüsünde bakterinin tipik mikroskopik görüntüsünü koruduğu ve basil şeklinde olduğu gözlemlendi. Fermentasyonun üçüncü gününde her üç gruptaki H. pylori sayısının fermentasyonun birinci gününe göre bir log artış göstererek 6.67 ile 6.82 arasında değiştiği tespit edildi. İzolatların mikroskopik görüntüsünde, bakterilerin kokoid ve basil form içersinde oldukları saptandı. Grup III'te uygulanan ısı işlem sonrası H. pylori kültürel olarak tespit edilemedi. Fermentasyonun beşinci gününde Grup I ve Grup II'deki H. pylori sayılarında herhangi bir değişiklik saptanmadı. İzolatların mikroskopik görüntüsünde fermentasyonun üçüncü gününe göre basil formlarının kokoid formdan daha fazla olduğu gözlemlendi. Fermentasyonun yedinci gününde Grup I ve Grup II'deki H. pylori sayılarında herhangi bir değişiklik saptanmadı. İzolatların mikroskopik görüntüsündekokoid formlarının beşinci güne göre daha fazla ve Grup II'nin Grup I'e göre daha fazla kokoid formu içerdiği gözlemlendi (Tablo 2).

Fermentasyon süresince her grup sucuk numunesinden kültürel yöntemle izolasyon ve identifikasyonu yapılmış izolatların *H. pylori* olup olmadıklarını kesinleştirmek için adhesin A gene yönelik seçilen ve 375 bp'de bant veren primer kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin görüntülenmesiyle sucuk numunelerinden fermentasyon süresince kültürel yöntemlerle izole ve identifiye elde edilen bütün izolatların *H. pylori* olduğu teyit edilmiştir (Resim 1).



Resim 1. Sucuk Numunelerinden Fermentasyon Süresince Kültürel Yöntemle İzole-Identifiye Edilen *H. pylori* İzolatlarının PCR Ürünlerinin %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi

M: SM 321, 100bp Gene ladder; Fermentas; R: *H. pylori* ATCC 43504 ; NK: Negatif kontrol; 1: İnokülasyon öncesi sulandırma; 2-3: Fermentasyonun birinci günü HPSPA'dan İzole-Identifiye edilenler; 4-5: Fermentasyonun birinci günü WCA'dan İzole-Identifiye edilenler; 6-7-8: Fermentasyonun üçüncü günü Grup I, II ve III'den HPSPA'da İzole-Identifiye edilenler; 9-10: Fermentasyonun beşinci günü Grup I, II'den HPSPA'da İzole-Identifiye edilenler; 11-12: Fermentasyonun yedinci günü Grup I'den HPSPA ve WCA'da İzole-Identifiye edilenler; 13: Fermentasyonun yedinci günü Grup II'den WCA'da İzole-Identifiye edilenler.

Tartışma ve Sonuç

Sucuk numunelerinin fermentasyon süresince *H. pylori* ile kontaminasyon düzeyindeki değişimler incelendiğinde; yaklaşık 5×10^6 kob/g düzeyinde kontamine edilen sucuk numunelerinden fermentasyonun birinci gününde bir log birimlik azalma ile 5.47 ile 5.74 log₁₀ kob/g düzeyinde bir geri alıntı saptandı. Stevenson ve ark. (2000), 4.6 log₁₀ kob/g düzeyinde kontamine edilen siğir etlerinde bu sayının karıştırma, parçalama ve paketlenme işlemleri ile 1.3 log₁₀ kob/g- 3.3 log₁₀ kob/g arasında değerlere düştüğünü tespit etmişlerdir. *H. pylori* sayısında gözlemlenen bir log birimlik azalma, fermentasyonun ilk günlerinde aerobik özellikli mikrokokların ortama hakim olmasından kaynaklanabilir (Sanz ve ark., 1997). *H. pylori*'nin inokülasyon öncesi tespit edilen basil formunu koruması, sucuk numunelerinde pH ve rutubet değerleri ile yarışmacı flora sayısında fazla değişiklik olmamasından kaynaklanabilir. Besinlerde ve çevrede bakterinin vejetatif formunu etkileyen olumsuz çevresel faktörlerin *H. pylori*'nin VBNC forma geçmesine sebep olduğu (Velazquez ve Feitag 1999) ve VBNC forma dönüşmüş bakterinin kokoid görünüm aldığı (Vale ve Vitor 2010) bildirilmiştir.

Fermentasyonun üçüncü gününde her üç gruptaki *H. pylori* sayısının bir log artış göstererek 6.67 ile 6.82 arasında değiştiği tespit edildi (Tablo 2, Resim 4.4). *H. pylori* sayısının inoküle edildiği ilk günlük değerlerini koruması, bakterinin fermentasyon sırasında açığa çıkan bazı besin unsurlarını (örn., protein parçalanma ürünleri, aminoasitler) ve sucukta engel faktör olarak kabul edilen ve fermentasyonun bir ürünü olan CO₂'i (Adams ve Nicolalde, 1997), kendisi için mikro bir çevre oluşturmada kullanarak sucukta fermentasyon süresince sucukta gelişmesinden kaynaklanabilir. Çünkü *H. pylori*'nin üreaz üretimi, gastrointestinal sistemin üst kısımlarına kolonize olması için önemli bir faktördür (Jenkins ve Basset 1997). Üreaz enziminin muhtemelen midede bakteri için nötral bir çevre oluşturduğu düşünülmektedir (Dunn ve ark. 1997). Ayrıca *H. pylori* % 5-10 CO₂ içeren mikroaerofilik ortamlarda gelişen bir bakteridir (Vale ve Vitor 2010). Dolayısıyla fermentasyon sırasında açığa çıkan CO₂ bakterinin canlılığı ve gelişimini olumlu yönde etkilemiş olabilir. Çalicioğlu ve ark (1997), starter kültür katarak ürettikleri sucuklarda gerçekleştirilen $\geq 7 \log_{10}$ kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 kontaminasyonuna yalnızca fermentasyonun etkisini, patojenin sayısında $1.39 \log_{10}$ kob/g düzeyinde azalma olarak bildirmişlerdir. Buna ilaveten, Çalicioğlu ve ark (2002), *E. coli* O157:H7 ile $7.6 \log_{10}$ kob/g düzeyinde kontamine sucuk numunelerinin 38 °C'de ve 22 °C'de fermentasyonun patojen sayısında sırasıyla $1.39 \log_{10}$ kob/g ve $0.09 \log_{10}$ kob/g düzeyinde azalmaya sebep olduğunu bildirmişlerdir. Kara (2007), 104 ve 106 düzeylerinde *S. Typhimurium* ile kontamine ettikleri sucuk numunelerinde; normal fermentasyon koşullarında bu patojenin sayısında fermentasyonun ilk iki gününde bir değişiklik saptamazken, fermentasyonun üçüncü gününde fermentasyonun etkisini yaklaşık bir log birimlik azalma saptamıştır.

Fermentasyonun üçüncü gününde Grup III'te uygulanan ısı işlem sonrası *H. pylori* kültürel olarak saptanmamıştır (Tablo 2, Resim 4.7). Uygulanan ısı işleminin *H. pylori*'yi yıkımladığı gözlemlenmiştir. Çalicioğlu ve ark (1997), starter kültür katarak ürettikleri sucuklarda pH 5.0'te merkez sıcaklık 54°C'e eriştikten sonra 30 ve 60 dakika uygulanan ısı işlemi $\geq 7 \log_{10}$ kob/g düzeyinde katılan *E. coli* O157:H7'nin sayısında sırasıyla 5 ve 7 log birimlik azalmaya, pH 4.6'da merkez sıcaklık 54 °C'e eriştikten sonra uygulanan ısı işleminin ise 7 log birimlik azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Çalicioğlu ve ark (2002), $7.6 \log_{10}$ kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 ile kontamine ettikleri sucuk numunelerini 22°C'de üç gün fermente ettikten sonra 1.25 cm boyutlarında kesmişler ve merkez sıcaklık 63 °C'e erişinceye kadar ısı işlemine tabii tutmuşlardır. Araştırmacılar, ısı işleminin patojen sayısını 38°C'de fermente edilenlerde tespit edilebilir seviyelerinin altına düşürdüğünü bildirmişlerdir. Kara (2007), 104 ve 106 düzeylerinde *S. Typhimurium* ile kontamine ettikleri sucuk numunelerinde bu bakterinin sayısını ısı işlem sonrasında $< 2 \log_{10}$ kob/g düzeylerinde saptamış ve önemli azalmalar meydana geldiğini bildirmiştir.

Fermentasyonun beşinci gününde Grup I ve Grup II'deki *H. pylori* sayılarında herhangi bir değişiklik saptanmadı. Fermentasyonun yedinci gününde Grup I ve Grup II'deki *H. pylori* sayılarında herhangi bir değişiklik saptanmadı (Tablo 2). Diğer bir ifadeyle, fermentasyonun ve kurumanın tamamlanıp sucuğun fizikokimyasal özellikleri bakımından tüketilme hazır hale gelmesine rağmen başlangıçta inoküle edilen sayının korunduğu tespit edilmiştir. *H. pylori*'nin inokülasyon öncesi sayısal değerlerini fermentasyonun yedinci gününde de koruması ve basil formlarının birinci ve beşinci günlerde fazla olması, patojenin sucukta üreyip geliştiğini göstermektedir. Çünkü kokoid formlarının kültüre edilmesinin zor olduğu (Sörberg ve ark., 1996; Velazquez ve Feirtag, 1999; Buck ve Oliver, 2010) bildirilmiştir. Sörberg ve ark. (1996), kokoid kültürlerde taze besiyeri ilavesinin 9. ve 10. günlerde ATP düzeyini iki kat artırdığını ancak bu kültürlerde uzayan inkübasyon süresince, kokoid formdan basiller forma bir geçişin olmadığını da bildirmişlerdir. *H. pylori* sayısının inoküle edildiği ilk günlük değerlerini koruması, daha öncede ifade edildiği gibi, bakterinin fermentasyon sırasında açığa çıkan bazı besin unsurlarını (örn., protein parçalanma ürünleri, aminoasitler) ve sucukta engel faktör olarak kabul edilen CO₂'i (Adams ve Nicolalde, 1997), kendisi için mikro bir çevre oluşturmada kullanmasından kaynaklanabilir.

Birçok araştırmacı H. pylori'nin canlılığını araştırmak için farklı besin maddeleri kullanmışlardır. Yapılan bu araştırmalar ve sonuçları gözlemlendiğinde; genelde H. pylori'nin kontaminasyon düzeyi, besin maddesindeki besin unsurları ve besinin kimyasal-fiziksel özellikleri ile H. pylori'nin besinin yüzeyine kontaminasyonu ve yüzeye kontaminasyon dolayısıyla çevresel faktörlerin (örn., oksijene, ışığa ve kurumaya direkt maruz kalma) H. pylori'nin canlılığı üzerine etkili olduğu gözlenmektedir. Quaglia ve ark.'nın (2007) UHT ve pastörize sütleri sırasıyla 106 ve 105 düzeylerinde kontamine ettikten sonra 4°C'de depoladıkları UHT sütlerde 12. günde 101 kob/ml düzeylerinde izole edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, H. pylori'nin intrinsik faktörler düşünüldüğünde; üretim sonrası kontamine olan sütlerin H. pylori enfeksiyonlarının taşınmasında diğer gıdalardan daha etkili bir rol oynayacağını ileri sürmüşlerdir. Jlang ve Doyle (1998), sıcaklık, NaCl konsantrasyonu, NaNO₂ konsantrasyonu, su aktivitesi, üre varlığında H. pylori'nin besin unsurlarınca zengin ortamlarda gelişmesi ve canlılığını incelemişlerdir. Araştırmacılar, mikroaerofilik koşullarda %7 at serumu ve antibiyotik kombinasyonu katılmış brain hearth infusion broth'da 30-37 çalkalama yapıldığı zaman iyi geliştiğini bildirmişlerdir. Başlangıç seviyesi 5x10³ kob/ml olan H. pylori'nin 4°C'de 14 gün, 25°C'de 2 gün 40°C'de 1 günden az yaşadığını saptamışlardır. Gelişme için optimal NaCl konsantrasyonu %0.5-%1 olarak saptanmış %2'lik konsantrasyonun üremeyi durdurduğunu bildirmişlerdir. Gelişme için minimum aw ve pH sırasıyla 0.98 ve 4.5 olarak tespit edilmiştir. Üre ilavesinin pH 4.5 5.5 aralıklarında gelişmeyi arttırdığı, pH 3.5'da gelişmemesine rağmen üre ilavesiyle pH 3.5'de canlılığını sürdürdüğünü saptamışlardır. Araştırmacılar, H. pylori'nin birçok gıdada gelişmesi mümkün görülmezken, bakterinin düşük asitli ve yüksek rutubetli gıdalarda soğutulmuş muhafazada uzun süre canlı kalabileceğini ileri sürmüşlerdir. Sucuk, yüksek protein ve parçalanama ürünleri, pH değeri ve mikroaerofilik bir ortama sahip olması dolayısıyla Jlang ve Doyle (1998) tarafından yapılmış H. pylori'nin canlı kalabileceği gıda tanımına yakın bir üründür.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular ışığında H. pylori'nin fermentasyon süresince gelişebildiği ve canlılığını muhafaza ettiği ve son yıllarda sucuk üretiminde gerçekleştirilen ısıtma işlem uygulamasının, diğer bazı patojenlerde de olduğu gibi, H. pylori'nin canlılığını ortadan kaldırmada da oldukça etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu bağlamda, klasik fermente Türk tipi sucuk üretiminde; güvenli gıda üretiminin gerektirdiği bütün önlemlerin yanı sıra standart bir üretim teknolojisi uygulanmalıdır. Isıtma işlemi sucuk üretiminde ise fermentasyonun tam olarak gerçekleştirilerek pH değerlerinin belirli düzeylere inmesinden sonra ısıtma işlemi uygulanmasının önem arz ettiği sonuç ve kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

1. Acton, J.C. and Keller, J.E. 1974 Effect of fermented meat pH on summer sausage properties. J Milk Food Technol, 37, 570-576.
2. Adams, M.R. and Nicolaidis, L. 1997 Review of the sensitivity of different food borne pathogens to fermentation. Food Cont., 5/6, 227-239.
3. Anonymous 2010. <http://www.lgcpromochem.com/atcc/>
4. Association of Official Analytical Chemist (1984). "Official Methods of Analysis". 14th ed., Association of Official Analytical Chemist, Virginia.
5. Buck, A. and Oliver, J.D. 2010 Survival of spinach-associated *Helicobacter pylori* in the viable but nonculturable state. Food Cont., 21, 1150-1154.
Çalicioğlu, M., Faith, N., Buege, D.R. and Luchansky, J.B. 1997 Viability of *Escherichia coli* O157:H7 in fermented semidry low-temperature-cooked beef summer sausage. J. Food Protect., 60, 1158-1162.

6. Çalicioğlu, M., Faith, N., Buege, D.R. and Luchansky, J.B. 2002 Viability of *Escherichia coli* O157:H7 during manufacturing and storage of a fermented, semidry soudjouk-style sausage. *J. Food Protect.*, 65, 1541-1544.
7. Çolak, H., Hampikyan, H., Ulusoy, B. and Bingol, E.B. 2007 Presence of *Listeria monocytogenes* in Turkish style fermented sausage (sucuk). *Food Cont.*, 18, 30-32.
8. Dunn, B.E., Cohen, H. and Blaser, M. 1997 *Helicobacter pylori*. *Clin. Microbiol. Review*, 10, 4, 720-741.
9. Gomes, B.C. and Martinis, E.C.P. 2004a The significance of *Helicobacter pylori* in water, food and environmental samples. *Food Cont.*, 15, 397-403.
10. Goodwin, C.S., Blincow, E.D., Warren, J.R., Waters, T.E., Anderson, C.R. and Easton, L. 1985 Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. *J Clin Pathol*, 38, 1127-1131.
11. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A. and Marshall, B.J. 1986 *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. *J Clin Pathol*, 39, 353-365.
12. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A., Chilvers, T., Peters, M., Collins, M.D., Sly, L., McConnell, W. and Harper, W.E.S. 1989 Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. Nov. As *Helicobacter pylori* comb. Nov. And *Helicobacter mustelae* comb. Nov. Respectively. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 39, 397-405.
13. Harrigan, W.R. 1998. "Laboratory Methods in Food Microbiology." 3rd ed., Academic Press, California.
14. Hegarty, J.P., Dowd, M.T. and Baker, K.H. 1999 Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. *J Appl. Bacteriol.*, 87, 697-701.
15. Holt, J.G., Krieger, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. 1994 *Aerobic/Microaerophilic, Motile, Helical/Vibroid Gram-Negative Bacteria*, In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition, Williams&Wilkins, Baltimore.
16. Jenkins, C.C. and Basset, J.R. 1997 *Helicobacter* infection. *Small Anim. Gastro enter.*, 19, 3, 267-279.
17. Jiang, X. and Doyle, M.P. 1998 Effect of environmental and substrate factors on survival and growth of *Helicobacter pylori*. *J. Food Protect.*, 61, 8, 929-933.
18. Jiang, X. and Doyle, M.P. 2002 Optimizing enrichment culture conditions for detecting *Helicobacter pylori* in foods. *J. Food Protect.*, 65, 12, 1949-1954.
19. Kaban, M. and Kaya, M. 2006 Effects of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk. *Food Cont.*, 17, 797-801.
20. Kara, R. 2007. Doğal koşullarda ve ısıtma işlemi uygulanarak üretilen Türk sucuklarında *Salmonella typhimurium*'ün gelişimi. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon Kocatepe Üniversitesi.

21. Koneman, M.D., Schreckenberger, P.C., Allen, S.D., Winn, W.C. and Janda, W.M. 1992 Curved Gram-Negative Bacilli and Oxidase-Positive Fermenters: Campylobacters and Vibrionaceae. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fourth Edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
22. Meng, J. and Doyle, M.P. 1998 Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. Bull. Inst. Pasteur, 96, 151-164.
23. Nout, M.J.R. 1994 Fermented foods and food safety. Food Res Int, 27, 291-298. Poms, R.E. and Tatinli, S.R. 2001 Survival of *Helicobacter pylori* in ready-to-eat foods at 4°C. Int. J. Food Microbiol., 63, 281-286.
24. Quaglia, N.C., Dambrosio, A., Normanno, G., Parisi, A., Firinu, B., Lorusso, V. and Celano, G.V. 2007 Survival of *Helicobacter pylori* in artificially contaminated ultrahigh temperature and pasteurized milk. Food Microbiol., 24, 296-300.
25. Sanz, Y., Flores, J., Toldra, F. and Fera, A. 1997 Effect of pre-ripening on microbial and chemical changes in dry fermented sausages. Food Microbiol, 14, 575-582.
26. Shahamat, M., Mai, U., Paszko-Kolva, C., Kessel, M. and Colwell, R.R. 1993 Use of autoradiography to assess viability of *Helicobacter pylori* in water. Appl Environ Microbiol, 59:1231-1235.
27. Sırken, B., Pamuk, Ş., Özakin, C., Gedikoğlu, S. and Eylgör, M. 2006 A note on the incidence of *Salmonella* spp., *Listeria* spp. and *Escherichia coli* 157:H7 serotypes in Turkish sausage (soudjouk). Meat Sci., 72, 177-181.
28. Sörberg, M., Nilson, M., Hanberger, H. and Nilsson, L.E. 1996 Morphologic conversion of *Helicobacter pylori* from bacillary to coccoid form. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 15, 216-219.
29. Stevenson, T.H., Bauer, N., Lucia, L.M. and Acuff, G.R. 2000a Attempts to isolate *Helicobacter* from cattle and survival of *Helicobacter pylori* in beef products. J Food Protect., 63, 2, 174-178.
30. Tekinşen, O.C. ve Doğruer, Y. 2000 Her Yönüyle Pastırma. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
31. Tornadijo, M.E., Garcia, M.C., Fresno, J.M. and Carballo, J. 2001 Study of Enterobacteriaceae during the manufacture and ripening of San Simon cheese. Food Microbiol, 18, 499-509.
32. Vale, F.F. and Vitor, J.M.B. 2010 Transmission pathway of *Helicobacter pylori*: Does food play a role in rural and urban areas. Int. J. Food Microbiol., 138, 1-12. Velazquez, M. and Feirtag, J.M. 1999 *Helicobacter pylori*: characteristics, pathogenicity, detection methods and mode of transmission implicating foods and water. Int. J Food Microbiol., 53, 95-104.
33. Warren, J.R. and Marshall, B. 1983 Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet, i: 1273-1275.

Bildiri No: 142

Kategori: Genel

FARKLI ETÇİ SIĞIR IRKLARINA AİT ET ÖRNEKLERİNİN BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Oral

**Meryem Aydemir Atasever¹, Hayrunnisa Özlü¹, Sevda Urçar¹,
Mustafa Atasever¹**

¹Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, ERZURUM

Özet: Bu çalışmada; Erzurum Et ve Balık Kurumu'nda kesilen 2-3 yaşındaki 36 Aberden Angus, 53 Hereford, 92 Aberden Angus x Hereford melezi, 28 Limousin, 25 Charolais erkek siğir irkına ait et numuneleri bazı kalite kriterleri yönünden karşılaştırıldı. Et örneklerinin pH, renk (L* (nisbi parlaklık), a* (nisbi kırmızılık), b* (nisbi sarılık), su aktivitesi (aw), lipid oksidasyonu (TBARS; Thiobarbituricacid-reactive substances) değerleri M. longissimus dorsi kasında belirlendi. Ortalama (pH), (L*), (a*), (b*), (aw), (TBARS (1. gün) ve 4. gün) değerlerinin sırasıyla; (5,81±0,1), (38,8±2,4), (22,9±1,3), (6,9±3,12), (2,10±1,56 µmol MDA/kg), (5,55±4,69 µmol MDA/kg) olduğu saptandı. Limousin irkında belirlenen pH değerinin (p<0,001) düzeyinde diğer ırklardan yüksek olduğu, incelenen diğer parametreler açısından ise ırklar arasında farklılık olmadığı belirlendi.

Anatar Kelimeler: Et kalitesi, pH, renk, su aktivitesi, lipid oksidasyonu

Determination of Some Chemical Properties of Different Beef Cattle Breeds

Summary

The current study compared meat quality of 2-3 ages old 36 Aberden Angus, 53 Hereford, 92 Aberden Angus x Hereford breed, 28 Limousin and 25 Charolais steers slaughtered in Erzurum Meat and Fish Slaughterhouse. The M. longissimus dorsi was sampled for the measurement of pH, meat colour, (L*; relative lightness, a*; relative redness, b*; relative yellowness), water activity (aw) and lipid oxidation (TBARS). The average levels of the pH, L*, a*, b*, aw, and TBARS (1. day), TBARS (4. day) day in the meat samples was determined to be (5.81±0.1), (38.8±2.4), (22.9±1.3), (6.9±3.12), (2.10±1.56 µmol MDA/kg), (5.55±4.69 µmol MDA/kg). The pH value of the Limousin breed determined to be high on other breeds at the (p <0.001) level. The obtained results showed that there were no significant relationship breeds and meat quality.

Key words: Meat quality, pH, colour, water activity, lipid oxidation

1. Giriş

Et kalitesi etin niteliklerini tanımlamak için kullanılan bir terimdir (1). Et kalitesine ait temel kriterleri belirlemeye çalışan çeşitli bilimsel çalışmalar mevcuttur. Söz konusu çalışmalar et kalitesi kavramını; hijyen (patojenlik mikroorganizmalar, pH, aw, Eh gibi intrinsik faktörler), gıda fizyolojisi; (besleyici değer, kimyasal yapı vb.), teknoloji (işleme yöntemleri) ve fiziksel özellikler (renk, tat, su bağlama kapasitesi) olarak ele almışlardır (2-4).

Et rengi tüketicinin tercihini en fazla etkileyen özelliktir. Çoğu tüketici et ve et ürünlerini sadece renk beğenisine dayanarak seçmektedir (5,6). Bunun yanı sıra et renginde gözlemlenen olumsuz değişiklikler mikrobiyolojik bozulmanın bir göstergesi olarak ele alınmaktadır (7). Yapılan çalışmalar merada yetiştirilen hayvan etlerinin ahırda yetiştirilenlere göre daha koyu olduğunu göstermiştir (8-11).

Lipid oksidasyonu etin kalitesini ve kabul edilebilirliğini etkileyen önemli parametrelerden biri olup (12), et ve et ürünlerinde mikrobiyal olmayan kalite bozukluklarına neden olmaktadır (13). Lipid oksidasyonu ile birlikte ette istenmeyen renk, tat ve koku gelişmektedir (14,15).

Su aktivitesi (aw) gıdalarda serbest olarak bulunan ve mikroorganizmalar tarafından kullanılabilen suyun ölçüsü olarak bilinir. Bir gıda maddesinin su aktivitesi değeri, gıdadaki suyun buhar basıncının aynı sıcaklıktaki en yüksek su buhar basıncına oranıdır (15).

pH düzeyi ette gerçekleşen mikrobiyolojik ve biyokimyasal olaylarda önemli olan bir parametredir. Gelişen tüm olaylar ortamın pH düzeyine göre farklı sonuçlar meydana getirmektedir (15).

Literatürde küçükbaş hayvan ırklarına ait et kalitesini belirlemeye yönelik az sayıda çalışmaya (16) rastlanmıştır Bunun yanı sıra siğir ırklarına ait karkas karakterlerini belirlemeye yönelik çalışmalar (17,18,19) yapılmasına rağmen, etin kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlendiği çalışmalar yetersizdir.

Bu çalışmada; Aberdeen Angus, Hereford, Aberdeen Angus x Hereford mezezi, Limousin, Charolais etçi ırklarına ait et örnekleri; pH, renk (L^* , a^* , b^*), su aktivitesi ve lipid oksidasyonu yönünden karşılaştırıldı.

2. Gereç ve Yöntem

Bu araştırmada Et ve Balık Kurumu tarafından ithal edilen ve Erzurum Et ve Balık Kurumu Kombinasi'nda kesilen 2-3 yaşındaki 36 Aberdeen Angus, 53 Hereford, 92 Aberdeen Angus x Hereford mezezi, 28 Limousin, 25 Charolais erkek siğira ait et örnekleri pH, renk (L^* (nisbi parlaklık), a^* (nisbi kırmızılık), b^* (nisbi sarılık)), su aktivitesi (aw), lipid oksidasyonu (TBARS; Thiobarbituric acid-reactive substances) yönünden incelendi. Kesimden sonra 24 saat dinlendirilen siğir karkaslarından M. longissimus dorsi kasından örnekler alındı. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Laboratuvarına getirilen et örnekleri pH, renk (L^* , a^* , b^*), su aktivitesi ve lipid oksidasyonu (TBARS), yönünden analiz edildi. Ayrıca et örnekleri 4°C'de 4 gün muhafaza edildikten sonra tekrar TBARS değerleri belirlendi.

2.1. Örneklerin pH değerinin belirlenmesi

Örneklerin pH değerleri Gökalp et al., (20)'in bildirdiği metoda göre yapıldı. Buna göre, homojen hale getirilmiş örneklerden 10'ar gram paralelli olarak tartılıp üzerine 100 ml saf su ilave edildi. Ultra-Turrax (IKA Werk T 25, Germany) ile 1 d homojenize edildikten sonra pH-metre (WTW Inolab, Germany) ile pH değerleri belirlendi.

2.2. Örneklerin renk analizi

Örneklerin kesit yüzey renk yoğunlukları (L^* , a^* , b^*) Minolta (CR-200, MinoltaCo, Osaka, Japan) kolorimetre cihazı kullanılarak belirlendi. Kasın kesit yüzeyinde 3'er okuma yapıldı.

2.3. Örneklerin aw değerinin belirlenmesi

Su aktivitesi değeri AquaLab (4TE, USA) cihazı ile belirlendi. Cihaza ait numune kabına bir miktar et konularak aw değeri okundu.

2.4. Örneklerin TBARS değerinin belirlenmesi

Lipid oksidasyonu TBARS yöntemi ile belirlendi. Bu amaçla; homojen hale getirilen örnekten 2 g alınarak üzerine 12 ml TCA çözeltisi (%7,5 TCA, %0,1 EDTA, %0,1 Propil gallat (3 ml etanolde çözöldü)) ilave edilmiş, 15-20 sn Ultra-Turrax (IKA Werk T 25, Germany)'da homojenize edildikten sonra Whatman 1 filtre kâğıdından süzöldü. Süzöntüden 3 ml alınarak deney tüpüne aktarılmış, üzerine 3 ml TBA (0,02M) çözeltisi konulmuş ve karıştırıldı. Deney tüpleri 100°C'de 40 d su banyosunda bekletildikten sonra 5 d soğuk su içerisinde soğutuldu. Santrifüj işleminden (2000 rpm'de 5 d) sonra 530 nm'de spektrofotometrede (AquamateThermo electron corporation, England) absorbans okundu. Standardın hazırlanmasında TEP (1,1,3,3, tetraetoksipropan) kullanıldı. Sonuç $\mu\text{mol malonaldehit/kg}$ olarak verildi (21).

2.5. İstatistiksel analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesinde one-way Anova testi, ırklar arasında farkın değerlendirilmesinde Duncan testi kullanıldı.

3. Bulgular ve Tartışma

Aberdeen Angus, Hereford, Aberdeen Angus x Hereford mezezi Limousin, Charolais siğir ırklarına ait örneklerin pH, renk (L^* , a^* , b^*), su aktivitesi Tablo 1'de, TBARS değerleri Tablo 2' de verilmiştir.

3.1. Örneklerin pH bulguları

Etin normal pH sı 5,5 ile 5,8 arasında değişmektedir. Elde edilen 5,8-5,9 pH aralığı önceki çalışmalar (22-25) ile benzer bulunmuştur.

Limousin ırkında ortalama pH değerinin ($p < 0,001$) düzeyinde diğer ırklardan yüksek olduğu belirlendi. Bu bulgu Chambaz et al., (26)'ın; Limousin ırkında belirlediği pH düzeyinin Aberdeen Angus ve Charolais ırklarından daha düşük olduğu bilgisiyle çelişmektedir. Diğer ırklar (Aberdeen Angus, Hereford, Aberdeen Angus x Hereford mezezi, Charolais) arasında pH değeri açısından farklılık olmayışı önceki literatür bilgileriyle (27-28) örtüşmektedir.

3.2. Örneklerin renk bulguları

Parlaklık genel olarak et rengindeki değişiminin ifadesinde fazlaca kullanılan bir parametre olmazken (29, 30); kırmızılığın (a^*) azalması ve sarılıktaki değişimler et renginin kahverengileşmesinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (31, 32). Etin parlaklığını ifade eden L^* (6) değerinin 38,6-39,1 arasında olduğu ve ırklar arasında fark olmadığı ($p > 0,001$) belirlenmiştir. Elde edilen bu bilgi ırklar arasında L^* değerinin farklılık arz etmediğini ifade eden çalışmalarla (24, 33, 34) paralellik arz etmektedir.

Etin kırmızılığının ölçüsü olarak değerlendirilen a^* değerinin (6) ırklar arasında benzer ($p > 0,001$) olduğu ve 22,6-23,2 arasında değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen bu veri Wariththam et al., (35)'in Brahman x Tayland yerli siğir ve Charolais x Tayland yerli siğir melezlerinde (a^* ; 20,8-21,5) ve Jaturasitha et al., (34)'in Tayland yerli siğirlerinde (20,0-19,6) belirlediği bulgular ile benzerlik göstermektedir. Muchenje et al., (25) ise bu değeri Nguni, Bonsmara ve Aberdeen Angus siğir ırklarında 15,8-16,6 arasında değiştiğini bildirmiştir. Gözlemlenen bu farklılığın renk ölçümünün yapıldığı süre ile alakalı olduğu düşünülmektedir. Zira bizim çalışmamızda a^* değeri kesim işleminden 24 saat sonra belirlenirken Muchenje et al., (25) a^* değeri ölçümünü kesimden 48 saat sonra gerçekleştirmiştir.

Etin doğal rengi miyogloblin ve hemoglobin pigmentlerinden kaynaklanmaktadır. Bu pigmentlerde globin, porfirin halkası ve demir iyonu bulunmaktadır. Etin rengini belirleyen bu üç bileşik oksidasyona karşıda oldukça duyarlıdır. Kesimden sonra ette bulunan renk pigmenti myogloblin, oksijenasyon ile oksimiyoglobline dönüşmekte, ilk görülen mor kırmızı renk yerini parlak kırmızıya bırakmaktadır. Oksidasyon ile birlikte bu pigmentler metmiyoglobine dönüşerek et rengi kahve kırmızı olmaktadır (15).

b* değeri etteki nisbi sarılığın ifadesi olarak kullanılır (6). Bu değerin incelen siğir ırklarında benzer olduğu ($p>0,001$) ve 6,0-7,1 arasında değiştiği belirlendi. Benzer şekilde; Muchenje et al., (25) bu değeri 6,5- 7,1, Maher et al., (36), ise Charolais siğir ırkında 7,1-7,6 arasında olduğunu ifade etmektedir.

3.3. Örneklerin aw bulguları

Taze etin aw değeri 0,99 civarındadır. Bu değerin incelenen tüm siğir ırklar arasında benzer olduğu ($p>0,001$) saptandı.

3.4. Örneklerin TBARS bulguları

TBARS metodu gıdalarda lipid oksidasyonunun belirlenmesinde kullanışlı bir metodur (37). Bu çalışmada TBARS değerlerinin 1. günde ırklar arasında farklılık arz etmediği ve $2,10 \pm 1,56$ $\mu\text{mol MDA/kg}$ düzeyinde olduğu saptandı. Descalzo et al., (13) taze siğir etinde bu değeri $0,09 \pm 0,03$ mg MDA/kg, Descalzo et al., (38) ise taze buffalo etinde $0,076 \pm 0,018$ mg MDA/kg olarak belirlemişlerdir. Jaturasitha et al., (34); TBARS değerinin Tayland yerli siğirlerinde 0. günde $0,171 - 0,188$ mg MDA/kg, 3. günde ise $0,209 - 0,222$ mg MDA/kg olduğunu bildirmiştir. 4 günlük muhafaza sonrası belirlenen TBARS değerinin ortalama $5,55 \pm 4,69$ $\mu\text{mol MDA/kg}$ olduğu saptandı. Bu değerin Aberden Angus ırkında en düşük, Charolais ırkında ise en yüksek olduğu görüldü.

4. Sonuç ve Öneriler

Yapılan bu çalışma ile Aberden Angus, Hereford, Aberden Angus x Hereford mezezi, Limousin, Charolais siğir etlerinin ele alınan özellikler açısından büyük farklılıklar arz etmediği görülmüştür. Ancak siğir ırklarının et kalitesini belirlemeye yönelik daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

5. Kaynaklar

1. Maltin C., Balcerzak D., Tilley R., and Delday M. (2003), Determinants of meat quality: tenderness. Proceedings of the Nutrition Society, 62, 337-347.
2. Gray J.I., Gomaa E.A and Buckley D.J. (1996). Oxidative Quality and Shelf Life of Meats. Meat Science, 43, 111-123.
3. Sahoo J. and Verma, S.P. (1999). Oxidative problems in meat and meat products and use of antioxidant vitamins. Journal of Food Science and Technology, 36, 487-499.
4. Dufrasne I., Marche C., Clinquart A and Hornick J.L. (2000). Effects of dietary vitamin E supplementation on performance and meat characteristics in fattening bulls from the Belgian Blue breed. Livestock Production Science, 65, 197-201.
5. Comforth D. Colour -its basis and importance, In: Pearson, A.M., Dutson, T.R. (Eds.), Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products. Advances in Meat Research Series, Volume 9. Chapman & Hall, London, (1994) pp: 34-78.

6. Dunne P.G., Monahan F.J and Moloney A.P. (2011). Current perspectives on the darker beef often reported from extensively-managed cattle: Does physical activity play a significant role?. *Livestock Science*, (In press).
7. Erol, İ. Gıdaların mikrobiyolojisi ve mikrobiyolojik bozulma, Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık, Ankara, (2007) pp: 237-266.
8. Muir P. D., Smith N. B., Wallace G. J., Cruickshank G. J., and Smith, D. R. (1998). The effect of short-term grain feeding on liveweight gain and beef quality. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 41, 517-526
9. Vestergaard M., Oksbjerg N. and Henckel P. (2000). Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat colour of semitendinosus, longissimus dorsi and supraspinatus muscles of young bulls. *Meat Science*, 54, 177-185.
10. Priolo A., Micol D. and Agabriel, J. (2001). Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavor, A review. *Animal Research*, 50, 185-200.
11. Luciano G., Monahan F.J., Vasta V., Pennisi P., Bella M. and Priolo A. (2009). Lipid and colour stability of meat from lambs fed fresh herbage or concentrate. *Meat Science*, 82, 193-199.
12. Beltran E., Pla R., Yuste J. and Mor-Mur M. (2003). Lipid oxidation of pressurized and cooked chicken: role of sodium chloride and mechanical processing on TBARS and hexanal values. *Meat Science*, 64, 19-25.
13. Descalzo A.M., Insani E.M., Biolatto A., Sancho A.M., Garcia P.T., Pensel N.A. and Josifovich J.A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70, 35-44.
14. Asghar A., Gray J. L., Buckley D. J., Pearson A. M. and Boren A. M. (1988). Perspectives of warmed-over flavor. *Food Technology*, 42, 102-108.
15. Öztan, A. Et Bilimi ve Teknolojisi. Filiz Matbaacılık, Ankara, (2008) pp:1-250.
16. Ekiz B., Ozcan M., Yilmaz A., Tölü, C. and Savas T. (2010). Carcass measurements and meat quality characteristics of dairy suckling kids compared to an indigenous genotype. *Meat Science*, 85, 245-249.
17. Gil M., Serra X., Gispert M., Oliver M. A., Sanudo C. and Panea B., et al. (2001). The effect of breed-production systems on the myosin heavy chain 1, the biochemical characteristics and the colour variables of longissimus thoracis from seven Spanish beef cattle breeds. *Meat Science*, 58, 181-188.
18. Serra X., Gil M., Gispert M., Guerrero L., Oliver M. A. and Sanudo C., et al. (2004). Characterization of young-bulls of Bruna del Pirineus cattle breed (selected from old Brown Swiss) in relation to carcass, meat quality and biochemical traits. *Meat Science*, 66, 425-436.
19. Alberti P., Ripoll G., Goyache F., Lahoz F., Olleta J.L., Panea B. and Sanudo C. (2005). Carcass characterisation of seven Spanish beef breeds slaughtered at two commercial weights. *Meat Science*, 71, 514-521.

20. Gökalp H.Y., Kaya, M., Tülek, Y., Zorba, Ö Guide for Quality Control and Laboratory Application of Meat Products, 4th Press, Atatürk Univ. Publication, No. 751. Erzurum, Turkey (2001).
21. LEMON D. W. An improved TBA test for rancidity. New series. Circular no. 51. Halifax, Nova Scotia: Halifax Laboratory. (1975).
22. Beltran J. A., Jaime I., Santolaria P., Sanudo C., Alberti P. and Roncales P. (1997). Effects of stress-induced high post-mortem pH on protease activity and tenderness of beef. *Meat Science*, 45, 201-207.
23. Silva J. A., Patarata L. and Martins C. (1999). Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. *Meat Science*, 53, 453-459.
24. Revilla I. and Vivar-Quintana A. M. (2006). Effect of breed and ageing time on meat quality and sensory attributes of veal calves of the "Ternera de Alliste" Quality Label. *Meat Science*, 73, 189-195.
25. Muchenje V., Dzama K., Chimonyo M., Raats J.G. and Strydom P.E. (2008). Meat quality of Nguni, Bonsmara and Aberdeen Angus steers raised on natural pasture in the Eastern Cape, South Africa. *Meat Science*, 79, 20-28.
26. Chambaz A., Scheeder M. R. L., Kreuzer M., and Dufey P. A. (2003). Meat quality of Angus, Simmental, Charolais and Limousin steers compared at the same intramuscular fat content. *Meat Science*, 63, 491-500.
27. Hoving-Bolink A. H., Hanekamp W. J. A. and Wastra P. (1999). Effects of sire breed and husbandry system on carcass, meat and eating quality of Piemontese and Limousin crossbred bulls and heifers. *Livestock Production Science*, 57, 273-278.
28. Monson F., Sanudo C. and Sierra, I. (2004). Influence of cattle breed and ageing time on textural meat quality. *Meat Science*, 68, 595-602.
29. Sapp P. H., Williams S. E. and McCann M. A. (1999). Sensory attributes and retail display characteristics of pasture and/or grainfed beef aged 7, 14 or 21 days. *Journal of Food Quality*, 22, 257-274.
30. Dunne P. G., Monahan F. J., O'Mara F. P. and Moloney A. P. (2005). Colour stability, under simulated retail display conditions, of *M. longissimus dorsi* and *M. semimembranosus* from steers given long-term daily exercise and supplemented with vitamin E. *Meat Science*, 71, 480-489.
31. Morrissey P. A., Buckley D. J., Sheehy P. J. A. and Monahan, F. J. (1994). Vitamin E and meat quality. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53, 289-295.
32. Mancini R. A. and Hunt M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71, 100-121.
33. Muir P. D., Wallace G. J., Dobbie P. M. and Bown M. D. (2000). A comparison of animal performance and carcass and meat quality characteristics in Hereford, Hereford × Friesian, and Friesian steers grazed together at pasture. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 43, 193-205.

34. Jaturasitha S., Norkeaw R., Vearasilp T., Wicke M. And Kreuzer M. (2009). Carcass and meat quality of Thai native cattle fattened on Guinea grass (*Panicum maxima*) or Guinea grass-legume (*Stylosanthes guianensis*) pastures. *Meat Science*, 81, 155-162.
35. Waritthitham A., Lambertz C., Langholz H.-J., Wicke M. and Gauly M. (2010). Assessment of beef production from Brahman x Thai native and Charolais x Thai native crossbred bulls slaughtered at different weights. II: Meat quality. *Meat Science*, 85, 96-200.
36. Maher S.C., Mullen A.M., Moloney A., Drennan M.J., Buckley D.J. and Kerry J.P. (2004). Colour, composition and eating quality of beef from the progeny of two Charolais sires. *Meat Science*, 67, 73-80.
37. Caprioli I., O'Sullivan M. and Monahan F.J. (2011). Interference of sodium caseinate in the TBARS assay. *Food Chemistry*, 124, 1284-1287.
38. Descalzo A.M., Rossetti L., Sancho A.M., Garcia P.T., Biolatto A., Carduza F. and Grigioni G.M. (2008). Antioxidant consumption and development of oxidation during ageing of buffalo meat produced in Argentina. *Meat Science*, 79, 582-588.

Tablo.1. Siğir ırklarına ait kimyasal analiz bulguları

Tür	N	pH			L*			a*			b*			Su aktivitesi (aw)		
		Min.	Max.	Ort ±Std. hata	Min.	Max.	Ort ±Std. hata	Min.	Max.	Ort ±Std. hata	Min.	Max.	Ort ±Std. hata	Max.	Max.	Ort ±Std. hata
Aberden Angus	36	5,7	5,9	5,81±0,6b***	34,2	48,1	38,6	20,3	26,7	23,2±1,2	4,1	9,8	6,8 ±1,1	0,989	0,998	0,994±0,002
Hereford	53	5,6	6,0	5,80±0,1b	8,5	44,3	38,7±2,2	13,2	25,7	22,8±1,4	4,8	78,1	7,1±5,8	0,989	0,997	0,994±0,002
Aberden Angus x Hereford	92	5,6	6,0	5,81±0,1b	33,6	46,0	39,9±2,0	19,3	27,4	23±1,3	3,9	10,7	6,9 ±1,2	0,989	0,998	0,993±0,002
Limousin	28	5,7	6,4	5,91±0,2a	35,1	41,1	38,0±1,9	19,8	25,1	22,7±1,4	4,2	8,1	6,6 ±0,9	0,989	0,997	0,993±0,002
Charolais	25	5,8	5,4	5,85±0,1b	33,9	41,8	39,1±2,2	20,3	24,4	22,6±1,1	4,9	7,3	6,0±0,7	0,989	0,995	0,993±0,003
Toplam	234	5,6	6,4	5,81±0,1	8,5	48,1	38,8±2,4	13,2	27,4	22,9±1,3	3,9	78,1	6,9±1,12	0,989	0,998	0,994±0,002

***:p<0,001

Tablo.2. Siğir ırklarına ait TBARS bulguları (µmol MDA/kg)

Tür	TBARS (1. gün)				TBARS (4. gün)		
	N	Min.	Max.	Ort. ± hata	Min.	Max.	Ort. ±Std. hata
Aberden Angus	36	0,07	5,31	1,85±1,01	0,08	12,02	3,94±3,28c***
Hereford	53	0,07	13,57	2,24±2,14	0,06	24,52	4,80±4,78bc
Aberden Angus x Hereford	92	0,10	9,10	2,12±1,35	1,14	38,89	6,36±4,87ab
Limousin	28	1,21	3,11	2,08±0,61	0,08	14,72	6,70±3,92ab
Charolais	25	0,39	7,16	2,14±2,18	2,76	19,68	8,48±5,81a
Toplam	234	0,07	13,57	2,10±1,56	0,06	38,89	5,55±4,69

***:p<0,0001

Bildiri No: 96

Kategori: Genel

SIĞIR SAFRASINDA SALMONELLA SPP. VARLIĞI VE İZOLATLARDA PHOQ GENİNİN TESPİTİ

Sunum Tipi: Oral

Fatma Seda Bilir Ormancı¹, Muammer Göncüoğlu¹, Naim Deniz Ayaz², İrfan Erol¹

1Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, 2 Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü

Özet: Bu çalışma ile siğir safralarında klasik kültür ve IMS bazlı kültür tekniği ile *Salmonella* spp.'nin varlığının belirlenmesi, izolatların PCR ile doğrulanması ve PhoQ geninin saptanması ve disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik dirençlilik profilinin saptanması amaçlandı.

Bu kapsamda Ankara civarındaki iki farklı mezbahadan, Mayıs-Eylül 2007 tarihleri arasında, toplam 188 siğir safra örneği alındı.

Klasik kültür tekniği ile örneklerin 2'sinde (% 1.1), IMS bazlı yöntemle 3'ünde (%1.6) *Salmonella* spp. saptandı. *Salmonella* izole edilen her bir örnekten 3 koloni alındı (A, B ve C) ve sırasıyla A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 ve C3 şeklinde kodlandı. Tüm *Salmonella* kolonileri *oriC* esas alınarak PCR ile doğrulandı. Her 3 örneğe ait 9 koloninin PhoQ geni taşıdığı PCR ile saptandı.

Disk difüzyon yöntemi ile izolatlardan birinin ampisilin, sefalotin, tetrasiklin, nalidiksik asit ve sulfametaksazole dirençli olduğu; her 3 izolatında streptomisine orta düzeyde dirençli olduğu; Ayrıca 2 izolatın sulfametaksazole, 3. izolatın ise amoksisilin/klavulanik asit ve sefazoline orta düzeyde dirençli olduğu saptandı.

Sonuç olarak safra, siğirlerde *Salmonella* spp.'nin rezervuarı olabilir. Ayrıca tüm izolatların PhoQ genini taşıması, bu genin *Salmonella* türlerinin safrada yaşamını sürdürebilmesi ile ilgili önemli rol oynayabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik dirençlilik, PhoQ, safra, *Salmonella*.

Incidence of *Salmonella* spp. in Bile of Cattle and Detection of PhoQ Gene of the Isolates

Abstract

The objectives of this study were to determine the incidence of *Salmonella* in bile of cattle by conventional cultivation and immunomagnetic separation (IMS) based cultivation technique, to verify the isolates and to detect PhoQ gene by PCR, and to find out the antibiotic resistance profiles using disc diffusion method.

A total of 188 cattle bile samples were collected from two slaughterhouses near Ankara between May-September 2007. In three (1.6 %) of the samples *Salmonella* spp. were detected by IMS based cultivation technique and two (1.1 %) of the samples with conventional cultivation technique. From the each contaminated samples three colonies (A, B and C) were picked and coded as A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 and C3, respectively. All *Salmonella* isolates were verified by detection of *oriC* gene and from all isolates PhoQ gene was detected using PCR.

According to the disc diffusion method one isolate was found to be resistant ampicillin, cephalothin, tetracycline, nalidixic acid and sulphamethoxazole. All isolates were found to be intermediately resistant to streptomycin. In addition 2 isolates were intermediately resistant to sulphamethoxazole and one to amoxicillin/clavulanic acid and cephazolin.

In conclusion bile can be a reservoir of *Salmonella* in cattle and all the isolates carried *PhoPQ* gene that may play a significant role in the survival of *Salmonella* spp. in bile.

Key words: antibiotic resistance, bile, *PhoPQ*, *Salmonella*.

Giriş

Salmonella, zoonotik öneminden dolayı en önemli gıda patojenleri arasında yer alır. *Salmonella* enfeksiyonları daha çok hayvansal gıdalarda ilişkilendirilir (5). Safra kesesinde kolonize olabilmek yeteneğinde olan *Salmonella*, safrada oldukça yüksek konsantrasyonda bulunabilir (4).

Safra asitleri karaciğerde kolesterolün değişimi ile oluşur. Safra kesesinde depolanır ve safra ile salgılanır. İnce bağırsağın son bölümünden ve devam eden kalın bağırsaktan tekrar emilir. Bu aşamada bağırsaktaki dirençli mikrobiyel flora ile kontamine olabilir. Safra sentezlendiği anda sterildir. Fakat sekresyonundan sonra özellikle duodenumda enterik bakterilerle kontamine olur (12). Safra mikroorganizmaların gastrointestinal sistemde yaşaması ve kolonizasyonu açısından büyük öneme sahiptir. Bu nedenle safra kesesi *Salmonella* gibi patojenlerin potansiyel kaynağı olarak dikkate alınmalıdır (4).

Salmonella türlerini de içeren enterik bakteriler, safranin etkilerine karşı dirençlidir; Dolayısı ile bağırsaklarda *Salmonella* spp. safra tuzlarına direnç gösterebilir (17). Konu ile ilgili yapılan çalışmalar, *Salmonella* enfeksiyonlarının % 1-3'ünde safra kesesinin kronik enfeksiyonlar için başlıca lokasyon yeri olduğunu ve enfeksiyonu geçiren bireylerin kronik taşıyıcı olduğunu ortaya koymuştur. Safrada bulunan mikroorganizma sürekli olarak bağırsağa salınmakta ve gaita ile çevreye saçılmaktadır. Bu durum safra ya da safra kesesinin enfeksiyonun gelişmesinde taşıyıcı olarak rol oynayabileceğini göstermektedir (14).

Gram negatif bakterilerin hücre duvarı safra tuzları için ana bariyer olarak bilinir (16). Ayrıca PhoP-PhoQ (PhoPQ) geninin *Salmonella* spp.'nin bağırsak ve safra kesesinde yaşamını sürdürmesi ile ilgili önemli rol oynayan ürünlerin sentezini düzenlediği bildirilmiştir (17). PhoPQ düzenleyici sistemi *Salmonella* spp.'nin virulensi açısından da önemlidir (11, 13).

Salmonellozun ve diğer bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için, pek çok antimikrobiyel madde insan hekimliğinde ve veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum dirençli *Salmonella* türleri ve diğer zoonotik bakteriyel patojenlerin ya da dirençli genlerin, kontamine gıdaların tüketimi ile hayvanlardan insanlara geçişi nedeni ile halk sağlığı riski oluşturabilir (9, 20). *Salmonella* ve diğer bakteriyel patojenlerde, antibiyotik dirençliliğinde artış gözlenmesi tüm dünyada halk sağlığı açısından ciddi endişe yaratmaktadır. Son 20 yılda çoklu antibiyotik direnci geliştirmiş pek çok *Salmonella* serotipi insan ve hayvanlarda hastalığa neden olmuştur (15, 18, 10).

Bu çalışmanın amacı, siğir safralarında *Salmonella* insidensinin belirlenmesi, PCR ile izolatların doğrulanması ve PhoPQ geninin saptanması ve disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik dirençlilik profilinin ortaya konulmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Gereç:

Çalışmada, Mayıs-Eylül 2007 tarihleri arasında, Ankara civarında iki farklı mezbahada kesilen sağlıklı siğirilerden elde edilen 188 safra örneği materyal olarak kullanıldı. Örnekler, karkastan iç organ çıkartılma aşamasından sonra, hasar görmemiş safra kesesi içerisinden, steril şırınga ile alındı. Yaklaşık 20 ml safra örneği soğuk zincir altında laboratuvara getirildi ve aynı gün analiz edildi.

Yöntem:

Safra örneklerinde *Salmonella*'nın varlığı klasik kültür ve IMS bazlı kültür tekniği ile karşılaştırılmalı olarak saptandı. Örneklerden, *Salmonella* spp.'nin klasik kültür tekniği ile izolasyonunda ISO 6579 (The International Organization for Standardization) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı (2).

Her bir safra örneğinden aseptik koşullarda steril plastik torbalara 10'ar ml konulup, üzerine 90'ar ml tamponlanmış peptonlu su (TPS, Oxoid CM1049) ilave edildikten sonra karışım stomacherde 2-3 dakika homojenize edildi. Homojenat ön zenginleştirme amacıyla 37°C'de, aerob koşullarda, 24 saat inkübe edildi. Ön zenginleştirme işlemini takiben selektif zenginleştirme amacıyla, Rappaport-Vasiliadis Broth (RVB, Oxoid CM 669) ve Selenit Cystin Broth (SCB, Difco) kullanıldı. Selektif zenginleştirme buyyonlarından bir öze dolusu alınarak Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (BPLS, Merck 7236) ve Xylose-Lysin Desoxycholate Agar'a (XLD, Merck) çizme yöntemi ile ekim yapıldı. Aerob koşullarda, 37°C'de, 24-48 saatlik bir inkübasyon sonucunda BPLS ve, XLD agarda üreyen tipik kolonilerden 1-5'1 seçilip biyokimyasal reaksiyonlar için Triple Sugar Iron Agar (TSIA, Oxoid CM0277), Lysine Iron Agar (LIA, Oxoid CM0381) ve üre broth'a (Merck 1.08483; Supplement Oxoid SR0020) ekim yapılarak 37°C'de 24-48 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. Test sonuçlarına göre TSIA testi pozitif, LIA testi pozitif ve üreaz testi negatif olan koloniler *Salmonella* şüpheli olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal test sonuçları pozitif veya şüpheli olan örneklerden polivalan *Salmonella* antiserumu (Denka Seiken 055111) ile yapılan test sonucu aglutinasyon veren koloniler *Salmonella* olarak değerlendirildi (2).

IMS bazlı kültür tekniğinde, immünomanyetik bead'ler (Dynabeads M-280 anti-*Salmonella*, 710.02), firmanın önerisi doğrultusunda kullanıldı. Yıkama işlemini takiben beadler, steril PBS ile süspansiyon edildi. Bu sıvıdan BPLS ve XLD Agar'a ekimler yapılarak, bu plaklarda üreyen tipik kolonilerden biyokimyasal testler yapıldı (1).

PCR Analizi:

PCR koşullarının optimizasyonunu takiben Wldjoatmodjo ve ark., (1991), Fluit ve ark., (1993) ve Erol ve ark., (1999) tarafından önerilen protokol gereği, oriC gen sekansını oluşturan primer çiftleri ile, Way ve ark., (1993) ve Del Cerro ve ark., (2003) tarafından önerilen protokol gereği PhoPQ gen sekansını oluşturan primer çiftleri kullanılarak PCR işlemi yapıldı (6, 7, 8, 19, 22)

oriC gen sekansının saptanması: Final hacmi 50 µl olacak şekilde (10 µl Template DNA + 40 µl PCR karışımı) master mix [1x Reaction Buffer (pH 8.8) (Promega), 1.5 mM MgCl₂ (Promega A351H), 400 µM dNTP (Promega), 2.0 U Taq DNA Polimeraz, (Promega M8305), her bir primerden 0.50 µM (primer 1: 5'-TTA TTA GGA TCG CGC CAG GC-3'; primer 2: 5'-AAA GAA TAA CCG TTG TTC AC-3') (Promega)] hazırlandı. Amplifikasyon, Thermocycler'da (Blometra, Personal cycler) 94°C'de 1 dakika, 53°C'de 1 dakika ve 72°C'de 1 dakika aşamalarını kapsayan 35 siklus ve sonunda 72°C'de 10 dakika ilave ekstensiyon işlemlerini içerecek şekilde yapıldı. Amplifiye edilen DNA'ların saptanması amacıyla, her bir örneğe alt PCR ürünü Ficoll-Phenolblue ile boyandı. %1.5'lik agaroz jel (SeaKem® LE Agarose) hazırlanarak, elektroforez (Blometra, Agagel-Maxi-System B15359) yapıldı. Bu işlem sonunda 163 baz çifti (bp) uzunluğunda spesifik ampikonlar pozitif kontrol (*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028) ve DNA Marker yardımıyla UV-Transilluminator'de (Blometra, T11 UV 9511011) görünür hale getirilerek tanımlandı. Bulguların dökümantasyonu jel dökümantasyon ve analiz sistemi (Syngene Ingenius) ile yapıldı.

PhoPQ gen sekansının saptanması: Final hacmi 50 µl olacak şekilde (15 µl Template DNA + 35 µl PCR karışımı) master mix [1 x Reaction Buffer (Promega), 1.5 mM MgCl₂ (Promega A351H), 200 µM dNTP (Promega), 1 U Taq DNA polimeraz (Promega M8305), 1 µM'ar primer (Promega).Primer: (337-L: 5'-ATG CAA AGC CCG ACC ATG ACG-3'; 338-R: 5'-GTA TCG ACC ACC ACG ATG GTT-3') (Promega)] hazırlandı.

Amplifikasyon, Thermocycler'da (Biometra, Personal cycler) 94°C'de 5 dakika 'yı takiben, 94°C 'de 30 dakika, 67.4°C'de 30 dakika ve 72°C'de 1 dakika aşamalarını kapsayan 30 siklus ve sonunda 72°C'de 10 dakika ilave ekstansiyon işlemlerini içerecek şekilde yapıldı. Amplifiye edilen DNA'ların saptanması amacıyla, her bir örneğe alt PCR ürünü Ficoll-Phenolblue ile boyandı. %1.5'lik agaroz jel (SeaKem® LE Agarose) hazırlanarak, elektroforez (Biometra, Agagel-Maxi-System B15359) yapıldı. Bu işlem sonunda 299 baz çifti (bp) uzunluğunda spesifik ampikonlar pozitif kontrol (Salmonella Typhimurium ATCC 14028) ve DNA Marker yardımıyla UV-Transilluminator'de (Biometra, TI1 UV 9511011) görünür hale getirilerek tanımlandı. Bulguların dökümantasyonu jel dökümantasyon ve analiz sistemi (Syngene Ingenius) ile yapıldı.

Antibiyotik Dirençliliği

İzolatların antimikrobiyal duyarlılık profilleri disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bu işlem CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından bildirilen yöntem esas alınarak Mueller-Hinton agar'da (Oxoid, CM0337), ampisilin (10 µg, Oxoid CT0003B), sefazolin (30 µg, Oxoid CT0011B), sefalotin (30 µg, Oxoid CT0010B), gentamisin (120 µg, Oxoid CT0794B), amikasin (30 µg, Oxoid CT0107B), streptomisin (10 µg, Oxoid CT0047B), tetrasiklin (30 µg, Oxoid CT0054B), kloramfenikol (30 µg, Oxoid CT0013B), amoksisilin/klavulanik asit (30 µg, Oxoid CT0223B), sefoksitin (30 µg, Oxoid CT0119B), seftriakson (30 µg, Oxoid CT0417B), siprofloksasin (5 µg, Oxoid CT0425B), lmlipenem (5 µg, Oxoid CT0455B), trimetoprim/sulfametoksazol (25 µg, Oxoid CT0052B), kanamisin (30 µg, Oxoid CT0026B), trimetoprim (5 µg, Oxoid CT0076B), sülfanamid bileşikler (300 µg, Oxoid CT0059B), seftiofur (30 µg, Oxoid CT1751B), nalidiksik asit (30 µg, Oxoid CT0031B) ve sulfametaksazol (25 µg, Oxoid CT0051B) diskleri kullanılarak yapıldı (3).

Bulgular

Çalışmada, Mayıs-Eylül 2007 tarihleri arasında, Ankara civarındaki iki farklı mez-bahada kesilen sağlıklı sığırlardan elde edilen 188 safra örneği kullanıldı. IMS bazlı kültür tekniği ile örneklerin 3'ünün, klasik kültür tekniği ile 2'sinin Salmonella spp. ile kontamine olduğu saptandı. Bu bulgu, sığır safra örneklerinden Salmonella türlerinin izole edilmesinde, IMS bazlı kültür tekniğinin klasik kültür tekniğinden daha duyarlı olduğunu ortaya koydu. Her kontamine örnekten 3 koloni alındı ve sırasıyla A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 ve C3 şeklinde kodlandı (Tablo. 1). oriC ve PhoPQ gen sekanslarının saptanması amacı ile PCR işlemi yapıldı. Tüm Salmonella kolonileri oriC esas alınarak PCR ile doğrulandı. Ayrıca, her 3 örneğe ait 9 koloninin PhoPQ geni taşıdığı PCR ile saptandı (Şekil 1 ve 2).

Disk difüzyon yöntemi ile izolatların birinin ampisilin, sefalotin, tetrasiklin, nalidiksik asit ve sulfametaksazole dirençli olduğu; her 3 izolatında streptomisine orta düzeyde dirençli olduğu; ayrıca 2 izolatın sulfametaksazole, 3. izolatın ise amoksisilin/klavulanik asit ve sefazoline orta düzeyde dirençli olduğu saptandı.

Sonuç

Sonuç olarak safra, sığırlarda Salmonella spp.'nin rezervuarı olabilir. Ayrıca tüm izolatların PhoPQ genini taşıması, bu genin Salmonella türlerinin safrada yaşamını sürdürabilmesi ile ilgili önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Çalışmada ayrıca, izolatların birçok antibiyotığe dirençli olduğu saptanmıştır.

Halk sağlığı açısından bakıldığında, safra kesesi, karkasın ve yenilebilir içorganların ileri aşamalarda Salmonella spp. ile kontaminasyonunu önlemek için kesimden sonra dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmalıdır. Özellikle karaciğerin insan gıdası olarak tüketildiği ülkelerde bu konuya dikkat edilmesi gerekir.

Tablo. 1.Sığır safrasında Salmonella spp. varlığının saptanmasında 2 farklı izolasyon metodunun karşılaştırılması.

İzolasyon metodu	Örnek sayısı	Salmonella pozitif örnek sayısı (%)
Klasik kültür tekniği	188	2 (1.1)
IMS bazlı kültür tekniği	188	3 (1.6)

Her bir safra örneğinden aseptik koşullarda steril plastik torbalara 10'ar ml konulup, üzerine 90'ar ml tamponlanmış peptonlu su (TPS, Oxoid CM1049) ilave edildikten sonra karışım stomacherde 2-3 dakika homojenize edildi. Homojenat ön zenginleştirme amacıyla 37oC'de, aerob koşullarda, 24 saat inkübe edildi. Ön zenginleştirme işlemini takiben selektif zenginleştirme amacıyla, Rappaport-Vasiliadis Broth (RVB, Oxoid CM 669) ve Selenit Cystin Broth (SCB, Difco) kullanıldı. Selektif zenginleştirme buyyonlarından bir öze dolusu alınarak Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar (BPLS, Merck 7236) ve Xylose-Lysin Desoxycholate Agar'a (XLD, Merck) çizme yöntemi ile ekim yapıldı. Aerob koşullarda, 37oC'de, 24-48 saatlik bir inkübasyon sonucunda BPLS ve, XLD agarda üreyen tipik kolonilerden 1-5'1 seçilip biyokimyasal reaksiyonlar için Triple Sugar Iron Agar (TSIA, Oxoid CM0277), Lysine Iron Agar (LIA, Oxoid CM0381) ve üre broth'a (Merck 1.08483; Supplement Oxoid SR0020) ekim yapılarak 37oC'de 24-48 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. Test sonuçlarına göre TSIA testi pozitif, LIA testi pozitif ve üreaz testi negatif olan koloniler Salmonella şüpheli olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal test sonuçları pozitif veya şüpheli olan örneklerden polivalan Salmonella antiserumu (Denka Seiken 055111) ile yapılan test sonucu aglutinasyon veren koloniler Salmonella olarak değerlendirildi (2).

IMS bazlı kültür tekniğinde, immünomanyetik bead'ler (Dynabeads M-280 anti-Salmonella, 710.02), firmanın önerisi doğrultusunda kullanıldı. Yıkama işlemini takiben beadler, steril PBS ile süspanse edildi. Bu sıvıdan BPLS ve XLD Agar'a ekimler yapılarak, bu plaklarda üreyen tipik kolonilerden biyokimyasal testler yapıldı (1).

PCR Analizi:

PCR koşullarının optimizasyonunu takiben Widjojoatmodjo ve ark., (1991), Fluit ve ark., (1993) ve Erol ve ark., (1999) tarafından önerilen protokol gereği, oriC gen sekansını oluşturan primer çiftleri ile, Way ve ark., (1993) ve Del Cerro ve ark., (2003) tarafından önerilen protokol gereği PhoPQ gen sekansını oluşturan primer çiftleri kullanılarak PCR işlemi yapıldı (6, 7, 8, 19, 22)

oriC gen sekansının saptanması: Final hacmi 50 µl olacak şekilde (10 µl Template DNA + 40 µl PCR karışımı) master mix [1x Reaction Buffer (pH 8.8) (Promega), 1.5 mM MgCl₂ (Promega A351H), 400 µM dNTP (Promega), 2.0 U Taq DNA Polimeraz, (Promega M8305), her bir primerden 0.50 µM (primer 1: 5'- TTA TTA GGA TCG CGC CAG GC-3'; primer 2: 5'- AAA GAA TAA CCG TTG TTC AC-3') (Promega)] hazırlandı. Amplifikasyon, Thermocycler'da (Biometra, Personal cyler) 94oC'de 1 dakika, 53oC'de 1 dakika ve 72oC'de 1 dakika aşamalarını kapsayan 35 siklus ve sonunda 72oC'de 10 dakika ilave ekstensiyon işlemlerini içerecek şekilde yapıldı. Amplifiye edilen DNA'ların saptanması amacıyla, her bir örneğe alt PCR ürünü Ficoll-Phenolblue ile boyandı. %1.5'lik agaroz jel (SeaKem® LE Agarose) hazırlanarak, elektroforez (Biometra, Agagel-Maxi-System B15359) yapıldı. Bu işlem sonunda 163 baz çifti (bp) uzunluğunda spesifik amplikonlar pozitif kontrol (Salmonella Typhimurium ATCC 14028) ve DNA Marker yardımıyla UV-Transilluminator'de (Biometra, TI1 UV 9511011) görünür hale getirilerek tanımlandı. Bulguların dökümantasyonu jel dökümantasyon ve analiz sistemi (Syngene Ingenius) ile yapıldı.

PhoPQ gen sekansının saptanması: Final hacmi 50 µl olacak şekilde (15 µl Template DNA + 35 µl PCR karışımı) master mix [1 x Reaction Buffer (Promega), 1.5 mM MgCl₂ (Promega A351H), 200 µM dNTP (Promega), 1 U Taq DNA polimeraz (Promega M8305), 1 µM'ar primer (Promega).Primer: (337-L: 5'- ATG CAA AGC CCG ACC ATG ACG-3'; 338-R: 5'-GTA TCG ACC ACC ACG ATG GTT-3') (Promega)] hazırlandı. Amplifikasyon, Thermocycler'da (Biometra, Personal cyler) 94oC'de 5 dakika 'yı takiben, 94oC'de 30 dakika, 67.4oC'de 30 dakika ve 72oC'de 1 dakika aşamalarını kapsayan 30 siklus ve sonunda 72oC'de 10 dakika ilave ekstensiyon işlemlerini içerecek şekilde yapıldı.

Amplifiye edilen DNA'ların saptanması amacıyla, her bir örneğe alt PCR ürünü Ficoll-Phenolblue ile boyandı. %1.5'lik agaroz jel (SeaKem® LE Agarose) hazırlanarak, elektroforez (Biometra, Agel-Maxi-System B15359) yapıldı. Bu işlem sonunda 299 baz çifti (bp) uzunluğunda spesifik ampliconlar pozitif kontrol (*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028) ve DNA Marker yardımıyla UV-Transilluminator'de (Biometra, TI1 UV 9511011) görünür hale getirilerek tanımlandı. Bulguların dökümantasyonu jel dökümantasyon ve analiz sistemi (Syngene Ingenius) ile yapıldı.

Antibiyotik Dirençliliği

İzolatların antimikrobiyal duyarlılık profilleri disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bu işlem CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından bildirilen yöntem esas alınarak Mueller-Hinton agarda (Oxoid, CM0337), ampicilin (10 µg, Oxoid CT0003B), sefazolin (30 µg, Oxoid CT0011B), sefalotin (30 µg, Oxoid CT0010B), gentamisin (120 µg, Oxoid CT0794B), amikasin (30 µg, Oxoid CT0107B), streptomisin (10 µg, Oxoid CT0047B), tetrasiklin (30 µg, Oxoid CT0054B), kloramfenikol (30 µg, Oxoid CT0013B), amoksisilin/klavulanik asit (30 µg, Oxoid CT0223B), sefoksitin (30 µg, Oxoid CT0119B), seftriakson (30 µg, Oxoid CT0417B), siprofloksasin (5 µg, Oxoid CT0425B), imipenem (10 µg, Oxoid CT0455B), trimetoprim/sulfametoksazol (25 µg, Oxoid CT0052B), kanamisin (30 µg, Oxoid CT0026B), trimetoprim (5 µg, Oxoid CT0076B), sülfanamid bileşikler (300 µg, Oxoid CT0059B), seftiofur (30 µg, Oxoid CT1751B), nalidiksik asit (30 µg, Oxoid CT0031B) ve sulfametaksazol (25 µg, Oxoid CT0051B) diskleri kullanılarak yapıldı (3).

Bulgular

Çalışmada, Mayıs-Eylül 2007 tarihleri arasında, Ankara civarındaki iki farklı mez-bahada kesilen sağlıklı sığırlardan elde edilen 188 safra örneği kullanıldı. IMS bazlı kültür tekniği ile örneklerin 3'ünün, klasik kültür tekniği ile 2'sinin *Salmonella* spp. ile kontamine olduğu saptandı. Bu bulgu, sığır safra örneklerinden *Salmonella* türlerinin izole edilmesinde, IMS bazlı kültür tekniğinin klasik kültür tekniğinden daha duyarlı olduğunu ortaya koydu. Her kontamine örnekten 3 koloni alındı ve sırasıyla A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 ve C3 şeklinde kodlandı (Tablo. 1). *oriC* ve *PhoPQ* gen sekanslarının saptanması amacı ile PCR işlemi yapıldı. Tüm *Salmonella* kolonileri *oriC* esas alınarak PCR ile doğrulandı. Ayrıca, her 3 örneğe ait 9 koloninin *PhoPQ* geni taşıdığı PCR ile saptandı (Şekil 1 ve 2).

Disk difüzyon yöntemi ile izolatların birinin ampicilin, sefalotin, tetrasiklin, nalidiksik asit ve sulfametaksazole dirençli olduğu; her 3 izolatında streptomisine orta düzeyde dirençli olduğu; ayrıca 2 izolatın sulfametaksazole, 3. izolatın ise amoksisilin/klavulanik asit ve sefazoline orta düzeyde dirençli olduğu saptandı.

Sonuç

Sonuç olarak safra, sığırlarda *Salmonella* spp.'nin rezervuarı olabilir. Ayrıca tüm izolatların *PhoPQ* genini taşıması, bu genin *Salmonella* türlerinin safrada yaşamını sürdürmesi ile ilgili önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Çalışmada ayrıca, izolatların birçok antibiyotige dirençli olduğu saptanmıştır.

Halk sağlığı açısından bakıldığında, safra kesesi, karkasın ve yenilebilir içorganların ileri aşamalarda *Salmonella* spp. ile kontaminasyonunu önlemek için kesimden sonra dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmalıdır. Özellikle karaciğerin insan gıdası olarak tüketildiği ülkelerde bu konuya dikkat edilmesi gerekir.

Tablo. 1. Sığır safrasında *Salmonella* spp. varlığının saptanmasında 2 farklı izolasyon metodunun karşılaştırılması.

İzolasyon metodu	Örnek sayısı	<i>Salmonella</i> pozitif örnek sayısı (%)
Klasik kültür tekniği	188	2 (1.1)
IMS bazlı kültür tekniği	188	3 (1.6)

163 ←



Şekil 1. İzolatlarda OriC geninin PCR ile saptanması.
(1 ve 8: 100 bp DNA marker, 2: Pozitif kontrol - *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 , 3: Negatif kontrol, 4 - 7: OriC pozitif *Salmonella* spp. izolatları)

299 ←



Şekil 1. İzolatlarda *PhoPQ* geninin PCR ile saptanması.

(1 ve 7: 100 bp DNA marker, 2: Pozitif kontrol - *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, 3: Negatif kontrol 4 - 6: *PhoPQ* pozitif *Salmonella* spp. izolatları)

Kaynakça:

1. Anon (1991). Dynabeads anti-Salmonella: For rapid selective enrichment of *Salmonella*. Dynal, A.S. Oslo, Norway, 1-2 (Manufacturer information).
2. Anon. (2002). Microbiology of foods and animal feeding stuff-horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Standard (ISO, 6579).

3. Anon (2006). Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; sixteenth informational supplement. M100-S16 Vol.26 No.3.
4. Begley M., Gahan, C.G.M., Hill, C. (2005). The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol. Rev.* 29: 625-651.
5. Chandra, M., Singh, B.R., Shankar, H., Agarwal M., Agarwal, R. K., Sharma, G., Babu, N. (2006). Study on prevalence of Salmonella infection in goats. *Small Rum. Res.* (65): 24-30.
6. Del Cerro, A., S. M. Soto, and M. C. Mendoza. 2003. Virulence and antimicrobial-resistance gene profiles determined by
7. Erol, İ., Hildebrandt, G., Kleer, J., Yurtyeri, A. (1999). Kopplung von Immuno magnetischer separation und Polymerase-kettenreaktion zum Schnellachweis von Salmonellen in Hackfleisch und Geflügelinnereien. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 112:100-103.
8. Fluit, A.C., Widjojoatmodjo, M.N., Box, A.T.A., Torensma, R., Verhoef, J. (1993). Rapid detection of Salmonella in poultry with the magnetic Immuno-Poly merase Chain Reaction assay. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59(5): 1342-1346.
9. Gay J.M., Rice D.H., Steiger J.H. (1994). Prevalence of faecal Salmonella shedding by cull dairy cattle marketed in Washington State. *J. Food Prot.* 57:195-197.
10. Guerra, B., Soto, S.M., Helmuth, R., Mendoza, M.C., 2002. Characterization of a self-transferable plasmid from plasmid from Salmonella serotype Typhimurium clinical isolates carrying two integron-borne gene cassettes together with virulence and drug resistance genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 2977-2981.
11. Gunn, J. S., E. L. Hohmann, and S. I. Miller. 1996. Transcriptional regulation of Salmonella virulence: a PhoQ periplasmic domain mutation results in increased net phosphotransfer to PhoP. *J. Bacteriol.* 178:6369-6373.
12. Gunn, J.S. (2000) Mechanisms of bacterial resistance and response to bile. *Microbes Infect.* 2, 907-913.
13. Guo, L., K. Lim, J. S. Gunn, B. Bainbridge, R. Darveau, M. Hackett, and S. I. Miller. 1997. Regulation of lipid A modifications by Salmonella Typhimurium virulence genes phoP-phoQ. *Science* 276:250-253.
14. Lai, C. W., R. C. Y. Chan, A. F. B. Cheng, J. Y. Sung, and J. W. C. Leung. 1992. Common bile duct stones: a cause of chronic salmonellosis. *Am. J. Gastroenterol.* 87:1198-1199.
15. Soto, S.M., Guerra, B., del Cerro, A., González-Hevia, M.A., Mendoza, M.C., 2001. Outbreaks and sporadic cases of Salmonella serovar Panama studied by DNA fingerprinting and antimicrobial resistance. *Int. J. Food Microbiol.* 71, 35-43.

16. Thanassi, D. G., L. W. Cheng, and H. Nikaido. 1997. Active efflux of bile salts by *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 179:2512-2518.
17. Van Velkinburgh, J.C. and Gunn, J.S. (1999) PhoP-PhoQ regulated loci are required for enhanced bile resistance in *Salmonella* spp. *Infect. Immun.* 67, 1614-1622.
18. Walker, R.A., Lindsay, E., Woodward, M.J., Ward, L.R., Threlfall, E.J., 2001. Variation in clonality and antibiotic-resistance genes among multiresistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium phage type U302 (MR U302) from humans, animals and foods. *Microb. Drug Resistant* 7, 13-21.
19. Way, J.S., Josephson, K.L., Pillai, S.D., Abbaszadegan, M., Gesba, C.P., Pepper, I.L., 1993. Specific detection of *Salmonella* spp. by multiplex polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1473-1479.
20. Wegner H.C., Aarestrup F.M., Gerner-Smidt P., Bager F. (1999). Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. *Acta. Vet. Scand. Suppl.* 92: 51-57.
21. White, D.G., Zhao, S., Sudler, R., Ayers, S., Friedman, S., Chen, S., McDermott, P.F., McDermott, S. D., Wagner, D., Meng, J. (2001). The isolation of antibiotic resistant *Salmonella* from retail ground meat, *New Engl. J. Med.* 345 pp. 1147-1154.
22. Widjojadmodjo, M.N., Fluit, A.C., Torensma, R., Keller, B.H., Verhoef, J. (1991). Evaluation of the magnetic immuno-PCR assay for rapid detection of *Salmonella*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 10(11): 935-938.

KİTOSAN İLE KAPLAMANIN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (ONCORHYNCHUS MYKISS, W. 1792) FİLETOLARININ RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

Sunum Tipi: Oral

Pellin Ö. CAN¹, Bahri PATİR²

¹Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, SİVAS

²Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, ELAZIĞ

Özet: Bu çalışma, kitosan ile kaplanan alabalık filetolarının +4 °C'de muhafazası sırasında meydana gelen değişimleri incelemek amacıyla yapılmıştır. Fileto örnekleri % 2' lik kitosan ile muamele edildikten sonra +4 °C'de 12 gün süreyle muhafazaya alınmıştır. Kontrol grubu ve kitosan ile muamele edilmiş örnekler, muhafazanın 0., 3., 6., 9. ve 12. günlerinde mikrobiyolojik (toplam mezofil aerob bakteri sayısı ve psikrofil bakteri sayısı), kimyasal (pH, TVB-N ve TBA sayısı) ve duyuşsal (renk, koku, tat, tekstür ve genel beğeni düzeyi) açıdan analizleri yapılmıştır. Analiz neticesinde, toplam mezofilik aerob ve psikrofilik bakteri bakımından kontrol grubu ile kitosanla muamele edilen gruplar arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0,05$). Yine pH değeri bakımından, kontrol grubu ile kitosanlı gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). TBA ve TVB-N değerleri, kontrol grubuna göre kitosan ile kaplanmış gruplarda daha düşük saptanmıştır ($p<0,05$). Sonuç olarak, kitosan ile muamele edilen örneklerin muhafaza süresinin uzadığı ve kalite kriterlerini daha iyi koruduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Alabalık, kitosan, kalite, raf ömrü.

Abstract

This study was performed to examine of chitosan edible coating on the changes of the rainbow trout filet in +4 °C. The filets treatment with chitosan %2 after, preservation +4 °C for 12 day. The control group and treatment with chitosan samples were carried out microbiological (total mezophile aerobe bacteria and psychrofil bacteria), chemical (pH, TVB-N and TBA) and sensory (color, odor, taste, flavor, texture and overall acceptable) on days 0., 3., 6., 9. ve 12. As a result of analysis, total viable count and psychrofil bacteria in terms of were found significant differences the control group between treatment with chitosan ($p<0.05$). However, in terms of pH value were found significant differences the control group between treatment with chitosan ($p<0.05$). The TBA and TVB-N value were coated with chitosan lower than the control group ($p<0.05$). As a result of, the samples of treatment with chitosan were determined prolonged of storage time and the quality criteria better protect.

Key words: Rainbow trout, chitosan, quality, shelf life.

Giriş

Dünya nüfusu hızlı bir şekilde artmaktadır. İnsanların beslenme ihtiyaçlarını karşılayabilmek için besin kaynaklarının düzenli ve dengeli kullanılması gerekmektedir. Gelişen teknolojiye paralel olarak gıda teknolojisi alanında da hızlı değişimler gözlenmektedir. Ayrıca insanların yaşam kalitelerinin yükselmesi ile yeterli ve dengeli beslenmeye olan taleplerini de artırmıştır. Hazır gıda teknolojisinin talep gördüğü günümüzde, insanlar sağlıklı beslenme arayışı içerisine girmiştir (3).

Ülkemiz üç tarafı sularla çevrili olmasına rağmen balık tüketimi konusunda büyük bir paya sahip değildir. Balık eti besleyici değeri yüksek olan ve besin maddelerini yeterli oranda içeren kaliteli bir besindir. Ülkemiz'de doğal balıkçılık yanında yapılan kültür balıkçılığı 1980' li yıllardan buyana gelişme göstermiştir. Alabalık yetiştiriciliği de bu alanda en büyük payı oluşturmaktadır. Fakat elde edilen balıklar taze olarak pazara sunulmakta ve çok fazla değerlendirme şansı bulamamaktadır. Oysaki dış ülkelerde avlanan balıkların büyük bir kısmı teknolojik herhangi bir yöntem uygulanarak tüketime arz edilmektedir. Balık eti kolay bozulabilen bir gıda olduğu için avlandıktan hemen sonra iyi bir şekilde muhafaza edilmektedir. Balık etini muhafaza etmede bir çok alternatif yöntem bulunmakla birlikte kaplama teknolojisi de son yıllarda kullanılmaya başlamıştır (24).

Kabuklu hayvanların kabuk kısmının (kitin) deasetilasyonu ile elde edilen doğal kaynaklı bir polimer olan kitosan, antimikrobiyel aktivitesi nedeniyle gıdalar için potansiyel bir koruyucu katkı maddesidir. Biyoparçalanabilir bir polimer olan kitosan, alerjik toksik ve irritan değildir. Gıdalarda kullanımı güvenli olan bu katkı maddesi antimikrobiyel özelliği yanında iyi bir antioksidanttır. Kitosan nötral ve alkali pH değerlerinde çözünmez fakat asidik pH derecelerinde çözünebilme yeteneği kazanır. Deasetilasyon derecesi yükseldikçe antibakteriyel özelliği de artmaktadır. Ayrıca kitosan iyi bir film oluşturma özelliğine sahiptir. Böyle üstün özelliklere sahip olan bu doğal katkı maddesinin gıda endüstrisinde kullanımının artması beklenmektedir (4, 6, 10, 22).

Bu çalışmada, son yıllarda oldukça fazla miktarda yetiştiriciliği yapılan alabalıkların işlenerek muhafaza süresini uzatmak, kitosanın alabalık filetolarının raf ömrü üzerine olan etkilerini ve kitosanın diğer yöntemlere alternatif olarak kullanılabilirliğini araştırmak hedeflenmiştir.

Materyal ve metod

Kitosan solüsyonunun hazırlanması

Çalışmada kullanılan kitosan (minimum %85'lik deasetile derecesine sahip) Sigma-Aldrich'den temin edildi. %1 asetik asit içerisinde, %2' lik kitosan solüsyonu hazırlamak için 20 g kitosan tartılarak 900 ml distile su içerisine ilave edildi ve 10 dakika karıştırıldı. Daha sonra 10 ml asetik asit karışıma ilave edilerek 2 saat oda ısısında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Bu işlemler tamamlandıktan sonra solüsyon distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı.

Fileto örneklerinin hazırlanması

Ortalama ağırlıkları 250-300 g olan alabalıklar Sivas Balık Pazarından satın alındı ve soğuk zincir altında laboratuvara getirildi. Balıklar yıkanıp süzöldükten sonra fileto haline getirildi. Hazırlanan filetolar üç kısma ayrıldı. Birincisi kontrol grubu (K), ikincisi 1 dakika kitosan solüsyonuna daldırılmış grubu (I) ve üçüncü kısım filetolar ise 30 saniye kitosan solüsyonuna daldırılıp çıkartılan ve 2 dakika beklendikten sonra tekrar 30 saniye ikinci daldırmaya tabi tutulmuş grubu (II) teşkil etti. Daldırma işleminden sonra duyuşal olarak kuruma şekillenene kadar (10 °C'ye ayarlanmış etüv içerisinde yaklaşık 3 saat) filetolar kendi halinde kurumaya bırakıldı. Daha sonra, plastik kutulara yerleştirilen filetolar +4 °C'de muhafazaya alındı. Her 3 gruptan 3 günde bir tesadüfi olarak örnekler alınarak mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal analizleri yapıldı. Çalışma üç defa tekrar edildi.

Mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analizler için, 10 g numune steril şartlar altında tartılmış ve üzerine 90 ml steril %0.1'lik peptonlu sudan ilave edilerek homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10-1 (1/10)'lik dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin 10-6'ya kadar diğer seyreltileri yapıldı. Örneklerin her seyreltisinden birer ml kullanılarak iki seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri gerçekleştirildi ve inkübasyon süreleri sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi (12).

Örneklerdeki toplam mezofilik aerob bakteri (TMAB) sayımı için Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyeri kullanıldı. Ekiml yapılan plaklar 37 ± 1 °C'de 2 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler sayıldı (12). Psikrofilik bakteri (PB) sayımı için Plate Count Agar (PCA) (7 ± 1 °C'de 10 gün) besiyeri kullanıldı. İnkübasyon sonrası oluşan koloniler değerlendirildi (11).

Kimyasal analizler

Örneklerdeki pH değerleri, pH metre (Crison, Basic 20) ile (2), toplam uçucu bazik azot (TVB-N) miktarları su buharı distilasyonu cihazı kullanılarak Varlık ve ark.'nın bildirdiği yöntemle göre (29), tiyobarbitürik asit sayısı tespiti ise Bostoglu ve ark.'nın belirlediği yöntemle göre (28) tayin edildi.

Duyusal analizler

Duyusal kalitenin belirlenmesi için bu konuda deneyimli 7 kişi tarafından 1-5 arası puan (1 çok kötü, 2 kötü, 3 normal, 4 iyi ve 5 çok iyi) kullanılarak örnekler renk, koku, lezzet, tekstür ve genel beğeni düzeyi açısından değerlendirildi. Bu amaçla, gruplardan alınan örnekler teflon tavada 10 dk pişirildi ve oda ısısına geldikten sonra duyuusal analize tabii tutuldu (15).

İstatistiksel analizler

Verilerin İstatistiksel analizi, Statistical Analysis System (SAS) paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası ve grup içi günler arası değerler karşılaştırıldı. Veriler "tekrerrür sayısı x örnekleme zamanı x test grupları x her test grubundan bir seferde incelenen örnek sayısı" olacak şekilde $3 \times 1 \times 3 \times 1$ faktöriyel dizayna uygun olarak fix etkiler ve değişkenler arası interaksiyonlar yönünden varyans analizine tabii tutuldu. General Linear Models (GLM) prosedürüne göre, Fisher'ın en düşük kareler ortalamaları (LSD) testi kullanıldı. Tüm ortalamaların standart sapma değerleri hesaplandı (25). Alfa değeri 0.05 olarak belirlendi.

Bulgular

Kitosanın alabalık filetolarının raf ömrü üzerine olan etkilerini ve kitosanın diğer yöntemlere alternatif olarak kullanılabilirliğini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada; elde edilen mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1' de, kimyasal analiz sonuçları Tablo 2' de, duyuusal analiz sonuçları ise Tablo 3' de verilmiştir. Ayrıca, deneysel örneklerde belirlenen TMAB sayısı Şekil 1.a da ve PB sayısı da Şekil 1.b de gösterilmiştir.

Filetoda TMBA sayısı $2,7 \log_{10}$ kob/g, PB sayısı $4,3 \log_{10}$ kob/g olarak belirlenmiştir. Bu değerler kontrol grubu örneklerinde hızlı bir artış göstererek muhafazanın 6. gününde TMBA sayısı 7,1 ve PB sayısı ise $6,38 \log_{10}$ kob/g değerine ulaşmıştır. I ve II. grup örnekler yaklaşık olarak bu değerlere muhafazanın 12. gününde ulaşmıştır (Tablo 1, Şekil 1).

Deneysel örneklerle ait pH, TVB-N ve TBA değerleri Tablo 2 ve Şekil 2' de verilmiştir. Çiğ filetoda pH, TVB-N ve TBA değerleri sırasıyla 6,0; 7,5 mg/100 g ve 0,42 mg MDA/ kg olarak belirlenmiştir. Muhafaza süresinin başlarında örneklerdeki pH değerleri arasındaki fark az iken (3. ve 6. günde), daha sonraki günlerde fark artmıştır. En yüksek pH değeri 7,1 olup, bu değer kontrol grubuna aittir (Şekil 2.a). Her üç gruptaki TVB-N değeri ise, muhafaza süresince 35 mg/100 g değerini aşmamıştır. Fakat kontrol grubu ile diğer iki grup arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p < 0.05$, Şekil 2.b). II. grup örneklerle ait TBA sayısı muhafaza boyunca çok farklı bir değişim göstermemiştir (Şekil 2.c). Yine en yüksek TBA miktarı kontrol grubuna ait olup, $3,2 \text{ mg MDA/ kg}$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 2.c).

Duyusal analizlere ait veriler Tablo 1' de verilmiştir. Kontrol grubuna ait örnekler muhafazanın 0., 3. ve 6. günlerinde; I. ve II. gruba ait örnekler ise 0., 3., 6. ve 9. günlerde analiz edildi. Kitosanlı gruplar arasındaki fark önemli bulunmadı ($p > 0.05$).

Tartışma ve sonuç

Balık ve diğer yenilebilir su ürünleri, hem kimyasal, hem mikrobiyolojik hem de oksidatif açıdan bozulmaya maruz kalmaktadır. Balık eti, içerdiği su miktarı ve besin içeriğinden dolayı mikrobiyel bozulmaya karşı çok duyarlıdır. Yağ oranı yüksek olan balıklar ise, oksidasyonla bozulmada büyük risk teşkil etmektedir. Bozulmayı önlemede günümüzde farklı yöntemlere başvurulmaktadır. Bu amaçla sentetik katkı maddeleri kullanılan bir çok muhafaza yöntemi bulunmaktadır. Yine bu alanda çeşitli ambalajlama yöntemleri geliştirilerek balık etinin raf ömrü uzatılmaya çalışılmaktadır. Kitosan doğal katkı maddesi olup, uygulandığı gıda maddesine oksijen geçişini engellemektedir. Ayrıca kitosanın antibakteriyel ve antioksidan özelliklerinde mevcuttur. Bu çalışmada kitosan uygulanmış alabalık filetolarının muhafaza süresince duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesinde meydana gelen değişimler incelenerek, adı geçen maddenin ürünün raf ömrüne etkisi ortaya konmuştur.

Yapılan analiz neticesinde fileto da TMAB sayısı en yüksek 2,7 log₁₀ kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 1, Şekil 1a). TMAB sayısı bakımından kabul edilebilir en yüksek değer 7,0 log₁₀ kob/g olarak verilmektedir (13). Bulgular kısmında da belirtildiği gibi, kontrol grubu örneklerde TMAB sayısı muhafazanın 6. gününde bu değer in üzerinde bulunmuştur. Buna karşın, TMAB sayısı I. grup örneklerde muhafazanın 12. gününde 7,0 log₁₀ kob/g'ın üzerinde (7,3 log₁₀ kob/g), II. grup örneklerde ise 12. günün sonunda belirtilen değerin altında (6,1 log₁₀ kob/g) kalmıştır. Fan ve ark. (8), sazan balığı filetolarını kitosan ile kaplama işlemine tabi tuttukten sonra -3 °C' de muhafaza etmişler ve 30 gün sonunda muamele grubu örneklerdeki TMAB sayısının yine belirtilen değerin altında kaldığını tespit etmişlerdir. Mohan ve ark. (20), sardalya balığını %1 ve %2 kitosan ile kaplayarak 12 gün 2 °C' de muhafazaya almışlar ve %1 kitosan ile kaplanan gruba ait örneklerde TMAB sayısını 11. günde 7,6, %2 ile kaplanmış gruba ait örneklerde ise 7,3 log₁₀ kob/g olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada, muhafazanın 6. gününde kitosan ile muamele edilen gruplar ile kontrol grubu arasında yaklaşık 2 log' lık bir fark tespit edilmiştir (p<0.05). Benzer şekilde kitosan ile muamele edilen balık köfteleri (17) ile ringa balıklarında (14) kontrol gruplarına göre 2 log' lık bir düşüşün olduğu gözlemlenmiştir.

Deneyisel örneklerde belirlenen PB sayısı muhafaza süresince artmıştır (Tablo 1, Şekil 1.b). Kontrol grubu örneklerde belirlenen değerler diğer iki gruba göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Ancak, kitosan ile kaplanan gruplar arasındaki fark önemli bulunmamıştır (p>0.05). Bu durum, kitosanın antibakteriyel özelliğinden kaynaklandığı söylenebilir. Duan ve ark. (7), kitosan ile kapladıkları lingcod filetolarında 3. hafta sonunda PB sayısının 7 log₁₀ cfu/g değerini aştığını, kontrol grubu örneklerinde ise 1. hafta sonunda 7,52 log₁₀ cfu/g değerine ulaştığını vurgulamışlardır. Adı geçen çalışmada kitosanın antimikrobiyel özelliği ortaya konmuştur. Bu çalışmada da benzer sonuç elde edilmiştir.

pH değeri bakımından, farklı şekilde kitosan ile kaplamanın gökkuşağı alabalığı filetoları üzerinde önemli etkileri olmamıştır (p>0.05). Her üç grupta da (K, I ve II) muhafaza süresince dalgalanmalar mevcut olup, kontrol grubu örnekleri ile kitosanlı gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 2, Şekil 2.a). Mohan ve ark. (20), %2 kitosan ile kapladıkları ve soğukta muhafaza ettikleri sardalye balıklarında 0. günde pH değerini 6,14; 11. günde ise 6,58 olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuç, pH ile ilgili bulgularımızla örtüşmektedir. Bu durum, materyal olarak farklı balık türlerinin kitosanına bağlanabilir. Başlangıçta pH değeri 6,0 değerinde saptanmıştır. Kitosan ile kaplanmış balık örneklerinde bu değer önce düşmüş, muhafazanın altıncı gününden sonra ise yükselmiştir. Benzer durum Fan (8), Alsavar (1) ve Manju (19)' nun çalışmaları da saptanmıştır. Manat (18) balık örneklerindeki başlangıçtaki pH düşüşünün ortamdaki çözün CO₂' in artmasına, daha sonra pH yükselmesinin ise, volatil bazların miktarının artmasına bağlı olduğunu vurgulamıştır. Şöyle ki, muhafazanın 6. gününde pH yükselmeye başladığında, ortamda belirlenen volatil bazların miktarı da artış göstermiştir.

Toplam volatil baz nitrojen değeri, su ürünlerinde bozulmanın bir indikatörü olarak kullanılmaktadır.

Bu değer, endojen enzimlerin ve bozulma oluşturan bakterilerin aktiviteleri sonucu yükselmektedir (16). TVB-N değeri, 35-40 mg TVB-N/1000g değerini aştığında ürün bozulmuş olarak kabul edilir (5). TVB-N değeri ile ilgili değişiklikler Tablo 2, Şekil 2.b' de verilmiştir. TVB-N değeri kitosan ile kaplanmış örneklerde muhafaza süresince daha düşük saptanmıştır ($p<0,05$). Fan ve ark. (8)' da benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Muşabak (21), kitosan ile kapladığı sardalya balıklarında TVB-N değerini en düşük düzeyde bulunduğunu ifade etmiştir. Benzer şekilde, Jeon et al. (14) 12 günlük muhafaza süresi sonunda farklı tip kitosan ile kaplanmış morina balığı filetolarındaki TVB-N oluşumunda %35-50 arasında azalma olduğunu rapor etmişlerdir.

Tiyobarbitürik asit (TBA) miktarı lipid oksidasyonun bir göstergesidir. Kitosan ile kaplanmış gökkuşağı alabalığı filetoları ile kontrol grubu filetolarına ait TBA miktarı Tablo 2, Şekil 2.c' de verilmiştir. Gökkuşağı alabalıklarının filetoları oksidasyona duyarlı olup, muhafaza süresince meydana gelen oksidatif değişimler bu üründe önemli yer tutmaktadır. Oksidasyonun reaksiyonunun oluşumunda oksijen önemli rol oynamaktadır. Oksidasyon hızı; yüksek sıcaklık, ışık, nem, balıktaki yağ oranı gibi farklı faktörlere bağlıdır (9). Çalışmamızda, TBA değeri, kontrol grubuna göre kitosan ile kaplanmış gruplarda daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Benzer durum Jeon ve ark. (14) ve Sathivel ve ark. (26) tarafından da rapor edilmiştir. Kitosan antioksidan özelliğe sahip ve ürüne oksijeni girişini engellediğinden deniz ürünlerinin raf ömrünü uzattığı çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (26, 27). Oğah ve ark. (23) gökkuşağı alabalığını kitosan ile kaplayarak dondurulmuş muhafazasını incelemişlerdir. Araştırmacılar, kitosan ile kaplanan örneklerin, kontrol grubuna göre TBA değerlerinin daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde, Jeon ve ark. (14), kitosan ile kapladıkları balık filetolarının soğuk muhafazası sırasında, kontrol grubunda TBA değerlerinin daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Yine Fan ve ark. (8), sazan balığı filetolarının kitosan ile kaplanması neticesinde, TBA değerinde önemli değişikliklerin meydana geldiğini ve kontrol grubuna göre daha az yükselmenin olduğunu belirtmişlerdir. Kitosan ile kaplanan ürünler duyuusal açıdan değerlendirildiğinde olumlu sonuçlar açığa çıkmaktadır. Kitosanın antibakteriyel ve antioksidant özellikleri sayesinde gıdalar uzun süre muhafaza edilebilir. Su ürünlerinde bozulma özellikle ransid tat ve putrit koku ile kendini belli eder. Çalışmamızda, II. grup örneklerin mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri I. grup örnekler göre daha iyi olmasına rağmen, I. grup örnekler duyuusal olarak daha fazla beğeni kazanmıştır (Tablo 3). Dolayısıyla, kitosan uygulanan gruplar panelistler tarafından reddedilmemiştir. Bu durum, Oğah ve ark. (23), ile Fan ve ark. (8)' nin tespit ettiği veriler ile uyum içerisinde. Ayrıca, kontrol grubuna ait örnekler duyuusal açıdan muhafazanın 9. gününde bozuldukları halde, kitosan ile kaplanmış I ve II. gruba ait örnekler 12.günde bozulmuşlardır. Bu durum, kitosanın ürünün muhafaza süresini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir.

Sonuç olarak, yapılan analiz verilerine göre, doğal bir katkı maddesi olan kitosanın alabalık filetolarının raf ömrü ile kalitesinde olumlu yönde etki gösterdiği, hem katkı maddelerine hem de ambalajlama materyallerine alternatif bir madde olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

1. Alasvar C., Taylor K.D.A., Oksuz A., Garthwaite T., Alexis M.N., Grigorakis K. (2001). Freshness assessment of cultured seabream (*Sparus aurata*) by chemical, physical, and sensory methods. Food Chemistry 72, 33-40.
2. AOAC. Official Methods of Analysis of Association of Official Chemists, 15th Edl., AOAC Inc., Arlington, VA.(1990).
3. Baysal A. Beslenme.Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, (2002).

4. Bourtoom T. (2008). Edible films and coatings: Characteristics and properties. *Int Food Res J*, 15, 3-6.
5. Connell J.J. Methods of assessing and selecting for quality, In control of fish quality (3rd ed.), Springer, Berlin (1990).
6. Cuero R. G. Antimicrobial action of exogenous chitosan. In P. Jolles, and R. A. A. Muzarelli (eds) , Chitin and chitinases, Birkhauser, (1999).
7. Duan J., Cherian G., Zhao Y. (2010). Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. *Food Chemistry*, 119, 524-532.
8. Fan W., Sun J., Chen Y., Qiu J., Zhang Y., Chi Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115, 66-70.
9. Gökoğlu N. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi, Su Vakfı Yayınları, İstanbul, (2002).
10. Gua-Jane T., Su W.H., Chen H.C., Pan C.L. (2002). Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Science*, 68, 170-177.
11. Halkman A.K. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, (2005).
12. Harrigan W.F. Laboratory Methods in Food Microbiology. Academic Pres, London. (1998).
13. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Sampling plans for fish and shellfish. In: Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications, pp. 181-196, USA.(1986).
14. Jeon Y.J., Kamil J.Y.V.A., Shahidi F. (2002). Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *J Agri Food Chem*, 20, 5167-5178.
15. Kurtcan Ü., Gönül M. (1987). Gıdaların duyuşal değeriendirilmesinde puanlama metodu. *Ege Univ Müh Fak Dergisi*, 5, 137-146.
16. Kyranas V.R., Lougovois V.P., Valsamis D.S. (1997). Assessment of shelf life of marcultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 32, 339-347.
17. López-Caballero M.E., Gómez-Guillén M.C., Pérez-Mateos M., Montero P. (2005). A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloid*, 19, 303-311.
18. Manat C., Soottawat B., Wonnop V., Cameron F. (2005). Changes of pigments and colour in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 93, 607-617.

19. Manju S., Jose L., Srinivasa Gopal T.K., Ravishankar C.N., Lalitha K.V. (2007). Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of pearlspot (*Eetroplus suratensis*) during chill storage, *Food Chemistry*, 102, 27-35.
20. Mohan C.O., Ravishankar C.N., Lalitha K.V., Srinivasa Gopal T.K. (2011). Effect of chitosan edible coating on the quality of double filetted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids*, 1,8.
21. Muşabak C. (2008). Kitosanla kaplama ve modifiye atmosfer ambalajlamanın palamut (sarda sarda) filetolannın kimyasal parametreleri üzerine etkisi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
22. No H.K., Meyers S.P., Prinyawiwatkul W., Xu Z. (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *J Food Sci*, 72 (5): 87-100.
23. Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., Hosseini S.M.H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*, 120, 193-198.
24. Regenstein J.M., Regenstein C.E. Introduction to Fish Technology, An Osprey Book Published by Van Nostrand Reinhold, Newyork, (1991). 25.SAS 1996. SAS/STAT User's Guide. Release 6.12. Cary, NC: Statistical Analysis System Institute, Inc.
26. Sathivel S., Liu Q., Huang J., Prinyawiwatkul W. (2007). The Influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) filets during frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 83, 366-373.
27. Shahidi F., Arachchi J.K.V., Jeon Y.J. (1999). Food applications of chitin and chitosan. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 37-51.
28. Tarladgis B.G., Watts B.M., Younnathan M.T., Dugan L.R. (1960). A distillation method for the quantative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc*, 37, 44- 48.
29. Varlık C., Erkan N., Özden Ö., Mol S., Baygar T. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Basımevi, İstanbul,(2004).

Tablolar

Tablo 1. Deneyisel alabalık filetolarının Mikrobiyolojik analiz bulguları

Mikroorganizma	Grup		Muhafaza Süresi (Gün)				
		Fileto	0	3	6	9	12
Toplam mezofilik aerob bakteri (log10 kob/g)	K	2.7 ^{b,z}	3.2 ^{b,z}	6.8 ^{a,z}	7.1 ^{a,z}	*	*
	I	2.7 ^{c,z}	2.9 ^{c,z}	4.2 ^{b,y}	5.8 ^{b,zy}	6.3 ^{a,z}	7.3 ^{a,z}
	II	2.7 ^{b,z}	3.0 ^{b,z}	3.8 ^{b,y}	4.0 ^{b,y}	5.9 ^{a,z}	6.1 ^{a,y}
Psikrofilik bakteri (log10 kob/g)	K	4.3 ^{b,z}	4.3 ^{b,z}	5.7 ^{a,z}	6.4 ^{a,z}	*	*
	I	4.3 ^{a,z}	4.3 ^{a,z}	4.8 ^{a,z}	5.1 ^{a,y}	5.1 ^{a,z}	5.3 ^{a,z}
	II	4.3 ^{a,z}	4.3 ^{a,z}	4.5 ^{a,z}	4.9 ^{a,y}	5.0 ^{a,z}	5.0 ^{a,z}

a, b : Aynı satırda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır ($p<0.05$).

z, y : Aynı sütunda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır ($p<0.05$).

* : Analiz yapılmadı.

Tablo 2. Deneyisel alabalık filetolarının kimyasal analiz bulguları

Analizler	Grup		Muhafaza Süresi (Gün)				
		Fileto	0	3	6	9	12
pH	K	6.0 ^{a,z}	6.0 ^{a,z}	6.3 ^{a,z}	6.8 ^{a,z}	6.9 ^{a,z}	7.1 ^{a,z}
	I	6.0 ^{a,z}	5.5 ^{a,z}	5.8 ^{a,z}	6.1 ^{a,z}	6.1 ^{a,zy}	6.3 ^{a,y}
	II	6.0 ^{a,z}	5.5 ^{a,z}	5.6 ^{a,z}	5.9 ^{a,z}	5.7 ^{a,y}	6.0 ^{a,y}
TVB-N (mg/100g)	K	7.5 ^{b,z}	7.5 ^{b,z}	12.0 ^{ab,z}	28.0 ^{a,z}	31.0 ^{a,z}	33.0 ^{a,z}
	I	7.5 ^{b,z}	7.5 ^{b,z}	14.0 ^{a,z}	16.8 ^{a,y}	20.1 ^{a,zy}	24.6 ^{a,y}
	II	7.5 ^{b,z}	7.5 ^{b,z}	12.8 ^{a,z}	14.0 ^{a,y}	18.6 ^{a,y}	20.1 ^{a,y}
Tiyobarbitürik asit (mg malonaldehit/kg)	K	0.42 ^{b,z}	0.51 ^{b,z}	1.40 ^{ab,z}	2.40 ^{a,z}	2.80 ^{a,z}	3.70 ^{a,z}
	I	0.42 ^{a,z}	0.48 ^{a,z}	0.50 ^{a,y}	0.83 ^{a,y}	1.20 ^{a,y}	1.60 ^{a,y}
	II	0.42 ^{a,z}	0.46 ^{a,z}	0.46 ^{a,y}	0.53 ^{a,y}	0.60 ^{a,y}	0.80 ^{a,y}

a, b : Aynı satırda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır ($p<0.05$).

z, y : Aynı sütunda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır ($p<0.05$).

* : Analiz yapılmadı.

Tablo 2. . Deneysel alabalık filetolarının duyu analizi bulguları

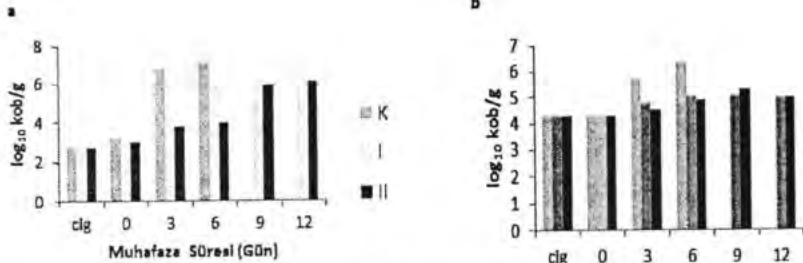
Kriter	Grup	Muhafaza Süresi (Gün)			
		0	3	6	9
Renk	K	4,4 ^{a,z}	4,4 ^{a,z}	3,0 ^{b,y}	*
	I	4,6 ^{a,z}	4,6 ^{a,z}	4,6 ^{a,y}	4,6 ^{a,z}
	II	4,0 ^{a,z}	4,0 ^{a,z}	4,0 ^{a,y}	4,0 ^{a,z}
Koku	K	3,0 ^{a,z}	1,0 ^{b,y}	1,0 ^{b,y}	*
	I	3,0 ^{a,z}	3,0 ^{a,z}	3,0 ^{a,z}	3,2 ^{a,z}
	II	3,2 ^{a,z}	3,0 ^{a,z}	3,0 ^{a,z}	3,0 ^{a,z}
Lezzet	K	4,0 ^{a,z}	3,0 ^{a,y}	2,0 ^{b,y}	*
	I	3,8 ^{a,z}	4,42 ^{a,z}	4,0 ^{a,z}	4,2 ^{a,z}
	II	4,0 ^{a,z}	4,6 ^{a,z}	4,6 ^{a,z}	4,6 ^{a,z}
Tekstür	K	4,0 ^{a,z}	3,6 ^{a,z}	3,8 ^{a,z}	*
	I	3,2 ^{a,z}	3,0 ^{a,z}	2,8 ^{a,y}	3,0 ^{a,y}
	II	3,0 ^{a,z}	2,8 ^{a,y}	2,6 ^{a,y}	2,6 ^{a,z}
Genel Beğeni Düzeyi	K	3,0 ^{a,z}	2,8 ^{a,y}	2,8 ^{a,y}	*
	I	4,2 ^{a,z}	4,2 ^{a,z}	4,4 ^{a,z}	4,2 ^{a,z}
	II	4,0 ^{a,z}	3,8 ^{a,z}	3,8 ^{a,z}	3,0 ^{a,z}

, b : Aynı satırda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (p<0.05).

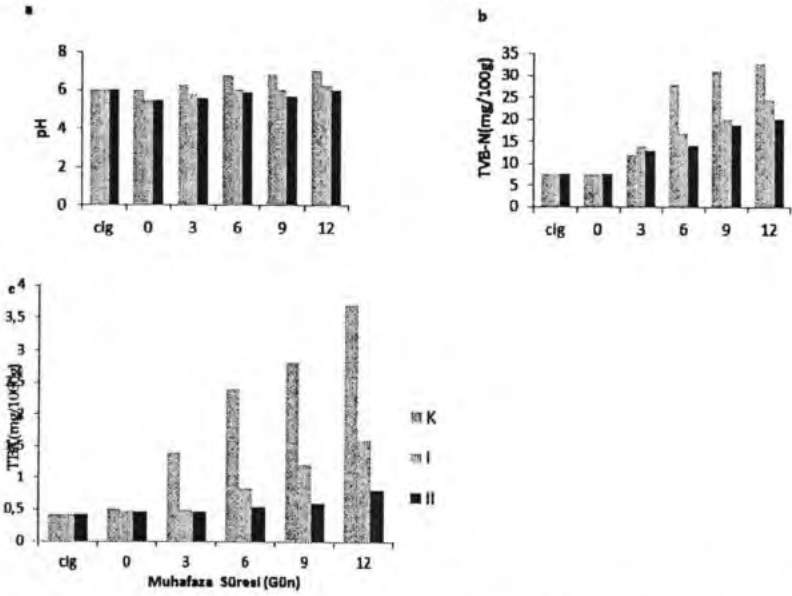
z, y : Aynı sütunda farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (p<0.05).

* : Analiz yapılmadı.

Şekiller



Şekil 1. Deneysel örneklerde belirlenen mikrobiyolojik analiz bulguları. a. Toplam mezofilik aerob bakteri sayısı, b. Psikrofilik bakteri sayısı (K: Kontrol, I: Bir dakika kitosan solüsyonuna daldırılmış grup, II: 30 saniye kitosan solüsyonuna daldırılıp çıkarılan ve 2 dakika beklendikten sonra tekrar 30 saniye ikinci daldırmaya tabi tutulmuş grup).



Şekil 2. Deneysel örneklerde belirlenen kimyasal analiz bulguları. a. pH değeri, b. TVB-N değeri, c. TBA miktarı (K:Kontrol, I: Bir dakika kitosan solüsyonuna daldırılmış grup, II: 30 saniye kitosan solüsyonuna daldırılıp çıkartılan ve 2 dakika beklendikten sonra tekrar 30 saniye ikinci daldırmaya tabi tutulmuş grup)

BAZI ESANSİYEL YAĞLARIN PALAMUT BALIĞINDAN (SARDA SARDA BLOCH, 1793) YAPILAN KÖFTELERİN RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

Sunum Tipi: Oral

Hüsnü Şahan GÜRAN, Gıda Hijyeni ve teknolojisi Bölümü, Dicle Üniversitesi
Gülsüm ÖKSÜZTEPE, Gıda Hijyeni ve teknolojisi Bölümü, Fırat Üniversitesi
Özlem EMİR ÇOBAN, Avlama ve İşleme Teknolojisi, Fırat Üniversitesi
Gökhan Kürşad İNCİLİ, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Fırat Üniversitesi

Özet: Bu araştırmada, kekik (880 mg/kg) (grup-A), karanfil (2.65 mg/kg) (grup-B) ve bib-eriye (8.5 g/kg) (grup-C) gibi bazı esansiyel yağlar ilave edilerek taze palamut balığından (Sarda sarda Bloch, 1793) hazırlanan köftelerin hazırlama ve muhafaza esnasında meydana gelen mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal değişimler incelendi. Toplam mezofilik aerob bakteri sayısının muhafaza süresine bağlı olarak C grubunda diğer gruplara göre daha yavaş bir artış gösterdiği gözlemlendi ($P<0.05$). Koliform grubu bakteriler, Staphylococcus - Micrococcus ve maya-küf sayısı tüm gruplarda muhafazanın ilk gününden itibaren artmaya başladı. İstatistiksel olarak, C grubundaki koliform, Staphylococcus-Micrococcus ve maya-küf sayılarının diğer gruplardan 1'er log10kob/g daha az olduğu görüldü ($P<0.05$). pH, kuru madde ve tuz değerleri bakımından gruplar arasında fark tespit edilemedi ($P>0.05$). TVB-N, TBA, peroksit sayısı ve serbest yağ asidi değerleri tüm örneklerde muhafaza süresince artış gösterdi ve bu kimyasal analizler bakımından gruplar arasında önemli farklılıklar olduğu belirlendi ($P<0.05$). Balık köftelerinin muhafazanın başlangıcında duyuşsal açıdan daha fazla beğenildiği, ileri muhafaza günlerinde ise beğeni düzeyinin giderek azaldığı saptandı ($P<0.05$). İlave edilen bu esansiyel yağların ürünün renk, görünüş, koku ve gevreklik üzerinde önemli bir etki yapmadığı ancak lezzet ve genel beğeni üzerinde önemli etkiler yaptığı ve C grubunun genel beğeni düzeyi ile diğer gruplar arasında önemli farklılıklar bulundu ($P<0.05$).

Anahtar kelimeler: Palamut balığı, köfte, mikrobiyolojik ve kimyasal kalite, esansiyel yağlar, raf ömrü.

Shelf-Life of Fish Balls Made from Bonito Fish (Sarda sarda Bloch, 1793) Treated with Some Essential Oils

In this study, microbiological, chemical and sensory changes of fish balls made from bonito fish (Sarda sarda Bloch, 1793) treated with thyme (880 mg/kg) (group-A), clove (2.65 mg/kg) (group-B) and rosemary (8.5 g/kg) (group-C) as some essential oils were analyzed during their storage. Total number of mesophilic aerobic bacteria, depending on the storage period in group C showed a slowly increase more than the other groups were observed. ($p<0.05$). The numbers of total coliforms, Staphylococcus - Micrococcus and yeast and mold increased in all groups as from beginning of the storage. Statistically, numbers of total Coliforms, Staphylococcus - Micrococcus and yeast and mold in group C were found to be 1 log10 cfu/g lower than other groups ($p<0.05$). It was not observed significant difference between groups in terms of pH, dry matter and salt levels ($p>0.05$). TVB-N, TBA, peroxide value, free fatty acids values gradually increased in all groups during the storage period and significant differences was found between groups in point of chemical analysis ($p<0.05$). Although fish balls were found to be desirable from sensorial point of view at the beginning of the storage, their sensory attributes gradually decreased during the storage period ($p<0.05$).

It was detected that the essential oils used in the present study had not significant effect on color, appearance, odor and crispness of the product, but they had a significant effect on the flavor and general appreciation, and general appreciation level of the group C was better than the other groups ($P<0.05$).

Key words: Bonito fish, ball, microbiological and chemical quality, essential oils, shell life.

Giriş: İnsanoğlunun beslenmesinde ana unsur olan proteinin en önemli kaynaklarından birisi de balıktır. Ülkemizin ekonomik durumu da göz önüne alındığında insanların hayvansal protein ihtiyacını daha ucuz besinlerden karşılaması ya da ekonomik değeri az fakat protein değeri yüksek olan besinleri işleyerek bu sorunun çözümüne katkıda bulunmak düşünülmeli gereken önemli konulardan birisidir. Çalışan kadın nüfusunun artması ve hızlı kentleşme nedeniyle servise hazır gıdalar büyük rağbet görmektedir. Servise hazır gıdalar uygun işleme tekniği ve yöntemlerinin uygulandığı ve böylece belirli bir dayanma süresine sahip, doğrudan veya yeme sıcaklığında ısıtılıp tüketilen başlı başına veya bazı maddelerle işlenmesiyle yemek olarak kabul edilen ürünlerdir (13). Servise hazır gıdalar sınıfında yer alan ürünlerden birisi de balık köftesidir. Bazı oteller ve lokantalar için işlenmiş balık ürünleri değişik aroma ve alternatifler sunduğu için bu gibi yerlerde aranan ürünler haline gelmişlerdir. Balık köftesi, balık etinin temizlenip, haşlanıp kıyma haline getirildikten sonra baharat ilavesiyle elde edilen bir balık ürünüdür.

Ülkemizde kısa bir avlanma döneminde ve yoğun miktarda avlanan balıklardan biri olan palamut balığı yıllık 6000 ton üretim miktarı ile ülkemiz için önemli balık türleri arasında (11) olup tamamına yakını 2-3 aylık kısa avlama döneminde taze ve genellikle bölgesel olarak tüketilmektedir. Tüketici alışkanlığı ve talebi nedeniyle elde edilen ürün avlama bölgeleri ve civarında taze olarak tüketilmektedir. Balıkların balıkçılar tarafından buzlanarak daha uzak bölgelere taşınması da yine taze tüketimle sonlanmaktadır. Kısa bir tüketim süresine sahip olan bu tür balıkların farklı teknolojik işlemlerle değerlendirilerek raf ömrünün uzatılması ile ilgili araştırmalar gündeme gelmektedir (39). Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada (13) çiğ ve haşlanmış hamsi balığından yapılmış balık köftelerinin $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazası sırasında 9 günlük raf ömrüne sahip olduğu belirlenmiştir. Öksüz-tepe ve ark. (27) tarafından yapılan bir çalışmada % 2 oranında sodyum laktat ilave edilerek hazırlanan taze gökkuşağı alabalığından yapılan köftelerin raf ömrünün $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazada 16 gün olduğu saptanmıştır. Yine Çapkin tarafından yapılan bir çalışmada (9); kadife balığından yapılan köftelerin $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 güne kadar tüketilebilirlik özelliklerini koruduğu görülmüştür.

Gıda maddelerinin mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü artırmak için çeşitli aromatik bitkiler ve bunlardan elde edilen esansiyel yağlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bitki ve baharatların kimyasal bileşenleri ve etken maddeleri farklı olduğu için göstermiş oldukları etkiler de birbirinden farklıdır. Limonene ve citral (her ikisi de limonda bulunur), kamphor, pinene (çam ağaçları), eugenol (karanfil), thymol (kekik), geraniol (gül), karnosol ve karnosic asit (her ikisi de biberiye de bulunur), karnosol (adaçayı) en yaygın bilinen terpenlerdir (3).

Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) küçük lğne uçlu, yapraklı olan bu bitki Labiatae ailesindedir. Biberiye gıdalarda antioksidan ya da doğal koruyucu olarak kullanılmasının yanı sıra sabun, oda kokusu, deodorant, parfüm ve losyon yapımında da kullanılır. Biberiye'nin esansiyel yağı ya da ekstratları et ürünlerinde, yağ içeren gıdalarda, yağlarda oksidasyona ve ransiditeye karşı kullanılabilir (34).

Kekik (*Thymus vulgaris* L.) balıbabagiller (Lamiaceae) familyasından *Thymus* cinsine aittir. Ülkemizde yaygın olarak kullanılan ve ticareti yapılan kekik türlerinin ortak özelliği uçucu yağ içermeleri ve bu uçucu yağların ana bileşenlerinin thymol ve karvakrol olmasıdır. Bu maddeler, kekiğe kendine özgü kokusunu veren ve antioksidan özellik kazandıran fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler uçucu yağların % 78-82'sini oluşturmaktadır (4).

Karanfil (*Eugenia caryophyllata*) bitkisi 10-20 m yüksekliğinde, yaprak dökmeyen ağaçlardan elde edilir. Bilinen süs karanfil çiçeğinden farklıdır. Karanfile koku ve lezzetini veren "eugenol" adındaki uçucu yağdır. Eugenol karanfil ekstraktının büyük bir kısmını oluşturur ve söz konusu bitkinin antioksidatif ögesidir. Konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada karanfilin BHT ve BHA kadar güçlü antioksidatif etki gösterdiği ortaya konulmuştur (24). Söz konusu esansiyel yağların GRAS statüsünde olduğu bilinmektedir (5).

Bu araştırma, biberiye, kekik ve karanfil esansiyel yağlarının palamut balığından yapılan köftelerin bazı mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal özellikleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın materyalini oluşturan palamut balıkları (Sarda sarda Bloch, 1793) kapalı çarşıdan temin edilmiştir. Yaklaşık olarak 300-450g arasında olan palamut balıklarından her tekrerrür için ortalama olarak 7-8 kg balık kullanıldı. Balıkların önce derileri soyuldu, daha sonra başları kesilerek iç organları temizlendi ve filetoları çıkarılarak kaynar suda 1-2 dakika haşlandı. Et kılıçlardan temizlendikten sonra, ayna delik çapı 3 mm olan kıyma makinesinden geçirilerek kıyma haline getirildi.

Köftelerin Formülasyonu ve Hazırlanması

1 kg balık eti (suda haşlanmış), 20 g tuz, 10 g zeytinyağı, 3 adet patates (haşlanmış - 54 g), 5 g kimyon, 5 g yedibahar, 5 g karabiber, 2 dilim ekmek (somun ekmeğinin içi - 18 g), 2 adet kuru soğan (rendelenmiş - 20 g), 1 demet maydanoz (43 g). Elde edilen kıyma baharat karışımına (karabiber, yenibahar, kimyon), tuz, zeytinyağı ve katkı maddeleri (haşlanmış patates, somun ekmeğinin içi, soğan, maydanoz, yumurta) ilave edilerek karıştırıldı. Karışımın 20-25 g ağırlığında alınıp elle şekil verilerek önce çırpılmış yumurtaya sonra galeta ununa bulandıktan sonra 5 cm eninde ve 10 cm boyunda olan strafor tabaklara yerleştirildi ve streç film ile kaplandı. Örnekler 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu (Grup K) olarak belirlendi. Aynı karışımın hazırlanan köftelere kekik (880 mg/kg) (Grup-A), karanfil (2.65 mg/kg) (Grup-B) ve biberiye (8.5 g/kg) (Grup-C) oranında esansiyel yağlardan ilave edilerek 3 köfte grubu daha hazırlandı. Hazırlanan köfte örnekleri $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazaya alındı. Çalışma 3 tekrerrürlü olarak yapıldı. Örnekler hazırlama aşamasında (fileto) ve muhafazanın belirli günlerinde (0., 2., 4., 6., 8., 10., 12., 14. ve 16. günler) mikrobiyolojik ve kimyasal yönden incelendi. Ayrıca, belirtilen muhafaza günlerinde her grup örnekten birer paket alınarak aseptik şartlar altında açılan köfte örnekleri yağda kızartıldıktan sonra 5 kişilik panelist grubu tarafından duyuşsal olarak analiz edildi.

Mikrobiyolojik analizler için, köfte örnekleri bir parçalayıcının (Stomacher 400) özel torbasında 5 g tartıldı ve üzerine steril %0.1'lik peptonlu sudan 45 ml ilave edilerek parçalayıcıda homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10-1 (1/10)'luk dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin 10-6'ya kadar diğer seyreltileri hazırlandı. Örneklerin her seyreltisinden 1'er ml kullanılarak iki seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri yapılarak inkübasyon süresi sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi (15, 43). Örneklerdeki toplam mezofilik aerob mikroorganizmaların sayımı için Plate Count Agar (PCA) ($30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat) (15) koliform grubu bakterilerin sayımı için Violet Red Bile Agar (VRB) ($30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat) (29) *Staphylococcus*- *Micrococcus* mikroorganizmaların sayımları için Mannitol Salt Agar (MSA) ($37\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 36-48 saat) (7) besi yeri kullanıldı. Maya ve küf sayımı % 10'luk tartarik asit ilave edilerek pH'sı 3.5'e düşürülmüş Potato Dextrose Agar (PDA) ($21\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün) besi yerinde yapıldı (26). Örneklerin pH değerleri, pH metre (EDT, GP 353) ile saptandı (6). Kuru madde miktarları Türk Standardları Enstitüsü'nün (41) önerdiği metoda göre yapıldı. TVBN miktarının belirlenmesinde, Varlık ve ark.'nın (43) bildirdiği spektrofotometrik yöntem uygulandı. TBA sayısı ise, 1000 g örnekteki malonaldehit miktarı üzerinden hesaplandı (36) Peroksit sayısı modifiye edilmiş Wheeler yöntemine göre yapıldı (44).

Serbest yağ asidi miktarı Yetim (46) tarafından bildirilen yöntemle göre yapıldı. Duyusal analizler için kızartılmış olan köfte örnekleri renk, görünüş, koku, gevreklik ve lezzet yönünden incelendi. Değerlendirme toplam 30 puan üzerinden yapıldı (22).

İstatistiksel Analiz

Çalışma üç bağımsız tekrardan oluşturuldu. Mikrobiyolojik veriler log₁₀ kob/g çevrildi ve 3 x 4 x 4 x 16 (tekrar sayısı x uygulama x muhafaza sıcaklığı x örnekleme günleri) faktöriyel dizaynı kullanılarak değerlendirildi. Veriler, SAS programı kullanılarak ana etkiler (uygulama, muhafaza sıcaklığı ve örnekleme günleri) ile uygulama, muhafaza sıcaklığı ve örnekleme günleri arasında üçlü değişkenler arası etkileşimler yönünden varyans 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 0.05 olarak kabul edildi (36).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, farklı oranlarda esansiyel yağlardan (keklik 880 mg/kg-Grup-A, karanfil 2.65 mg/kg-Grup-B ve biberiye 8.5 g/kg-Grup-C) ilave edilerek taze palamut balığı etinden yapılan köfte örneklerinin +4±10C'de muhafazası sırasında mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal özelliklerinde meydana gelen değişimler incelendi. Deneyisel köfte örneklerinin mikrobiyolojik analiz bulguları Tablo 1'de, kimyasal analiz bulguları Tablo 2'de ve duyuşal analiz sonucunda belirlenen organoleptik özellikleri ise Tablo 3'de gösterildi. Örneklerin yapımında kullanılan fileto 3.60 log₁₀ kob/g seviyesinde tespit edilen toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayısı muhafazanın 0.gününden itibaren artmaya başladı. Kontrol grubunda muhafazanın 4. gününde 6.48 log₁₀ kob/g seviyesine, A grubunda 8.günde 6.84 log₁₀ kob/g seviyesine, B grubunda 10.günde 6.75 log₁₀ kob/g seviyesine ve C grubunda ise 14.günde 7.50 log₁₀kob/g seviyesine çıktı (Tablo 1). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine (40) göre tüm gıda maddelerindeki toplam mezofilik aerob bakteri sayısı kabul edilebilir sınır değeri 106 kob/g'dir. Buna göre sonuçlar değerlendirildiği zaman kontrol grubunun muhafazanın 4.gününden, A grubunun 8. gününden, B grubunun 10.gününden ve C grubunun ise 14.gününden itibaren bozulduğu görüldü. Elde edilen bulgular, balık köftesinin 4±10C'de muhafazasıyla raf ömrünün 8. güne kadar devam ettiğini muhafazanın 10.gününden itibaren ise bozulduğunu tespit eden Gökoğlu (13) ile % 2 oranında sodyum laktat ilave edilerek hazırlanan taze gökkuşaklı alabalığından yapılan köftelerin raf ömrünün 4±10C'de muhafazada 16 gün olduğu saptayan Öksüztepe ve ark. (27)'nin bulgularıyla benzerlik arz etmektedir. Ayrıca kadife balığından yapılan köftelerin raf ömrünün 4±10C'de 10 gün olduğunu saptayan Çapkin'in (9) bulgularıyla uyum içerisindedir. İstatistiksel olarak veriler değerlendirildiğinde, 8.5 g/kg hesabıyla biberiyenin ilave edildiği C grubundaki toplam mezofilik aerob bakteri sayısının diğer gruplara göre daha yavaş bir artış gösterdiği gözlemlendi (P<0.05). Ayrıca yine aynı grupta toplam mezofilik aerob bakteri sayısında yaklaşık 1 log₁₀kob/g değerinde azalma olduğu görüldü (Tablo 1). Elde edilen bu bulgular Çetin ve Bostan (10) ile Öksüztepe ve ark. (27)'nin bulgularıyla benzerlik arz etmektedir.

İndikatör mikroorganizma olarak bilinen koliform grubu bakteriler normal şartlarda su ürünlerinde bulunmazlar. Bu grup bakterilerin varlığı, balığın ya fekal kontaminasyonlu sulardan avlandığını, ya da avlandıktan sonra uygulanan işlemlere bağlı olarak bulaştığını gösterir. Ürünün hijyenik kalitesinin bir göstergesi olan koliform grubu bakterilerin sınır değeri 2.1x10² kob/g olarak bildirilmektedir (2). Bu çalışmada, fileto 2.10 log₁₀kob/g bulunan koliform bakteriler muhafazanın 0.gününden itibaren artış göstererek kontrol grubunda 4.günde 4.40 log₁₀kob/g, A grubunda 8.günde 4.95 log₁₀kob/g, B grubunda 10.günde 5.85 log₁₀kob/g ve C grubunda ise 14.günde 5.40 log₁₀kob/g olarak en yüksek seviyeye ulaştı (Tablo 1).

İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, koliform grubu bakteri sayısı bakımından A (kekik - 880 mg/kg) ile B (karanfil-2.65 mg/kg) grubu arasında pek bir farklılık olmadığı ancak kontrol dahil diğer grupların kendi aralarında önemli farklılıkların olduğu görüldü. Ayrıca C grubundaki (biberiye-8.5 g/kg) koliform grubu bakteri sayılarının diğer gruplardan 1'er log10kob/g değer olarak daha az bulunduğu tespit edildi (Tablo 1) ($P<0.05$).

Staphylococcus'lar doğada yaygın olarak bulunurlar. Ancak, deniz ürünleri doğal olarak Staphylococcus mikroorganizmalarını içermezler. Bu mikroorganizmaların 100 kob/g'dan fazla olması insanlardan kaynaklanan bulaşmayı gösterir (14). Filetoda 1.05 log10kob/g olarak saptanan Staphylococcus - Micrococcus sayıları tüm gruplarda muhafazanın ilk gününden itibaren artmaya başlamıştır. Kontrol grubunda 4.günde 3.90 log10kob/g, A grubunda 8.günde 4.20 log10kob/g, B grubunda 10.günde 4.00 log10kob/g ve C grubunda ise 14.günde 3.21 log10kob/g olarak en yüksek seviyeye çıkmıştır (Tablo 1). İstatistiksel olarak kontrol grubunda elde edilen bulguların diğer gruplardan daha fazla mikroorganizma içerdiğinden dolayı farklılık arz ettiği görüldü. Ayrıca C grubundaki Staphylococcus - Micrococcus'ların sayılarının ise tüm muhafaza süresi boyunca diğer gruplardan 1'er log10kob/g değer olarak daha az sayıda olduğu saptandı (Tablo 1) ($P<0.05$).

Maya ve küfler, balıklarda normal flora içerisinde bulunmazlar. Bunlar genellikle toprak orijinli olup, balıklar avlandıkları anda, sudan veya avlanma sonrası kullanılan alet ve malzemelerden bulaşırlar (17). Maya ve küf sayısı filetoda 1.30 log10kob/g olarak belirlenmiştir. Bu sayı kontrol dahil tüm gruplarda muhafaza süresine göre artış gösterdi ve C grubu hariç diğer gruplarda aynı seviyelerde seyrettiği görüldü (Tablo 1). İstatistiksel olarak C grubunun diğer gruplardan 1'er log10kob/g değer olarak daha az sayıda maya ve küf içerdiği ve bu değerlerin önemli olduğu bulundu ($P<0.05$).

Tablo 1. 4±1 oC'de muhafaza edilen köfte örneklerinin mikrobiyolojik analiz bulguları (log10kob/g).

Mikroor.	Fileto	Örnek Tipi	Muhafaza Süresi (Gün)								
			0.	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.
Toplam Mezofilik Aerob	3.60	K.	5.12 ^a	5.56 ^a	6.48 ^a	AY					
		A	4.84 ^b	5.06 ^b	5.76 ^b	6.45 ^a	6.84 ^a	AY			
		B	4.77 ^b	4.95 ^b	5.16 ^c	5.55 ^b	6.14 ^b	6.75 ^a	AY		
		C	4.54 ^c	4.70 ^c	4.90 ^d	5.10 ^c	5.90 ^c	6.30 ^b	6.80 ^a	7.50 ^a	AY
Koliform	2.10	K.	3.17 ^a	4.20 ^a	4.85 ^a	AY					
		A	3.10 ^a	4.00 ^b	4.25 ^b	4.80 ^a	5.35 ^a	AY			
		B	3.05 ^a	3.80 ^b	4.00 ^b	4.30 ^b	4.55 ^b	5.85 ^a	AY		
		C	2.60 ^a	2.90 ^c	3.15 ^c	3.55 ^c	3.90 ^c	4.40 ^b	5.00 ^a	5.40 ^a	AY
Staphylococcus - Micrococcus	1.05	K	2.78 ^a	3.10 ^a	3.90 ^a	AY					
		A	2.50 ^a	2.90 ^b	3.55 ^a	3.90 ^a	4.20 ^a	AY			
		B	2.27 ^a	2.43 ^b	2.69 ^b	3.00 ^b	3.45 ^b	4.00 ^a	AY		
		C	1.40 ^a	1.60 ^b	1.75 ^b	2.00 ^c	2.34 ^{bc}	2.76 ^b	3.05 ^a	3.21 ^a	AY
Maya ve Küf	1.30	K	2.48 ^a	2.89 ^a	3.20 ^a	AY					
		A	2.12 ^a	2.52 ^a	2.81 ^b	3.04 ^a	3.57 ^a	AY			
		B	2.00 ^{ab}	2.20 ^{ab}	2.53 ^{bc}	2.83 ^{ab}	3.10 ^{ab}	3.40 ^a	AY		
		C	1.46 ^b	1.68 ^b	1.80 ^c	1.97 ^b	2.28 ^b	2.79 ^b	2.95 ^a	3.17 ^a	AY

a,b,c, : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar değerinden farklıdır (p<0.05).

K : Kontrol

B : Karanfil (2.65 mg/kg)

AY : Analiz Yapılmadı

A : Kekik (880 mg/kg)

C : Biberiye (8.5 g/kg)

Balık köftelerinin yapımında kullanılan filetoda pH değeri 5.65 olarak belirlendi. Tespit edilen bu değer tüm köfte örneklerinde 0.günde ve muhafazanın 2.gününde nispeten azaldı. Muhafazanın 4.günüden itibaren tüm gruplarda muhafazanın sonuna kadar yükselmenin devam ettiği görüldü (Tablo 2). Gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı (P>0.05). Muhafazanın sonunda bütün köfte gruplarındaki pH değerlerinin 5.59 - 5.83 arasında seyrettiği ve elde edilen bu değerlerin Kaya ve ark.'nın (19) palamut balığı ile ilgili yaptıkları çalışmada muhafaza süresi sonunda tespit ettikleri pH: 5.97 değerinden düşük olduğu bulundu. Bu durum kullanılan farklı teknolojik işlemlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada filetoda % 29.78 olarak tespit edilen kuru madde miktarı tüm köfte örneklerinde 0.günde artış gösterdi. Muhafazanın 2.günüden itibaren muhafazanın sonuna kadar tüm gruplarda dalgalanmalar şeklinde seyrederek ortalama olarak % 39.94 ile % 42.79 arasında tespit edildi (Tablo 2). Kuru madde miktarı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak fark görülmeydi (P>0.05). Bulgularımız, biberiye ve adaçayı esansiyel yağlarının salomonların muhafazası esansında kurumadde miktarı üzerinde etkisinin olmadığını tespit eden Tironi ve ark.'nın (38) bulgularıyla uyum içerisindedir.

Tuz miktarı filetoda % 0.98 olarak saptandı. Bu değer muhafazanın 0.gününde tüm örneklerde artış gösterdikten sonra muhafaza süresi boyunca dalgalanmalar şeklinde seyretti (Tablo 2). Tuz miktarı bakımından gruplar arasındaki farkın önemsiz olduğu görüldü. ($P>0.05$).

TVB-N başlıca balıkta bulunan bakterilerin ve endojen enzimlerin etkisi ile TMA ve amonyaktan ibarettir (23). Balık ve diğer su ürünlerinin muhafazasında süreye bağlı olarak TVB-N değerinin yükseldiği bildirilmektedir. Huss (16), taze balığın içerdiği TVB-N miktarını 5-20 mg/100g, taze kabul edilebilir sınır değerini 30-40 mg/100g olarak bildirmektedir. Varlık ve ark.(43) ise, TVB-N değerlerine göre kalite sınıflandırmasını, 25 mg/100g'a kadar "çok iyi", 30 mg/100g'a kadar "iyi", 35 mg/100g'a kadar "pazarlanabilir", 35 mg/100g'dan fazlasını "bozulmuş" olarak değerlendirmektedir. Bu çalışmada, örneklerin yapımında kullanılan filetoda ortalama olarak 11.24 mg/100g miktarında tespit edilen TVB-N değerleri, tüm köfte örneklerinde muhafazanın sonuna kadar sürekli artış gösterdi. TVB-N miktarları kontrol grubunda muhafazanın 4.gününde 13.88 mg/100g, A grubunda 8.günde 13.91 mg/100g, B grubunda 10. günde 13.41 mg/100g ve C grubunda ise 14.günde 13.24 mg/100g olarak saptandı (Tablo 2). Bulgularımız taze palamut balığında TVB-N değerini 11.24 mg/100g olarak saptayan ve muhafaza esnasında sürekli olarak artış olduğunu bildiren Kaya ve ark.'nın (19) sonuçlarıyla uyum içerisindedir. Çalışmamızda gözlenen zamana bağlı TVB-N artışını birçok araştırmacı da bildirmektedir (20, 21). Bu çalışmada, kontrol grubu 6.günde, A grubu 10.günde, B grubu 12.günde ve C grubu ise 16.günde duyuşsal olarak tamamen bozulduğu belirlendi. Buradan da anlaşılabacağı üzere, TVB-N miktarlarına göre balık köftelerinin değerlendirilmesinin uygun olmadığı düşünülmektedir. Çünkü, önerilen değerler işlem görmemiş balıklar için verilmiştir. Ayrıca, balık köftesi farklı katkı maddelerinin ilavesiyle hazırlanan bir üründür. Muhafaza süresince elde edilen bulguların (11.29-13.91) sazan etinden hazırlanmış köftelerde muhafaza süresince 10.52-13.78 mg/100g olarak bulan Yanar ve Fenercioğlu'nun (45) bulgularıyla uyum içerisindedir. Ancak, muhafaza süresince hamisi kıymasından hazırlanmış köftelerde 16.68-42.93 mg/100g olarak bulan Akkuş ve ark.(1), sodyum laktat ilaveli alabalık köftesinde 9.63-26.75 mg/100g olarak bulan Öksüztepe ve ark.(27) ile kadife balığından yapılan köftelerde 11.33-37.37 mg/100g arasında bulan Çapkın'ın (9) bulgularıyla uyumsuzdur. Bulguların uyumsuzluğu, materyal olarak kullanılan balık türlerinin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan istatistiksel analizde, gruplar arasındaki farkın önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.05$).

Gıdalarda ürünün bozulma nedenleri arasında yer alan yağ oksidasyonunu ifade eden kriterlerden biri de tiyobarbiturik asit (TBA) sayısıdır. TBA miktarının değişiminde balığın türü, yağ miktarı, mevsim vs. gibi faktörlerin etkili olduğu bildirilmektedir (32). TBA sayısı çok taze bir materyalde 3'ten az olmalı, taze materyalde ise 5'ten fazla olmamalı, tüketilebilirlik sınır değeri ise 7-8 arasında bulunmalıdır (35). Bu çalışmada filetoda 0.27 mg malonaldehit/1000g değerinde bulunan TBA sayısı tüm köfte örneklerinde muhafazanın başından sonuna kadar sürekli artış gösterdi. Tüm gruplarda muhafaza süresince TBA değerleri 0.27-4.04 mg malonaldehit/1000g arasında değişiklik gösterdiği tespit edildi (Tablo 2). Bu değerlerin önerilen tüketilebilirlik sınır değerlerinden (7-8 mg malonaldehit/1000g) oldukça düşük olduğu görüldü. Bulgularımız sodyum laktat ilaveli alabalık köftelerinde muhafaza süresince 0.87-5.88 mg malonaldehit/1000g bulan Öksüztepe ve ark.'nın (27) bulgularıyla uyum içerisindedir ancak, kadife balığından yapılan köftelerde 1.43-8.51 mg malonaldehit/1000g tespit eden Çapkın'ın (9) bulgularıyla sudak ve kadife balığı fileto artıklarından yapılmış köftelerde 1.41-9.12 mg malonaldehit/1000g olarak saptayan Ünlüsayın ve ark.'nın (42) bulgularından oldukça düşüktür. Bu durumun, farklı balık türlerinden ve farklı işleme şekillerinden kaynaklandığı söylenebilir. TBA miktarının esansiyel yağ ilave edilen grupların kontrol grubuna göre düşük olmasının nedeni esansiyel yağlarda bulunan fenolik maddelerin antioksidatif etki göstermelerinden kaynaklanmasıyla açıklanabilir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, TBA miktarı bakımından gruplar arasında önemli farklılıkların olduğu ($P<0.05$) görülmektedir.

Yağlı balıkların raf ömrü lipitlerin oksidasyonuna bağlıdır. Lipit oksidasyonunun derecesini belirlemede ve oksidatif bozulmanın başlangıç aşamasında oluşan hidroperoksitlerin miktarının tespitinde kullanılan değer peroksit değeridir. Dolayısıyla yağlarda oksidasyonun bir göstergesi olan peroksit sayısı yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının bir ölçüsü olup 1 kg yağda bulunan peroksit oksijenin miliekiylan olarak miktarıdır (28, 43). Peroksit sayısı çok iyi bir materyalde 2 milimol O₂/kg'nin altında olmalı, iyi bir materyalde ise 5'ten fazla olmamalıdır. Tüketilebilirlik sınır değeri ise 8-10 milimol O₂/kg arasındadır (43). Taze balıkta 0.53 milimol O₂/kg olarak saptanan peroksit sayısı muhafazanın ilk gününden sonuna kadar sürekli olarak bir artış gösterdi. Tüm örneklerde muhafaza süresi boyunca 0.51-2.69 milimol O₂/kg olarak seyretti. Bu değerlerin önerilen tüketilebilirlik sınır değerlerinden (8-10 milimol O₂/kg) oldukça düşük olduğu görüldü. Elde edilen sonuçlar sazan etinin balık köftesi olarak yapıldığı çalışmada elde edilen sonuçlarla (0.5-2.6 milimol O₂/kg) benzerlik arz etmektedir (45). Kontrol grubunda elde edilen değerlerin esansiyel yağların ilave edildiği diğer gruplardaki değerlerden yüksek olduğu görüldü. Ayrıca, biberiye ilave edilen C grubundaki değerlerin diğer gruptaki değerlerden daha düşük seviyede seyrettiği belirlendi. Bu sonuçlar biberiye yağının ilave edildiği gruplardaki peroksit sayısının diğer gruplara göre daha az seviyelerde seyrettiğini bulan bazı araştırmacıların bulgularıyla uyum içerisinde (31,33) (Tablo 2). Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, peroksit sayısı bakımından gruplar arasında önemli farklılıkların olduğu (P<0.05) saptandı.

Serbest yağ asitleri (SYA) trigliserit ve fosfolipitlerin lipolizi ile oluşur. Gıdanın bileşiminde serbest yağ asidi miktarının artması oksidasyonu hızlandıran etmenlerden birisidir. Lipit oksidasyonu da muhafaza ömrünü sınırlandıran en önemli faktörler arasındadır (30). % oleik asit cinsinden serbest yağ asitleri miktarları taze balıkta 0.48 iken muhafazanın sonuna kadar kontrol dahil tüm gruplarda artış gösterdi. Kontrol grubunda muhafazanın 4.gününde 1.36, A grubunda 8.günde 1.60, B grubunda 10.günde 1.57 ve C grubunda 14.günde 1.63 seviyesinde bulundu (Tablo 2). SYA artışının kontrol grubunda esansiyel yağ ilaveli gruplara göre daha fazla olduğu belirlendi. Bulgularımız bazı araştırmacıların bulgularıyla benzerlik arz etmektedir (12, 33). Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, serbest yağ asitleri bakımından gruplar arasında önemli farklılıkların olduğu (P<0.05) saptandı. Muhafaza süresi boyunca biberiye ilave edilen C grubundaki SYA artışının daha az olduğu görüldü. Bulgularımız Olley ve ark.'nın (25) bulgularıyla uyum içerisinde.

Tablo 2. 4±1 oC'de muhafaza edilen köfte örneklerinin kimyasal analiz bulguları.

Değer	Fileto	Örnek Tipl	Muhafaza Süresi (Gün)								
			0.	2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.
pH	5.65	K	5,58 ^a	5,52 ^a	5,59 ^a	AY					
		A	5,56 ^a	5,50 ^a	5,53 ^a	5,65 ^a	5,71 ^a	AY			
		B	5,43 ^a	5,38 ^a	5,43 ^a	5,57 ^a	5,65 ^a	5,73 ^a	AY		
		C	5,51 ^a	5,43 ^a	5,47 ^a	5,50 ^a	5,52 ^a	5,64 ^a	5,71 ^a	5,83 ^a	AY
Kuru madde (%)	29.78	K	40.45 ^a	39.94 ^a	40.83 ^a	AY					
		A	40.36 ^a	40.29 ^a	41.43 ^a	41.51 ^a	42.06 ^a	AY			
		B	41.26 ^a	41.97 ^a	42.12 ^a	41.28 ^a	42.52 ^a	41.77 ^a	AY		
		C	40.85 ^a	40.39 ^a	40.98 ^a	42.24 ^a	41.01 ^a	42.60 ^a	42.48 ^a	42.79 ^a	AY
Tuz (%)	0.98	K	2.99 ^a	2.80 ^a	2.76 ^a	AY					
		A	2.95 ^a	2.83 ^a	2.85 ^a	2.95 ^a	2.90 ^a	AY			
		B	2.86 ^a	2.82 ^a	2.96 ^a	2.91 ^a	2.88 ^a	2.86 ^a	AY		
		C	2.88 ^a	2.84 ^a	2.88 ^a	2.81 ^a	2.82 ^a	2.85 ^a	2.90 ^a	2.91 ^a	AY
TVB-N (mg/100g)	11.24	K	11.56 ^a	12.73 ^a	13.88 ^a	AY					
		A	11.45 ^a	12.11 ^b	13.12 ^b	13.76 ^a	13.91 ^a	AY			
		B	11.32 ^a	11.61 ^{bc}	12.10 ^{bc}	12.57 ^b	13.00 ^b	13.41 ^a	AY		
		C	11.29 ^a	11.40 ^a	11.74 ^a	11.90 ^a	12.05 ^a	12.70 ^b	12.93 ^a	13.24 ^a	AY
TBA (mg/1.000g)	0.27	K	0.56 ^a	1.68 ^a	3.49 ^a	AY					
		A	0.43 ^a	0.78 ^b	1.91 ^b	2.64 ^a	2.94 ^b	AY			
		B	0.39 ^a	0.63 ^{bc}	1.57 ^{bc}	2.07 ^b	2.41 ^b	3.02 ^a	AY		
		C	0.33 ^a	0.51 ^c	1.04 ^c	1.61 ^c	2.01 ^c	2.23 ^b	3.64 ^a	4.04 ^a	AY
Peroksit (milimol O ₂ /kg)	0.53	K	0.78 ^a	1.30 ^a	2.28 ^a	AY					
		A	0.69 ^a	0.97 ^a	1.84 ^a	2.37 ^a	2.59 ^a	AY			
		B	0.60 ^a	0.82 ^{bc}	1.53 ^{bc}	1.83 ^b	2.17 ^b	2.53 ^a	AY		
		C	0.51 ^a	0.70 ^c	0.90 ^c	1.12 ^a	1.81 ^c	2.29 ^b	2.46 ^a	2.69 ^a	AY
Serbest Yağ Asidi (% oleik asit cinsinden)	0.48	K	0.81 ^a	1.18 ^a	1.36 ^a	AY					
		A	0.70 ^a	0.97 ^a	1.29 ^b	1.46 ^a	1.60 ^a	AY			
		B	0.60 ^a	0.82 ^{bc}	1.08 ^{bc}	1.22 ^b	1.39 ^b	1.57 ^a	AY		
		C	0.53 ^a	0.65 ^c	0.89 ^c	1.03 ^a	1.28 ^c	1.46 ^b	1.55 ^a	1.63 ^a	AY

a,b,c : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır (p<0.05).

K : Kontrol

A : Kekik (880 mg/kg)

B : Karanfil (2.65 mg/kg)

C : Biberiye (8.5 g/kg)

AY : Analiz Yapılmadı

Su ürünlerinin tazelik seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler balığın raf ömrünü objektif bir biçimde değerlendirebilse de subjektif olan duyuşsal analizlerin tüketimde çok daha önemli bir yeri vardır. Çünkü insanlar bir gıdayı tüketmeye karar verirken laboratuvar şartlarında düzenlenen deneylerden ziyade duyuşsal ön incelemelerden yararlanırlar (22). Bu çalışmada ilave edilen esansiyel yağların ürünün renk, görünüş, koku ve gevreklik üzerinde önemli bir etki yapmadığı ancak lezzeti ve genel beğeni üzerinde önemli etkiler yaptığı görüldü (Tablo 3). İstatistiksel olarak biberiye ilaveli olan C grubunun genel beğeni düzeyi ile diğer gruplar arasında önemli farklılıklar olduğu belirlendi ($P<0.05$). Kontrol grubunun 4.günden, A grubunun 8.günden, B grubunun 10.günden ve C grubunun ise 14. günden itibaren duyuşsal olarak tüketilebilirlik özelliklerini kaybettikleri görüldü.

Tablo 3. 4±1 oC'de muhafaza edilen köfte örneklerinin duyuşsal analiz bulguları.

Özellikler	Örnek Tipi	Muhafaza Süresi (Gün)							
		2.	4.	6.	8.	10.	12.	14.	16.
Renk	K	4.75 ^a	4.00 ^a	AY					
	A	4.79 ^a	4.46 ^a	4.24 ^a	4.00 ^a	AY			
	B	4.84 ^a	4.79 ^a	4.58 ^a	4.40 ^a	4.15 ^a	AY		
	C	4.96 ^a	4.88 ^a	4.75 ^a	4.69 ^a	4.54 ^a	4.49 ^a	4.32 ^a	AY
Görünüş	K	4.75 ^a	4.63 ^a	AY					
	A	4.80 ^a	4.78 ^a	4.51 ^a	4.46 ^a	AY			
	B	4.88 ^a	4.82 ^a	4.68 ^a	4.52 ^a	4.37 ^a	AY		
	C	4.94 ^a	4.89 ^a	4.85 ^a	4.61 ^a	4.40 ^a	4.28 ^a	4.09 ^a	AY
Koku	K	4.75 ^a	4.70 ^a	AY					
	A	4.85 ^a	4.85 ^a	4.76 ^a	4.52 ^a	AY			
	B	5.00 ^a	4.76 ^a	4.71 ^a	4.58 ^a	4.00 ^a	AY		
	C	5.00 ^a	4.85 ^a	4.70 ^a	4.00 ^a	3.90 ^a	3.40 ^a	2.70 ^a	AY
Gevreklik	K	4.75 ^a	4.50 ^a	AY					
	A	4.80 ^a	4.75 ^a	4.10 ^a	3.60 ^a	AY			
	B	4.85 ^a	4.60 ^a	4.10 ^a	3.90 ^a	3.45 ^a	AY		
	C	5.00 ^a	4.75 ^a	4.30 ^a	4.00 ^a	3.80 ^a	3.30 ^a	2.55 ^a	AY
Lezzet	K	4.70 ^a	4.50 ^a	AY					
	A	4.75 ^a	4.20 ^a	3.50 ^a	3.40 ^a	AY			
	B	4.88 ^{bc}	4.40 ^b	3.95 ^b	3.80 ^b	3.35 ^a	AY		
	C	5.00 ^c	4.80 ^b	4.10 ^a	3.88 ^b	3.55 ^b	3.30 ^a	2.45 ^a	AY
Genel Beğeni Düzeyi	K	4.25 ^a	4.00 ^a	AY					
	A	4.50 ^a	4.35 ^a	4.10 ^a	3.98 ^a	AY			
	B	4.55 ^{bc}	4.45 ^{bc}	4.35 ^b	4.00 ^b	3.80 ^a	AY		
	C	5.00 ^c	4.88 ^b	4.75 ^c	4.60 ^c	4.20 ^b	3.85 ^a	3.55 ^a	AY

a,b,c, : Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

K : Kontrol

B : Karanfil (2.65 mg/kg)

AY : Analiz Yapılmadı

A : Kekik (880 mg/kg)

C : Biberiye (8.5 g/kg)

SONUÇ ve ÖNERİLER

Gıda maddelerinin mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak ve raf ömrünü artırmak için çeşitli aromatik bitkiler ve bunlardan elde edilen esansiyel yağlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Esansiyel yağlar, doğal kaynaklı olmaları, kendilerine özgü lezzet ve aromaları ile geniş bioaktivite profiline sahip olmaları nedeniyle bu amaçla balık köftelerinde de kullanılabilecek önemli alternatiflerdendir (8, 18). Bu çalışmada taze palamut balığından (Sarda sarda Bloch, 1793) hazırlanan köftelerin üretiminde esansiyel yağların kullanılmasıyla ürünün bazı duyuşsal özelliklerinin (renk, görünüş, koku ve gevreklik) etkilenmediği ancak ürünün lezzeti ve genel beğenisi üzerine etkili olduğu görüldü. Sonuç olarak bu çalışma ile özellikle biberiye'nin 8.5 g/kg oranında palamut balığından yapılan balık köftelerine ilavesinin mikrobiyal gelişmenin yavaşlamasına, raf ömrünün uzamasına ve köfte örneklerinin $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 14 gün boyunca yenilebilir niteliğini korumasına önemli etkisinin olduğu belirlendi.

KAYNAKÇA

1. Akkuş Ö., Varlık C., Erkan N. ve Mol S. (2004). Çiğ ve haşlanmış balık etinden yapılmış köftelerin bazı kalite parametrelerinin incelenmesi. *Türk J Vet Anim Sci*, 28, 79-85.
2. Anonim (2002). Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Su Ürünleri Yönetmeliği. 14.11.2002 tarih ve 24936 Sayılı Resmi Gazete.
3. Anonim (2008). <http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/IOLTP/2280/unite18.pdf>.
4. Anonim (2009). <http://www.bitkisel-tedavi.com/kekik.htm>. 2009.
5. Anonim (2011). <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/FoodAdditives/FoodAdditiveListings>.
6. Association Official Analytical Chemists (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15th ed. Association Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC.
7. British Standards Institution (1968). *Methods of Microbiological Examination of for Dairy Purposes*. B.S.4285, British Standards Institution, London, 1968.
8. Crowell PL., Kennan WS. and Haag JD. (1992). Chemoprevention of mammary carcinogenesis by hydroxylated derivatives of d-limonene. *Carcinogenesis*, 13, 7, 1261-1264.
9. Çapkin K. (2008). Kadife Balığı (Tinca tinca L., 1758) Köftesinin Buzdolabı Koşullarında Muhafazası Sırasında Meydana Gelen Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
10. Çetin B. ve Bostan K. (2002). Hazır köftelerin mikrobiyolojik kalitesi ve raf ömrü üzerine sodyum laktatın etkisi. *Türk J Vet Anim Sci*, 26, 843-848.
11. Die (2003). *Fishery Statistics*. (in Turkish). Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü.

12. Emir Çoban Ö. (2010). Bazı Esansiyel Yağların Tütsülenmiş ve Vakum Paketlenmiş Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarının Raf Ömrüne Etkisi. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Elazığ.
13. Gökoğlu, N. (1994). Balık Köftesinin Soğukta Depolanması. Gıda, 19, 3, 217-228.
14. Gökten D.(1990). Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi, Cilt 1: Et Mikrobiyolojisi. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
15. Harrigan W.F (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology, 3rd ed. Academic Press. London.
16. Huss HH (1995). Quality and Quality Changes in Fresh Fish. Food and Agriculture Organization Fisheries Technical Paper- 348, Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome.
17. Jay JM. (1996). Modern Food Microbiology. 5th ed., Chapman&Hall, New York.
18. Kalembe D. ve Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry.10, 813-829.
19. Kaya Y., Turan H., Erkoyuncu İ. ve Sönmez G. (2006). Sıcak Dumanlanmış Palamut (*Sarda sarda* Bloch, 1793) Balığının Buzdolabı Koşullarında Muhafazası. E.Ü.Su Ürünleri Dergisi.23, 1/3, 457-460.
20. Kaya Y. ve İ. Erkoyuncu. (1999). The effect of different smoking methods on the quality at some fish species. O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 14, 1, 93-105.
21. Kolsarıcı N. ve Ö Özkaya. (1998). Effect of smoking methods on shelf-life of rainbow trout (*Salma Gairdneri*). (In Turkish). Tr: J. of Veterinary and Animal Sciences, 22: 273-284.
22. Kurtcan Ü. ve Gönül M. (1987). Gıdaların duyuşal değerlendirilmesinde puanlama metodu. Ege Üniv Müh Fak Derg Seri B Gıda Müh, 5,137-146.
23. Lannelongue M. (1980). Storage characteristics of fresh packed in modified atmosphere containing CO₂. Master Thesis, T and M University Collage Station, TX, USA.
24. Lee K.G. and Shibamoto T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry), Food Chemistry, 74, 443-448.
25. Olley J., Farmer J. and Stephen E. (1969). The rate of phospholipid hydrolysis in frozen fish. J. Food Tech., 4, 1, 27-37.
26. Oxoid. (1982). The Oxoid Manual. 50th Ed., Published by Oxoid Limited. Hampshire.
27. Öksüztepe G., Çoban Emir Ö., Güran H.Ş. (2010). Sodyum Laktat İlavesinin Taze Gökkuşuğu Alabalığından (*Oncorhynchus mykiss* W.) Yapılan Köftelere Etkisi. Kafkas Univ. Vet Fak Derg, 16, 65-72.

28. Özoğlu Y., Özoğlu F., Özkütük S. ve Kuley E. (2006). Hydrolysis and oxidation of European eel oil during frozen storage for 48 weeks. *Eur. Food Res. Technology*.
29. Papadopoulos LS., Miller RK., Ringer LJ. and Cross HR. (1991). Sodium lactate effect on sensory characteristics, cooked meat color and chemical composition. *Food Sci*, 56 (3): 621-635.
30. Pearson A.M., Gray J.J., Wolzak A.M. and Horenstein N.A. (1983). Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technology*. 37, 121-129.
31. Quiñal V., Donoso M.L., Ortiz J., Herrera M.V., Araya H. and Aubourg S.P. (2009). Chemical changes during the chilled storage of Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*): effect of a plant-extract icing system. *Food Science and Technology*. 42, 1450-1454.
32. Ruiz-Capillas C. and Moral A. (2001). Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice. *Food Res Int*, 34 (5): 441-447.
33. Serdaroğlu M. ve Felekoğlu E. (2005). Effect of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. *Journal of Food Quality*. 28, 109-120.
34. Singhal, R.S., Kulkarni P.R. and Rege D.V. (2001). University of Mumbai Hand book of Herbs and Spices, Volume 1, (K. V. Peter (ed.)), Woodhead publishing Limited. England.
35. Sinnhuber RO. and Yu TC. (1958). 2-Thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity in fishery products. II. The quantitative determination of malonaldehyde. *Food Technol*, 1, 9-12.
36. Statistical Analyses System. (1999). SAS, Inst. Inc. Cary. 8. Version, North Caroline, US.
37. Tarladgis BG., Watts BM., Younnathan MT. and Dugan LR. (1960). A distillation method for the quantative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chemist's Soc*, 37, 44-48.

Bildiri No: 114

Kategori: Genel

TOZ BEBEK MAMALARININ CRONOBACTER SAKAZAKII (ENTEROBACTER SAKAZAKII) VARLIĞI YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

Sunum Tipi: Oral

Ahmet GÜNER, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Yusuf DOĞRUEK, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Muhammet Ali CEBİRBAY, Çocuk Gelişimi ve Ev Yönetimi Bölümü Beslenme Eğitimi Bilim Dalı, Selçuk Üniversitesi Mesleki Eğitim Fakültesi

Suzan YALÇIN, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Sema GÜLŞEN, Hemşirelik Bölümü, Sağlık Bilimleri Fakültesi

Nihat TELLİ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Özet: Cronobacter sakazakii'nin (Enterobacter sakazakii) varlığı toz bebek mamalarından araştırıldı. Üç farklı firmaya (K, L ve M firmaları) alt başlangıç dönemi toz bebek mamalarından toplam 132 numune, üç farklı ilde değişik marketlerden toplandı. Toz bebek mamalarının hiçbirisinde C. sakazakii'nin varlığı tespit edilmedi. İncelenen toz bebek mamalarının 55 tanesinin (%41.6) Enterobacteriaceae soyları ve diğer bakteriler ile kontamine olduğu belirlendi. K firmasının 22 numunesi (%50), M firmasının 18 numunesi (%40.9) ve L firmasının 15 numunesi (%34) kontamine bulundu. K firmasına ait toz bebek mamalarının 3 tanesi Escherichia coli, 2 tanesi Citrobacter freundii, 2 tanesi Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae, 1 tanesi Salmonella spp. ile kontamine olduğu saptandı. Araştırma sonuçlarına göre, toz bebek mamalarının üretiminde zayıf hijyen koşulları söz konusu olduğunda Enterobacteriaceae spp. ve diğer bakterilerin kontaminasyonu kaçınılmazdır. Toz bebek mamalarının üretiminde Enterobacteriaceae spp. ve diğer bakterilerin kontaminasyonunu önlemek için bazı tedbirlerin alınması ve toz bebek mamalarının mikrobiyolojik kalitesi ile üretim çevresindeki hijyenin düzenli aralıklarla denetim ve kontrol altına alınması bebek sağlığı açısından hayati önem taşımaktadır.

Anahtar kelimeler: Cronobacter sakazakii (Enterobacter sakazakii), Toz bebek maması, Incidence

The results of this research indicate that if poor hygienic practices are used in manufacturing of PIF, contamination by members of Enterobacteriaceae and other bacteria is inevitable case. Some precautions that should be taken during the production and preparing of PIF to control of contamination by members of Enterobacteriaceae and other bacteria and control of microbiological quality of PIF and hygiene in its production environment at regular intervals by authorized members are vital for infant's health.

Key Words : Cronobacter sakazakii (Enterobacter sakazakii), Powdered infant formula, Prevalence

Bebek beslenmesinde toz bebek mamaları yalnız başına ya da anne sütüne ilave olarak oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Nazarowec-White ve Farber 1997a). Toz bebek mamalarını kontamine eden oldukça fazla sayıda bakteri türü (örn., *Cronobacter sakazakii*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* türleri) bulunmasına rağmen *C. sakazakii* en sık rastlanılan tür olmuştur (Simmons ve ark. 1989). FDA, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki sağlık kuruluşlarını, toz bebek mamaları ile beslenen yeni doğan bebeklerde *C. sakazakii*'den kaynaklanan enfeksiyonun varlığı hakkında uyarmıştır (FDA 2002a). Toz bebek mamaları üzerinde yoğunlaşan uluslar arası hassasiyet üzerine, 2004 yılında FAO/WHO, neonatal enfeksiyonlar ve toz bebek mamaları ile ilişkili mikroorganizmalar konusunda bir risk yaklaşımı görevini üstlenmişler ve *Cronobacter* spp ve *Salmonella* spp.'yi hijyen kalitesi olarak kategorize etmişlerdir (Hurrell ve ark. 2009).

C. sakazakii'nin birçok yaş grubunda enfeksiyonlara (örn., pnömoni, konjunktivit, apendisit) sebep olduğu bildirilse de özellikle yeni doğan bebeklerde ve çocuklarda menenjit, beyin apseleri ve bakteriyemi etkeni olarak tespit edilmiştir (Farmer ve ark. 1985, Gurtler ve ark. 2005). *C. sakazakii*'nin Enterobacteriaceae içerisinde ısıya en dayanıklı tür olması (Nazarowec-White ve Farber 1997c), ozmotik basınç ve kuru ortamlarda meydana gelen strese karşı Enterobacteriaceae'nin diğer üyelerinden daha dirençli olması (Osallı ve Forsythe 2009), abiyotik materyallerde (örn., silikon, lateks, polikarbonat, paslanmaz çelik, cam ve polivinil klorid) yüksek biofilm oluşturma özelliği ve birçok antibiyotige karşı gelişmiş olan direnç (Gurtler ve ark. 2005) bu patojenin önemini arttırmaktadır.

Son on yılda dünya genelinde, özellikle yeni doğan yoğun bakım ünitelerinde, ortaya çıkan ve başlıca menenjit olmak üzere değişik enfeksiyonları belirtileriyle görülen *C. sakazakii*'nin sebep olduğu enfeksiyonlar yoğunlaşmıştır. Neonatal menenjitte yakalanan bebekler (Biering ve ark. 1989) ve nekrotik enterokolitis gelişen bebeklerin (van Acker ve ark. 2001) beslediği toz bebek mamalarından *C. sakazakii*'nin başlıca kontaminant flora olarak tespit edilmesi, bebek mamalarının en önemli bulaşma kaynağı olabileceğini göstermiştir. Bunun yanı sıra neonatal enfeksiyonların meydana geldiği hastanelerde toz bebek mamalarının hazırlandığı ekipman ve kaplarda *C. sakazakii*'nin varlığı bildirilmiştir (Forsythe 2005, Beauchat ve ark. 2009).

C. sakazakii enfeksiyonunun özellikle yeni doğan çocuklarda görülmesi ve toz bebek mamaları üzerine yapılan spekülasyonlardan dolayı, toz bebek mamalarının üretildiği işletmelerde yapılan bazı çalışmalarda; bebek mamalarının üretildiği 9 fabrika ve mamaların tüketildiği 16 evden örneklerde farklı düzeylerde bu bakterinin bulunduğu (Kandhai ve ark. 2004a), üç süt tozu üretim fabrikasının zemin, kurumuş kazıntılar, vakumlu temizlik torbaları ve dökülmüş kuru örneklerin 152'sinin 18 tanesinde *C. sakazakii*'nin varlığı (Kandhai ve ark. 2004b), toz bebek maması üreten bir işletmede üretim hattı boyunca, vakumlu temizlik ekipmanı, filtrasyon makinesi, yüzey sıvıları ve temas yüzeylerinden *Cronobacter* spp. en yüksek oranda tespit edildiği (Reich ve ark. 2010) bildirmiştir. Muyltjens ve ark. (1988), 35 ülkeden elde ettikleri 141 bebek mamasının %52.5'inde Enterobacteriaceae üyelerinin izole edildiğini, en sık olarak izole ettikleri *E. agglomerans*, *E. cloacae*, *C. sakazakii* ve *Klebsiella pneumoniae*'yi sırasıyla; 35, 30, 20 ve 17 örnekte tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Nazarowec-White ve Farber (1997b), Kanada'da marketlerden topladığı 120 bebek mamasının 8'inde (%6.7) *C. sakazakii*'nin varlığını belirlemişlerdir. Hoque ve ark. (2010), Bangladeş'te marketlerden topladığı 32 toz bebek mamasının yalnızca bir tanesinde *Cronobacter* spp. tespit etmişlerdir. Terragno ve ark. (2009), Arjantin'de üç farklı marka ithal toz bebek mamalarında *C. sakazakii*'nin varlığını belirlemişlerdir. Block ve ark. (2002) *C. sakazakii*'nin toz bebek mamalarında tespit edilemediğini, fakat hazırlanmış bebek mamalarında ve mamaların hazırlanmasında kullanılan blenderlerde izole edildiğini bildirmişlerdir.

Son on yılda, dünya genelinde birçok araştırmacı tarafından, özellikle yeni doğan yoğun bakım ünitelerinde, başlıca menenjit olmak üzere değişik enfeksiyon hastalıkları ilişkili bulunan toz bebek mamalarında izolasyon ve identifikasyonu yapılan *C. sakazakii*'nin Türkiye'de satılan toz bebek mamalarında varlığı araştırıldı.

Materyal ve Metot

Materyal

Materyal olarak üç farklı firmaya (K, L ve M firmaları) ait başlangıç dönemi toz bebek mamaları üç farklı ilde değişik marketlerden toplandı. Her bir firmadan 44, toplamda 132 toz bebek maması *C. sakazakii*'nin varlığı bakımından incelendi.

Metot

Ön Zenginleştirme ve Zenginleştirme

Numune almadan önce mama kutularının kapak kenarları sterilize edildi. En muhtemel sayıyı belirlemek amacıyla üçlü tüp yöntemi uygulandı. Bunun için 100g, 10g, ve 1g çocuk maması (tahmin testi için bir örnekten alınacak toplam numune miktarı 333g) 2 litre, 250 ml, ve 125 ml'lik erlen mayer içersinde steril suyla 1/10 oranında sulandırıldıktan (FDA 2003) sonra 36° C'de bir gece inkübe edildi (FDA 2002b). İnkübasyon sonrası her bir sulandırmadan 10ml süspansiyon, 90 ml Enterobacteriaceae zenginleştirme brothu (EE broth) içeren steril 250 ml'lik şişelere konuldu ve 36° C'de bir gece inkübe edildi (FDA 2002b).

İzolasyon

İnkübasyon sonrası her bir şişe yavaşça karıştırıldıktan sonra steril EE broth ile 10-4'ten 10-6'ya kadar dilüsyonları yapıldıktan sonra Violet red bile glucose agar (VRBG) petrilerinin yüzeylerine 0.1 ml steril Drigalski çubuğu ile yayıldı (FDA 2002b). Petri plakları 36° C'de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plaklar *C. sakazakii*'nin tipik morfolojisi (VRBG agarda tipik koloniler; presipite olmuş safra asitlerinin oluşturduğu mor bir hale ile çevrili mor koloniler) bakımından gözlemlendi. Her bir numuneyi içeren plaklardan şüpheli *C. sakazakii* kolonisi trypticase soy agar plaklarına geçildi ve 25° C'de 48-72 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra gelişen sarı renkli tipik koloniler değerlendirildi.

İdentifikasyon

TSA'da üremiş sarı renkli koloniler toplanarak Tablo 1'de gösterilen biyokimyasal testler uygulandı (FDA 2002b). Ayrıca API 20E testi uygulanarak, identifikasyon testlerinin neticesi ile kıyaslama yapıldı.

Tablo 1. Cronobacter sakazakii'nin Biyokimyasal Test Sonuçları

		<i>C. sakazakii</i>
Lizin dekarboksilaz		-
Arginin dihidroliz		+
Ornitin dekarboksilaz		+
KCN'de üreme		+
Fermentasyon	Sakaroz	+
	Dulcitol	-
	Adonitol	-
	Rafinoz	+
	D- sorbitol	-
	x-metil D-glilköz	+
D- arabitol		-
Sarı renkli pigment		+

Bulgular

Araştırma, dünya genelinde birçok araştırmacı tarafından toz bebek mamalarında varlığı ortaya konulmuş *C. sakazakii*'nin Türkiye'de tüketime sunulan toz bebek mamalarındaki prevalansını belirlemek amacıyla yapıldı.

Analize alınan her bir firmaya ait 44, toplam 132 toz bebek mamasının mikrobiyolojik analiz bulguları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Toz Bebek Mamalarından İdentifiye Edilen Enterobacteriaceae spp. ve Diğer Bakteriler

Species	K Brand		L Brand		M Brand	
	No. of Isolates	No. of samples	No. of Isolates	No. of samples	No. of Isolates	No. of samples
<i>Cronobacter sakazakii</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	6	5	5	1	1
<i>Erwinia</i> spp.	12	8	4	4	4	4
<i>Escherichia coli</i>	3	3	-	-	1	1
<i>Escherichia vulneris</i>	1	1	-	-	-	-
<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp. <i>Arizonae</i>	1	1	-	-	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	2	2	-	-	-	-
<i>Citrobacter koseri</i>	-	-	1	1	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>Pneumonia</i>	2	2	-	-	-	-
<i>Raoultella planticola</i>	5	3	2	2	-	-
<i>Hafnia alvei</i>	-	-	-	-	1	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1	-	-	-	-
<i>Kluyvera</i> spp.	1	1	-	-	-	-
<i>Serratia ficaria</i>	1	1	3	3	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	-	-	2	2
<i>Yersinia ruckeri</i>	-	-	1	1	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1	-	-	-	-
<i>Pseudomonas luteola</i>	2	2	5	3	5	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	1	1	1	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1	1	1	1	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1	1	1	2	2
<i>Aeromonas salmonicida</i>	2	2	-	-	-	-
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	-	-	-	-	1	1
<i>Photobacterium damsela</i>	1	1	-	-	-	-
<i>Ochrobacterium anthropi</i>	-	-	1	1	-	-
Unidentified	1	1	1	1	4	2

Araştırmada analiz edilen toplam 132 toz bebek mamasının hiçbirisinde *C. sakazakii*'nin varlığı tespit edilmedi.

İncelenen toz bebek mamalarının 55 tanesinin (%41.6) Enterobacteriaceae soyları ve diğer bakteriler ile kontamine olduğu belirlendi. K firmasının 22 numunesi (%50), M firmasının 18 numunesi (%40.9) ve L firmasının 15 numunesi (%34) kontamine bulundu. K firmasına ait toz bebek mamalarının 3 tanesi *Escherichia coli*, 2 tanesi *Citrobacter freundii*, 2 tanesi *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumonia*, 1 tanesi *Salmonella* spp. ile kontamine olduğu saptandı. K firmasının 6, L firmasının 5 ve M firmasının 1 numunesinden *E. cloacae* izole edildi. K ve L firmasının 10 numunesi, M firmasının 15 numunesi 1 tür ile kontamine, K firmasının 12, M firmasının 8 ve L firmasının 5 numunesinin 2 ve 3 tür ile kontamine olduğu tespit edildi. En fazla izole edilen türler, *Erwinia* spp. (16/132), *E. cloacae* (13/132) ve *Pseudomonas luteola* (10/132) olarak bulundu.

Tartışma ve Sonuç

Dünyanın birçok bölgesinde farklı araştırmacılar tarafından toz bebek mamalarını kontamine eden oldukça fazla sayıda bakteri türü izole edilmesine rağmen, *C. sakazakii* başlıca kontaminant flora olarak tespit edilmiştir (Simmons ve ark. 1989). Araştırmada incelenen toz bebek mamalarının hiçbirisinde *C. sakazakii* varlığına rastlanmadı. Elde edilen bu sonuç, Block ve ark.'nın (2002) bulgularıyla benzerdir. Araştırmacılar, inceledikleri toz bebek mamalarında *C. sakazakii*'nin tespit edilmediğini, ancak hazırlanmış toz bebek mamalarında ve bunların hazırlandığı karıştırıcılarda *C. sakazakii*'nin izole edildiğini bildirmişlerdir. Buna karşın, Biering ve ark. (1989), *C. sakazakii*'nin yeni doğan koşullarında bulunan çevresel kaynaklarda ve mutfak bölümünde tespit edilmediğini, fakat hastanede kullanılan toz bebek mamalarının önemli bir bölümünden izole edildiğini bildirmişlerdir. Muyltjens ve ark. (1988), 35 ülkeden topladıkları 141 toz bebek mamasında *C. sakazakii*'yi 13 ülkeden toplanan 20 numunede tespit etmelerine karşın, Türkiye'den elde ettikleri toz bebek mamasında yalnızca *E. agglomerans*'ın izole edildiğini bildirmişlerdir. Tokatlı (2009), 62 bebek mamasının 3 tanesinde *C. sakazakii*'nin izole edildiğini bildirmiştir. Ergün ve Ergün (1999), İstanbul piyasasında tüketime sunulan 50 yerli bebek mamasının %2'sinde *E. coli* tespit etmelerine karşın ithal bebek mamalarında bu patojene rastlamamışlardır.

Bununla birlikte *C. sakazakii*'nin toz bebek mamalarında çok sıklıkla tespit edildiğini ve toz bebek mamalarının neonatal *C. sakazakii* enfeksiyonlarının başlıca bulaşma kaynağı olduğunu bildirilen birçok araştırma bulunmaktadır. Simmons ve ark. (1989), 4 bebeğin etkilendiği bir salgında, bebek mamalarının ve hasta bebeklerden izole edilen *C. sakazakii*'nin benzer plazmid ve enzim profillerine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Iversen ve Forsythe (2004), 82 toz bebek mamasının iki tanesinde *C. sakazakii* kontaminasyonu saptamışlardır. Kandhai ve ark. (2010), 1 yaş altı çocuklarda kullanılan 395 toz bebek mamasının sekiz tanesinde *Cronobacter* spp. varlığını tespit etmişlerdir. Chap ve ark. (2009), yedi ülkede sekiz laboratuvar tarafından yapılan incelemede, 91 devam mamasının üçünde ve 199 bebek maması ve içeceğin 24'ünde *C. sakazakii*'yi izole etmişlerdir. Hoque ve ark. (2010), Bangladeş'te marketlerden topladığı 32 toz bebek mamasının yalnızca bir tanesinde *Cronobacter* spp. tespit etmişlerdir. Terragno ve ark. (2009), Arjantin'de üç farklı marka ithal toz bebek mamalarında *C. sakazakii*'nin varlığını belirlemişlerdir. Nazarowec-White ve Farber (1997b), Kanada'da marketlerden topladığı 120 bebek mamasının 8'inde (%6.7) *C. sakazakii*'nin varlığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar toz bebek mamalarında çok düşük düzeylerde bulunan fakat düşük sıcaklık derecelerinde de gelişebilen bu bakterinin bebek mamasının hazırlanması sırasında artabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu çalışma ile diğer çalışmalar arasında *C. sakazakii*'nin varlığı bakımından ortaya çıkan farklılık, bebek mamalarının üretim tekniği, üretim çevresinin hijyeni, bebek mamalarının bileşimsel kompozisyonu ve muhafaza şartları şeklinde değişik sebeplerden kaynaklanmış olabilir. Nitekim, Beuchat ve ark. (2009), toz bebek mamalarının kompozisyonundaki farklılıklar, özellikle su aktivitesi ve depolama sıcaklığının *C. sakazakii*'nin toz bebek mamaları ve diğer gıdalardaki canlılığını etkilediğini bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra toz bebek mamalarının üretiminde kullanılan kuru ve yaş yöntemlerin farklı proses sistemlerine sahip olmaları, toz bebek mamalarının mikrobiyolojik özelliklerinde farklılık arz etmesine neden olabilir. Çünkü kuru yöntemde spray kurutma yönteminden sonra bileşenlerin karıştırılması gerçekleştirilirken, yaş yöntemde bileşenlerin karıştırılmasından sonra farklı sıcaklık derecelerinde ve sürelerde uygulanan ısı işlemlerinin yanı sıra spray kurutma işlemleri gerçekleştirilmektedir (Nazarowec-White ve Farber 1997a). Muyltjens ve Kollee (1990), toz bebek mamalarının hazırlanma aşamalarında pastörize edildiğini fakat paketleme öncesi değişik aşamalarda başta *C. sakazakii* olmak üzere düşük sayıda patojenik mikroorganizma tarafından kontamine edildiğini ve hazırlanmış bebek mamasının mikroorganizmaların gelişmesi için mükemmel bir ortam olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Analiz edilen numunelerde *C. sakazakii* izole edilmemesine rağmen K firmasının 3 numunesinde *Escherichia coli*, 2 numunesinde *Citrobacter freundii*, 2 numunesinde *Klebsiella pneumoniae* ssp. *Pneumonia*, 1 numunesinde *Salmonella* spp. ve üç firmanın 12 numunesinden (K firması 6, L firması 5 ve M firması 1 numune) *Enterobacter cloacae* tespit edilmesi kayda değer bulunmuştur. Benzer şekilde, Baumgartner ve ark. (2009), *Enterobacteriaceae* sayısı ile *Cronobacter* varlığı arasında bir korelasyon olmadığını ileri sürmüştür. FAO ve WHO, 2004 yılında toz bebek mamalarında mikrobiyolojik tehlikeleri üç grup olarak düzenlenmiştir. Buna göre *Salmonella enterica* ve *C. sakazakii* Grup A'da, diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri Grup B'de ve o ana kadar toz bebek mamalarından izole edilemeyen *Bacillus cereus*, *Clostridium difficile* ve *Clostridium botulinum* Grup C'de sınıflandırılmıştır (Farber ve ark. 2008). *S. enterica* ve *C. sakazakii* hariç *Enterobacteriaceae* üyelerinin Grup B'de sınıflandırılması; bu mikroorganizmalar ile toz bebek mamalarının tüketimiyle ilişkilendirilecek hastalık kayıtlarının yeterli olmamasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, Avrupa Birliği'nde 6 ayağa kadar bebeklerin tüketimine sunulan toz bebek mamaları için uygulanan en son mikrobiyolojik kriterlerde, analize alınan 10 toz bebek mamasında *Enterobacteriaceae* spp.'nin bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Farber ve ark. 2008). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde *C. sakazakii*, *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes*'in analize alınan 10 numunedeki bulunmaması gerektiği bildirilmiştir (Resmî Gazete 2010).

K firmasının 22 numunesi (50%), L firmasının 15 numunesi (34%) ve M firmasının 18 numunesi (40.9%) *Enterobacteriaceae* ssp. ve diğer bakterilerle kontamine olduğu tespit edildi. K ve L firmasının 10 numunesi, M firmasının 15 numunesi 1 tür ile kontamine, K firmasının 12, L firmasının 5 numunesi, M firmasının 3 numunesi 2 veya 3 tür ile kontamine olduğu bulundu. Benzer şekilde Muytjens ve ark. (1988), 35 ülkeden elde ettikleri 141 bebek mamasının %52.5'inde *Enterobacteriaceae* üyelerinin izole edildiğini, en sık rastladıkları *E. agglomerans*, *E. cloacae*, *C. sakazakii* ve *Klebsiella pneumoniae*'yi sırasıyla; 35, 30, 20 ve 17 örnekte tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Toz bebek mamalarının *Enterobacteriaceae* ve diğer bakterilerle kontaminasyonu en son ısı uygulamasının takiben üretim ortamından kaynaklanan bulaşmalardır (Muytjens ve ark. 1988, Reich ve ark. 2010).

Araştırmada en çok izole edilen bakteriler *Erwinia* spp (16/132), *E. cloacae* (13/132) ve *Pseudomonas luteola* (10/132) olarak saptandı. Muytjens ve ark (1988), 141 bebek mamasında, en sık rastladıkları *E. agglomerans*, *E. cloacae*, *C. sakazakii* ve *Klebsiella pneumoniae*'yi sırasıyla; 35, 30, 20 ve 17 örnekte tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, incelenen numunelerde *C. sakazakii* tespit edilmemesine rağmen, toz bebek mamalarının %41.6'sının *Enterobacteriaceae* soyları ve diğer bakteriler ile kontamine olduğu belirlendi. Bu bağlamda, incelenen toz bebek mamalarından *C. sakazakii* izole edilmemesine rağmen toz bebek mamalarının yüksek oranda kontamine bulunması, toz bebek mamalarında *C. sakazakii*'den kaynaklanabilecek riskin düşük olduğu sonucunu çıkarmaz. Toz bebek mamalarının üretiminde hijyen koşullarının tam olarak sağlanamaması durumunda, *Enterobacteriaceae* ve diğer bakterilerle kontaminasyon kaçınılmaz bir durum olarak görülmektedir. Dolayısıyla üretim sırasında proses kontrolü ve hazırlama, kullanma ve depolama sırasında aseptik prosedürlerin uygulanması oldukça gereklidir. Toz bebek mamalarının üretim prosesinin her aşamasının ve üretim çevresindeki hijyenin kontrol altına alınmasının yanı sıra, toz bebek mamalarının mikrobiyolojik özelliklerinin düzenli aralıklarla denetim altında tutulması, yeni doğan ve bebek sağlığı bakımından hayati önem arz etmektedir.

Kaynaklar

- Beuchat, L.R., Kim, H., Gurtler, J.B., Lin, L.C., Ryu, J.H., Richards, G.M. 2009. *Cronobacter sakazakii* in foods and factors affecting its survival, growth and inactivation. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 204-213.
- Biering, G., Karlsson, S., Clark, N.C., Jonsdottir, K.E., Ludvigsson, P., Steingrims-son, O. 1989. Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. *J Clin Microbiol*, 27, 9, 2054-2056.
- Block, C., Peleg, O., Minster, N., Bar-Oz, B., Simhon, A., Arad, I., Shapiro, M. 2002. Cluster of neonatal infections in Jerusalem due to unusual biochemical variant of *Enterobacter sakazakii*. *Europ. J Clin. Microbiol. & Dis.*, Published online 10 August.
- Chap, J., Jackson, P., Siqueria, R., Gaspar, N., Quintas, C., Park, J., Osaili, T., Shaker, R., Jaradat, Z., Hartantyo, S.H.P., Sanli, N.A., Estuningsih, S., Forsythe, S.J. 2009. International survey of *Cronobacter sakazakii* and other *Cronobacter* spp. in follow up formulas and infant foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 185-188.
- Farber J.M., Pagotto F., Corder J.L. 2008. Regulatory aspects. *Alınmıştır: Enterobacter sakazakii*, Editör: Jeffrey M. Farber and Stephen J. Forsythe. Sayfa: 235-253, ASM Press, Washington.
- Farmer, J.J., Davis, B.R., Hickman-Brenner, F.W., McWhorter, A., Huntley-Carter, J.P., Asbury, M.A., Riddle, C., Wathen-Grady, H.G., Elias, C., Fanning, J.R., Steiger-walt, A.G., O'Hara, C.M., Morris, G.K., Smith, P.B., Brenner, D.J. 1985. Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol*, 21, 1, 46-76.
- FDA 2002a. FDA warns about possible *Enterobacter sakazakii* infections in hospital-ized newborns fed powdered infant formulas. <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/tpinf.html>. April 12.
- FDA 2002b. Isolation and enumeration of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered infant Formula. <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/mmesakaz.html>. July 2002, Revised August 2002;
- FDA 2003. Most probable number determination from serial dilutions. In *Bacterio-logical Analytical Manual*. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>
- Forsythe, S.J. 2005. *Enterobacter sakazakii* and other bacteria in powdered infant milk formula. *Maternal and Child Nutrition*, 1, 44-50.
- Gurtler, J.B., Kornacki, J.L. and Beuchat, L.R. 2005. *Enterobacter sakazakii*: A coliform of increased concern to infant health. *Int. J. Food Microbiol.*, 104, 1-34.
- Hoque, A., Ahmed, T., Shahidullah, M., Hossain, A., Mannan, A., Noor, K., Nahar, K., Ilias, M., Ahmed, D. 2010. Isolation and molecular identification of *Cronobacter* spp. from powdered Infant Formula (PIF) in Bangladesh. *Int. J. Food Microbiol.*, 142, 375-378.
- Hurrell, E., Kucerova, E., Loughlin, M., Caubilla-Barron, J., Forsythe, S.J. 2009. Biofilm formation on enteral feeding tubes by *Cronobacter sakazakii*, *Salmonella* serovars and other *Enterobacteriaceae*. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 136, 227-231.
- Iversen, C., Forsythe, S. 2004. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacteriaceae* from powdered Infant Formula milk and related products. *Food Microbiol.*, 21, 771-777.
- Kandhal, M.C., Reij, M.W., Gorris, L.G.M., Guillaume-Gentil, O., Van Schothorst, M. 2004a. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *The Lancet*, 363 (9402), 39-40.
- Kandhal, M.C., Reij, M.W., van Puyvelde, K., Guillaume-Gentil, O., Beumer, R.R., van Schothorst, M. 2004b. A new protocol for the detection of *Enterobacter sakazakii* applied to environmental samples. *J. Food Protect.*, 67, 1267-1270.
- Kandhal, M.C., Heuvelink, A.E., Reij, M.W., Beumer, R.R., Dijk, R., van Tilburg, J.J.H.C., van Schothorst, M., Gorris, L.G.M. 2010. A study into occurrence of *Cronobacter* spp. in the Netherlands between 2001 and 2005. *Food Cont.*, 21, 1127-1136.

18. Kandhal, M.C., Heuvelink, A.E., Reij, M.W., Beumer, R.R., Dijk, R., van Tilburg, J.J.H.C., van Schothorst, M., Gorris, L.G.M. 2010. A study into occurrence of *Cronobacter* spp. in the Netherlands between 2001 and 2005. *Food Cont.*, 21, 1127-1136.
19. Muytjens, H.L. 1985. *Enterobacter sakazakii*: Identification and clinical significance. *Antonie van Leeuwenhoek*, 51, 618.
20. Muytjens, H.L., Roelofs-Willems, H., Jaspars, G.H.J. 1988. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*, 26, 4, 743-746.
21. Muytjens, H.L., Kollee, L.A.A. 1990. *Enterobacter sakazakii* meningitis in neonates: Causative role of formula. *The Ped Infect Dis J*, 9, 5, 372-373.
22. Nazarowec-White, M., Farber, J.M. 1997a. *Enterobacter sakazakii*: A review. *Int J Food Microbiol*, 34, 103-113.
23. Nazarowec-White, M., Farber, J.M. 1997b. Incidence, survival, and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *J Food Protect.*, 60, 3, 226-230.
24. Nazarowec-White, M., Farber, J.M. 1997c. Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formula. *Lett Appl Microbiol*, 24, 9-13.
25. Osaili, T., Forsythe, S. 2009. Desiccation resistance and persistence of *Cronobacter* species in infant formula. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 214-220.
26. Reich, F., König, R., von Wiese, W., Klein, G. 2010. Prevalence of *Cronobacter* spp. in powdered infant formula processing environment. *Int. J. Food Microbiol.*, 140, 214-217.
27. Resmi Gazete 2010. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ. Tebliğ No: 2009/68, Sayı: 27456.
28. Simmons, B.P., Gelfand, M.S., Hass, M., Metts, L., Ferguson, J. 1989. *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant Formula. *Infect Cont Hosp Epidemiol*, 10, 9, 398-401.
29. Terragno, R., Salve, A., Pichel, M., Epsztejn, S., Brengl, S., Binsztejn, N. (2009). Characterization and subtyping of *Cronobacter* spp. from imported powdered infant formulae in Argentina. *Int. J. Food Microbiol.*, 136, 193-197.
30. Tokatlı, N. (2009). Farklı Formülasyonlarda Üretilen Bebek Mamaları'nın Bileşimi, Bazı Mikrobiyolojik Özellikleri ve *Enterobacter sakazakii* Varlığının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
31. van Acker, J.V., Smet, F.D., Muyldermans, G., Bougatef, A., Naessens, A., Lauwers, S. 2001. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *J Clin Microbiol*, 39, 1, 293-297.

Bildiri No: 66

Kategori: Genel

EN 14569 STANDARDI KULLANILARAK GIDA IŞINLAMININ TESPİTİ

Sunum Tipi: Oral

Ahmet KOLUMAN, Mikrobiyoloji Bölümü, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı

Özet

Gıda ışınlama uygulamasına bilimsel ve toplumsal ilgi en yüksek noktadır. Bunda kimyasal uygulamaların çevre, sağlık ve güvenlik nedenleriyle sınırlı kullanımlarının etkisi belirgindir. Yeni metotlar sürekli geliştirilse de bilimsel olarak kabul edilebilir olanların sayısı azdır. Yapılan düzenlemelerde hızlı, etkin ve birçok laboratuvarla kolaylıkla uygulanabilecek testlerin önemi belirtilmektedir. Bu metotların özgüllüğü ve sayısal veri sunması değerlerini daha da arttırmaktadır.

Mikrobiyolojik tarama metotları arasında yer alan *Limulus amoebocytelysate*/gram negatif bakteri (LAL/GNB) mikrobiyolojik tarama metodu, paralel olarak yürütülen iki yöntemden oluşur. Metot içerisinde Gram negatif canlı bakterilerin sayımı ve tüm gram negatif bakterilere ait endotoksin miktarının tespiti yapılmaktadır. Bu amaçla *Limulus polyphemus* türü yengeçlerin kanlarından faydalanılmaktadır.

Bu çalışmada sığır kıymasına uygulanan ışınlamanın tespitine yönelik olarak LAL/GNB metodu denenmiştir. Çalışmanın verilerinin de ortaya koyduğu gibi LAL/GNB sığır kıymasına uygulanacak ışınlamanın tanımlanmasında bir tarama metodu olarak başarılı sonuçlar vermektedir.

Anahtar kelimeler: LAL, GNB, EN 14569, Gıda ışınlama

DETECTION OF FOOD IRRADIATION USING EN 14569 STANDART

Abstract

Scientific and social interest in the food irradiation is at its highest level ever. This is mainly due to restricted use of chemical because of environmental, health and safety reasons. Although new methods of detection of food irradiation continue to be developed, very few of them are scientifically acceptable. It would seem likely that regulatory systems will require a combination of rapid and cheap screening assays that may be applied in a number of inspection stations or laboratories and a specific, official and ideally quantitative assay in a laboratory with centralized location.

"Microbial Screening for Irradiated food using LAL/GNB procedures" is included in microbial detection methods and consists of two different analyses. In the mentioned method Gram-negative bacteria counts and endotoxin counts are computed in parallel. For this purpose, blood of horseshoe crabs is used.

In this study, the mentioned method showed a satisfactory results in different food matrices. The results of this study indicate that LAL/GNB is efficient in detection of irradiation.

Key words: LAL, GNB, EN 14569, Food Irradiation

Giriş

Gıda ışınlama, 20. yüzyılın ancak ikinci yarısında etkin olarak uygulanması rağmen bilimsel ve toplumsal ilginin giderek arttığı bir alandır. Artan ilginin nedenleri şu şekilde tanımlanabilir; kimyasal koruyucularla ilgili çevresel, sağlık ve güvenlikle ilgili yasaklar, gıdalarda bulunan mikroorganizmaların da zaman içerisinde geliştirdiği ve artarak görülmeye devam eden çeşitli çevresel direnç faktörleri, uluslar arası anlaşmalarla çiftlikten masaya gıda güvenliği kavramı kapsamında uygulanabilecek işlemlerin tanımlanması yer almaktadır.

Değişik gıdalara uygulanacak gıda ışınlama işlemi için izin verilen dozlar kanuni düzenlemelerle belirlenmiştir (gıda ışınlama yönetmeliği). Gıdaya uygulanan ışınlama işleminin tespiti hem ihracat hem de ithalat ürünleri için büyük önem arz etmektedir (gıda ışınlama kitabı (Levin et al.1970; Young et al.,1972).

İşinlanmış gıdaların tespitine yönelik çalışmalar bütün dünyada belirgin bir biçimde artarak ve yeni metodların eklenmesiyle sonuçlanarak devam etmektedir. İşinlamanın tespitinde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik tespit metodları altında birçok metod çalışılmaktadır. Daha öncede bildirildiği şekilde gıda ışınlamanın tespitinde birçok metod geliştirilmesine rağmen uluslar arası standartlar kapsamında 10 metod ile işinlamanın tespitinin yapılması uygun görülmüştür. İlgili metodlar arasında en yeni metod 2004 yılında yayınlanan "EN 14569 Gıda Maddeleri-LAL/GNB Mikrobiyolojik Tarama Yöntemi Kullanılarak İşinlanmış Gıdaların Saptanması Metodu"dur. Metod tüm taze etlerde başarıyla uygulanmaktadır. Işınlama öncesi ürünün mikrobiyolojik kalitesi hakkında fikir verir. Ayrıca gıda örneğinde bulunan gram negatif bakterilerin endotoksin konsantrasyonunu belirler. Canlı ve ölü toplam gram negatif bakterilerin miktarının tahmininde lipopolisakkaritler bir ölçüdür. Eğer bu fark yüksek ise çalışılan örneğin her hangi bir koruma metodu ile muamele edildiği tahmin edilir, muhtemelen de ışınlama ile uygulama yapılmıştır.

Bu metod herhangi bir dekontaminasyon işlemi gösterebilir. Bu nedenle olası bir ışınlama uygulamasının işinlanmış gıdaların tespiti için önerilen standart referans metod ile doğrulanması gerekir.

EN 14569 standardı içerisinde tanımlanan örnek çalışmada, çalışılmış olan örneklerin % 100'ü, 2,5 kGy de işinlanmış derili tavuğun % 97'si, 5 kGy de işinlanmış örneklerin % 82'si ve 2,5 kGy de işinlanmış derisiz filetonun % 88'ine uygulanan işlem doğru bir şekilde tespit edilmiştir.

Testin prensibi

At nali yengecin (Limulus polyphemus) kanından elde edilen amobositler (amoebocyte) Gram negatif bakterilerin (GNB) dış yüzeyinde bulunan lipopolisakkaritlerle tepkimeye girerek jelleşir. Bu at nali yengeçlerinin kendilerini septisemiden koruma yoludur. Bu jelleşme (1,3)- β -D-glucan varlığında da tetiklenir (Friberg,1987). GNB endotoksinleri amobositlerdeki proenzimi aktive ederler ve coagulogen denen pıhtılaşma proteinini oluşturur.

LAL test kapsamında incelenen örnekteki GNB sayısı elde edilerek, toplam endotoksin miktarının alt olduğu bakteri sayısından canlı bakteri sayısı çıkartılarak hesap yapılır. Aradaki farkın sıfırdan büyük olması ürüne işlem yapıldığını gösterir.

Özetle bu metotta ;

- a) Örnekteki toplam Gram Negatif Bakteri sayısı bulunur (GNB)
- b) Örnekteki endotoksin konsantrasyonu Limulus amoebocyte lysate (LAL) testi ile belirlenir.

GNB oluşturan birimlerin sayısı (koloni oluşturma birimi); log10cfuGNB/gramdır. Endotoksin konsantrasyonu; log10 EU/gram olarak ifade edilir.

GNB ve endotoksin sonuçları arasındaki fark; (log10 EU/gram- log10cfuGNB/gram) şeklinde hesaplanabilir.

Test Tipleri

LAL test için üç basit metodolojiden bahsedilebilir. Bunlar arasında jel oluşumu, turbidimetrik ve kromojenik yer almaktadır (Russel, 1992; Anon.,2001)

- Jel oluşumu ve turbidimetrik metodlar basit +/- sonucu verir
- Kromojenik son nokta (end-point) LAL hem sayısal veri sunar hemde daha az miktarda at nali yengeli kanı harcanır.

Materyal ve Metod

Bu çalışma dört farklı aşamada gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında standartta bildirildiği şekilde derili ve derisiz tavuk göğüs eti örnekleri işinlanmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında siğir kıyması, koyun kıyması ve hindi eti kullanılmıştır. Üçüncü aşamada alabalık, hamsi ve kalamar örnekleri incelenmiştir. Çalışmanın dördüncü ve son aşamasında ise karides örnekleri işinlanarak incelenmiştir. Tüm örnekler 50g porsiyonlar aseptik koşullar altında steril poşetlere aktararak, paketlenmiştir. Paketlenmiş örnekler Cobalt 60 ile gama ışını veren Gamacell kullanılarak 2.5 ve 5.0 kGy dozlarında işinlanmıştır. Tüm işinlama dozları için her örnek grubundan 5'er örnek işinlanmıştır.

İşinlamanın uygulanmasında ISSLEDOVATELJ firması tarafından 06.04.1994 tarihinde 10568 Ci aktivite ile kurulmuş olan Gama-cell'de radyasyon kaynağı olarak Co60 elementi kullanılmıştır. İşinlamayı takiben tüm örnekler +4°C'de muhafaza edilmiştir. Örnekler işinlamayı takip eden ilk 24 saat içerisinde LAL- GNB metodu uygulanarak analiz edilmiştir. İlk grup örnekler işinlamayı takiben LAL- GNB metodu uygulanarak analiz edilmiş ve işinlamanın LAL-GNB üzerine etkisi belirlenmiştir.

Tüm deneylerde kontrol amacıyla üç farklı grup oluşturulmuştur. Pozitif kontrol amacı ile 105 kob/ml seviyesinde Escherichia coli (ATCC 10536, Oxoid, England) içeren Brain Heart Infusion Broth (BHI, CM00227, Oxoid, England) 5 kGy dozunda işinlanmıştır. Negatif kontrol için steril apirojen distile su kullanılmıştır. Aynı zamanda işlemsiz kontrol grubu için 50 gr örnek işinlanmadan +4°C'de saklanmıştır.

Örnek grupları şu şekildedir:

1. Grup analiz: derili ve derisiz tavuk etleri
2. Grup analiz: siğir, koyun ve hindi eti
3. Grup analiz: alabalık, hamsi ve kalamar
4. Grup analiz: karides

Endotoksin İçermeyen Suyun Hazırlanması (EFW)

1000ml Ultra saf su steril cam şişeye alınarak, otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıktıktan sonra steril bir enjektöre çekilerek 20µm milipor filtrelerden geçirilmiş ve steril bir şişenin içerisine aseptik ortamda süzümüştür. Elde edilen süzuntu steril santrifüj tüplerine 90ml olacak biçimde aktarılmış ve 10000 rpm'de 30dakika +4°C'de santrifüj edildikten sonra aseptik koşullarda steril apirojen şişeler içerisine aktarılmış ve +4°C'de 2 ay süreyle saklanmıştır.

GNB sayımı

Tüm örneklerden aseptik koşullarda 10g örnek steril poşetlere alınarak üzerine 90ml EFW eklenerek homojenizatörde 1-2 dakika homojen hale getirilmiştir. Takiben örneklerden mikropipetler ile alınarak önceden hazırlanan 9ml Maximum Recovery Diluent (MRD, CM00773, Oxoid, England) içine 1000µl aktarılmış ve vortex ile homojenize edilmiştir. Bu şekilde 6 seri sulandırma yapılmıştır.

Yapılan sulandırmalardan önceden hazırlanmış Nutrient Agar (NA, CM00003, Oxoid, England) üzerine her dilüsyondan 100 µl yayma plak metodu ile ekilerek steril plastik dragaski çubukları ile yayılmıştır. Bu şekilde 90 dakika oda ısında kurumaya bırakılan örneklerin üzerine GNB agardan 10-12 ml dökülerek, agarın donmasını takiben 21°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. GNB agar içeriği tablo 1, tablo 2, tablo 3 ve tablo 4'de gösterilmiştir.

GNB Agar

Bazal agar	
Milk agar	24 g
Nisin	40 mg (40.000IU)
Bidistile su	997 ml
Otoklav	121°C'de 15 dakika

Tablo 1. Bazal agar

Kristal viole	10 mg
Bidistile su	10 ml
20µm milipor filtreden süzülerek steril şişede +4°C'de 2 ay saklanabilir	

Tablo 2. Kristal viole solüsyonu

Penisilin G	100 mg (20.000 IU)
Bidistile su	10 ml
20µm milipor filtreden süzülerek steril şişede +4°C'de 2 ay saklanabilir	

Tablo 3. Penisilin G solüsyonu

Bazal agar	997ml
Kristal viole solüsyonu	2 ml
Penisilin G solüsyonu	1.2 ml

Tablo 4. GNB agar

Değerlendirmede agarın içinde ve yüzeyinde oluşan tüm koloniler sayılmıştır. Hesaplama da ise standartta bildirilen hesaplama metodu kullanılmıştır. Metoda göre;

$$N = \frac{\Sigma C}{V[n_1 + (0.1 \times n_2)d]}$$

ΣC = En az 15 koloni içermek üzere ilgili son 2 dilüsyonda yapılan sayımların toplamı

V = Ekim sırasında uygulanan inokulum miktarı (0.1ml)

n_1 = İlk dilüsyonda okuma yapılan petri sayısı

n_2 = İkinci dilüsyonda okuma yapılan petri sayısı

d = Okuma yapılan dilüsyonun sulandırma faktörü

Örnek:

Dilüsyon	Paralel ekimde koloni sayıları	
10^{-3}	240	271
10^{-4}	30	32

Tablo 5. GNB agar değerlendirme örneği.

LAL test

LAL test için ticari olarak satışı sunulan kromojenik testten (Chromogenic end point lal assay, Hyacult, Medsantek) faydalanılmıştır. Bu amaçla ELISA platelerde değerlendirme yapılan, kromojenik son nokta LAL testi kullanılmıştır. Tüm analizler standartta bildirildiği şekilde mikropate metoduna göre yapılmıştır.

Bu amaçla mikropatelerin yukarıdan aşağıya ilk 8 gözüne 65 µl EFW konulmuştur. Daha sonra analizi yapılacak örneğin ekim için hazırlanan ilk sulandırmasından 30 µl ilk göze konularak bu gözlerden seri 8 adet sulandırma yapılmış ve üzerlerine kromojenik LAL test ajanından 30 µl daha eklenerek 30 dakika oda ısısında karanlık koşulda inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyonu takiben üzerlerine 5 µl durdurucu ajandan eklenerek ELISA reader da 350nm dalga boyunda okunmuştur. Okunan sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$EU/ml = 10 (\text{dilüsyon}) \times \text{Amobosit hassasiyeti}$ (Firma tarafından belirlenir)

$EU/g = EU/ml \times 10$

Tüm sonuçlar $\log_{10} EU$ olarak verilmektedir.

Işınlamanın bakteriler üzerine etkisinin görüntülenmesi

Bu amaçla LAL-GNB testi için hazırlanan homojenizat kullanılmıştır. Dilüsyonlardan 1000 µl steril eppendorf tüplerine koyularak 1000 rpm/dak santrifüjlenmiştir. Süpernatant atılarak dipte kalan tortu üzerine aynı homojenizattan 1000 µl daha eklenmiş ve santrifüj tekrarlanmıştır. Bu işlem 3 kere daha tekrar edilerek toplam 5 kere yapılmıştır. Dipte kalan tortu fizyolojik tuzlu suda 1 kere yıkanmış takiben distile su ile yıkanarak tuz kalıntıları giderilmiştir. Örnekler özel olarak hazırlanan 8 gözlü iletken içeren disklerle yayılmıştır. İlgili disklerin her bir gözüne 15 mikrolitre olacak biçimde konularak hava akımı altında 30C de kurutulmuştur. Örneklerin de üzerinde bulunduğu bu diskler vakumda Cr ile kaplanmış (Sputter coater, Polaron) ve örneklerle taramalı mikroskop (SEM) analizi için iletken hale getirilmiştir. SEM (SEM, JEOL 700F Japonya) incelemelerinde öncelikle 100x, 500x, 1000x, 5000x büyütme yapılmış önemli ayrıntılar için gerektiğinde 10.000x ve 25.000x düzeyinde büyütme yapılarak örnekler üzerinde mikroskobun yazılımı kullanılarak boyut ölçümleri yapılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi

Standartta bildirildiği üzere LAL sonuçlarından GNB sonuçlarının çıkartılmasından kalanın 0'dan büyük fark göstermesi ışınlama işlemi yapıldığına işaret etmektedir. Eğer aradaki fark sıfır veya sıfırın altındaysa herhangi bir işlem yapılmamıştır denilebilir.

Bulgular

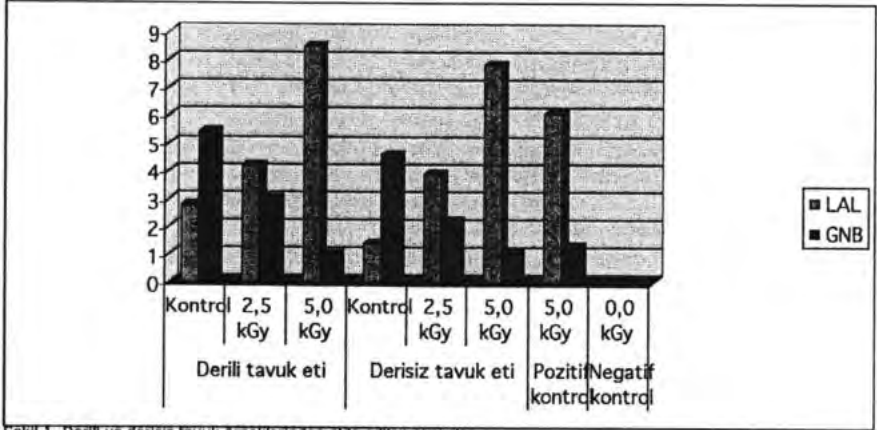
Bu çalışmanın konusunu oluşturan örnekler sırasıyla derili tavuk göğsü, derisiz tavuk göğsü, siğir kıyması, koyun kıyması, hindi eti, hamsi, alabalık, somon balığı, kalamar ve karidedir. Örnekler 2.5 ve 5.0 dozlarında ışınlanmıştır. Işınlama sırasında pozitif ve negatif kontroller ve dozimetrik analizler yapılmıştır.

Çalışma sonrası tüm örnekleri yapılan analizlerin sonuçları tablo x.de gösterilmektedir.

İncelenen örnek	Uygulama	LAL (log ₁₀ EU)	GNB (GNB/g)	Sonuç
1. Uygulama				
Derili tavuk eti	İşlemsiz Kontrol	2,8	5,4	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	4,2	3,0	İşlem görmüş
	5,0 kGy	8,5	1,0	İşlem görmüş
Derisiz tavuk eti	İşlemsiz Kontrol	1,4	4,6	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	3,9	2,2	İşlem görmüş
	5,0 kGy	7,8	1,1	İşlem görmüş
Pozitif kontrol	5,0 kGy	6,1	1,3	İşlem görmüş
Negatif kontrol	0,0 kGy	0,0	0,0	İşlem görmemiş
2. Uygulama				
Hindi eti	İşlemsiz Kontrol	1,6	3,9	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	4,8	1,3	İşlem görmüş
	5,0 kGy	5,2	1,0	İşlem görmüş
Koyun eti	İşlemsiz Kontrol	1,0	4,7	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	5,1	2,9	İşlem görmüş
	5,0 kGy	6,4	2,3	İşlem görmüş
Dana eti	İşlemsiz Kontrol	0,9	7,9	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	4,5	4,3	İşlem görmüş
	5,0 kGy	8,3	1,7	İşlem görmüş
Pozitif kontrol	5,0 kGy	8,3	1,0	İşlem görmüş
Negatif Kontrol	0,0 kGy	0,0	0,0	İşlem görmemiş
3. Uygulama				
Alabalık	İşlemsiz Kontrol	2,4	7,3	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	5,9	3,9	İşlem görmüş
	5,0 kGy	7,1	1,3	İşlem görmüş
Hamsi	İşlemsiz Kontrol	1,9	6,7	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	6,3	3,0	İşlem görmüş
	5,0 kGy	7,8	1,3	İşlem görmüş
Kalamar	İşlemsiz Kontrol	1,6	6,9	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	5,6	2,3	İşlem görmüş
	5,0 kGy	8,7	1,0	İşlem görmüş
Pozitif kontrol	5,0 kGy	8,4	1,0	İşlem görmüş
Negatif Kontrol	0,0 kGy	0,0	0,0	İşlem görmemiş
4. Uygulama				
Karides	İşlemsiz Kontrol	3,6	7,6	İşlem görmemiş
	2,5 kGy	6,4	1,3	İşlem görmüş
	5,0 kGy	9,7	1,0	İşlem görmüş
Pozitif kontrol	5,0 kGy	6,4	2,1	İşlem görmüş
Negatif kontrol	0,0 kGy	0,0	0,0	İşlem görmemiş

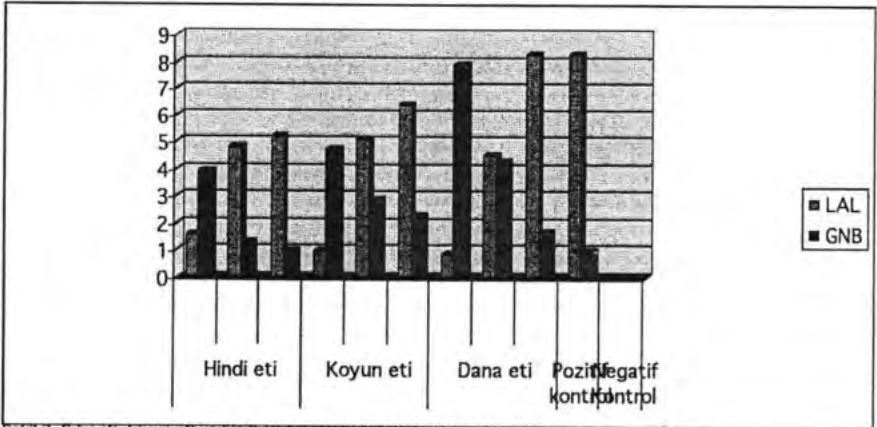
Tablo 6. Çalışmalar sonunda elde edilen veriler.

İlk uygulama sonucu derili ve derisiz tavuk örneklerinden elde edilen sonuçlar şekil 1.de gösterilmektedir.



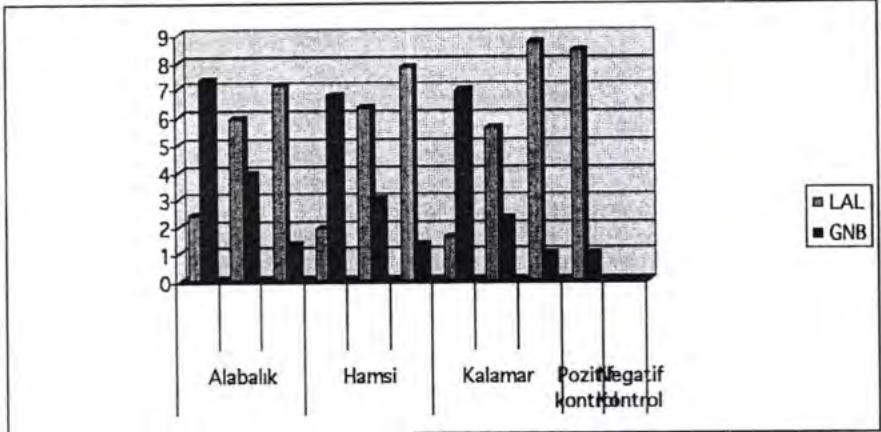
Şekil 1. Derili ve derisiz tavuk örneklerinden elde edilen sonuçlar

İkinci uygulamada sığır eti, koyun eti ve hindi etine değişik dozlarda uygulanan ışınlama işlemiyle LAL ve GNB de meydana gelen değişim şekil 2 de gösterilmektedir.



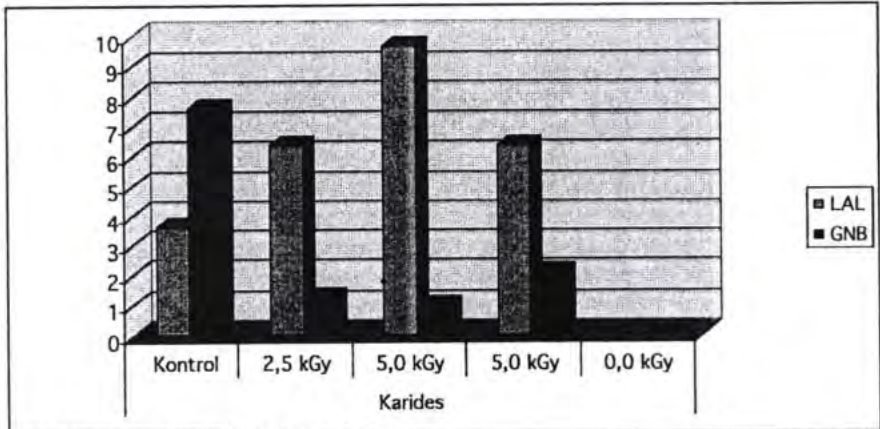
Şekil 2. Sığır eti, koyun eti ve hindi eti örneklerinden elde edilen sonuçlar

Su ürünlerinden oluşan 3. seri uygulamada LAL ve GNB değişimleri şekil 3.de gösterilmektedir.



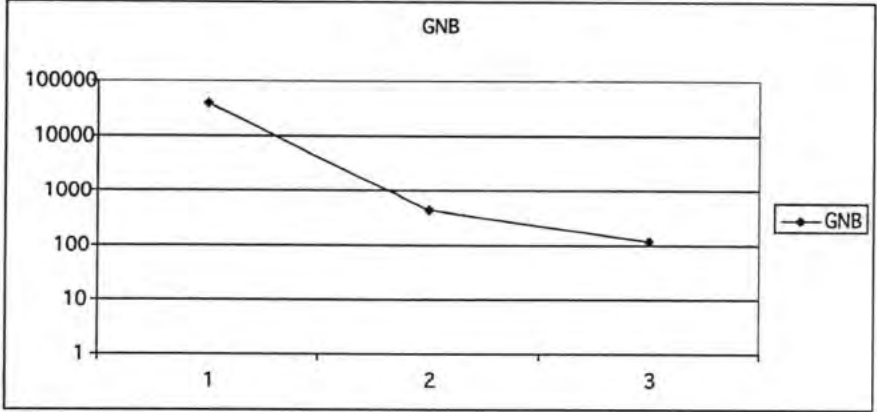
Şekil3. Su ürünlerine ait örneklerden elde edilen sonuçlar

Karides örneği ile yapılan çalışmaya ait LAL ve GNB değişimi şekil 4te gösterilmiştir.



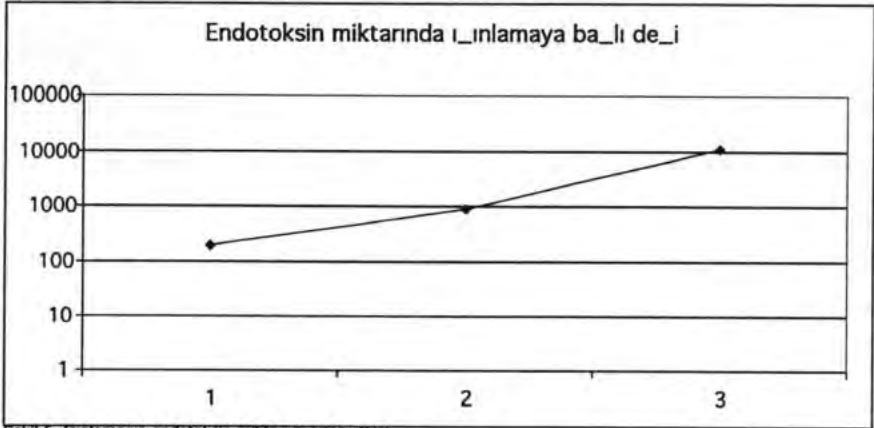
Şekil 4. Karides örneklerinden elde edilen sonuçlar

Dört farklı grup halinde yapılan analizlerde LAL ve GNB arasında bir bağlantı olduğu ve sayımların ışınlama ile ters orantılı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Işınlamanın GNB, LAL üzerine etkisi şekil 5 ve 6'da gösterilmektedir. Özetle uygulanan dozlar ve uygulama gruplarında sayılabilir canlı bakteri sayısı arasında ters orantı vardır. Aradaki bağlantı şekil 7de gösterilmektedir.



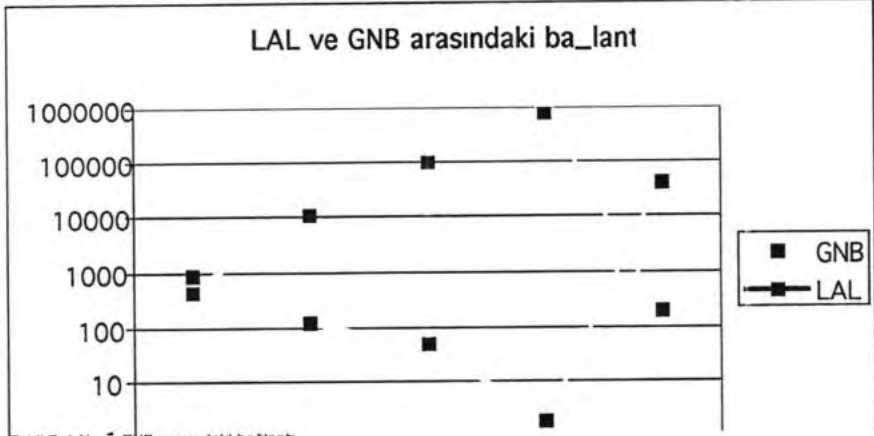
Şekil 5. Işınlamanın GNB sayısı üzerine etkisi.

Benzer şekilde uygulanan dozlar ve uygulama gruplarında oluşan endotoksin arasında düz orantı vardır. Aradaki bağlantı şekil 6'da gösterilmektedir.



Şekil 6. Işınlamanın endotoksin miktarı üzerine etkisi.

Çalışma sonuçlarının logaritmik olarak bağlantısı şekil 7de görülebilmektedir. Şekile göre LAL ve GNB düzeyleri arasında ters orantı olduğu görülmektedir.



Şekil 7. LAL ve GNB arasındaki bağlantı.

İşlemsiz kontrol



2.5 kGy



5 kGy



İşinlamanın bakteriler üzerine etkisi

Tartışma

Bu çalışma LAL/GNB metodunun çeşitli et türlerine uygulanan ısınlamanın tespitinde verimliliğini ortaya koymak üzere tasarlanmıştır. Çalışmadan elde edilen veriler bu et türlerine uygulanan değişik dozlardaki ısınlamanın mikroorganizma sayısını azalttığını buna karşılık Gram negatif mikroorganizmalardan kaynaklanan endotoksin miktarından belirgin ($p=0.00$) bir artışa neden olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu çalışmanın konusunu çeşitli taze et örnekleri oluşturmuştur. Sullivan ve ark. (1983) yaptıkları bir çalışmada LAL testin endotoksinleri tespit etmesinden dolayı her türlü bakteriyel dekontaminasyon işleminde kullanılabileceğini vurgulamışlardır. Gıda ısınlama işlemi patojenlerin giderilmesi için seçkin bir teknoloji olduğundan LAL-GNB'nin işlemin tespitinde kullanımı uygun bulunmuştur. Bu çalışmadan elde edilen veriler standart içerisindeki veriler ile uyum göstermektedir (Anon, 2004).

Bu kapsamda yukarıda verileri sunulan çalışmanın, standartta yapılan çalışma ile uyumluluğu sadece LAL-GNB parametreleri yönünden değil aynı zamanda ısınlamanın mikroorganizmalar üzerinde gösterdiği hasarın tespitine yönelik yapılan elektron mikroskopik çalışmayla da uyumlu olduğu ortaya konmuştur. Çalışma kapsamında incelenen derili tavuk göğsü, derisiz tavuk göğsü, siğir kıyması, koyun kıyması, hindi eti, hamsi, alabalık, somon balığı, kalamar ve karides örneklerinden işlemsiz kontrol gruplarında en fazla gram negatif bakteri sayısı 7.9 GNB/g ile siğir kıymasında bulunmuştur. Bu kontaminasyon düzeyiyle kesim hijyeni, kıyma işleminde kullanılan makinenin temizliğinin bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

Gıda ısınlama uygulamalarında tüm gıda örneklerinde istatistiksel olarak önemli seviyede ($p<0.05$) azalma görülmüştür. Buda verileri ile uyum sağlamaktadır (Gıda ısınlama kitabı) .

LAL-GNB metodu yeni bir metot olduğundan dolayı ilgili konuda bu kadar fazla taze et çeşidinde yapılan çalışma henüz mevcut değildir. İlgili metodun ısınlamanın tespitinde verimli olacağı düşünülmektedir.

Sonuç

Gıda ısınlama, Türkiye de sektörün, akademisyenlerin ve kamu kuruluşlarının tam olarak bilmediği ve gıda güvenliği konsepti içerisinde henüz yaygın uygulama alanı bulamamış bir işlemdir. Dünya gıda ısınlama perspektifine bakıldığında zaman tüm gıdalara uygulanabildiği ve uygulamanın deneysel prosedürlerle ortaya konulabildiği gözlemlenebilmektedir. LAL/GNB metodu bu perspektifte hızlı olması ve aynı anda 90 numune işlemesi ile seçkin bir yerdedir. LAL/GNB metodunu diğer metotlardan ayıran en önemli konu gıdaya uygulanan diğer işlemlerde de uygulanabilmesidir. Böylece sektörel dekontaminasyon uygulamalarının etkinliğinin görüntülenmesi amacıyla kullanımı mümkündür.

References

Anonymous (2001) European Pharmacopoeia 3rd Edition - Supplement 2001. Council of Europe, Strasbourg 2000, pp. 79-87.

Anonymous (2004). DIN (Deutsche Institut für Normung) EN 14569. Microbial Screening for Irradiated food using LAL/GNB procedures. DIN, beuth Verlag GmbH, 10722 Berlin, Germany.

Friberg P. (1987) The Use of Quantitative Assay in Endotoxin Testing. pp. 149-169, In: Watson, S (Ed.): Detection of Bacterial Endotoxins with the Limulus Amebocyte Lysate Test. Alan R. Liss, New York

Levin J, Bang FB. (1964) The Role of Endotoxin in the Extracellular Coagulation of Limulus Blood. Bull. Johns Hopkins Hosp., p. 115

Levin J, Bang FB. (1964) A Description of Cellular Coagulation in the Limulus. Bull. Johns Hopkins Hosp., p. 337

Levin J, Tomasulo PA, Oser RS. (1970) Detection of Endotoxin in Human Blood and Demonstration of an Inhibitor. J. Lab. Clin. Med. 75:903.

Russel WMS, Burch RL. (1992) Principles of Humane Experimental Technique. London, Methuen 1992, 238 p.

Satin M. (1982). Use of Irradiation for microbial decontamination of Meat: situation and Perspectives. Appl. Environ. Microbiol. 41: 434-436.

Sullivan JD, Ellis PC, LeeRG, Combs W, Watson SW. (1983). Comparison of the Limulus Amoebocyte Lysate test with Plate Counts and Chemical Analyses for Assessment of the Quality of Lean Fish. Appl. Environ. Microbiol. 45: 720-722

Young NS, Levin J, Prenderagst RA. (1972). An Invertebrate Coagulation System Activated by Endotoxin: Evidence for Enzymatic Mediation M, J. Clin. Invest. 51:1790-1797; sec. rec. In BioWhittaker, Inc. 1993: Multi-test Limulus Amebocyte Lysate Pyrogen-plus, Walkersville, 10p.

Bildiri No: 145

Kategori: Genel

GIDA GÜVENLİĞİ ARAÇLARI; RİSK ANALİZİ VE LABORATUVAR ANALİZLERİ

Sunum Tipi: Oral

Aysun YILMAZ, Çevre Endüstriyel Analiz Sanayi ve Ticaret A.Ş., Özel Sektör

Özet

Gelişmiş ülkelerde her yıl popülasyonun üçte biri gıda kaynaklı hastalıklardan etkilenmektedir. Bu durum gelişmekte olan ülkelerde ise daha vahim tablolar oluşturmakta ve yaklaşık 1.8 milyon kişiye özellikle çocuk sağlığını tehdit eder durumdadır.

Gıda güvenliği kavramı son 20 yılda gelişen yaşam koşullarına bağlı olarak çok yönlü olarak değişmiştir. Yaşamın kırsal kesimden kentlere yönelmesi, bölgeler arası seyahatin çok kolay bir hale gelmesi, immünyetmezliği olan kişilerin sayısındaki artış, gıdanın üretildiği bölgeler dışında da tüketilebilmesi, gıdaların doğal mevsimleri dışında da üretilebilmeleri, teknolojik ve kimyasal kirliliğin artışı, gıdaların raf ömürlerinin uzatılması ve mikroorganizmaların dirençlerindeki artış gibi bir çok etken gıda güvenliğine bakış açısının değişmesine neden olmuştur.

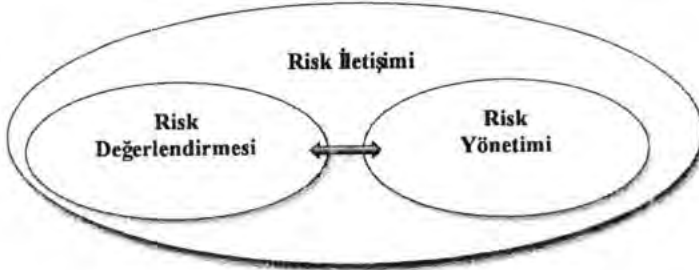
Gıda güvenliğinin tam olarak sağlanmasının garantisi bulunmamaktadır. Ancak risk analizi yaklaşımı ile oluşturulan kontrol sistemlerinde en yüksek seviyede koruma sağlanabilmektedir. Günümüzde gıda güvenliği yönetim sistemlerinde ve rehberlerde risk "tehlikenin ortaya çıkma olasılığı ve zararın şiddetinin kombinasyonu" olarak tanımlanmıştır ve her bir tehlike bu kombinasyona göre değerlendirilmektedir. Etkili bir gıda güvenliği sisteminin kurulması için HACCP sisteminin kapsamlı bir risk analizi çatısı ile ilişkilendirmesi gerekmektedir.

Risk analiz bileşenleri (Şekil -1) Codex Alimentarius 'da aşağıdaki şekilde tanımlanmıştır.

1- Risk değerlendirmesi; Bilimsel temellere dayalı bir proses olup sırasıyla; tehlikelerin belirlenmesi, tehlikelerin sınıflandırılması, gerçekleşme durumunun değerlendirilmesi ve risk sınıflandırılması aşamalarından oluşur.

2- Risk yönetimi; risk değerlendirmesi ve tüketicilerin sağlığının korunması ile ilgili tüm taraflara danışarak, politika alternatiflerini üretmek ve gerektiğinde uygun önleyici ve kontrol yöntemlerinin seçilmesi prosesidir.

3- Risk iletişimi; risk analizi sürecinde ilgili risklerin, bunlarla bağlantılı faktörlerin ve risk algılaması ile ilgili bilginin ve görüşlerin interaktif olarak risk değerlendiricileri, risk yöneticileri, tüketiciler, endüstri, akademisyenler ve diğer ilgili taraflar arasında iletilmesidir.



Şekil -1 Risk analizi bileşenleri

Risklerin değerlendirilmesi ve yönetilmesi için, laboratuvar analizleri, günümüzde teknolojinin gelişimi ile daha etkili olarak gıda zincirindeki tüm halkalar tarafından kullanılabilir. Veriler gıda güvenliğinin sağlanabilmesi için sıcaklık ölçümü gibi basit bir prosesden elde edilebileceği gibi, LC-MS ile poliaromatik hidrokarbonların veya akrilamid analizi gibi daha karmaşık bir prosesle elde edilebilmektedir. Doğru verilerin toplanıp değerlendirilmesi tehlikelerin anlaşılması ve kontrolü için çok önemlidir.

Bu bildirinin amacı, gıda güvenliğinin sağlanmasında, risk analizi başlığı altında risk değerlendirilmesi ve laboratuvar analizlerinin bu süreçteki yeri hakkında bilgi sunulmasıdır.

Bildiri No: 75

Kategori: Genel

ERZURUM'DA TÜKETİME SUNULAN KAŞAR PEYNİRLERİNİN MİNERAL MADDE VE AĞIR METAL İÇERİKLERİ

Sunum Tipi: Oral

Hayrunnisa ÖZLÜ, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Meryem AYDEMİR ATASEVER, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Sevda URÇAR, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Mustafa ATASEVER, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Özet

Araştırma, Erzurum'da tüketime sunulan taze ve olgunlaşmış kaşar peynirlerinde mineral madde ve ağır metal içeriklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla perakende satış yerlerinden toplanan 50 adet peynir numunesinde mineral madde ve ağır metal kontaminasyon düzeyleri indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektroskopisi (ICP-OES) kullanılarak mg/kg olarak belirlenmiştir. Peynir örneklerindeki ortalama mineral madde ve ağır metal içerikleri; kalsiyum $2265,57 \pm 614,14$ mg/kg, potasyum $1555,46 \pm 552,31$ mg/kg, sodyum $4693,31 \pm 1886,12$ mg/kg, magnezyum $129,34 \pm 32,05$ mg/kg, demir $1,65 \pm 0,80$ mg/kg, çinko $15,66 \pm 3,41$ mg/kg, bakır $0,39 \pm 0,35$ mg/kg, mangan $0,15 \pm 0,09$ mg/kg, nikel $0,27 \pm 0,24$ mg/kg, kurşun $1,77 \pm 1,72$ mg/kg ve arsenik $0,0001 \pm 0,001$ mg/kg olarak tespit edilmiştir. Taze ve olgunlaşmış kaşar peynirlerinin mineral madde ve ağır metal içerikleri arasında önemli fark ($P > 0,05$) saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Kaşar peyniri, Mineral madde, Ağır metal, ICP-OES

Mineral Substance and Heavy Metal Contents in Kashar Cheeses Consumed in Erzurum

Summary

This study was carried out to determine the mineral substances and heavy metals contents of fresh and riped kashar cheeses consumed in Erzurum. For this purpose, 50 samples were obtained randomly from retail outlets. Mineral substances and heavy metals contamination levels were detected with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) as mg/kg level. The average levels of the mineral substances and heavy metals in the kashar cheeses was determined to be calcium $2265,57 \pm 614,14$ mg/kg, potassium $1555,46 \pm 552,31$ mg/kg, sodium $4693,31 \pm 1886,12$ mg/kg, magnesium $129,34 \pm 32,05$ mg/kg, iron $1,65 \pm 0,80$ mg/kg, zinc $15,66 \pm 3,41$ mg/kg, copper $0,39 \pm 0,35$ mg/kg, manganese $0,15 \pm 0,09$ mg/kg, nickel $0,27 \pm 0,24$ mg/kg, lead $1,77 \pm 1,72$ mg/kg and arsenic $0,0001 \pm 0,001$ mg/kg. The mineral substances and heavy metals levels weren't showed significant statistical differences ($P > 0,05$) among the fresh and riped cheese samples.

Keywords: Kashar cheese, Mineral substance, Heavy metal, ICP-OES

Giriş

Gelişen endüstrilerin ve daha modern bir yaşam sağlama amacıyla sürdürülen çabaların istenilmeyen bir sonucu olarak besinlerin yüksek düzeyde metallerle kontamine olması günümüzde artan bir tehlike halinde önemini korumakta ve toplum sağlığını tehdit eden en önemli unsurlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır (7). Birçok gıda sektöründe olduğu gibi süt sektöründe de ağır metal kontaminasyonu süt üretim ve işleme aşamasında gerçekleşebilmektedir. Süt üreten işletmelerde ağır metal kontaminasyonu, genellikle coğrafi bölgeden (örn., toprak, su vb.), yemlerden, sağım ve depolama sırasında kullanılan makine ve ekipmanlardan, işleme esnasında ise önemli ölçüde işleme ekipmanlarından kaynaklanabilmektedir (18). Ayrıca süt ve peynir gibi asidik nitelikli besinlerin sağımında veya üretiminde kullanılan alet ve ekipmanın bileşimindeki metallerin çözünerek ürüne geçme riski diğer gıdalara oranla daha kolay olmaktadır (3, 4). Teknolojik işlemler sırasında süt ve süt ürünlerinin muhafazasında kullanılan metal kaplardan ve işleme suyundan kaynaklanan metalik kontaminasyondaki başlıca elementler bakır, çinko, demir, kalay, kurşun, kadmiyum ve arseniktir (11).

Bu araştırmayla, Erzurum piyasasında tüketime sunulan taze ve olgunlaşmış kaşar peynirlerinin kalsiyum, potasyum, sodyum, magnezyum, mangani, demir, çinko, bakır, nikel, kurşun ve arsenik düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Örneklerin Alımı: Erzurum piyasasında tüketime sunulan çeşitli yerel ve ulusal firmalara ait orijinal vakum ambalajlı toplam 37 adet taze ve 13 adet olgunlaşmış kaşar peyniri örneği 1 Şubat-30 Nisan 2010 tarihleri arasında satış yerlerinden temin edildi. Örnekler en kısa süre içerisinde laboratuvara getirildi ve analizleri yapılmaya kadar 4 ± 1 °C'de muhafaza edildi.

Örneklerin Çözümlemesi: Analizi yapılacak kaşar peyniri örneklerinde organik bileşikler yok etmek ve inorganik bileşikler de çözünür faza geçirmek amacıyla yapılan çözümleme işlemleri kapalı sistem mikrodalga yakma metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla Ethos Touch Control (Milestone) mikrodalga çözümleme sistemi ve aksesuarları (TFM kaplar) ile Microwave Digestion Rotor (1000/10 yüksek basınç rotorları ve basınç-sıcaklık kontrol sensörleri) kullanıldı. Örneklerin çözümlemesinde % 65'lik nitrik asit (Merck, 1.00452.2500) ve %30'luk hidrojen peroksit (Merck, 1.08597.1000) kombinasyonundan yararlanıldı. Mikrodalga fırınında çözündürleştirme işlemi yapıldıktan sonra fırından çıkarılan kaplar oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğuyan kapların kapakları açıldıktan sonra çözünmüş numuneler ultra distile su ile 50 ml'ye seyreltilerek viallere aktarıldı.

Metal kontaminasyonunu önlemek amacıyla örneklerin çözündürülmesi esnasında kullanılan tüm malzemeler, 1+9 (v/v) HNO₃/ultra distile su ile birkaç kez çalkalandı. Daha sonra ultra distile su ile çok sayıda yıkanan ve durulanan malzemeler etüvde kurutuldu.

Örneklerin Mineral ve Ağır Metal Düzeylerinin ICP-OES ile Belirlenmesi:

Kaşar peynirinde bulunan minerallerin ortalama ve ağır metallerin müsaade edilen maksimum değerleri (mg/kg) dikkate alınarak her element için ICP-OES'in software'inde yer alan ve cihazın analizler için uygun gördüğü dalga boylarında standart kalibrasyon çözeltiler ile kalibrasyon eğrileri çizildi. Bu eğriler, cihaza verilen standart çözeltinin 5 farklı konsantrasyonuna karşılık cihazın ölçümleri sonucu hesapladığı konsantrasyonlara göre oluşturuldu. Ölçümleri yapılan mineral ve ağır metallerin okuma yapıldığı dalga boyları ve kalibrasyon eğrisindeki % korelasyon değerleri Tablo 1'de verildi.

Çözünen örneklerin, ICP-OES (Optima 2000 DV) cihazında her metal için belirtilen dalga boyunda köre karşı okuması yapıldı. Çözelti halinde cihaza verilen örnekler argon gazı eşliğinde gaz fazına geçirildi ve bir süre sonrada yaydıkları rezonans ışınları tespit edilerek ölçümleri gerçekleştirildi.

İstatistiksel Değerlendirmeler: Elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde SPSS paket programı kullanıldı. Öncelikle örneklerde temel istatistikî değerler (minimum, maksimum, ortalama değer ve standart sapma) belirlendi. Genel olarak taze ve olgunlaşmış kaşar peyniri örnekleri arasındaki mineral içeriğine bağlı olarak farklılığı tespit edebilmek için t- testi analizi yapıldı.

Bulgular ve Tartışma

Erzurum ilinde çeşitli perakende satış yerlerinden alınan taze ve olgunlaşmış kaşar peynirlerinde kalsiyum, potasyum, sodyum, magnezyum, mangan, demir, çinko, bakır, nikel, kurşun ve arsenik elementlerinin miktarları tespit edilerek Tablo 2'de sunulmuştur. Peynir örneklerindeki mineral madde ve ağır metal içerikleri kalsiyum $2265,57 \pm 614,14$ mg/kg, potasyum $1555,46 \pm 552,31$ mg/kg, sodyum $4693,31 \pm 1886,12$ mg/kg, magnezyum $129,34 \pm 32,05$ mg/kg, demir $1,65 \pm 0,80$ mg/kg, çinko $15,66 \pm 3,41$ mg/kg, bakır $0,39 \pm 0,35$ mg/kg, mangan $0,15 \pm 0,09$ mg/kg, nikel $0,27 \pm 0,24$ mg/kg, kurşun $1,77 \pm 1,72$ mg/kg ve arsenik $0,0001 \pm 0,001$ mg/kg olarak saptanmıştır. Olgun kaşar peynirlerinde tespit edilen ortalama kalsiyum, sodyum, çinko, bakır, nikel ve kurşun miktarları taze kaşar peynirlerinde nispi olarak yüksek olmasına rağmen; bu fark istatistikî olarak önemli ($P > 0,05$) bulunmamıştır (Tablo 2).

Kaşar peyniri numunelerinde kalsiyum ve sodyum içeriği sırasıyla $2265,57 \pm 614,14$ mg/kg ve $4693,31 \pm 1886,12$ mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçların Mendil (10), Kılıç ve ark. (9) ve Yüzbaşı ve Demiröz (17) tarafından kaydedilen değerlerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan potasyum ($1555,46 \pm 552,31$ mg/kg) içeriği ise Mendil (10) ($322 \mu\text{g/g}$) ve Kılıç ve ark. (9) ($129,69$ mg/100 gr) tarafından belirlenen değerlerinden oldukça yüksek; Yüzbaşı ve Demiröz (17)'nin elde ettiği değerden (1742 mg/kg) daha düşük olarak kaydedilmiştir. Araştırmaya konu olan kaşar peynirlerinin ortalama magnezyum içeriği ($129,34 \pm 32,05$ mg/kg) Mendil (10) ($36,8$ mg/kg) tarafından belirlenen değerden oldukça yüksek olarak belirlenirken Yüzbaşı ve Demiröz (17)'nin belirlediği değerden (220 mg/kg) daha düşük düzeyde olduğu saptanmıştır (Tablo 2). Kaşar peynirlerindeki mineral madde düzeylerindeki bu farklılık toprak yapısından, sanayi yoğunluğundan, mevsimsel değişimlerden, kullanılan sütün kalitesinden ve farklı peynir üretim tekniklerinden kaynaklanmış olabilir. Nitekim birçok araştırmacı da (3, 4, 18) peynir üretim tekniklerinin ve çevresel şartların peynirlerin mineral madde içeriğinde farklılığa yol açabileceğini vurgulamıştır.

Olgunlaşmış kaşar peynir numunelerinin kalsiyum ve sodyum içeriği tazelere nazaran biraz daha yüksek iken; potasyum ve magnezyum içerikleri daha düşük bulunmuştur (Tablo 2). Brezilya'da yapılan bir çalışmada (5) inek sütünden üretilen Prato diye adlandırılan yarı sert peynirinin 60 günlük olgunlaşma periyodu süresince kalsiyum içeriğinin azaldığını, sodyum, potasyum ve magnezyum içeriklerinin ise çok az değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Kaşar peynirlerindeki demir içeriği ($1,65 \pm 0,80$ mg/kg) Mendil (10), Yüzbaşı ve Demiröz (17) ve Acar (1)'in tespit ettiği değerlerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çinko içeriği ($15,66 \pm 3,41$ mg/kg) bakımından ise Yüzbaşı ve Demiröz (17) Yüzbaşı ve ark. (18) ve Yalçın ve Tekinşen (16)'in elde ettiği değerlerden düşük bulunmuştur. Araştırmada, çinko içeriği Acar (1)'in belirlediği çinko düzeyiyle benzerlik gösterirken Mendil (10)'in tespit ettiği değerlerden daha yüksek belirlenmiştir (Tablo 2 ve 3).

Araştırmalarda çinko içeriğinde oluşan farklılıklar peynir yapımında kullanılan süt-ten ve üretim aşamasındaki alet ve gereçlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bu durum Yalçın ve Tekinşen (16) tarafından da desteklenmektedir. Ayrıca peynirin pıhtılaştırma işleminin düşük pH değerlerinde yapılması çinko düzeyinin azalmasına sebep olduğu ve sütteki çinkonun % 85'inin kazeln misellerine bağlı olduğu ve asidik pH değerlerinde serbest hale geçerek pıhtıdan ayrıldığı bildirilmiştir (8).

Araştırmada kaşar peyniri numunelerindeki ortalama bakır değeri ($0,39 \pm 0,35$ mg/kg) Yüzbaşı ve Demiröz (17), Mendil (10), Yüzbaşı ve ark. (18) ve Acar (1) tarafından kaşar peynirlerinde elde edilen değerlerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3). Peynirlerde belirlenen bakır düzeyi sütün muhafaza edildiği metal kapların bileşiminde bulunan bakırın sütle etkileşime girmesinden veya yemlerde ve tarım ilaçlarında bakırın fazla kullanılmasından dolayı artabileceği diğer taraftan üretim esnasında sütteki bakırın çözünerek peynir altı suyuna geçmesiyle azalabileceği düşünülmüştür. Bu durum Metin (11) ve Temurci ve Güner (12) tarafından da desteklenmiştir.

Tablo 2'de belirtildiği gibi kaşar peynirlerinde ortalama kurşun düzeyi $1,77 \pm 1,72$ mg/kg olarak saptanmıştır. Toplanan peynir örneklerinin bir kısmında kurşun tespit edilmeyen en yüksek değer $5,16$ mg/kg olarak ölçülmüştür. Kaşar peynirlerinde ağır metalle ilgili literatürlerde Mendil (10), Ayar ve ark. (2), Yüzbaşı ve ark. (18), Acar (1) belirlenen kurşun düzeyleri bu araştırmada elde edilen değerlerden düşük bulunmuştur. Bu durum süt üretimi yapılan çiftliklerin ve peynir üretimi yapılan işletmeler ile satış yerlerinin sanayi kuruluşlarına ve otoyollara yakınlığı-uzaklığından kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

Araştırmada elde edilen nikel ($0,27 \pm 0,24$ mg/kg) ve mangan ($0,15 \pm 0,09$ mg/kg) içerikleri Mendil (10)'ın kaşar peynirlerinde belirlediği nikel ($0,18$ µg/g) ve mangan ($1,0$ µg/g) düzeylerinden daha düşük olduğu kaydedilmiştir (Tablo 2). Peynir üretim aşamasında kullanılan çelik kapların bileşiminde bulunan nikel ve mangan gibi metaller ısıtma ve haşlama esnasında ürüne geçebileceği belirtilmiştir (15).

İncelenen örneklerden ortalama arsenik düzeyi $0,0001 \pm 0,001$ mg/kg olup sadece 4 adet taze kaşar peynirinde tespit edilmiştir. Diğer taraftan Ayar ve ark. (2), kaşar peynirlerinde ortalama arsenik miktarı $0,021 \pm 0,307$ mg/kg olarak kaydedilmiştir. Demiröz ve Saldamlı (6)'nın yaptığı çalışmada ise taze ve olgunlaşmış beyaz peynirlerde arsenik düzeyinin sırasıyla $10,85 \pm 0,34$ ng/g ve $11,35 \pm 0,29$ ng/g olduğunu belirlemişlerdir. Daha önceleri gıdaların arsenik ile kontaminasyonu tanımda kullanılan ilaçlar sebebiyle daha yüksek düzeylerde seyrederken; günümüzde bu tür insektisit, herbisit ve pestisitlerin kullanılması yasaklandığından kontaminasyon riski azalmıştır (15).

Sonuç ve Öneriler

Bu araştırmada kaşar peynirlerinde belirlenen mineral ve ağır metal içeriklerinin benzer çalışmalardan genellikle düşük bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi'nin (13, 14) gıda maddelerinde belirli bulaşanların maksimum seviyelerinin belirlenmesi hakkındaki tebliğlerde kaşar peynirine ait maksimum limitler olmamasına karşın ağır metallerin bazı gıdalarda kabul edilebilir değerleri belirtilmiştir. Araştırmada elde ettiğimiz ortalama değerlerden sadece nikel belirtilen değerlerin ($0,1-0,2$ mg/kg) üzerinde tespit edilmiştir. Ayrıca bazı kaşar peyniri numunelerinin kurşun içeriği de belirtilen limitlerden ($0,02-2$ mg/kg) yüksek bulunmuştur. Bu değerlerin yüksek bulunmasında peynir üretim tekniklerinin, üretim ve muhafaza aşamasında kullanılan alet ve ekipmanların katkısı olabilir. Ayrıca sanayi bölgelerinde yüksek ağır metal içeriğine sahip olan atıklardan veya trafiğin yoğun olduğu bölgelerde egsoz gazlarından toprak, su ve bitkilerin ağır metallerle kontaminasyonu söz konusu olabilir. Bu nedenle trafiğin ve sanayileşmenin fazla olduğu bölgelere yakın yerlerde hayvan yetiştiriciliğinin yapılmaması ve süt işletmelerinin bu tür yerlerden uzaklara kurulması önerilmektedir.

Kaynakça

1. Acar O. (2011). Determination and evaluation of copper, lead, iron and zinc contamination levels in cheese and tahini halva by atomic absorption spectrometry. *Internet Journal of Food Safety*, 13, 45-53.
2. Ayar A., Sert D., Akin N. (2009). The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia-Turkey. *Environ Monit Assess*, 152, 1-12.
3. Bakırcıoğlu D., Bakırcıoğlu Kurtuluş Y., Uçar G. (2011). Determination of some traces metal levels in cheese samples packaged in plastic and tin containers by ICP-OES after dry, wet and microwave digestion. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 202-207.
4. Belgaied J.E. (2003). Release of heavy metals from Tunisian traditional earthenware. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 95-98.
5. Cichoski A.J., Valduga E., Valduga A.T., Tornadizo M.E., Fresno J.M. (2002). Characterization of Prato cheese, a Brazilian semi-hard cow variety: Evolution of physico-chemical parameters and mineral composition during ripening. *Food Control*, 13, 329-336.
6. Demiröz-Erdinç B., Saldamlı I. (2000) Variation in some heavy metals during the production of white cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 53(3), 96-99.
7. Erdoğan Ö., Ateş A., Kara C. (2005). Sır ve menzelet baraj göllerindeki bazı balık türlerinde kadmiyum (Cd) ve bakır (Cu) düzeylerinin belirlenmesi. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3, 346-351.
8. Fresno J.M., Prieto B., Urdiales R., Sarmiento R.M., Carballo J. (1995). Mineral content of some Spanish cheese varieties. Differentiation by source of milk and by variety from their content of main and trace elements. *Journal of Science Food Agriculture*, 69, 339-345.
9. Kılıç S., Karagözlü C., Uysal H., Akbulut N. (2002). İzmir piyasasında satılan bazı peynir çeşitlerinin kalsiyum, fosfor, sodyum ve potasyum düzeyleri üzerine bir değerlendirme. *Gıda*, 27(3), 229-234.
10. Mendil D. (2006). Mineral and trace metal levels in some cheese collected from Turkey. *Food Chemistry*, 96, 532-537.
11. Metin M. Süt Teknolojisi. Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. İzmir Ege Üniversitesi Basımevi, Yayın No: 33, (2001).
12. Temurci (Usta) H., Güner A. (2006). Ankara'da tüketime sunulan süt ve beyaz peynirde ağır metal kontaminasyonu. *Atatürk Üniversitesi, Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1(1-2), 20-28.
13. Türk Gıda Kodeksi (2002). Gıda maddelerinde belirli bulaşanların maksimum seviyelerinin belirlenmesi hakkında tebliğ. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tebliği No: 2002/63, Ankara.
14. Türk Gıda Kodeksi (2008). Gıda maddelerindeki bulaşanların maksimum limitleri hakkında tebliğ. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tebliği No: 2008/26, Ankara.

15. Yalçın Ö., Tekinşen K.K. (2010). Konya'da tüketime sunulan beyaz salamura, tulum ve kaşar peynirlerinin ağır metal içeriklerinin araştırılması. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 22, 5-10.
16. Vural H., (1993). Ağır metal iyonlarının gıdalarda oluşturduğu kirlilikler. Ekoloji, 8, 3-8.
17. Yüzbaşı N., Demiröz B. (2002). Determination of some essential minerals in cheese and milk. Gıda, 27(6), 449-504.
18. Yüzbaşı N., Sezgin E., Yıldırım Z., Yıldırım M. (2009). Changes in Pb, Cd, Fe, Cu and Zn levels during the production of kasar cheese. Journal Food Quality, 32, 73-83.

Tablo 1. Kaşar Peynir Örneklerinin Mineral ve Ağır Metallerin Okuma Yapıldığı Dalga Boyları ve Kalibrasyon Eğrilerinin % Korelasyon Değerleri

Mineral ve Ağır Metaller	Dalga Boyu (nm)	Kalibrasyon eğrisinde % korelasyon
Ca	317,933	0,998434
K	769,896	0,997121
Na	589,592	0,996251
Mg	285,213	0,999277
Mn	257,610	0,999643
Fe	238,204	0,998652
Zn	213,857	0,999522
Cu	324,752	0,993957
Ni	221,648	0,993545
Pb	217,000	0,995922
As	188,979	0,994532

Tablo 2. Kaşar Peyniri Örneklerinin Mineral Madde ve Ağır Metal İçerikleri (mg/kg)									
Mineral ve Ağır Metaller	Taze Kaşar Peyniri				Olgunlaşmış Kaşar Peyniri				Kaşar Peyniri
	N	Ort± Std. Sapma	Min.	Mak.	N	Ort± Std. Sapma	Min.	Mak.	
Ca	37	2254,03±616,68	965,15	3215,00	13	2298,39±630,61	1113,50	3199,80	2265,57±614,14
K	37	1593,76±552,86	450,70	2855,10	13	1446,46±557,89	789,00	2757,50	1555,46±552,31
Na	37	4640,36±1935,55	1164	9122,00	13	4844,04±1803,84	2374,00	8674,00	4693,31±1886,12
Mg	37	130,22±33,52	65,83	210,09	13	126,84±28,53	94,75	182,05	129,34±32,05
Fe	37	1,71±0,88	0,17	3,75	13	1,49±0,49	0,62	2,23	1,65±0,80
Zn	37	15,29±3,23	8,23	21,05	13	16,75±3,81	9,83	21,34	15,66±3,41
Cu	37	0,34±0,34	-	1,20	13	0,52±0,38	-	0,91	0,39±0,35
Mn	37	0,16±0,10	0,04	0,39	13	0,14±0,05	0,07	0,24	0,15±0,09
Ni	37	0,26±0,24	-	0,72	13	0,30±0,26	-	0,67	0,27±0,24
Pb	37	1,60±1,75	-	5,16	13	2,25±1,62	-	4,65	1,77±1,72
As	37	0,00±0,00	-	0,00	13	-	-	-	0,00±0,00

Tablo 3. Kaşar Peynirindeki Ağır Metal İçerikleri ile İlgili Literatürler						
Fe	Zn	Cu	Pb	Mn	Ni	
4,11±1,92(mg/kg)	38,00±5,17(mg/kg)	0,64±0,24(mg/kg)	-	-	-	Yüzbaşı ve Demirözül 2002
7,5±0,65(µg/g)	10,6±1,05(µg/g)	0,27±0,015(µg/g)	0,53±0,055(µg/g)	1,0±0,1(µg/g)	0,18±0,01(µg/g)	Mendil 2006
8,9±0,3(mg/kg)	86,9±3,1(mg/kg)	1,2±0,1(mg/kg)	42,9±2,3(µg/kg)	-	-	Yüzbaşı et al. 2009
5,7±1,1(mg/kg)	58,3±1,7(mg/kg)	1,5±0,1(mg/kg)	374,1±89,0(µg/kg)	-	-	Yüzbaşı et al. 2009
8,36 ± 0,7(mg/kg)	15,3 ± 1,8(mg/kg)	0,26 ± 0,04(mg/kg)	0,29 ± 0,02(mg/kg)			Acar 2011
15,42±0,40(mg/kg)	27,15 ± 0,71(mg/kg)	1,35 ± 0,04(mg/kg)	0,12 ± 0,02(mg/kg)		0,43±0,03(mg/kg)	Yalçın ve Tekinşen 2010

EUGENOL'ÜN VAKUM AMBALAJLI GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (ONCORHYNCHUS MYKISS, W. 1792) MARİNATLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Sunum Tipi: Oral

**BAHRİ PATİR, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, FIRAT ÜNİVERSİTESİ
ÖZLEM PELİN CAN, GIDA MÜHENDİSLİĞİ, CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
ÖZLEM EMİR ÇOBAN, SU ÜRÜNLERİ, FIRAT ÜNİVERSİTESİ
EMİNE ÖZPOLAT, SU ÜRÜNLERİ, FIRAT ÜNİVERSİTESİ**

Özet: Bu çalışmada, alabalık filetolarına farklı oranlarda asetik asit (%2 ve %4) ile eugenol (%0,1 ve %0,5) uygulanarak elde edilen marinat örnekleri vakum paketlenerek $4 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazaya alınmıştır. Örnekler muhafazanın 0., 7., 14., 21., 28., 42., 56., 70., 84. ve 98. günlerinde duyuşal, mikrobiyolojik ve kimyasal yönden analiz edilmiştir. Muhafaza süresince, tüm gruplarda psikrofilik ve Enterobacteriaceae sayısında önemli bir değişim tespit edilemezken ($p>0,05$), toplam mezofilik anaerob, Lactobacillus ve maya- küf açısından önemli değişikliklerin olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Kimyasal yönden, eugenol' ün tuz ve pH üzerine önemli bir etki göstermediği ($p>0,05$), buna karşılık toplam uçucu bazik nitrojen (TVB-N) ve tiyobarbitürik asit (TBA) açısından hem gruplar arasında, hem de muhafaza günlerine bağlı olarak değişimler saptanmıştır ($p<0,05$). Duyusal analizlerde ise, lezzet ve genel beğeni düzeyleri bakımından muhafaza süresince gruplar arasında önemli farklılıklar görülmüştür ($p<0,05$). Sonuç olarak, marinat örneklerinin tüketilebilir niteliklerini en az 70 gün koruduğu, kullanılan eugenol'ün bazı mikrobiyolojik ve kimyasal değerler üzerine olumlu etki gösterdiği, %0,1lik eugenol ile hazırlanan marinatların duyuşal açıdan daha çok beğeni kazandığı ortaya kondu.

Anahtar Kelimeler: Alabalık, Marinat, Eugenol, Duyusal, Kimyasal, Mikrobiyolojik, Kalite.

Eugenol 's Effect On Vacuum Packaged Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss, W. 1792) Marinades

Abstract: In this study, vacuum packed fillets of trout marinated with different proportions of acetic acid (2% and 4%) and eugenol (0.1% and 0.5%) were preserved at $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$. The samples were analyzed in days 0, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70, 84 and 98 in sensory, microbiological and chemical aspects.

During the preservation, while there was no significant change in the numbers of psychophilic and the Enterobacteriaceae in all groups ($p>0,05$), the total mesophilic anaerobe, Lactobacillus, and yeasts-molds were showed significant changes ($p<0,05$). Chemically, eugenol showed not a significant effect on the salt and pH ($p>0,05$), whereas total volatile basic nitrogen (TVB-N) and thiobarbituric acid (TBA) in terms of both groups and the days of preservation showed a significant changes ($p<0,05$). In sensory analysis, flavor and overall taste were showed important differences between the groups ($p<0,05$) during the preservation time.

In conclusion, marinades protected their consumed properties for at least 70 days and eugenol had favorable effects on some microbiological and chemical values. The marinades prepared with 0.1% of eugenol were gained more acclaim in term of sensory perspective.

Key words: Trout, Marinade, Eugenol, Sensory, Chemical, Microbiological, Quality

Giriş

Balık eti avlandığı andan itibaren sahip olduğu yapısı itibariyle hızla bozulmaya başlar. Bu nedenle dikkatli muhafaza edilmeli ve hızla işlenmelidir. Günümüzde oldukça çeşitli işleme teknikleri geliştirilmiştir. Marinasyon balık işleme yöntemlerinden bir tanesi olup; taze, dondurulmuş veya tuzlanmış balık ya da balık kısımlarının sıcaklık etkisiyle ya da olmadan asetik asit (sirke) ve/veya diğer organik asitler ve tuz ile muamele edilerek olgunlaştırılmasını sağlayan teknolojidir. Marinasyon işlemiyle elde edilen böyle ürünlere de marinat denilmektedir. Bu teknik Almanya'da gelişip diğer ülkelere yayılmıştır. Marinatlar yarı konservelelerdir. Asit, genellikle asetik asit olup, tuz ile birlikte kullanıldığında bakteri ve enzim faaliyetleri bir müddet engellenerek, kendine özgü lezzette, raf ömrü uzatılmış bir ürün elde edilir (2; 19; 30; 36).

Marinat teknolojisi oldukça gelişmiş olup; işlem tekniğine, ürüne katılan ek maddelere göre üç türü bulunmaktadır. Bunlar soğuk marinatlar, pişirilmiş marinatlar ve kızartılmış marinatlardır. Soğuk marinatlarda, herhangi bir ısıtım işlemi söz konusu değildir ve elde edilen ürünün raf ömrü 15 gün ile 6 ay arasında değişir. Pişirilmiş marinatlarda ise salamurada olgunlaştırılan balık sirke salamurası buharında haşlanarak pişirilir. Çeşitli sos veya jelatin eklenerek farklı ürünler elde edilebilir. Kızartılmış marinatlarda ise balıklar 160 oC veya 180 oC arasında kızartılır ve daha sonra marinasyon işlemine tabi tutulur (4; 18; 35; 37).

Esansiyel yağlar; aromatik bitkilerin yaprak, meyve, kabuk ve kök kısımlarından elde edilen doğal uçucu ürünlerdir. Antiseptik, antioksidan, sindirim uyarıcı, antimikrobiyel ve enzimatik etkileri bulunmaktadır. Esansiyel yağların büyük bir kısmı GRAS (Generally Recognized as Safe) listesinde yer almaktadır ayrıca esansiyel yağların insan sağlığı açısından, antikanserijen etkiyi de kapsayan çok sayıda olumlu biyolojik etkilere sahip oldukları tespit edilmiştir. Eugenol karanfilden elde edilen bir esansiyel yağ olup, karanfil ekstraktının yaklaşık %75-80'ini oluşturur. Suda çözünmez fakat alkolde veya yağda kolayca çözünür. Eugenol baharat olarak kullanımının yanında diş antiseptiği olarak da kullanılır (5; 11; 15; 28). Gıdalarla kullanımıyla raf ömrünü artırdığı belirlenmiştir. Konu ile ilgili yapılan bir araştırmada (10), çiğ sazan filetoları % 1,5, % 1,0 ve % 0,5 eugenol solüsyonuna daldırıldıktan sonra vakum paketlenerek +4 oC'de muhafazaya alınmıştır. Araştırmada, eugenol'ün vakum paketlenmiş çiğ filetoların dayanım süresini yaklaşık 90 güne kadar artırdığı saptanmıştır.

Gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1972) Ülkemizde yetiştiriciliği oldukça yaygınlaşan bir tür olup son on yıl içerisinde yaklaşık 8 kat artarak 5.000 ton/yıl'dan 40.000 ton/yıl'a ulaşmıştır (12). Ülkemizde alabalık üretimi 2008 istatistiklerine göre yaklaşık 65.928 tondur (22).

Bu çalışma, farklı oranlarda asetik asit kullanılarak hazırlanan alabalık marinatlarının üzerine; %0,1 ve %0,5'lik eugenol'ün etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada materyal olarak Salmonidae familyasına ait olan *Oncorhynchus mykiss* türü alabalıklar kullanıldı. Bir işletmeden temin edilen alabalıkların yaklaşık 200-250 g ağırlığında oldukları belirlendi.

Laboratuvara getirilen alabalıkların baş, yüzgeç ve iç organları alınarak fileto- su çıkarıldı. Filetolar temizlenerek yıkandı. Daha sonra fileto ağırlığının % 5'i oranındaki zeytinyağı içerisine, yine fileto ağırlığının % 0,1 ve % 0,5'i oranında eugenol ilave edilerek hazırlanan karışımdan bir fırça yardımıyla filetolar üzerine sürüldü. Diğer yandan, %10 NaCl içeren %2 ve %4 asetik asitli iki farklı marinat solüsyonu hazırlanarak, bu solüsyon- dan eugenol sürülüp ağzı kapaklı cam kavanozlar içerisine yerleştirilen filetoların üzerine ilave edildi. Eugenol sürülmeden hazırlanan %2 ve %4 asetik asitli iki grup kontrol grupları (K2 ve K4) olarak değerlendirildi.

Yine, %2 asetik asit ve %0,1 eugenol içeren grup A, %2 asetik asit ve %0,5 eugenol içeren grup B, %4 asetik asit ve %0,1 eugenol içeren grup C ve %4 asetik asit ve %0,5 eugenol içeren grup D olarak isimlendirildi. Hazırlanan tüm örnekler 4 ± 1 °C'de olgunlaşmaya bırakıldı. Örnekler muhafazanın 1., 7., 14., 21., 28., 42., 56., 70. 84. ve 98. günlerinde duyuusal, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan analiz edildi. Filetoların duyuusal analizi soğuk olarak yapıldı. Çalışma üç tekerrürlü olarak yürütüldü.

Mikrobiyolojik analizler için, marinat örnekleri bir parçalayıcının (Stomacher 400) özel torbasında 5 g tartıldı ve üzerine steril %0,1'lik peptonlu sudan 45 ml ilave edilerek parçalayıcıda homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10-1 (1/10)'lık dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyreltiliciyi kullanmak suretiyle örneğin 10-6'ya kadar diğer seyreltileri yapıldı. Örneklerin her seyreltisinden birer ml kullanılarak iki seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri gerçekleştirildi ve inkübasyon süreleri sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi (21).

Örneklerdeki toplam mezofilik anaerob mikroorganizmaların sayımı için Brewer Agar (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar 30 ± 1 °C'de anaerob şartlarda 3 gün inkübe edildi. Inkübasyon sonucunda oluşan koloniler sayıldı (31). Lactobacillus sayımları için MRS Agar (37 ± 1 °C'de 48 saat) (21), psikrofilik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA) (7 ± 1 °C'de 10 gün) (20), Maya sayımı için Wort Agar (21 ± 1 °C'de 5 gün) (31), küf sayımı için ise Sabouraud Dextrose Agar (21 ± 1 °C'de 5 gün) (31) besiyeri kullanıldı. Enterobacteriaceae sayımı için Violet Red Bile Glucose Agar (Oxoid CM 485) kullanılmıştır. Ekim yapılan plakların üzerine bir kat daha besi yeri dökülüp katılaştırıldıktan sonra 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda kırmızı renkli çapı 0.5 mm ve daha büyük olan koloniler olarak değerlendirilmiştir (23).

Örneklerin pH değerleri, pH metre (EDT.GP 353) ile saptandı (3). Tiyobarbitürik asit sayısı ilgili literatürde belirlene yöntemle göre tayin edildi (6). Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) miktarları su buharı distilasyonu cihazı kullanılarak belirlendi (36). Örneklerdeki tuz miktarı ise Mohr metoduna göre yapıldı (3).

Marinat örneklerinin duyuusal analizleri 5 kişilik panelist grup tarafından 1 ile 5 arası puanlamayla yapıldı. Bu puanlamaya göre; 1= çok kötü, 2= kötü, 3= normal, 4= iyi ve 5=çok iyi olarak değerlendirildi (27). Tat ve genel beğeni düzeyi kriterleri yönünden gerçekleştirilen duyuusal analizler muhafazanın yalnızca 1., 7., 14., 21., 28., 42., 56., ve 70. günlerinde yapıldı. Sonraki günlerde ise bozulma nedeniyle duyuusal analiz yapılmadı.

Araştırma sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde varyans analizi (ANOVA) testi uygulandı. İstatistikli analizlerde 0,05 ilk önem düzeyi dikkate alındı ve bütün analizler Statistical Analysis System (SAS) programından yararlanılarak yapıldı (33).

Bulgular

Farklı oranlarda asetik asit kullanılarak hazırlanan alabalık marinatlarının raf ömrüne eugenol'ün etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada; elde edilen mikrobiyolojik analiz bulguları Tablo 1' de, kimyasal analiz bulguları Tablo 2'de, duyuusal analiz bulguları ise Tablo 3'de verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Toplam mezofilik anaerob bakteri sayısı fileto da ortalama olarak $7,15 \log_{10}$ kob/g değerinde tespit edilirken, bu sayı marinasyon işlemi sonucunda azalarak $4,33 - 4,69 \log_{10}$ kob/g seviyesine düşmüştür ($p < 0,05$). Yine muhafaza süresine bağlı olarak ileriki günlerde genelde artışlar görülmüştür ($p < 0,05$) (Tablo 1). Bir araştırmada (16), marinasyon işleminin yarı steril bir ortam oluşturarak başlangıçtaki bakteri sayısını düşürdüğünü, ancak tamamen yok etmediğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen verilerle literatür verilerinin uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Yapılan istatistikli analizde, %4 asetik asit ve %0,5 eugenol içeren grubun 70-98. günleri hariç tutulursa, eugenol'ü gruplarla eugenol içermeyen gruplar arasında önemli bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).

Taze alabalık filetosunda ortalama olarak 4,82 log₁₀ kob/g miktarında tespit edilen *Lactobacillus* sayısı, marinasyon işlemi sonunda 2,63-3,85 log₁₀ kob/g değerleri arasında düşmüştür ($p<0,05$). Yine asetik asit ve eugenol'ün muhafaza süresince *Lactobacillus* üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (Tablo 1). İlgili bir araştırma da (1), hamsi marinatlarında başlangıçtaki *Lactobacillus* sayısını 1,2x10³ log₁₀ kob/g, olgunlaşma sonunda ise <10 kob/g olarak belirlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise (38), *Lactobacillus* üzerine farklı esansiyel yağların etkilerini incelemişler ve en fazla biberiyenin, sonra sırasıyla adaçayı, kekik ve karanfilin etkili olduğunu saptamışlardır.

Psikrofilik bakteri sayısı fileto da ortalama olarak 5,53 log₁₀ kob/g değerinde tespit edilmiştir. Bu değer, tüm gruplarda muhafazanın başlangıcında azalmış ($p<0,05$), sonraki günlerde ise genelde artış göstererek muhafazanın sonunda (98.gün) 3,42-5,11 log₁₀ kob/g düzeyinde tespit edilmiştir (Tablo 1). Yapılan bir çalışmada (24), donmuş sardalye balığında psikrofil bakteri sayısı taze örnekte 4,88 log₁₀ kob/g olarak belirlemişlerdir. Aynı çalışmada, pastörize edilmiş marinat ile pastörize edilmemiş marinatin psikrofil bakteri sayısı muhafaza süresince <10 kob/g değerinde saptanmıştır. Pembe derin su karidesi (*Parapenaeus longirostris*) marinatlarına biberiye ekstraktının muhafaza süresince antioksidan etkisinin incelendiği bir çalışmada (9) ise, ham materyalde 5,25 log kob/g olan psikrofil bakteri sayısı, marinasyon sonunda ve muhafaza süresince kontrol grubunda ve 300 ppm biberiye ekstraktı ilaveli örneklerde saptanabilir düzeyin (< 10 kob/g) altında bulunmuştur. Marine siğilli kum midyesi üzerinde yapılan bir çalışmada (25), psikrofil bakteri sayısı muhafaza süresinin 22. gününe kadar <10 kob/g düzeyinde tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, muhafazanın ilerleyen günlerinde psikrofil sayısı artış göstererek, muhafazanın sonunda 2,0x10² olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda, psikrofil bakteri sayısı bakımından esansiyel yağ içeren gruplar ile kontrol grupları arasındaki farkın önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Bu araştırmanın bulguları ile ilgili kaynakların verileri uyum göstermemektedir. Bu durum, kullanılan esansiyel yağların farklı olmalarıyla birlikte, farklı konsantrasyonlarda kullanılmalarından kaynaklandığı söylenebilir.

Maya sayısı, ham materyalde ortalama olarak 4,94 log₁₀ kob/g olarak belirlenmiştir. Bu değer, muhafazanın başlangıcında düşmüş, ileri muhafaza günlerinde ise genellikle tüm gruplarda artış göstermiştir ($p<0,05$). Eugenol içeren gruplardaki maya sayısı, eugenol içermeyen kontrol gruplarına göre 14. günden sonra daha düşük seviyelerde saptanmıştır ($p<0,05$) (Tablo 1).

Küf sayısı, başlangıçta (fileto) ortalama olarak 5,42 log₁₀ kob/g değerinde bulunmuştur. Bu değer muhafazanın ilk günlerine azalmış ($p<0,05$), sonraki günlerde ise gruplara bağlı olarak artarak 4,11 -6,11 log₁₀ kob/g değerleri arasında kalmıştır. Genellikle, muhafazanın 14-56. günlerinde, asetik asit ve eugenol oranı fazla olan gruplardaki (B, C ve D) küf sayısı, kontrol gruplarından (K2, K4) daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 1).

Enterobacteriaceae sayısı alabalık filetosunda ortalama olarak 3,57 log₁₀ kob/g olarak bulunmuştur. Bu sayı, 0.günde 2,51-3,61 log₁₀ kob/g arasında tespit edilmiştir. Eugenol içeren gruplar ile eugenol bulunmayan gruplar arasında Enterobacteriaceae sayısı bakımından önemli bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$) (Tablo 1).

Marine ürünlerde pH değerinin 4,1-4,5 arasında olması gerektiği bildirilmiştir (36). Marinasyon sırasında taze balığın pH değeri düşmektedir. Çalışmamızda kullanılan taze balığın pH değeri ortalama olarak 5,77 olarak tespit edilmiştir. Muhafazanın 0. gününde ise 4,09 ile 5,25 arasında bulunmuştur. Gerek muhafaza süresince günler arasında, gerekse gruplar arasında pH değeri bakımından önemli bir değişim saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 2).

Buna karşın, çeşitli araştırmalarda (8; 26) marinat örneklerinde muhafaza süresince pH değerinin arttığı tespit edilmiştir. Bu durum, üretimde kullanılan farklı balık türü, olgunlaştırma solüsyonu, esansiyel yağ ve farklı muhafaza koşullarından kaynaklanabilir.

İyi kalitedeki bir üründe TBA değerinin 3mg MDA /kg olması gerekir. TBA değerinin 5mg MDA /kg olması ürünün kalitesinin düştüğünü gösterirken, 7-8 mg MDA /kg olması durumunda ürünün tüketilemeyeceği belirtilmiştir (7; 13). Bu çalışmada fileto TBA değeri ortalama olarak 0,67 mg MDA/kg olarak tespit edilmiştir. TBA değeri marinasyon işlemi sonucunda ve muhafaza süresince gruplara bağlı olarak farklı değişimler göstermiş ve bu değişimler istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer taraftan, eugenol içeren gruplardaki TBA değerindeki artışın, kontrol gruplarına göre daha az olduğu belirlenmiştir ($p > 0,05$) (Tablo 2). Çeşitli araştırmacılar (29; 34), biberiye, kekik, karanfil ve adaçayının TBA değeri üzerinde inhibitör etki gösterdiğini vurgulamışlar ve karanfilin BHT ve BHA kadar güçlü bir antioksidatif etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırma bulgularımız literatür verileriyle uyum içerisinde.

Balık ve diğer su ürünlerinin tazelik derecesinin belirlenmesinde önemli bir kriter olan TVB-N değeri 15-20 mg/100g olduğunda ürün iyi kalitede kabul edilirken, TVB-N değerinin 50mg/100g olması halinde tüketilmemesi gerektiği bildirilmiştir (7). Marine ürünlerde tuz ve sirke kullanılmasından dolayı daha düşük TVB-N içerebileceği, hatta bazı çalışmalarda muhafaza süresince düzensiz değişimler gösterebileceği belirlenmiştir (7; 32). Bu çalışmada elde edilen TVB-N değerleri incelendiğinde, muhafaza süresine bağlı olarak gruplar arasında farklılığın olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Özellikle %4 asetik asit ve %0,5 eugenol içeren grubun muhafaza süresince diğer gruplardan daha düşük TVB-N değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Yukarıda adı geçen araştırma bulguları ile bu çalışmada elde edilen veriler farklılık arz etmektedir. Bu durumun, kullanılan balık türünden, farklı asetik asit ve eugenol miktarından ve farklı muhafaza koşullarından ileri geldiği söylenebilir.

Farklı oranlarda eugenol ve asetik asit ilavesiyle elde edilen marinat örneklerinin tuz miktarları muhafaza süresince %3,19-4,46 arasında değişimler göstermiştir. Gerek gruplar arasında gerekse muhafaza süresi boyunca tuz miktarları bakımından farklılıkların önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$) (Tablo 2).

Farklı oranlarda eugenol ve asetik asit ilavesiyle elde edilen marinat örnekleri panelistler tarafından tat ve genel beğeni düzeyi bakımından analiz edilmiştir. Bütün gruplarda, muhafazanın ilk günlerinde ürün tat ve genel beğeni düzeyi bakımından yüksek puanlarla değerlendirilirken, muhafaza süresinin ileri günlerinde puanlarda düşmeler görülmüştür ($p < 0,05$). Genel beğeni düzeyi bakımından %0,1 ile %0,5 eugenol içeren grupların en fazla puanı topladıkları gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grupları arasında ise önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$) (Tablo 3). Konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda (14), paneli alabalık marinat örneklerinin 4°C'de muhafazasında raf ömrünün 4 ay olduğunu belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise (17), %2 asetik asitle hazırlanan marinat örneklerinin 90 gün, %4 asetik asitle hazırlanan marinat örneklerinin ise 60 gün çok iyi kalitede olduğunu saptanmışlardır. Aynı çalışmada, marinat örneklerinin 120. günde bozuldukları tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, farklı oranlarda asetik asit ve eugenol uygulamasıyla hazırlanan marinat örneklerinin tüketilebilir niteliklerini en az 70 gün koruduğu, kullanılan eugenol'ün bazı mikrobiyolojik ve kimyasal değerler üzerine olumlu etki gösterdiği, ancak adı geçen maddenin yüksek konsantrasyonlarda kullanımlarının özellikle ileri muhafaza günlerinde ürünün duyuşal nitelikleri üzerine olumsuz etki yaptığı, dolayısıyla eugenol'ün %0,1lik konsantrasyonunun daha uygun olduğu, bu oranda hazırlanan marinatların duyuşal açıdan daha çok beğeni kazandığı ortaya kondu.

Kaynaklar

1. Aksu H., Erkan N., Çolak H., Varlık C., Gökoğlu N. ve Uğur, M. (1997). Farklı asit- tuz konsantrasyonlarıyla hamsi marinatı üretilmesi esnasında oluşan bazı değişiklikler ve raf ömrünün belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv., Vet. Fak. Derg., 8 (1-2), 83-87.
2. Alperden İ., Özay G., Eyyüpoğlu Y. ve Erdoğan B. Karbasan Ürünlerinin (Artık Balık ve Yağının) Değerlendirilmesi, TÜBİTAK, Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü, Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü Yayınları, No: 81, MBEAE Matbaası, Gebze, Kocaeli, (1981), 111 s.
3. AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (15th ed.) Association Official Analytical Chemists, Washington, D.C. (1990).
4. Baygar T., Özden Ö. ve Sağlam E. (2000). Su ürünleri marinat teknolojisi. Su Ürünleri Derg., 7, 95-96.
5. Blaszyk M. and Holley R.A. (1998). Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms. International Journal of Food Microbiology, 39, 175-183.
6. Botsoglou N.A., Fletouris D.J., Florou-Paneri P., Christaki E. and Spais A.B. (2003). Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopherylacetate supplementation. Food Research International, 36: 207-213.
7. Cadun A., Çaklı, S. and Kışla D. (2005). A study of marination of deep water pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) and its shelf life. Food Chemistry, 90, 53-59.
8. Cadun A., Çimçim Karıdesten (*Parapenaeus longirostris*, Lucas, 1846) Marinat Yapımı ve Kalitesi Üzerine Bir Çalışma. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, (2002), 95s.
9. Cadun A., Kışla D. ve Çalkı Ş. (2008). Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life. Food Chemistry, 109, 81-87.
10. Can Ö.P. Arslan A. ve Özdemir P. (2007). Eugenolün çığ balık filetolarının muhafaza süresi üzerine etkisi. F.Ü. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları, 5 (2), 12.
11. Dönmez M. ve Tatar O. (2001). Fileto ve bütün olarak dondurulmuş Gökkuşluğu alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) muhafazası süresince yağ asitleri bileşimindeki değişimlerin araştırılması. Ege Üniv., Su Ürünleri Derg., 18 (1-2), 125-134.
12. DPT. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı (2001-2005). 2004 Yılı Programı. Devlet Planlama Teşkilatı Ankara, (2004).
13. Erdem M.E. Bilgin S. ve Çağlak E. (2005). Tuzlama ve marinasyon yöntemleri ile işlenmiş istavrit balığının (*Trachurus mediterraneus*) muhafazası sırasındaki kalite değişimleri. OMÜ Zir. Fak. Derg., 20 (3), 1-6.
14. Erkan N., Metin S., Varlık C., Baygar T. ve Özden Ö. (2000). Modifiye atmosferle paketlenmenin (MAP) paneli alabalık marinatlarının raf ömrü üzerine etkisi. Türk J. Vet. Anim. Sci. 24, 585-591.
15. Farag R.S., Daw Z.Y. Hewedi F.M. ve El-Baroty G.S.A. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. J. Food Protect., 52(9), 665-667.
16. Fuselli R., Casales M.R., Fntz R. and Yeannes M.L. (1996). Isolation and characterization of microorganism associated with marinated anchovy (*Engraulis anchoita*). Aquatic Food Product Technology, 7 (3), 29-38.
17. Gökoğlu N., Cengiz E. ve Yerlikaya P. (2004). Determination of the shelf life of marinated sardine (*Sardina pilchardus*) stored at 4 °C. Food Control, 15, 1-4.
18. Gökoğlu N. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Su Vakfı Yayınları. İstanbul, (2002). 157 s.
19. Gülyavuz H. ve Ünlüsayın M. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Şahin Matbaası, Ankara, (1999).
20. Halkman A.K. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, (2005). 358 s.

21. Harrigan WF. Laboratory Methods in Food Microbiology, 3rd ed., Academic Press, London, (1998).
22. <http://www.tuik.gov.tr>, (2010).
23. ISO. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection and Enumeration of Enterobacteriaceae. ISO 21528-2, Part 2, Colony-count technique. Geneva, Switzerland, (2004).
24. Kılınç B. ve Çaklı Ş. (2005). Determination of the shelf life of sardine (*Sardina pilchardus*) marinades in tomato sauce stored at 4°C. Food Control, 16, 639-644.
25. Kılınç B., Çaklı Ş., Cadun A., Dinçer T. ve Tolasa Ş. (2008). Chemical, microbiological, sensory and color changes in warty venus (*Venus verrucosa*) flesh during marination. Journal of Muscle Foods, 19, 385- 398.
26. Kılınç B., Çaklı Ş., Cadun A., Dinçer T. ve Tolasa Ş. (2008). Chemical, microbiological, sensory and color changes in warty venus (*Venus verrucosa*) flesh during marination. Journal of Muscle Foods, 19, 385- 398.
27. Kurtcan Ü. ve Gönül M., (1987). Gıdaların duyuşal değerlendirilmesinde puanlama metodu. Ege Üniv., Mühendislik Fak., Derg., Seri B, Gıda Mühendisliği, 5,137-146.
28. Lean L.P. and Suhaila M., (1999). Antioxidative and antimycotic effect of turmeric, lemon-grass, betel leaves, clove, black pepper leaves and *Garcinia Atrivirdis* on butter cakes. J.of the Science of Food and Agriculture, 79 (13), 1817-1822.
29. Lee K.G. and Shibamoto T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry). Food Chemistry, 74, 443-448.
30. McIay R. Marinades. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Torry Research Station. Torry Advisory Note, No: 56, (1972), p: 9.
31. Oxoid. The Oxoid Manual. 50 th Ed., Published by Oxoid Limited, Hampshire, (1982).
32. Özden Ö. ve Baygar T. (2003). Farklı paketlenme yöntemlerinin marine edilmiş balıkların bazı kalite kriterleri üzerine etkisi. Türk J.Vet. Anim. Sci., 27, 899-906.
33. SAS. Version 6.1.SAS Institute, Cary, North Caroline USA, (1999).
34. Shahidi F., Pegg R.B. and Saleemi Z.O. (1995). Stabilization of meat lipids with ground spices, Journal of Food Lipids, 2, 145-153.
35. Tirakoğlu T. Farklı Yöntemlerle Depolanan ve Marinat Hamsi Üretiminde Kullanılan Hamsinin Tazeliğinin Ürünün Mikrobiyolojik ve Organoleptik Kalitesi Üzerine Etkilerinin Saptanması. T.C. Uludağ Üniv., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, (2003), 47s.
36. Varlık C., Uğur M., Gökoğlu N. ve Gün H. (1993). Marinat üretiminde sıcaklığın sirke/tuz geçişi üzerine etkisi. Gıda, 18 (4), 223-228.
37. Varlık C., Erkan N., Özden Ö., Mol S. ve Baygar T. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İstanbul Üniv., Su ürünleri Fak., İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, (2004), 491 s.
38. Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J. and Perez-Alvarez J.A. (2008). Antibacterial activity of different essential oils obtained from spices widely used in Mediterranean diet. International Journal of Food Science and Technology, 43, 526-531.

Tablo 1. Marinat Örneklerinin Üretimi ve Muhafazası Sırasında Septan Mikrobiyolojik Analiz Bulguları (log10 kob/g).

Mikroorganizma	Fileto	Örnek grubu	Muhafaza Süresi (Gün)									
			0.	7.	14.	28.	42.	56.	70.	84.	98.	
Toplam Mezofilik Anaerob	7,15 ^{ac}	A	4,42 ^{ac}	4,77 ^{ac}	4,78 ^{ac}	4,94 ^{bcz}	5,16 ^{bz}	5,79 ^{hz}	6,01 ^{abz}	6,13 ^{az}	6,37 ^{az}	
		B	4,43 ^{hz}	4,82 ^{ce}	4,89 ^{cz}	4,78 ^{cz}	5,51 ^{hz}	5,67 ^{hz}	5,83 ^{hz}	5,88 ^{hz}	6,11 ^{az}	
		C	4,53 ^{hz}	4,67 ^{hz}	4,59 ^{hz}	4,98 ^{hz}	4,82 ^{hz}	5,36 ^{hz}	5,46 ^{hz}	5,72 ^{hz}	5,89 ^{hz}	
		D	4,33 ^{hz}	4,88 ^{hz}	4,76 ^{hz}	4,92 ^{hz}	4,75 ^{hz}	4,21 ^{hz}	4,27 ^{hz}	4,59 ^{hz}	5,02 ^{hz}	
		K2	4,69 ^{hz}	4,72 ^{hz}	4,63 ^{hz}	4,72 ^{hz}	5,36 ^{hz}	5,58 ^{hz}	6,54 ^{az}	6,98 ^{az}	7,01 ^{az}	
		K4	4,58 ^{cz}	4,69 ^{ce}	4,76 ^{cz}	4,53 ^{az}	5,22 ^{cz}	6,17 ^{hz}	6,13 ^{hz}	6,27 ^{hz}	6,43 ^{hz}	
Lactobacillus	4,82 ^{ac}	A	3,41 ^{hz}	3,57 ^{hz}	3,96 ^{hz}	4,01 ^{abz}	4,64 ^{az}	4,78 ^{az}	4,56 ^{az}	4,42 ^{az}	4,98 ^{az}	
		B	3,64 ^{hz}	3,59 ^{hz}	3,71 ^{hz}	3,98 ^{abz}	3,85 ^{hz}	3,73 ^{hz}	4,12 ^{az}	4,26 ^{az}	4,29 ^{az}	
		C	2,83 ^{cz}	2,54 ^{cz}	2,94 ^{cz}	3,57 ^{hz}	3,57 ^{hz}	3,65 ^{hz}	3,42 ^{hz}	3,13 ^{hz}	4,01 ^{abz}	
		D	2,93 ^{abz}	2,06 ^{cz}	2,17 ^{cz}	2,72 ^{cz}	2,68 ^{cz}	2,69 ^{cz}	2,85 ^{cz}	3,01 ^{hz}	3,12 ^{hz}	
		K2	3,85 ^{az}	3,53 ^{az}	3,90 ^{az}	3,62 ^{az}	4,81 ^{hz}	4,92 ^{abz}	5,01 ^{az}	5,56 ^{az}	5,98 ^{az}	
		K4	2,63 ^{cz}	2,70 ^{cz}	3,89 ^{hz}	4,65 ^{az}	3,91 ^{hz}	4,16 ^{az}	4,56 ^{az}	4,78 ^{az}	4,44 ^{az}	
Psikrofilik	5,53 ^{az}	A	3,12 ^{hz}	3,27 ^{abz}	3,94 ^{abz}	4,29 ^{az}	4,39 ^{az}	4,28 ^{az}	4,42 ^{az}	4,56 ^{az}	4,92 ^{az}	
		B	3,13 ^{hz}	3,19 ^{abz}	3,28 ^{hz}	3,61 ^{hz}	3,42 ^{hz}	3,52 ^{hz}	4,03 ^{abz}	4,23 ^{az}	4,44 ^{abz}	
		C	2,93 ^{az}	2,72 ^{az}	3,31 ^{hz}	3,38 ^{az}	3,45 ^{az}	3,51 ^{hz}	3,65 ^{az}	3,71 ^{hz}	3,86 ^{az}	
		D	2,79 ^{az}	2,53 ^{az}	2,82 ^{az}	2,22 ^{az}	2,17 ^{az}	2,13 ^{az}	3,01 ^{az}	3,33 ^{hz}	3,42 ^{hz}	
		K2	4,43 ^{hz}	4,57 ^{hz}	4,69 ^{hz}	4,72 ^{hz}	4,87 ^{abz}	4,85 ^{abz}	5,09 ^{az}	5,27 ^{az}	5,11 ^{az}	
		K4	3,71 ^{hz}	3,70 ^{hz}	3,77 ^{hz}	4,04 ^{abz}	4,20 ^{az}	4,15 ^{az}	4,22 ^{az}	4,39 ^{az}	4,88 ^{az}	
Maya	4,94 ^{az}	A	3,35 ^{hz}	4,26 ^{abz}	4,24 ^{abz}	4,21 ^{az}	4,69 ^{az}	4,77 ^{az}	5,19 ^{az}	5,39 ^{az}	5,51 ^{az}	
		B	3,29 ^{hz}	3,75 ^{hz}	3,87 ^{abz}	4,11 ^{abz}	4,31 ^{az}	4,32 ^{az}	4,43 ^{az}	5,11 ^{abz}	5,27 ^{abz}	
		C	3,24 ^{hz}	3,24 ^{hz}	3,71 ^{abz}	3,81 ^{abz}	3,77 ^{abz}	3,83 ^{abz}	4,12 ^{abz}	4,18 ^{az}	4,33 ^{az}	
		D	3,18 ^{hz}	3,29 ^{hz}	3,42 ^{hz}	3,63 ^{hz}	3,91 ^{az}	3,81 ^{az}	3,81 ^{az}	4,13 ^{abz}	4,21 ^{az}	
		K2	3,71 ^{hz}	4,31 ^{hz}	5,13 ^{az}	5,21 ^{az}	5,94 ^{az}	5,23 ^{az}	5,39 ^{az}	6,27 ^{az}	6,19 ^{az}	
		K4	3,75 ^{hz}	3,81 ^{hz}	4,73 ^{az}	4,71 ^{az}	5,23 ^{az}	5,31 ^{az}	5,21 ^{az}	5,69 ^{az}	5,82 ^{az}	
Kof	5,42 ^{az}	A	3,45 ^{hz}	4,07 ^{abz}	4,13 ^{abz}	4,16 ^{az}	4,75 ^{az}	4,86 ^{az}	5,11 ^{az}	5,27 ^{az}	5,38 ^{az}	
		B	3,22 ^{hz}	3,86 ^{hz}	3,98 ^{abz}	4,03 ^{abz}	4,11 ^{az}	4,25 ^{az}	4,56 ^{az}	5,01 ^{abz}	5,11 ^{abz}	
		C	3,14 ^{hz}	3,13 ^{hz}	3,83 ^{abz}	3,95 ^{abz}	3,83 ^{abz}	3,96 ^{abz}	4,09 ^{abz}	4,14 ^{az}	4,27 ^{az}	
		D	3,09 ^{hz}	3,18 ^{hz}	3,31 ^{hz}	3,72 ^{az}	3,81 ^{az}	3,78 ^{az}	3,96 ^{az}	4,01 ^{abz}	4,11 ^{az}	
		K2	3,87 ^{hz}	4,11 ^{hz}	5,09 ^{az}	5,18 ^{az}	5,85 ^{az}	5,31 ^{az}	5,42 ^{az}	6,01 ^{az}	6,11 ^{az}	
		K4	3,80 ^{hz}	3,92 ^{hz}	4,85 ^{az}	4,89 ^{az}	5,07 ^{az}	5,29 ^{az}	5,35 ^{az}	5,77 ^{az}	5,93 ^{az}	
Enterobacteriaceae	3,57 ^{az}	A	3,61 ^{az}	3,49 ^{az}	3,77 ^{az}	3,82 ^{az}	3,71 ^{az}	3,81 ^{az}	3,98 ^{az}	4,01 ^{az}	4,14 ^{az}	
		B	2,73 ^{az}	2,93 ^{az}	2,87 ^{az}	3,56 ^{az}	3,78 ^{az}	3,61 ^{az}	3,79 ^{az}	3,81 ^{az}	3,79 ^{az}	
		C	2,83 ^{az}	2,96 ^{az}	3,03 ^{az}	3,22 ^{abz}	3,72 ^{az}	3,63 ^{az}	3,98 ^{az}	3,86 ^{az}	3,83 ^{az}	
		D	2,51 ^{az}	2,61 ^{az}	2,68 ^{az}	2,71 ^{az}	2,63 ^{az}	2,81 ^{az}	2,93 ^{az}	2,72 ^{az}	2,83 ^{az}	
		K2	3,47 ^{hz}	3,69 ^{hz}	3,57 ^{hz}	4,75 ^{az}	4,61 ^{az}	4,17 ^{abz}	5,53 ^{az}	5,33 ^{az}	5,27 ^{az}	
		K4	3,41 ^{az}	3,67 ^{az}	3,64 ^{az}	4,01 ^{az}	4,27 ^{az}	4,19 ^{az}	4,01 ^{az}	4,51 ^{az}	4,72 ^{az}	

A: % 2 asetik asit - % 0,1 eugenol; B: % 2 asetik asit - % 0,5 eugenol; C: % 4 asetik asit - % 0,1 eugenol

D: % 4 asetik asit - % 0,5 eugenol; K2: % 2 asetik asit; K4: % 4 asetik asit

a,b: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

z,x: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

Tablo 2. Marinat Örneklerinin Üretimi ve Muhafazası Sırasında Saptan Kimyasal Analiz Bulguları

Analiz	Fileto	Örnek grubu	Muhafaza Süresi (Gün)								
			0.	7.	14.	28.	42.	56.	70.	84.	98.
pH	5,77 ^{a,b}	A	4,57 ^{a,z}	5,65 ^{a,z}	5,00 ^{a,z}	5,52 ^{a,z}	5,54 ^{a,z}	5,55 ^{a,z}	4,98 ^{a,z}	5,01 ^{a,z}	5,53 ^{a,z}
		B	5,15 ^{a,z}	4,75 ^{a,z}	4,50 ^{a,z}	4,50 ^{a,z}	4,91 ^{a,z}	4,92 ^{a,z}	4,50 ^{a,z}	4,83 ^{a,z}	4,86 ^{a,z}
		C	4,09 ^{a,z}	4,51 ^{a,z}	4,68 ^{a,z}	4,77 ^{a,z}	4,83 ^{a,z}	4,88 ^{a,z}	4,68 ^{a,z}	4,61 ^{a,z}	4,21 ^{a,z}
		D	4,66 ^{a,z}	4,81 ^{a,z}	4,50 ^{a,z}	4,67 ^{a,z}	4,71 ^{a,z}	4,73 ^{a,z}	4,76 ^{a,z}	4,58 ^{a,z}	4,44 ^{a,z}
		K2	5,25 ^{a,z}	4,93 ^{a,z}	4,58 ^{a,z}	5,27 ^{a,z}	5,37 ^{a,z}	5,36 ^{a,z}	5,22 ^{a,z}	5,19 ^{a,z}	5,31 ^{a,z}
		K4	4,18 ^{a,z}	4,73 ^{a,z}	4,50 ^{a,z}	4,65 ^{a,z}	4,57 ^{a,z}	4,57 ^{a,z}	4,44 ^{a,z}	4,73 ^{a,z}	4,43 ^{a,z}
TBA (MDA /kg)	0,67 ^{a,z}	A	1,59 ^{a,z}	2,94 ^{a,z}	5,02 ^{a,z}	4,64 ^{a,z}	4,79 ^{a,z}	4,45 ^{a,z}	4,89 ^{a,z}	5,65 ^{a,z}	6,27 ^{a,z}
		B	0,98 ^{a,z}	2,82 ^{a,z}	4,50 ^{a,z}	4,34 ^{a,z}	4,55 ^{a,z}	4,82 ^{a,z}	3,45 ^{a,z}	4,22 ^{a,z}	5,48 ^{a,z}
		C	1,21 ^{a,z}	2,95 ^{a,z}	4,67 ^{a,z}	4,88 ^{a,z}	4,08 ^{a,z}	4,24 ^{a,z}	4,67 ^{a,z}	5,5 ^{a,z}	6,48 ^{a,z}
		D	1,09 ^{a,z}	2,71 ^{a,z}	3,54 ^{a,z}	3,14 ^{a,z}	3,46 ^{a,z}	3,54 ^{a,z}	3,52 ^{a,z}	4,22 ^{a,z}	5,13 ^{a,z}
		K2	2,45 ^{a,z}	2,74 ^{a,z}	3,59 ^{a,z}	4,09 ^{a,z}	4,15 ^{a,z}	4,40 ^{a,z}	5,21 ^{a,z}	7,21 ^{a,z}	8,54 ^{a,z}
		K4	1,54 ^{a,z}	1,45 ^{a,z}	4,09 ^{a,z}	4,26 ^{a,z}	4,45 ^{a,z}	4,58 ^{a,z}	5,64 ^{a,z}	7,54 ^{a,z}	8,96 ^{a,z}
TVB-N (mg/100g)	4,00 ^{a,z}	A	4,80 ^{a,z}	9,80 ^{a,z}	12,10 ^{a,z}	14,10 ^{a,z}	18,27 ^{a,z}	20,90 ^{a,z}	22,14 ^{a,z}	30,52 ^{a,z}	34,14 ^{a,z}
		B	4,96 ^{a,z}	10,92 ^{a,z}	12,00 ^{a,z}	12,60 ^{a,z}	13,16 ^{a,z}	21,80 ^{a,z}	24,16 ^{a,z}	28,32 ^{a,z}	30,14 ^{a,z}
		C	4,76 ^{a,z}	5,60 ^{a,z}	8,00 ^{a,z}	8,00 ^{a,z}	15,12 ^{a,z}	18,40 ^{a,z}	17,08 ^{a,z}	18,04 ^{a,z}	22,2 ^{a,z}
		D	2,80 ^{a,z}	5,07 ^{a,z}	5,95 ^{a,z}	6,40 ^{a,z}	10,01 ^{a,z}	12,20 ^{a,z}	10,32 ^{a,z}	12,3 ^{a,z}	13,8 ^{a,z}
		K2	5,33 ^{a,z}	10,64 ^{a,z}	12,89 ^{a,z}	15,89 ^{a,z}	25,76 ^{a,z}	27,65 ^{a,z}	28,32 ^{a,z}	33,2 ^{a,z}	38,6 ^{a,z}
		K4	4,20 ^{a,z}	8,96 ^{a,z}	10,00 ^{a,z}	14,00 ^{a,z}	14,79 ^{a,z}	14,98 ^{a,z}	16,8 ^{a,z}	17,36 ^{a,z}	25,98 ^{a,z}
Tuz (%)	0,80 ^{a,z}	A	4,20 ^{a,z}	3,27 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,45 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,47 ^{a,z}	3,49 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	3,51 ^{a,z}
		B	4,35 ^{a,z}	3,58 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,41 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	3,19 ^{a,z}	3,22 ^{a,z}
		C	4,28 ^{a,z}	3,22 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,44 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,58 ^{a,z}	3,56 ^{a,z}	3,47 ^{a,z}	3,22 ^{a,z}
		D	3,82 ^{a,z}	3,36 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,43 ^{a,z}	3,45 ^{a,z}	3,46 ^{a,z}	3,51 ^{a,z}	3,21 ^{a,z}	3,19 ^{a,z}
		K2	4,46 ^{a,z}	3,74 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,46 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,41 ^{a,z}	3,73 ^{a,z}	3,52 ^{a,z}	3,21 ^{a,z}
		K4	4,28 ^{a,z}	3,54 ^{a,z}	3,76 ^{a,z}	3,39 ^{a,z}	3,72 ^{a,z}	3,44 ^{a,z}	3,21 ^{a,z}	3,42 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}

A: % 2 asetik asit - % 0,1 eugenol; B: % 2 asetik asit - % 0,5 eugenol; C: % 4 asetik asit - % 0,1 eugenol
D: % 4 asetik asit - % 0,5 eugenol; K2: % 2 asetik asit; K4: % 4 asetik asit
a,b: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farkı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).
z,x: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farkı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

Tablo 3. Marinat Örneklerinin Muhafazası Sırasında Saptanan Duyusal Analiz Puanları.

Analiz	Örnek grubu	Muhafaza Süresi (Gün)						
		0.	7.	14.	28.	42.	56.	70.
Tat	A	3,66 ^{a,z}	4,00 ^{a,z}	3,00 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	2,55 ^{b,x}	2,45 ^{b,zx}	2,76 ^{b,zx}
	B	3,33 ^{a,z}	2,10 ^{a,z}	3,16 ^{a,z}	2,33 ^{a,x}	1,06 ^{b,y}	1,00 ^{b,x}	1,00 ^{b,x}
	C	4,33 ^{a,z}	3,22 ^{a,z}	3,00 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	3,00 ^{a,z}	3,00 ^{a,z}	3,13 ^{a,z}
	D	3,25 ^{a,z}	3,10 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	2,66 ^{a,x}	1,66 ^{b,y}	1,00 ^{b,x}	1,00 ^{b,x}
	K2	4,00 ^{a,z}	3,66 ^{a,z}	3,00 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	2,66 ^{b,x}	3,01 ^{a,z}	3,03 ^{a,z}
	K4	4,50 ^{a,z}	3,66 ^{a,z}	3,11 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	3,33 ^{a,z}	3,15 ^{a,z}	3,21 ^{a,z}
Genel Beğeni	A	4,30 ^{a,z}	3,92 ^{a,z}	3,50 ^{a,z}	3,42 ^{a,z}	3,85 ^{a,z}	3,05 ^{a,z}	3,12 ^{a,z}
	B	4,16 ^{a,z}	2,69 ^{b,x}	2,49 ^{b,x}	2,00 ^{b,x}	1,52 ^{b,x}	1,00 ^{c,x}	1,00 ^{c,x}
	C	4,30 ^{a,z}	4,06 ^{a,z}	4,33 ^{a,z}	4,85 ^{a,z}	3,07 ^{a,z}	3,27 ^{a,z}	3,03 ^{a,z}
	D	3,15 ^{a,z}	2,87 ^{b,x}	3,03 ^{a,x}	3,06 ^{a,x}	2,92 ^{b,x}	1,00 ^{c,x}	1,00 ^{c,x}
	K2	4,23 ^{a,z}	3,82 ^{a,z}	3,53 ^{a,z}	3,45 ^{a,z}	2,82 ^{b,x}	2,21 ^{b,z}	2,53 ^{b,z}
	K4	4,10 ^{a,z}	4,00 ^{a,z}	4,00 ^{a,z}	4,00 ^{a,z}	3,66 ^{b,z}	2,83 ^{b,z}	2,41 ^{b,z}

A: % 2 asetik asit - % 0,1 eugenol; B: % 2 asetik asit - % 0,5 eugenol; C: % 4 asetik asit - % 0,1 eugenol

D: % 4 asetik asit - % 0,5 eugenol; K2: % 2 asetik asit; K4: % 4 asetik asit

a,b: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

z,x: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel olarak farklıdır (p<0,05).

ANKARA, BOLU, ELAZIĞ VE TUNCELİ İLLERİNDEN ALINAN PİLİÇ ETİ ÖRNEKLERİNDEKİ SALMONELLA PREVALANSI VE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİ

Sunum Tipi: Oral

A.Teoman ÜNLÜ, Mikrobiyoloji, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Ahmet KOLUMAN, Mikrobiyoloji, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı
Abdullah DİKİCİ, Gıda Mühendisliği, Tunceli Üniversitesi
Sibel ÖZKÖK, Mikrobiyoloji, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı

Özet

Küresel olarak gıda kaynaklı enfeksiyonlar içerisinde Salmonella serotipleri ayrı bir yer edinmiştir. Çapraz kontaminasyon ve üretim hijyenine bağlı olarak risk oluşturan bu enfeksiyonlar seyri ve sonucu açısından önem göstermektedir. Bu çalışmada dört ayrı ilden (Ankara, Bolu, Elazığ, Tunceli) alınan toplam 100 adet piliç etinde Salmonella varlığı Real Time PCR ile tespit edilmiş, ISO 6579:2002 ile kültür tekniği kullanılarak izolasyon ve identifikasyon yapılarak, 16S rRNA dizi analizi ile doğrulama yapılmıştır. Doğrulama yapılan suşlarda antibiyotik duyarlılık ölçümü yapılmıştır. Analizler sonucunda toplam %12 oranında Salmonella kontaminasyonu olduğu saptanmış olup, dizi analizi ile tamamının Salmonella enterica olduğu saptanmıştır. Ancak serotip dağılımı ve alt tür dağılımı doğrulanamamıştır. Antibiyotik dirençlilik sonuçlarına göre tüm suşlar novobiyoisin ve vankomisine dirençli bulunmuştur. Takiben suşların %91.6'sında metisilin, %66'sında tetrasiklin, %41.6'sında gentamisin, %25'inde amoksisilin, %8.3'ünde ampisilin direnci gözlemlenmiştir. Suşların hiçbirinde trimetoprim sülfametoksazol ve enrofloksasin direnci gözlemlenmemiştir.

Anahtar kelimeler: Salmonella, Antibiyotik direnç, 16S rRNA, Real Time PCR, piliç eti

Prevalence and antibiotic susceptibility of Salmonella in chicken meat samples sold in retail markets of Ankara, Bolu, Elazığ ve Tunceli provinces

Abstract

Salmonella serotypes are significant in global food borne diseases. Salmonellosis is important both with risks of cross contamination and production hygiene and prognosis of the infection. This study was held with a sum of 100 chicken meat obtained from 4 different cities (Ankara, Bolu, Elazığ, Tunceli) in Turkey. All samples were analysed for Salmonella contamination with Real Time PCR and isolation and identification of strains were held with conventional cultural technique ISO 6579: 2002. All strains were confirmed to be Salmonella with 16S rRNA sequence analysis. Antibiotic resistance of these strains were evaluated. Salmonella contamination was detected in %12 of samples. All strains were confirmed to be Salmonella enterica with sequence analysis but no further serotyping was available. Antibiotic resistance of the strains were 100 % to novobiocin and vancomycin, 91.6 % methicillin, 66% tetracycline, 41.6% gentamicin, 25% amoxicillin, 8.3% ampicillin. No resistance to trimethoprim sulfamethoxazole and enrofloxacin.

Key words: Salmonella, Antibiotic resistance, 16S rRNA, Real Time PCR, chicken meat

Giriş

Sahada insanlarda salmonellozis vakalarına karşı kullanılan pek çok antibiyotikğin veteriner alanında da kullanıldığı bilinmektedir. Bu durum, kontamine gıdaların tüketilmesi sonucunda antibiyotik dirençliliğini tetikleyebilir ve özellikle *Salmonella* başta olmak üzere diğer zoonoz bakterilerin halk sağlığı adına ciddi problemler yaratmasına sebep olabilir (9, 27). Standart laboratuvar metodları ile *Salmonella*'ların izolasyonu ve identifikasyonu oldukça zaman almaktadır (19, 23). Polimerize zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR), özellikle patojenlerin teşhisi ve identifikasyonunda oldukça süre açısından hız kazandıran, duyarlılığı geliştirilen metodlar ile giderek artan, hızla yaygınlaşan özgün bir metoddur. (6, 13, 18). PCR'ın diğer avantajları ise, antijenlerin biyokimyasal ve fenotipik varyasyonlarına rağmen mikroorganizmaları teşhis edebilmesidir ve antijenlerin ekspresyonuna veya bir substratın kullanımına bağımlı olmamasıdır (12). PCR'ın bir başka avantajı ise mikroorganizmalar arası filogenetik yakınlığın ortaya konulabilmesidir (28). Filogenetik yakınlığın ortaya konulduğu, taksonomiden en çok kullanılan genetik materyal bölümü 16S rRNA'dır (11, 25). 16S rRNA sekans analizleri ile iki organizma arasındaki akrabalığı tür düzeyi ve yukarıdaki kategorilerde ortaya koymaktır. Fakat, aynı türe ait olan organizmalar arasındaki ayırt ediciliği ortaya koyması için tek başına yeterli bir teknik değildir (17). Bu çalışmada farklı illerden toplanan 100 adet pilic pirzola örneğinde Real time PCR ve klasik kültür metodları ile *Salmonella* aranacak, 16S rRNA sekans analizi ile doğrulandıktan sonra izole edilen suşlarda antibiyotik dirençlilik testleri yapılacaktır.

Gereç Yöntem

Bu çalışmada Ankara, Bolu, Elazığ, Tunceli illerinin her birinden alınan 25 adet pilic pirzola örneği ile yapıldı. Örnekler illerde rastgele örneklem ile toplandı. Örnekler aseptik şartlar altında alındıktan sonra soğuk zincirde laboratuvara ulaştırıldı.

Ön zenginleştirme

Soğuk zincir altında laboratuvara getirilen pirzola örnekleri aseptik şartlar altında 25 g alınarak steril filtrelili poşetlere ilave edildi. Alınan örneklerle 225 ml Tamponlanmış peptonlu su ilave edilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

Real Time PCR

Real-time PCR ile *Salmonella*'ların tespiti için hedef bölge olarak *invA* genini kapsayan ABI (Applied Biosystems)'nin identifikasyon kiti kullanıldı. PCR ile kültür tekniğinin kıyaslanması kapsamında AOAC (Association of Official Analytical Chemists) ve AFNOR tarafından validasyonu (geçerli kılınması) yapılmış bir kit kullanıldığından dolayı, ilgili kitin identifikasyonda kullandığı primerlerin kaç baz çifti olduğu ve dizilimi ticari sır olduğundan dolayı prospektüste paylaşılmamıştır (ABI, Taqman *Salmonella* Enterica Detection Kit Protocol, ABD). PCR 30 µl'lik karışım hacminde, 3 µl 10x Assay master mix, 12 µl template DNA, 15 µl 2x master mix, şekilde eklenerek PCR karışımı hazırlandı (ABI 4407760, ABD). *invA* gen sekansına yönelik primer çiftlerinin çoğalttığı bölgeye spesifik TaqMan probu kullanılarak yapılan real-time PCR analizindeki amplifikasyon; 95°C'de 15 saniye denatürasyon, 60°C'de 1 dakika primer bağlanması ve ekstensiyon aşamalarını içeren 45 siklustan oluşmuştur.

Klasik kültür ile sonuçların doğrulanması

Inkübasyon sonrası ön zenginleştirmeden 1 ml Mueller Kauffman Tetrathionate broth (TT broth) ve 100µl Rappaport Vassiliadis Broth (RVS) içerisine aktarılmıştır. TT broth 37°C'de 24 saat, RVS 42°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Selektif ön zenginleştirmelerden 1 öze dolusu alınarak Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD) ve XLT4 agara çizilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Siyah koloniler *Salmonella* şüpheli kabul edilerek Nutrient Agar (NA) çizilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası API 20E ile identifikasyon yapılmıştır.

16S rRNA dizi analizi ile doğrulama

Bu aşama için REF-GEN firmasından hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

Antibiyotik dirençlilik analizi

Piliç pirzolarından elde 12 adet *Salmonella* suşunun antibiyotik duyarlılık testleri Kirby-Bauer disk Diffüzyon yöntemine uygun olarak yapıldı. Test sonucunda oluşan zonlar CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute)'e standartlarına göre değerlendirildi (2). Nutrient agar üzerinden alınan koloniler, içertsinde 4-5 ml TSB bulunan tüplere transfer edilerek, buyyon kültürü 37 oC'de, turbiditesi 0.5 McFarland standardına gelinceye kadar (genellikle 2-6 saat) İnkübe edildi. İnoküle edilen süspansiyonun turbiditesi ayarlandıktan sonra, steril bir pipet yardımıyla 0,1 ml alınarak, hazırlanan Mueller-Hinton agar (MHA) üzerine (4 mm kalınlığında) aktarıldı ve steril bir drigalski çubuğu yardımıyla, petrilere homojen bir şekilde yayılması sağlandı. Bir dispenser yardımıyla Metisilin (5 µg) (Oxoid, CT 029 B), Amoksisilin/Klavulanik asit (30 µg) (Oxoid, CT 223 B), Ampisilin (10 µg) (Oxoid, CT 003 B), Tetrasiklin (10 µg) (Oxoid, CT 053 B), Sülfametoksazol/Trimetoprim (25 µg) (Oxoid, CT 052 B), Novoblosin (5 µg) (Oxoid, CT 037 B), Gentamisin (10 µg) (Oxoid, CT 024 B), Mezlosillin (30 µg) (Oxoid, CT0174B) ve Vankomisin (30 µg) (Oxoid, CT 058 B) diskleri her bir petriye 10 adet disk ve aralarında da en az 2,4 cm olacak şekilde eşit olarak yerleştirilerek 15 dakika içerisinde 37 oC'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan 16-18 saat sonra diskler etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapı CLSI'e standartlarına göre değerlendirildi.

Bulgular

Çalışmamızda 4 ilden 25'er pirzola örneği işleme alınmıştır. Analize alınan toplam 100 piliç örneğinin 12'sinde (% 12) *Salmonella* kontaminasyonu belirlenmiştir (Tablo 1). Real Time PCR ve Klasik Kültür tekniği kıyaslamasında sadece Elazığ'dan alınan 1 örnekte Real Time PCR ile *Salmonella* olduğu bildirilmesine karşılık kültür tekniği ile izole edilememiştir (Tablo 1).

Salmonella suşlarından elde ettiğimiz dizi analizi sonuçları, BLAST adı (Şekil 1) verilen nükleotid veri tabanını kullanan bir bilgisayar programı ile tüm izolatların tür düzeyinde *Salmonella enterica* olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2). Ancak serotip düzeyinde tiplendirme yapılamamıştır (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Tartışma

Bu çalışmada farklı illerden toplanan toplam 100 pirzola örneğinin %12'sinde *Salmonella* tespit edilmiştir. Portekiz'de yaptıkları bir çalışmada 300 adet tavuk karkasının % 57'sinde *Salmonella* kontaminasyonu tespit etmişlerdir (15). Hindistan'da yapılan başka bir çalışmada ise marketlerde satışa sunulan 50 adet broiler karkas etinde % 4 düzeyinde *Salmonella* spp. tespit etmişlerdir (14). İskoçya'da 477 adet tavuk karkası üzerine yapılan bir çalışmada % 45 oranında *Salmonella* spp. kontaminasyonu rapor edilmiştir (21). İspanya'da kanatlı etli ve ürünlerinde (tavuk karkası, tavuk parçaları ve iç organları ve işlenmiş tavuk ürünleri) *Salmonella*'nın insidensini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada ortalama % 49 oranında *Salmonella* spp. saptandığı bildirilmiştir (4). Tavuk karkaslarında *Salmonella* kontaminasyon oranının farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda % 5 ile % 100 arasında değişebileceği rapor edilmiştir (5). Yurt içinde yapılan çalışmalarda ise; Ankara'da tüketime sunulan toplam 120 adet karkasının %13.3 *Salmonella* spp. izole edilmiş, bunların serotiplendirilmesi sonucu 4'ünün *S. Enteritidis*, 4'ünün *Salmonella* sero-grup C ve 9'unun *Salmonella* sero-grup B'ye dahil olduklarını saptamıştır (8).

Başka bir çalışmada da 50 adet tavuk etinin mikrobiyolojik analizini yapmış ve % 38 oranında *Salmonella* spp. izole etmiştir (26). Erol ve ark. (2004), piliç karkaslarında *Salmonella*'ların varlığını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 69 örneğin 61'inden (% 88.4) *Salmonella* izole ettiklerini bildirmişlerdir (7). Tavuk kesimhanelerinin parçalama ünitelerinden toplanan 662 boyun ve kanat örneğinin 58'inden (% 8.7) *Salmonella* izole edildiği bildirilmiştir (29). *Salmonella* serogruplarının prevalansını araştırmak için yapılan bir çalışmada, 315 adet tavuk kanatının % 18.9'undan *Salmonella* spp. izole edilmiştir (10). Aynı çalışmada izole edilen suşlardan 27'sinin (%8.57) serogrup D'de yer alan *S. Enteritidis*, 30' ununda A, B, C, D serogruplarına ait olmayan ve tiplendirilemeyen *Salmonella* olduğu belirlenmiştir (10).

Bir grup araştırmacı, tavuklardan izole ettikleri 38 *S. Enteritidis* suşunun tümünün ampisilin, gentamisin, tetrasiklin ve trimetoprim + sulfametaksasole duyarlı olduğunu belirtmişlerdir (20). Farklı bir grup araştırmacının yaptıkları bir çalışmada ise, tavuklardan izole ettikleri tüm *S. Enteritidis* suşlarının ampisilin, gentamisin, enrofloksasin ve trimetoprim + sulfametaksasole duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir (22). Broyler piliçlerden yapılan bir çalışmada, izole edilen *S. Enteritidis* suşlarının ampisiline % 79 oranında dirençli olduğu bildirilmiştir (14). Başka bir çalışmada ise, broyler tavuklardan izole ettiği bütün *S. Enteritidis* suşlarının vankomisine dirençli olduğunu saptanmıştır (5). Yurdumuzda yapılan çalışmalarda; kanatılardan izole edilen 33 *Salmonella* suşunun trimetoprim-sulfametoksazola % 61.7, gentamisine % 21.2, enrofloksasine % 2.1 dirençli olduğunu tespit edilmiştir (3). Van yöresinde yapılan bir çalışmada bazı kanatlı dışkılarından izole edilen 49 adet *Salmonella* suşunun enrofloksasine % 92.83, ampisilin, gentamisin ve tetrasikline % 67.34, trimetoprim-sulfametaksasole % 51.02, oranında duyarlı oldukları tespit etmiştir (1). Kesimhanelerden toplanan örneklerden izole edilen 58 *Salmonella* suşunun 3'ünün (% 5.2) tetrasiklin ve ampisiline, 2'sinin (% 3.4) gentamisine ve 1'inin (% 1.7) sulfametoksazol-trimetoprim dirençli bulunduğunu rapor edilmiştir (29). Başka bir çalışmada ise, kanatılardan izole edilen *Salmonella* suşlarının, metisilin, novobiosin ve vankomisin'e % 100, gentamisin'e % 90.91 ve enrofloksasin'e % 9.09 oranında dirençli olduğu saptanmıştır (24).

Sonuç ve Öneriler

Türkiye'de ve diğer ülkelerde yapılan araştırmalarda insanlardan, kanatlı hayvanlardan ve kanatlı ürünlerinden izole edilen *Salmonella*'ların antibiyotik dirençliliklerinin ülkelere ve hatta coğrafi bölgelere göre farklı dağılım göstermektedir. Ülkelerde ve coğrafi bölgelerde görülen bu farklılık kullanılan farklı bölge ve ülkelerde uygulanan antibiyotik çeşitliği ve kullanım sıklığı ile ilişkilendirilebilir. İnsanlarda görülen antibiyotiklere dirençli *Salmonella*'ların birçok kaynağı hayvansal orijinli gıdalardır. Bundan dolayı çiftlik hayvanlarında mümkün olduğunca ve zorunlu kalmadıkça antibiyotik kullanılmamalıdır. Çiftliklerde hijyen ve sanitasyon koşullarının oluşturulması ve artırılması ile antibiyotik dirençli patojenlerin oluşumu ve yayılması büyük oranda azaltılabilir.

Kaynaklar

1. AKSAKAL, A. (2003). Bazı kanatlıların dışkılarında *Salmonella* türlerinin varlığı ve yaygınlığı ile antibiyotiklere duyarlılıkları, YYÜ, Vet. Fak. Derg., 14(1): 95-101.
2. ANON, (2006). CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 16th Informational Supplement. CLSI Document M100-S16, 26. Wayne, Pennsylvania, USA.
3. BOYNUKARA, B., AYDIN, F. (1990). Tavuklardan izole edilen *Salmonella* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerinde bir araştırma. Türk Vet. Hek. Derg., 90(6): 21-23.
4. CAPITA, R., ALVAREZ-ASTORGA, M., ALONSO-CALLEJA, C., MORENO, B., DEL CAMINO GARCIA-FERNANDEZ, M. (2003). Occurrence of *Salmonella* in retail chicken carcasses and their products in Spain. Int. J. Food. Microbiol., 81(2): 169-173.

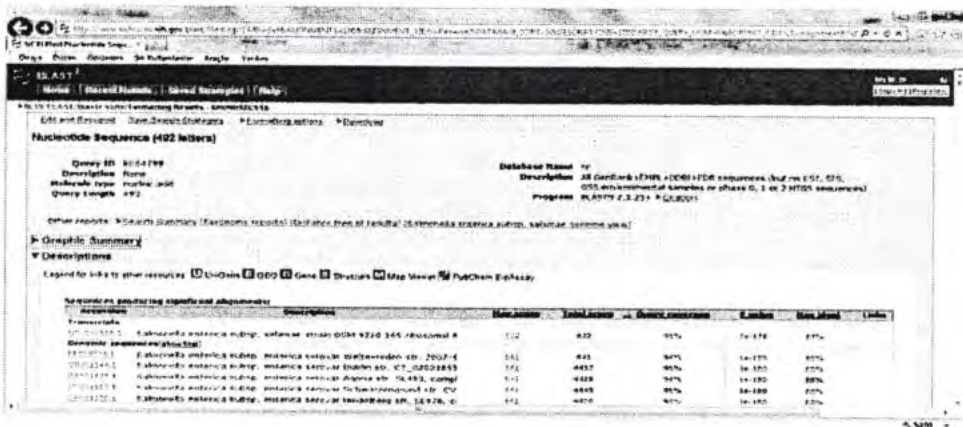
5. CHANG, Y.H. (2000). Prevalence of *Salmonella* spp. in poultry broilers and shell eggs in Korea. *J. Food Prot.*, 63(5): 655-658.
6. CORTEZ, A.L.L., CARVALHO, A.C.F.B., IKUNO, A.A., BURGER, K.P., VIDAL-MARTINS, A.M.C. (2006). Identification of *Salmonella* spp. Isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR, *Vet. Sci.*, 81: 340-344.
7. EROL, İ., YURTYERI, A., HILDEBRANDT, G., KLEER, J., BİLİR ORMANCI, F.S., KOLUMAN, A. (2004). *Salmonella*'ların piliç karkaslarından kültür tekniği ve immüno-manyetik PCR ile karıştırmalı olarak saptanması. 1.Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 29 Eylül-1 Ekim 2004. s.: 29-38.
8. FIDANCI, H.A., BEKAR, M., DULKAN, B., TUTLUER, H. (1994). Ankara'da tüketime sunulan Broyler karkas parçalarında *Salmonella* insidensi. 1. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi. 27-29 Eylül 1994, ANKARA.
9. GAY, J.M., RICE, D.H., STEIGER, J.H. (1994). Prevalence of faecal *Salmonella* shedding by cull dairy cattle marketed in Washington State. *J.Food Prot.*, 57: 195-197.
10. GONCAGÜL, G., GÜNAYDIN, E., ÇARLI, K.T. (2005). Prevalence of *Salmonella* serogroups in chicken meat. *Türk. J. Vet. Anım. Sci.*, 29: 103-106.
11. HARMSSEN, D., KARCH, H. (2004). 16S rDNA for diagnosing pathogens: a living tree. *ASM News* 70: 19-24.
12. HOORFAR, J., BAGGESEN, D.L., PORTING, P.H. (1999). A PCR-based strategy for simple and rapid identification of presumptive *Salmonella* isolates. *J. Microbiol. Meth.*, 35: 7-84.
13. JENIKOVA, G., PAZLAROVA, J., DEMNEROVA, K. (2000). Detection of *Salmonella* in food samples by the combination of immunomagnetic separation and PCR assay, *Int. Microbiol.*, 3: 225-229.
14. LEE, L.A., THREATT, V.L., PUHR, N.D., LEVINE, P., FERRIS, K., TAUXE, R.V. (1993). Antimicrobial-resistant *Salmonella* spp. isolated from healthy broiler chickens after slaughter. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, 202(5): 752-755.
15. MACHADO, J., BERNARDO, F. (1990). Prevalence of *Salmonella* in chicken carcasses in Portugal, *J.Appl.Bacteriol.*, 69: 477- 480.
16. NAIR, K.K.S., RAO, D.N., HALEM, M.A. (1990). Bacteriological quality of dressed chicken, *Indian Vet.*, 67: 55-58.
17. O'DONNELL, A.G., FALCONER, C., GOODFELLOW, M., WARD, A.C., WILLIAMS, E. (1993). Biosystematics and diversity amongst novel carboxydophilic actinomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 64: 325-340.
18. OLIVEIRA, S.D., SANTOSA, L.R., SCHUCHA, D.M.T., B, SILVAA, A.B., SALLEA C.T.P., CANALA, C.W. (2002). Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR. *Vet.Microbiol.*, 87: 25-35.
19. OLIVEIRA, S.D., RODENBUSCH, C.R., ROCHA, S.L.S., CANAL, C.W. (2003). Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. *Lett.Appl.Microbiol.*, 36: 217-221.
20. RAMPLING, A., UPSON, R., BROWN, D.F.J. (1990). Nitrofurantoin resistance in isolates of *Salmonella enteritidis* phage type 4 from poultry and humans. *J.Antimicrob. Chemother.*, 25: 285-290.
21. REILLY, W.J., OBOEGBULEM, S.I., MUNRO, D.S., FORBES, G.I. (1991). The epidemiological relationship between *Salmonella* isolated from poultry meat and sewage effluents at a long-stay hospital, *Epidem. Infect.*, 106: 1-10.
22. SINGER, J.T., OPITZ, H.M., GERSHMAN, M., HALL, M.M., MUNIZ, I.G., RAO, S.V.(1992). Molecular characterization of *Salmonella enteritidis* isolates from maine poultry and poultry farm environments. *Avian Dis.*, 36: 324-33.
23. STONE, G.G., OBERST, R.D., HAYS, M.P., MCVEY, S., CHENGAPPA, M.M. (1994). Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure. *J.Clin.Microbiol.*, 32: 1742- 1749.

24. TAYAN, U. (2008). Tavuklardan izole edilen *Salmonella* etkenlerinin çoklu antibiyotik dirençliliği. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
25. TORTOLI, E. (2003). Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. *Clin.Microbiol.Rev.*, 16: 319-354.
26. USCA, A. (1996). Ankara'daki askeri birliklerin ihtiyacı için alınan tavuk etlerinin mikrobiyolojik kaliteleri üzerine araştırmalar, Yüksek lisans Tezi, Ank.Ünv. Sağlık Bilim.Enst. Ankara.
27. WEGNER, H.C., AARESTRUP, F.M., GERNER-SMIDT, P. BAGER, F. (1999). Transfer of antibiotic resistant bacteria from animals to man. *Acta Vet.Scand.Suppl.*, 92: 51-57.
28. WOESE, C. R. (1987). Bacterial evolution. *Microbiol.Rev.*, 51: 221-271.
29. YAZICIOĞLU, N., KAYA, K., AYAZ, Y., SEN, S., ÖZKÖK, S., AKSOY, M., YAVUZ, M. K., KAPLAN, Y. Z., TUNCA, S. T., VURAL, S., EVGİN, N., KARAKOÇ, S. R., MİROĞLU, M., TURUT, N. (2005). Kanatlı kesimhanelerinin parçalama ünitelerinden alınan boyun ve kanat örneklerinden *Salmonella* izolasyonu, serotiplendirilmesi ve antibiyotik dirençliliğinin araştırılması. *Etik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, 16(1-2): 23-36.

Tablo 1. Piliç piizolalarındaki *Salmonella* prevalansının illere göre Real Time PCR ve klasik kültür metodu ile karşılaştırılması.

İller	İzolasyon metodu		16s rRNA doğrulama
	Real Time PCR	Klasik Kültür	
Ankara	2/25 (% 8)	2/25 (%8)	2/25 (%8)
Bolu	5/25 (%20)	5/25 (%20)	5/25 (%20)
Tunceli	3/25 (%12)	3/25 (%12)	3/25 (%12)
Elazığ	3/25 (%12)	2/25 (%8)	2/25 (%8)
Toplam	13/100 (%13)	12/100 (%12)	12/100 (%12)

Şekil 2. Elde edilen suşların BLAST veri tabanında *Salmonella enterica* bulunduğunu gösteren sonuç tablosu.



GIDALARDA ANTİBİYOTİK KALINTILARI VE GIDA KAYNAKLI PATOJEN BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİK: DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE SON DURUM

Sunum Tipi: Oral

Ali Aydın - İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Avcılar Kampüsü, İstanbul

Giriş

Veteriner hekimlik alanında farmakolojik etkiye sahip maddeler, diagnostik, profilaktik, metaflaktik ve terapötik amaçlar dışında, verim artırma amacıyla da kullanım alanı bulmaktadır. Veteriner ilaç kalıntıları, gıda üretiminde yararlanılan ve ilaç uygulanmış hayvanlardan elde edilen gıdalarda bulunan farmakolojik etkiye sahip etkin madde, taşıyıcı madde veya parçalanma ürünleri ile bunların metabolizma ürünleri olarak tanımlanmaktadır (Erol, 2007). Kalıntı yönünden en etkili farmakolojik maddeler arasında antibiyotikler ilk sıralarda yer almaktadır. Bunun nedenleri olarak, hayvanlara öngörülen dozlardan fazla ilaç verilmesi ve özellikle de ilaç uygulanan hayvanların ilacın yasal bekleme süresine uyulmadan kesime sevk edilmesi vb. faktörler gösterilmektedir (Klein, 2007). Bunun sonucunda, antibiyotiklerin tamamen metabolize olmaması veya vücuttan tamamen atılmasına bağlı olarak, hayvanların doku ve organları ile bunlardan elde edilen hayvansal gıdalarda (süt, yumurta vb.) antibiyotik kalıntısı bulunabilmektedir. Söz konusu etkilerin önüne geçilmesi amacıyla, antibiyotiklerin birçoğunun profilaktik ve gelişmeyi artırması amacıyla yem maddelerine ilave edilmesi, olası dirençlilik ve diğer nedenlerden ötürü Avrupa Birliği (AB)'nde yasaklanmıştır (Erol, 2007).

Dünyada üretilen antibiyotiklerin % 50'si insan ve diğer % 50'si ise veteriner hekimlik alanında kullanılmaktadır (Bayhün, 2008). Dünyada antibiyotik kullanımı incelendiğinde, hayvanlarda 11.2 milyon kg antibiyotiğin subterapötik, 0.9 milyon kg antibiyotiğin terapötik amaçlı, insanlarda ise 1.3 milyon kg antibiyotiğin tüketildiği ifade edilmektedir. Diğer taraftan, Amerika'da 2001 yılında hayvanlarda antibiyotik tüketim miktarı (10.250 ton) insanlarda kullanımın yaklaşık 3 katı iken (3.500 ton), 2010 yılında bu oranın yaklaşık 4 kat olduğu (14.350 ton/3.650 ton) bildirilmektedir (FDA, 2011).

İnsan, hayvan ve bitkilerde antibiyotiklerin aşırı kullanımı, bütün dünyada mikroorganizmalar üzerinde büyük bir selektif baskı oluşturmakta ve mikroorganizmalar antibiyotikler ile karşılaştıkları zaman er ya da geç direnç kazanmaktadırlar. Bunun birlikte gıdalarda bulunan antibiyotikler; söz konusu antibiyotiklere alerjisi olan insanlar içinde önemli bir problem teşkil etmekte, ayrıca gıda üretiminde özellikle fermentasyon teknolojisinde sorun oluşturmaktadır (Klein, 2007). Bu noktada aşırı düzeyde ve kontrolsüz olarak, hayvan ve insanlarda aynı grup antibiyotiklerin sıklıkla kullanımı, bakterilerdeki antimikrobiyal direncin artmasındaki önemli bir etken olarak görülmektedir (Aarestrup, 2008; Oliver ve ark., 2011). Sağlıklı hayvanların intestinal florasındaki bakteriler direnç genleri için taşıyıcı rol oynamakta, hayvanlar ile doğrudan temas, gıda maddeleri ve su sayesinde insanlara bulaşabilmektedir. Buna bağlı olarak, direnç zedelenmiş deri ve mukoza yolu (horizontal bulaşma) ile insan patojenlerine geçebilmekte ve enfeksiyon tedavileri başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir (EFSA, 2010).

Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalardan bazıları antibiyotik dirençlilik bakımından önem taşımaktadır. Söz konusu patojenler arasında ilk akla gelen mikroorganizmalar olarak *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* sayılmaktadır (EFSA, 2010; Klein, 2007; Mayrhofer ve ark., 2004; McEntire ve Montville 2007; Oliver ve ark., 2011; White ve ark., 2002).

Bunun yanında, çoğunlukla fırsatçı patojen olarak bilinen *Yersinia enterocolitica* bazı *Enterococcus* türlerinin (vankomisin resistant *Enterococcus* spp.) direnç konusunda oldukça tehlikeli olabileceği ifade edilmektedir (Klein, 2007; Hammerum ve ark., 2010). Birçok araştırmada, antibiyotik dirençli patojen mikroorganizmaların çoğunlukla hayvansal kaynaklı gıda maddelerinden izole edildiği, bunlardan süt ve süt ürünleri ile et (sığır, koyun, kanatlı, domuz vb.) ve et ürünlerinin ilk sıralarda yer aldığı bildirilmektedir (Aydın ve ark., 2011; Bostan ve ark., 2009; Chao ve ark., 2007; Mayrhofer ve ark., 2004; Normanno ve ark., 2007; Sudağidan ve Aydın, 2009).

Antibiyotik direnci tehlikesiyle karşılaşılacağına, gıda maddelerinde kullanımına izin verilen ilaçların neden olduğu kalıntıların yol açacağı toksisite riskinin oldukça düşük olduğu bilinmektedir. Buna rağmen, insanların zararlı düzeylerde kalıntılara maruz kalmalarının engellenmesi amacıyla, AB tarafından hayvansal gıda maddelerinde 'Veteriner İlaçların Maksimum Kalıntı Limitleri' (MRL) belirlenmiştir (EC, 2010). Söz konusu Komisyonun 'Aktif Farmakolojik maddeler' ile ilgili düzenlemesinde antibiyotikler dahil olmak üzere, hayvansal kaynaklı gıda maddelerindeki maksimum kalıntı limitleri listelenmektedir. Bunun dışında, ABD ve AB dahil birçok ülkede gıda amaçlı yetiştirilen hayvanlar ile hayvansal ürünlerde antibiyotik dirençliliğin izlenebilmesi ve kontrolü açısından "Antibiyotik Dirençlilik İzleme" ile ilgili veri tabanı programları uygulamaya konulmaktadır (Vieira, 2009).

Gıda Maddelerinde Antibiyotiklerin Tespit Yöntemleri

Avrupa Birliği'nin 2002/657 sayılı "Veteriner İlaçları Kalıntıları Tarama Yöntemlerinin Validasyonu İçin Rehber" tüzüğü (EC, 2002) kapsamında kalıntı analiz yöntemleri, kalitatif veya (yanı) kantitatif olarak sınıflandırılmalarının yanında, tespit prensibine göre de sınıflandırılmaktadır. Kalitatif ve yanı kantitatif yöntemler gıda maddelerinde aranan kalıntının sırasıyla var ve ya yok şeklinde ortaya konmasını sağlamakta ya da miktarını yaklaşık olarak vermektedir. Kantitatif yöntemler [kapillar elektroforez, gaz kromatografisi (GC), ince tabaka kromatografisi (TLC), yüksek basınçlı likit kromatografisi (HPLC), likit kromatografi mass spektrometri (LC MS/MS)] ise genel olarak doğruluk ve duyarlılık limiti açısından istenilen gereksinimleri karşılamaktadır. Ulusal kalıntı programında (Anonim, 2011) bazı antibiyotiklere yönelik olarak ELISA ile Charm II testleri 'İzleme Metodu' olarak öngörüldürken, HPLC ile LC MS/MS metodları özellikle duyarlılık açısından 'Doğrulama Metodu' olarak tercih edilmektedir.

Tespit prensibine göre antibiyotik belirlenmesi; biyolojik, biyokimyasal ve fiziko-kimyasal yöntemler şeklinde 3'e ayrılmaktadır. Mikrobiyolojik veya immünokimyasal tekniklerin uygulanmasında örneklerin önceden hazırlanmasını gerektirmeden antibiyotik kalıntılarının aranması bir avantaj olarak görülmektedir. Fizikokimyasal teknikler ise, antibiyotik kalıntısı şüpheli gıda örneklerinde miktarın belirlenmesine olanak sağlamaktadır (Filazi ve Yurdakök, 2010).

Mikrobiyolojik yöntemler, antibiyotik kalıntısını hücresel yanıtı göre (bakteri üremesinin engellenmesi gibi) belirlemektedir. Bu yöntemler, seçici olmama ve en fazla birkaç kimyasal grubu aynı anda belirleme özelliğine sahiptir. Sütlerde antibiyotik kalıntılarının belirlenmesi için kullanılan teknikler arasında yoğurt kültür testi, Charm testi [BSDA (*Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*), Cow Side, Charm rosa, II vb.], ve Delvotest (Delvotest P, SP) sayılmaktadır.

Biyokimyasal yöntemler, kalıntı ile antikor veya reseptör proteinler arasında moleküler etkileşimin izlenmesi ve tespiti prensibine dayanmaktadır (Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Radio İmmün Assay (RIA), fluoroimmunoassay). Bu yöntemler bazen tek bir antibiyotiğe, bazen de birbirine yakın moleküler yapıya sahip bir grup antibiyotiğe seçicilik gösterebilmektedir (Bergwerf, 2005). Bu yöntemler başlıca beta laktam antibiyotiklerinin belirlenmesi için alternatif yöntem olarak tercih edilmiştir (Filazi ve Yurdakök, 2010). Beta laktamlara özel reseptör proteinleri veya penisilin bağlayan proteinler (PBP), beta laktamları belirlemek için geliştirilen bazı yöntemler (Blacore Analiz, Penzym Test, Beta Star Test, SNAP Test ve Delvo-X-Press gibi) başarılı biçimde kullanılmış ve biyolojik

yöntemlerden daha hızlı sonuç verdikleri bildirilmiştir (Gustavsson ve Sternesjö, 2004). Fizikokimyasal yöntemler ise, antibiyotiklerin kimyasal yapı ve moleküler özelliklerinin farklı olması nedeniyle ayrılması (GC, TLC, HPLC) ve moleküle özgü bir şekilde verdikleri sinyallerin ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Söz konusu cihazlar, moleküler yapıları birbirine benzeyen bileşikler arasında da ayırımı yapabilmekte ve birden fazla antibiyotik kalıntısının birlikte tespitine olanak sağlamaktadır. Bu yöntemlerden HPLC ile LC MS/MS günümüzde özellikle gıda analizlerinde doğrulama metodu olarak önerilmektedir (Anonim, 2002).

Antibiyotik tespit yöntemlerinde de uygulama alanı bulan Biyosensör teknolojisi özellikle nano teknolojiye dayanması ile son 20 yıldır değişerek hızla büyüyen bir araştırma dalıdır. Biyosensör araştırmaları sürekli izleme ve multi-kalıntı belirlemesi hedefi ile daha güvenilir cihazların geliştirilmesini amaçlamaktadır. Buna ilişkin olarak validasyonu yapılmış olan Twin sensor BT (beta laktam grubu ve tetrasiklin) hızlı test, sütte beta laktam ve tetrasiklinlerin birlikte ve hızlı bir şekilde tespitini sağlamaktadır (Bergwerf, 2005).

Antibiyotik Dirençlilik

Antimikrobiyal direnç, mikroorganizmanın hayatta kalabilmesi için önemli bir unsurdur. Bir mikroorganizma antibiyotiklere karşı doğal (intrinsik direnç, kalıtsal direnç) dirençli veya duyarlı iken sonradan mutasyonla veya yeni genlerin kazanımı (kazanılmış direnç) ile dirençli hale gelmektedir (Gür, 2002). Bu izolatların öneminin artması, yalnızca hastane enfeksiyonlarına yol açması nedeni ile değil, epidemilere yol açabilmeleri ve tedavi seçeneklerinin çoklu antibiyotik direnci nedeni ile kısıtlı olmasından kaynaklanmasına da dayandırılmaktadır (Winn, 2006). Doğal direnç, mikroorganizmaların doğal yapısı sebebiyle söz konusu bakterilerde antibiyotiklerin etkili olabilecek hedef bölgelerin bulunmaması olarak tanımlanmaktadır. Gram negatif bakterilerin çoğu vankomisine ve metisiline, enterokoklar ise sefalosporinlere duvar yapılı nedeniyle doğal dirençlidir (Gür, 2002). Kazanılmış direnç ise, kromozom, transpozon veya plazmid DNA'sındaki mutasyonlarla ya da direnç geni taşıyan DNA dizilerinin başka bakterilerden transformasyon, transdüksiyon veya konjugasyon yoluyla alınması sonucu ortaya çıkan direnç olarak açıklanmaktadır. Streptomisin, rifampin ve florokinolonlara karşı gelişen direnç bu yolla olduğu bilinmektedir (Gür, 2002). Bakterilerde en sık görülen antibiyotik direncinin plazmid kaynaklı olduğu bildirilmektedir. Direnç plazmidleri üzerinde bakterilerin antibiyotik direncini kontrol eden genler bulunmakta ve bu plazmidler farklı cins ve tür bakterilere de aktararak direncin yayılmasına neden olmaktadır (Durmaz, 2008).

Mikroorganizmalarda Antibiyotik Dirençliliğinin Tespitinde Kullanılan Yöntemler

Bir antibiyotığın antimikrobiyel aktivitesinin saptanması için uygulanan in vitro işlemler, genel olarak duyarlılık testleri olarak adlandırılmaktadır. Duyarlılık testleri insan ve hayvanlarda klinik açıdan önemli ve enfeksiyona uygun antibiyotik seçimi amacıyla yapılmaktadır. Antimikrobiyel ilaçlara karşı duyarlılık testleri fenotipik ve genotipik olarak iki gruba ayrılmaktadır. Fenotipik testler de kendi arasında kalitatif (disk difüzyon) ve kantitatif (E-testi, MICE testi, mikrodilüsyon) yöntemler olarak iki grupta toplanmakta, bunun yanında son yıllarda kullanılan flow sitometride giderek ön planda yer almaktadır. Disk difüzyon yönteminde, şüpheli izolattan hazırlanan süspansiyon petri yüzeyine yayılmak suretiyle antibiyotik içeren disklerde zon çapına bağlı olarak değerlendirme yapılmaktadır. (NCCLS, 2003). E-testi ile MICE testinde, kullanılan stripin bir yüzünde bulunan ilaç konsantrasyonu belirli ve sürekli değişimi olacak şekilde düzenlenmiş olup, diğer yüzünde de ise antimikrobiyel ajanın konsantrasyonlarına karşılık gelen değerler sıralanmakta böylece Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri belirlenmektedir (Gülay, 1999). Mikrodilüsyon testinde belirli konsantrasyonlarda antibiyotik içeren besiyeri ortamlarında bakterilerin gelişiminin inhibisyonu incelenerek MİK değerinin saptanması sağlanmaktadır. Flow sitometri yöntemi ise antibiyotiklerin, bakteri hücrelerinde yarattığı fizyolojik etkilerin saptanması presibine dayanmaktadır. Bu işlemde canlı hücrelerde bakterisidal veya bakteriyostatik etki saptanarak (2-4 saat) sonuç alınmaktadır.

Genotipik yöntemler, son yıllarda kullanımı en çok tercih edilen duyarlılığı ve spesifitesi yüksek olan yöntemlerdir. Bugüne kadar tanımlanmış birçok antibiyotik direnç geni bulunmakta ve bu genlerin ekspresyonu sonucunda klinik tedavide kullanılan tüm antimikrobiyel ajanlara karşı direnç gelişebilmektedir. Söz konusu dirençlerin ortaya konulması amacıyla birçok moleküler yöntem geliştirilmiş olup, bu yöntemlerin yoğun biçimde kullanımı devam etmektedir. Günümüzde klinik laboratuvarlarda direnç genlerinin tayininde en sık kullanılan yöntem polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) olarak bilinmektedir. Bu yöntemlerden DNA hibridizasyonu tekniği atık eski yöntem olarak değerlendirilmekte, multipleks PCR ve Real Time PCR (RT-PCR) sıklıkla tercih edilen genotipik yöntemler olarak kabul edilmektedir (Kayacan, 2008). RT-PCR yönteminde nükleik asit konsantrasyonu da rahatlıkla tespit edilebilmektedir. Bunun dışında son yıllarda dizi analizi yapan Pyrosequencing vb. gibi cihazlarda kısa DNA zincirlerinde direnç genleri ve mutasyonlar saptanabilmektedir. Yine ters hibridizasyon adı verilen PCR bazlı teknikte de direnç genlerinin mevcudiyeti ve mutasyonları ortaya konulabilmektedir (Bozdoğan ve Sudağıdan, 2008). Ayrıca bir suşta bulunabilecek olası direnç genlerinin DNA microarray gibi yöntemler ile taranmasına ilişkin güncel çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

Patojen Bakterilerde Antibiyotik Dirençlilik

Günümüzde yapılan çok sayıda araştırmada patojen bakteriler dahil olmak üzere birçok mikroorganizmada antibiyotik dirençlilik ortaya konulmaktadır. Gıda kaynaklı birçok mikroorganizmada antibiyotik dirençlilik önemli olarak değerlendirilmekte birlikte, bazı patojen bakterilerde bu durum ayrı bir önem kazanmaktadır. Söz konusu patojenler arasında ilk aklı gelen mikroorganizmalar olarak *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* sayılmakta, bunun yanında, çoğunlukla fırsatçı patojen olarak bilinen *Yersinia enterocolitica* bazı *Enterococcus* türlerinin (vankomisin resistant *Enterococcus* spp.) direnç konusunda oldukça tehlikeli olabileceği ifade edilmektedir.

***Salmonella* spp.**

Salmonella türleri çoğunlukla gıda kaynaklı zehirlenme ve enfeksiyonlardan sorumludur. Günümüzde antibiyotik dirençlilik sorununa bağlı olarak, dünyada [ABD (M'ikanatha ve ark., 2010), Brezilya (Cardosa ve ark., 2006), Kanada (Cook ve ark., 2011), Avusturya (Mayrhofer ve ark., 2004), Yunanistan (Gousia ve ark., 2011), İran (Dallal ve ark., 2010), Çin (Chao ve ark., 2007), Tayland (Chuanchuen ve ark., 2010) Nijerya (Adetunji ve ark., 2011)] ve ülkemizde (Cetinkaya ve ark., 2008; Yıldırım ve ark., 2011) yapılan çalışmalarda gıda kaynaklı *Salmonella* spp.'nin antibiyotik dirençliliği araştırılmakta ve suşların, yaygın kullanıma bağlı olarak antibiyotiklere direnç gösterdiği bildirilmektedir.

Bunun yanında, *Salmonella* serovar Typhimurium DT 104 (Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamides, and Tetracycline (ACSSuT)), en az 5 antibiyotiğe dirençli et ile süt ürünlerinin tüketilmesi ile bulaşan bir etkidir. Diğer taraftan *Salmonella* serovar Newport MDR-AmpC suşu da, en az 4 antibiyotiğe dirençli (gentamisin, kanamisin, ve trimetoprim-sulfamethoxazole) epidemik salgınlar oluşturabilen türdür. Nispeten geçmiş ve yakın tahtte yapılan araştırmalar karşılığında *Salmonella* spp.'nin farklı antibiyotiklere karşı dirençlerinde gelişim gözlemlendiği izlenmektedir.

Campylobacter spp.

Campylobacter spp. gelişmiş ülkelerdeki en önemli gıda zehirlenmesi oluşturan etkenlerden biri olarak bilinmektedir. Her yıl yaklaşık 1 milyon campylobacteriosis vakasının sadece Amerika'da meydana gelmesi, etkenin tespiti ve eradikasyonu konusunda yoğun çalışmaların yapılmasına neden olmaktadır. Etkenin, rezervuarı olarak bildirilen kanatlılarda (çığ et, çapraz kontaminasyon vb.) bulunma insidensi hayli yüksektir. Yapılan çalışmalarda eritromisin ve florokinolonların tedavi amacıyla hayvansal tarımda kullanılması dirençliliğin oluşmasına etken olarak görülmektedir. FDA, florokinolonların kanatlılarda yoğun biçimde kullanımına bağlı olarak kinolon resistant Campylobacter suşlarının meydana geldiğini ve bu durumun insanlardaki vakaların tedavisini de güçleştirdiğini ifade etmektedir (Alfredson ve Korolik, 2007). Ülkemizde (Bostan ve ark., 2009) ve dünyada [ABD (Tadesse ve ark., 2011; Thakur ve ark. 2010), Kanada (Cook ve ark., 2011), İngiltere (Gormley ve ark. 2010), Danimarka (Andersen ve ark., 2006), Çek Cumhuriyeti (Ayers ve ark., 2011), Yunanistan (Gousia ve ark., 2011), İran (Rahimi ve ark., 2010; Rahimi ve Ameri 2010), Kore (Han ve ark., 2007), Tayland (Soonthronchaikul ve Garelick, 2009), Ethopya (Ewnetu ve Mihret, 2010), Güney Afrika (Bester ve Essack, 2008)] gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yapılan çalışmalar doğrultusunda da Campylobacter spp.'nin değişik düzeylerde farklı antibiyotiklere direnç gösterdikleri ve dirençlilik durumunun sürekli artış gösterdiği belirlenmiştir.

E. coli

E. coli gıda zehirlenmelerine neden olan bakteriler arasındadır. Çoğu suşları insanlar için patojen olmamakla birlikte bağırsak florasında mevcut olan mikroorganizmadır. Patojenik insan enfeksiyonlarında enterohemorajik *E. coli* için tipik bir antibiyotik bulunmamaktadır. Hayvan ve insanlara ait klinik izolatların incelendiği *E. coli* O157:H7 suşlarında çoğunlukla tetrasiklin, streptomisin, ve sulfametoksazole dirençlilik belirlenmiştir (McEntire ve Montville, 2007). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, gıda maddelerinden izol edilen florokinolon, sulfanamid, beta-laktam ve aminoglikozidlere dirençli *E. coli* suşları da tespit edilmiştir (Yang-Huang ve ark., 2009). Ülkemizde (Ünlü ve ark., 2011) ve dünyada [ABD (Krueger ve ark., 2011), Kanada (Cook ve ark., 2011), Avusturya (Mayrhofer ve ark., 2006), Yunanistan (Gousia ve ark., 2011), Danimarka (Jakobsen ve ark., 2010), İspanya (Mora et al., 2005); Suudi Arabistan (Altalhi ve ark., 2010; Hassan ve ark., 2011), Çin (Yang-Huang ve ark., 2009) yapılan çalışmalarda ve *E. coli* suşlarında antibiyotik duyarlılık araştırılmıştır.

Staphylococcus aureus

Gıdalarda meydana getirdiği intoksikasyonlar ve çeşitli enfeksiyonlara sebep olması ile *S. aureus* çok özel öneme sahip bir mikroorganizma olarak öne çıkmaktadır. Bunun yanında, son yıllarda Metisilin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) izolatlarının görülme sıklığında meydana gelen artışla birlikte stafillokok enfeksiyonlarının ve antibiyotiklere karşı mikroorganizmalardaki direnç gelişiminin kontrolü de önemli sorunlar olarak görülmektedir. Ayrıca beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç oranı da yüksek düzeydedir. *S. aureus*'un gıda üretim prosesine insan faktörüne bağlı olarak önem arz etmesi de göz önünde bulundurulması gereken önemli bir husustur (Aydın ve ark., 2011; Klein, 2007).

Ülkemizde gıda kaynaklı *S. aureus* izolatlarının antimikrobiyal direncini ortaya koymak amacıyla yapılmış çalışmalar (Aydın ve ark., 2011; Sudağıdan ve Aydın, 2009; Yücel ve ark., 2011, Ünal ve İstanbulluoğlu, 2009) nispeten yakın tarihe dayanmaktadır. Dünyada ise gıda kaynaklı *S. aureus* izolatlarının antimikrobiyal direncini ortaya koymak amacıyla ilgili çalışmalar uzun zamandan bu yana devam etmekte olup, yakın tarihte daha fazla önem kazanmıştır [ABD (Pu ve ark., 2011), Brezilya (Rizek ve ark., 2011)İtalya (Normanno ve ark., 2007), Çin (Chao ve ark., 2007), Yunanistan (Gousia ve ark., 2011)].

Listeria monocytogenes

L. monocytogenes önemli gıda enfeksiyonları ve sporadik gıda ile ilişkili listeriosis'e neden olan türdür. Mortalite düzeyi yüksek olup %30'a varabilmektedir. *L. monocytogenes* kaynaklı gıda enfeksiyonlarının sağaltımında tipik olarak ampicillin ve aminoglycoside yalnız veya kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Bunun yanında vancomycin, erythromycin, tetracycline ve chloramphenicol de listeriosis sağaltımında tercih edilmektedir. Yapılan çalışmalarda rifampin, clindamycin, tetracyclin, spectinomycin, erythromycin ve azithromycin'e karşı direnç gelişimi bildirilmiştir (Aarestrup ve ark., 2007; Bolivar ve ark., 2011; Sakaridis ve ark., 2011).

Yersinia enterocolitica

Y. enterocolitica fırsatçı patojen bir mikroorganizma olarak değerlendirilmekte ve bazı tipleri insanlarda enfeksiyon oluşturmaktadır. Almanya ve Avrupa ülkelerinde en çok enfeksiyon oluşturan suşu bioserotip 4/O:3 olarak bildirilmektedir (Meyer ve ark., 2011). Daha çok domuz kökenli kontaminasyonlar söz konusu olmaktadır. Yapılan çalışmalarda *Y. enterocolitica* suşlarının beta-laktam grubu (ampicillin), aminoglycoside (streptomycin) ve sulfanamid-trimethoprim grubu (sulfamethoxazole) antibiyotiklere dirençlilik belirlenmiştir (Meyer ve ark., 2011).

Enterococcus spp.

Antibiyotik dirençli (özellikle vancomycin) *Enterococcus* spp. et kaynaklı patojen mikroorganizma olarak son yıllarda problem oluşturmaktadır (Klein, 2007). Kanada'da yapılan bir çalışmada et işleme bölümlerinden izole edilen *Enterococcus* spp.'nin antimikrobiyal duyarlılıkları araştırılmış ve suşların ciprofloxacin, tetracycline ve quinupristin-dalfopristin'e dirençli oldukları belirlenmiştir (Aslam ve ark., 2010)..

Sonuç

Antimikrobiyal direnç, son yıllarda veteriner hekimlik ve tıp alanında ülkemizde ve dünyada önemli bir sorun haline gelmiştir. Bakterilerde önce penisiline karşı başlayan ve daha sonra diğer antibiyotik çeşitlerinde de ortaya çıkan direnç problemi zamanla antibiyotik kullanımı ve etkinliği açısından ekonomik kayıplara neden olan endişe verici boyutlara ulaşmıştır. Birçok ülkede yapılan çalışmaların ortaya koyduğu bulguların sonucu olarak günümüzde, antibiyotik dirençliliğinin kontrol altına alınması için başta WHO ve FAO olmak üzere ulusal ve uluslararası sağlık kuruluşları organizasyonları bir çok global strateji çalışması ve sörveyans programını uygulamaya konulmuştur. Amerika'da FoodNet, Avrupa'da DANMAP (Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme) gibi veri tabanları bunlardan bazılarıdır. Ülkemizde de Avrupa Birliği entegrasyonu bağlamında her yıl "Ulusal Kalıntı Kontrol Planı" oluşturularak hayvansal orijinli gıdaların güvenliğini sağlamak amacıyla analizler gerçekleştirilmektedir. Söz konusu Ulusal Kalıntı Kontrol Planı kanatlı hayvan ve etleri ile çiğ süt ve yetiştiricilik yolu ile elde edilen su ürünlerini kapsamaktadır. Numuneler, Türkiye çapında toplanarak analizler görevli oldukları konularda Ulusal Referans Laboratuvar olan bakanlık laboratuvarlarında gerçekleştirilerek antibiyotik kalıntıları sürekli olarak incelenmektedir.

Kaynaklar

- Aarestrup, F.M., Wegener, H.C., and Collignon, P. (2008). Resistance in bacteria of the food chain: epidemiology and control strategies. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 6(5),733-750.
- Alfredson, D.A., and Korolik, V. (2007). Antibiotic resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiology Letters*, 277, 123-132.
- Anonim, (2011). 2011 yılı ulusal kalıntı İzleme Planı. <http://www.kkgm.gov.tr/genel/birimfaal.html> (15 Eylül 2011).
- Aydın, A., Muratoglu, K., Sudagidan, M., Bostan, K., Okuklu, B., and Harsa, S. (2011). Prevalence and antibiotic resistance of foodborne *Staphylococcus aureus* isolates in Turkey. *Foodborne Pathogens and Disease* 8(1), 63-69.
- Bergwerf, A.A. Rapid assays for detection of residues of veterinary drugs. Rapid methods for biological and chemical contaminants in food and feed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen (2005). pp: 259-292.
- Bostan, K., Aydın, A., and Ang Kucuker, M. (2009). Prevalence and antibiotic susceptibility of thermophilic *Campylobacter* species on beef, mutton and chicken carcasses in Istanbul, Turkey. *Microbial Drug Resistance* 15(2), 143-149.
- Bozdoğan, B., ve Sudağidan, M. Gram pozitif bakterilerde direnç saptanmasında kullanılan yöntemler. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, Bakteri Genetiği Çalışma Grubu. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi. Bakterilerde Antimikrobiyal Direncin Belirlenmesinde Moleküler Yöntemlerin Kullanımı Kursu. 9-13 Haziran 2008, İzmir. 71-79.
- Chao, G. Zhou, X., Jiao, X., Qian, X., and Xu, L. (2007). Prevalence and antimicrobial resistance of foodborne pathogens isolated from food products in China. *Foodborne Pathogens and Disease* 4(3), 277-284.
- Durmaz, R. Direnç yayılma yollarının belirlenmesinde moleküler tiplendirme yöntemlerinin yeri. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, Bakteri Genetiği Çalışma Grubu. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi. Bakterilerde Antimikrobiyal Direncin Belirlenmesinde Moleküler Yöntemlerin Kullanımı Kursu. 9-13 Haziran 2008, İzmir. 71-79.
- EC (European Commission) 2002. Commission Decision 2002/657/EC of 14 August 2002. Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of the European Communities* L 221:8-36.
- EC (European Commission) 2010. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009. On pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Official Journal of the European Communities* L15:1-72.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2010). Community Summary Report. Antimicrobial resistance in zoonotic agents from animals and food in the European Union in 2004-2007. *EFSA Journal*, 8(4), 1309. 304 p.

13. Erol, İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti. (2007). pp. 299-302.
14. FDA (Food and Drug Administration) 2011. FDA: Food-animal antibiotic consumption dwarfs human medical use. <http://news.vin.com/VINNews.aspx?articleId=18659> (15 Eylül 2011).
15. Filazi, A., ve Yurdakök, B. (2010). Antibiyotik Tedavisi Sonrası Sütte Kalıntı Sorunu ve Bu Sorunun Belirlenmesinde Kullanılan Testler. Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science, 1(1), 34-43.
16. Gustavsson E, and Sternesjö A. (2004). Biosensor analysis of beta-lactams in milk: comparison with microbiological, immunological, and receptorbased screening methods. Journal of AOAC International, 87(3), 614-620.
17. Gür, D. Bakterilerde Antibiyotiklere Karşı Direnç, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Sistemlere Göre Hastalıklar. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. (2002). pp. 167-190.
18. Hammerum, A.M., Lester, C.H., and Heuer, O.E. (2010). Antimicrobial-resistant Enterococci in animals and meat: A human health hazard? Foodborne Pathogens and Disease 7(10), 1137-1146.
19. Kayacan B.Ç. M. Gram negatif basillerde fenotipik ve genotipik direnç saptama yöntemleri. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, Bakteri Genetiği Çalışma Grubu. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi. Bakterilerde Antimikrobiyal Direncin Belirlenmesinde Moleküler Yöntemlerin Kullanımı Kursu. 9-13 Haziran 2008, İzmir. 71-79.
20. Klein, G. Antibiotika-resistenzen bei lebensmittelinfectionserregern. Handbuch Lebensmittelhygiene. B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, Hamburg. (2007). pp:88-97.
21. Winn, W., Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., and Dowell, V.R. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Ed. Lippincott Williams & Wilkins (2006). 1565p.
22. Mayrhofer, S., Paulsen, P., Smulders, F.J.M., and Hilbert, F. (2004). Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. International Journal of Food Microbiology, 97, 23-29.
23. McEntire, J.C., and Montville, T.J. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 3rd. ASM Press, Washington D.C. (2007). pp.23-34.
14. Normanno, G., La Salandr, G., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Corrente, M., Parisi, A., Santagada, G., Firinu, A., Crisetti, E., and Celano, G.V. (2007). Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from meat and dairy products. International Journal of Food Microbiology, 115, 290-296.
25. Oliver, S.P., Murinda, S.E., and Jayarao, B.M. (2011). Impact of antibiotic use in adult dairy cows on antimicrobial resistance of veterinary and human pathogens: A comprehensive review. Foodborne Pathogens and Disease 8(3), 337-355.

26. Sakaridis, I., Soultos, N., Iossifidou, E., Papa, A., Ambrosiadis, I., and Koldis, P. (2011). Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated in chicken slaughterhouses in Northern Greece. *Journal of Food Protection*, 74(6), 1017-1021.
27. Sudagidan, M., and Aydin, A. (2009). Screening virulence properties of staphylococci isolated from meat and meat products. *Wiener Tierärztliche Monatschrift*, 96, 128-134 (2009).
28. Ünal, N., and İstanbulluoğlu E. (2009). Phenotypic and genotypic features of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cattle and humans. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 56, 119-126.
- Ünlü, T., Koluman, A., Burkan, Z.T., Tezel, A., Akçelik, E.N., Çalim, H.D., ve Ata Z. (2011). Incidence and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from different kinds of cheese. *Journal of Food Safety* 31(1), 54-60.
29. Vieira, A.R., Houe, H., Wegener, H.C., Lo Fo Wong, D.M.A., Bodker, R., and Emborg, H.D. (2009). Spatial scan statistics to assess sampling strategy of antimicrobial resistance monitoring program. *Foodborne Pathogens and Disease* 6(1), 15-21.
30. White, D.G., Zhao, S., Simjee, S., Wagner, D.D., and McDermont, P.F. (2002). Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *Microbes and Infections*. 4, 405-412.
31. Yucel, N., Citak, S., and Bayhun, S. (2011). Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples and foods animal origin. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(3), 427-431.

Bildiri No: 153

Kategori: Genel

TÜRKİYE'DE MEZBAHALARIN DURUMU VE ET MUAYENESİ HİZMETLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Sunum Tipi: Oral

Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ - Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Konya

1.Giriş

Et insan beslenmesinde müstesna bir yere sahiptir. Ancak et, uygun şartlar altında üretilmediği takdirde, insan sağlığını tehdit eden bir besin maddesi olma özelliğini de taşımaktadır. Tüketici sağlığının korunması, etin dayanıklılığının artırılması ve daha uzun süre muhafaza edilmesinin sağlanması, ancak kontrollü ve hijyenik şartlar altında et üretiminin gerçekleştirilmesine bağlıdır.

Eti yenen hayvanların sağlığı, kesimi, elde edilen etlerin değerlendirilmesi, muhafazası ve nakliyesi tarih boyunca insanları düşündürmüş ve bazı tedbirler almaya zorlamıştır. Etin bazı durumlarda insanlara zarar verebileceği de günümüze kadar kalabilen bazı kabartma resimlerden anlaşılmaktadır.

2.Türkiye'de Mezbahacılığın Tarihsel Süreci

Türk kültüründe mezbaha ile ilgili ilk terimin Uygur Türklerince kullanıldığı ifade edilmektedir. Uygur Türklerinde bu anlamda kullanılan terimin "ölümlük etlik" olduğu bildirilmektedir. Bu terimin bugünkü anlamıyla kesim yeri olduğu, buralarda hayvanların sadece etlerinin ve derilerinin değerlendirildiği düşünülmektedir. Kaşgarlı Mahmud'un Divanı Lügat-it Türk adlı eserinde de kesim yerleri ile ilgili tanımlamaların olduğunu görmekteyiz. Bu eserde sığır, koyun ve keçi gibi hayvanların kesildiği yere "ekdi", kasap için "etçi", kesilecek koyun için "etlik koy", hayvan kesmek için "tokunmak", kesilen hayvan için "tugum" ve kaslar için de "kunğ et" deyimleri kullanılmıştır.

Osmanlı Devleti'nde ilk mezbaha Fatih Sultan Mehmet tarafından İstanbul'un alınmasından sonra açılmıştır. O döneme kadar sokak aralarında yapılan kesimler bir ferman ile yasaklanarak kasaplık hayvanların kesimi, etlerin dağıtımı bir düzene sokularak Yedikule'de 33 adet kesimhane yaptırılmıştır. İşte bu ferman ile kurulan kesim salonları bizde ilk mezbahanelerin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Buna paralel olarak İstanbul'un muhtelif semtlerinde yeni kesim salonları yaptırılmıştır. Ancak geçen yıllar içerisinde konuyla ilgili fazla bir gelişme kaydedilmemiş 1923 yılında Sütlüce mezbahası hizmete sokulmuştur. Cumhuriyet dönemi mezbahacılık üç devrede incelenmektedir. 1923-1952 yıllarını kapsayan birinci devrede gün aşırı kesim, satış ve stoklu taze et düzenli içerisinde geçmiş olup bu devrede zaman zaman et sıkıntısı çekilmiştir. İkinci devre ise modern anlamda mezbahaların kurulma devresidir. Amerika'lı uzmanların raporları 1952 yılında Et ve Balık Kurumu Kombinaları kurularak bu alanda önemli gelişmeler sağlanmıştır. Ancak gelişen teknolojiye yeterince ayak uydurulmadığından zaman içerisinde bu fonksiyonunda sapsular gözlemlenmiştir. Son devrede ise özel sektöründe devreye girmesiyle teknolojiye uygun olarak mezbahalar inşa edilmeye başlanmıştır. Son yıllarda bu bağlamda Et ve Balık Kurumu Kombinalarının önemli bir kısmı özelleştirilerek özel sektörün payı arttırılmıştır.

3. Et ve Et Ürünleri Üretim Tesisleri ile İlgili Mevzuat

Ülkemizde uzun yıllar mezbahalar ile ilgili düzenlemelerin olmaması ciddi sorunlara neden olmuştur. Özel ve Resmi Kombinaların açılma iznleri "2678 sayılı Kanun kapsamında çıkarılan Özel ve Resmi Kombinaların Kuruluş ve İşleyişini Gösterir" Yönetmelik kapsamında Sanayi ve Ticaret Bakanlığının koordinatörlüğünde İçişleri, Sağlık ve Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı ile Devlet Planlama Teşkilatı temsilcilerinden oluşan bir komisyon tarafından verilmekte ve ruhsatlandırmayı takiben Sağlık Bakanlığı ve Tarım ve Köylüleri Bakanlığının denetim yetkisi bulunmaktaydı. Belediye mezbahaları 1947 yılında yayımlanan Mezbaha Yapı Tüzüğü ve Gayri Sıhhi Müesseseler Yönetmeliği, mamul madde üretim tesisleri ise; 1983 yılında yayımlanan Gayri Sıhhi Müesseseler Yönetmeliği kapsamında Sağlık Bakanlığınca ruhsatlandırılmaktaydı. Mezbahaların sağlık ve hijyenik denetimleri 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabitası Kanununa göre Tarım ve Köy İşleri Bakanlığınca yapılmaktaydı. Bu tesislerde Sağlık Bakanlığının Umumi Hıfzısıhha Kanunundan, Belediyelerin ise 1580 sayılı Kanundan kaynaklanan denetim yetkisi bulunmaktaydı. Bu şekilde, bir kısmı günün gerisinde kalmış mevzuat çerçevesinde çeşitli kurumlar tarafından yürütülmeye çalışılan ruhsatlandırma ve denetim hizmetleri sektörde istenilen ilerlemeyi sağlayamamış aksine büyük bir yığılınık oluşturmıştır.

Bu problemin sadece et sektörü değil gıda ile ilgili hizmetlerin genelinde yaşanması nedeniyle 1995 yılında gıda hizmetleri konusunda kapsamlı bir yeniden yapılanmaya gidilmiştir. Bu kapsamda; gıda maddelerinin teknik ve hijyenik şekilde üretimi, işlemesi, muhafazası, depolanması, pazarlanması ve halkın gereği gibi beslenmesini sağlamak üretici ve tüketici menfaatleriyle, halk sağlığını korumak üzere, gıda maddelerinin üretiminde kullanılan her türlü ham ve yardımcı maddeler, mamul ve yarı mamul maddeleri ile yan ürünlerinin özelliklerinin tespit edilmesi, gıda maddeleri üreten işyerlerinin asgari teknik ve hijyenik şartlarının belirlenmesi, denetiminin yapılması ve gıda maddeleri ile ilgili hizmetlere dair esas ve usullerin belirlenmesi amacıyla Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair 560 sayılı Kanun Hükmünde Kararname hazırlanmış ve 23 Haziran 1995 gün ve 22327 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanmıştır. 560 sayılı Kanun Hükmünde Kararnamenin 18. Maddesinde yer alan "Tüm et kesim yerleri (kanatlı dahil) mezbahalar ve entegre et tesislerinin kuruluş ve çalışma izni Sağlık Bakanlığından uygun görüş alınarak, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığınca verilir" hükmü kapsamında et ve et ürünleri üretim tesislerine tesis kurma ve çalışma izni verme ve denetim yetkisi Tarım ve Köylüleri Bakanlığına verilmiştir. 560 sayılı KHK'nin 18.1 maddesine dayanarak 11 Eylül 2000 tarihinde "Kırmızı Et ve Et Ürünleri Üretim Tesislerinin Kuruluş, Açılış, Çalışma ve Denetleme Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" yayımlanmıştır. Yönetmeliğin amacı; kasaplık hayvanların teknik ve hijyenik şartları uygun tesislerde kesilmesini, elde edilecek etlerin muayenesini, gerekli teknik ve hijyenik şartlarda muhafazasını, parçalanmasını, işlenmesini, mamul madde haline getirilmesini, ambalajlanmasını, paketlenmesini ve nakledilmesini sağlayarak güvenli et ve ürünlerinin üretiminin sağlanması ve işletmeden kaynaklanan atık ve artıklar ile ilgili tedbirlerin alınmasına yönelik düzenlemelerin getirilmesidir. 27.5.2004 tarihli ve 5179 sayılı Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanunun 4. , 6. maddeleri ile 8.5.1986 tarihli ve 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabitası Kanununun 33 üncü maddesine dayanılarak Kırmızı Et ve Et Ürünleri Üretim Tesislerinin Çalışma ve Denetleme Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik" hazırlanmıştır. Ayrıca 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabitası Kanunu, Hayvan Sağlığı ve Zabitası Yönetmeliği ile Bakanlığın görevleri tanımlanmıştır.

Son olarak; 13 HAZİRAN 2010 tarih ve 27610 Sayılı Resmi Gazete'de yayınlanarak yürürlüğe giren 5996 Sayılı "VETERİNER HİZMETLERİ, BİTKİ SAĞLIĞI, GIDA VE YEM KANUNU" nun tümü yayınlandığı tarihten 6 ay sonra yani 13 ARALIK 2010 tarihi itibarıyla yürürlüğe girdi. Bu kanunun yürürlüğe girmesiyle birlikte yürürlükten kaldırılan hükümler belirlenmiştir.

Yürürlükten kaldırılan hükümler

MADDE 47- (1) 27/5/2004 tarihli ve 5179 sayılı Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkında Kanun yürürlükten kaldırılmıştır. **(2)** 3/7/2005 tarihli ve 5393 sayılı Belediye Kanununun 84 üncü maddesinde ve 22/2/2005 tarihli ve 5302 sayılı İl Özel İdaresi Kanununun 70 inci maddesinde yer alan "27.05.2004 tarihli ve 5179 sayılı Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkındaki Kanun" ibareleri madde metninden çıkarılmıştır. **(3)** 8/5/1986 tarihli ve 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Kanunu yürürlükten kaldırılmıştır. **(4)** 15/5/1957 tarihli ve 6968 sayılı Ziraî Mücadele ve Ziraî Karantina Kanunu yürürlükten kaldırılmıştır. **(5)** 29/5/1973 tarihli ve 1734 sayılı Yem Kanunu yürürlükten kaldırılmıştır. **(6)** 28/2/2001 tarihli ve 4631 sayılı Hayvan Islahı Kanunu yürürlükten kaldırılmıştır. **(7)** 22/3/1971 tarihli ve 1380 sayılı Su Ürünleri Kanununun 23 üncü maddesinin son fıkrası ile 36 ncı maddesinin (h) bendinin son paragrafı yürürlükten kaldırılmıştır. **(8)** 14/5/1928 tarihli ve 1262 sayılı İspençiyarı ve Tıbbî Müstahzarlar Kanununun ek 2 nci ve ek 3 üncü maddeleri yürürlükten kaldırılmıştır. **(9)** 24/6/2004 tarihli ve 5199 sayılı Hayvanları Koruma Kanununun 23 üncü maddesi yürürlükten kaldırılmıştır. **(10)** 9/3/1954 tarihli ve 6343 sayılı Veteriner Hekimliği Mesleğinin İcrasına, Türk Veteriner Hekimler Birliği ile Odalarının Teşekkül Tazına ve Göreceği İşlere Dair Kanunun 11 inci maddesinin ikinci fıkrası yürürlükten kaldırılmıştır.

Uygulanmayacak hükümler ve atıflar

MADDE 48- (1) 5302 sayılı İl Özel İdaresi Kanununda, 10/7/2004 tarihli ve 5216 sayılı Büyükşehir Belediyesi Kanununda ve 5393 sayılı Belediye Kanununda bu Kanun hükümlerine aykırılık bulunması durumunda bu Kanun hükümleri uygulanır. **(2)** 5216 sayılı Büyükşehir Belediyesi Kanununun 7 nci maddesinin birinci fıkrasının (c), (d), (j) ve (t) bentleri, 5393 sayılı Belediye Kanununun 15 inci maddesinin birinci fıkrasının (c) ve (l) bentleri, ikinci fıkrası ile 5302 sayılı İl Özel İdaresi Kanununun 7 nci maddesinin birinci fıkrasının (a) ve (g) bentlerinde belirtilen izin veya ruhsatlar, gıda ve gıda ile temas eden madde ve malzemeler ile ilgili işyerlerinin teknik ve hijyenik koşulları ile gıda güvenilirliği ve kalitesi konularını kapsamaz. **(3)** Mevzuatta bu Kanun ile yürürlükten kaldırılan kanunlara yapılan atıflar bu Kanunun ilgili hükümlerine yapılmış sayılır.

Geçiş hükümleri

GEÇİCİ MADDE 1- (1) Bu Kanunda öngörülen yönetmelikler ile uygulamaya ilişkin usul ve esaslar bu Kanunun yayımı tarihinden itibaren en geç onsekiz ay içinde yürürlüğe konulur. Söz konusu usul ve esaslar ile çıkarılacak yönetmelikler yürürlüğe girmeye kadar, bu Kanunla yürürlükten kaldırılan 5179 sayılı Gıdaların Üretimi, Tüketimi ve Denetlenmesine Dair Kanun Hükmünde Kararnamenin Değiştirilerek Kabulü Hakkındaki Kanun, 1734 sayılı Yem Kanunu, 3285 sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Kanunu, 4631 sayılı Hayvan Islahı Kanunu ve 6968 sayılı Ziraî Mücadele ve Ziraî Karantina Kanununa dayanılarak çıkartılan yönetmelik ve diğer mevzuatın, bu Kanuna aykırı olmayan hükümlerinin uygulanmasına devam olunur. **(2)** Hâlen faaliyet gösteren işletme ve işyerleri bu Kanun ile getirilen yeni yükümlülüklerle, ilgili yönetmeliklerde belirtilen süre içerisinde uyum sağlamak zorundadır. **(3)** Bu Kanunun yürürlüğe girdiği tarihten itibaren bir yıl süreyle bu Kanunla Bakanlığa verilen görevlerin yerine getirilmesinde, sağlık hizmetleri ve yardımcı sağlık hizmetleri sınıfı ile teknik hizmetler sınıfında uygun unvan ve derece bulunmaması hâlinde, 13/12/1983 tarihli ve 190 sayılı Genel Kadro ve Usulü Hakkında Kanun Hükmünde Kararnamenin 9 uncu maddesinin son fıkrası dikkate alınmaksızın boş kadrolarda unvan ve derece değişikliği yapmaya Bakanlar Kurulu yetkilidir.

(4) Bu Kanunun yürürlüğe girdiği tarihten önce, süresi içinde soy kütüğüne kayıt için sahibi tarafından müracaat edilemeyen atlar, bir defaya mahsus olmak üzere, bu Kanunun yürürlüğe girdiği tarihten itibaren altı ay içerisinde müracaat edilmesi, DNA testi ile ana-baba doğrulanması yapılması, lüzum görüldüğünde Bakanlıkça görevlendirilen uzman heyetçe morfolojik yönden muayene edilmesi ve her bir at için beşbin Türk Lirası idarî para cezasının yabınması kaydıyla Bakanlıkça belirlenen diğer belgeleri de göz önünde bulundurularak soy kütüğüne kaydedilir.

Yeni kanun ile birlikte özellikle gıda hizmetlerinde yeni bir dönem başlamış oldu. Kanun ile ilgili yönetmeliklerin bir an evvel çıkması bekleniyor. Yeni yönetmeliklerin önümüzdeki 1-2 ay içerisinde çıkarılması düşünülmektedir. Yeni Kanunun amacı, gıda ve yem güvenilirliğini, halk sağlığı, bitki ve hayvan sağlığı ile hayvan ıslahı ve refahını, tüketici menfaatleri ile çevrenin korunması da dikkate alınarak korumak ve sağlamaktır.

Bu Kanun, gıda, gıda ile temas eden madde ve malzeme ile yemlerin üretim, işleme ve dağıtımının tüm aşamalarını, bitki koruma ürünü ve veteriner tıbbi ürün kalıntıları ile diğer kalıntılar ve bulaşanların kontrollerini, salgın veya bulaşıcı hayvan hastalıkları, bitki ve bitkisel ürünlerdeki zararlı organizmalar ile mücadeleyle, çiftlik ve deney hayvanları ile ev ve süs hayvanlarının refahını, zooteknî konularını, veteriner sağlık ve bitki koruma ürünlerini, veteriner ve bitki sağlığı hizmetlerini, canlı hayvan ve ürünlerin ülkeye giriş ve çıkış işlemlerini ve bu konulara ilişkin resmî kontrolleri ve yaptırımları kapsamaktadır.

Kişisel tüketim amaçlı birincil üretim ile kişisel tüketim amacıyla hazırlanan gıdalar bu Kanunun kapsamı dışındadır.

4. Türkiye Kırmızı Et Sanayinin Yapısı

Günümüz Türkiye'sinde et ve kesim sanayinin temel yapısı aşağıdaki biçimde sınıflandırılmaktadır.

- **Yönetmeliğe Uygun Kesim Kuruluşları**
Belediye Mezbahaları
Et ve Balık Kurumu Kombinaları (Et ve Balık Ürünleri A.Ş)
Özel et sanayii tesisleri
Et Ürünleri Üretim tesisleri
- **Mezbaha Dışı Kesimler**
Mezbaha bulunmayan belediye ve köy kesimleri
Kurban kesimleri
Kaçak kesimler

Ülkemiz et sanayinde kurulu kapasite ve kullanım oranları incelendiğinde, en fazla kurulu kapasitenin belediye mezbahalarında olduğu, bunu özel sektör ve Et ve Balık Ürünleri A.Ş'nin izlediği görülmektedir.

Üretilen etin %36'sı kaçak kesimler sonucu elde edilmektedir. Ülkemizde faaliyet gösteren kesim yerleri; küçük kesim yerleri, belediye mezbahaları, Et ve Balık Ürünleri A.Ş ve özel et kombinaları olmak üzere dört grupta incelenir.

I- Küçük Kesim Yerleri

Bu kesim ağırlıklı olarak köy ve kasabalarda faaliyet gösteren kesim yerleridir. Gerek hijyen, gerekse kullanılan araç gereç ve alt yapı yönünden ilkel oldukları için, hayvanların hijyenik koşullarda kesildiğinin söylenemediği gibi modernleştirmek de olası değildir.

II- Belediye Mezbahaları

Kırmızı et sanayi içerisindeki kuruluşlar arasında belediye mezbaha ve kombinaları sayısal anlamda ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizdeki et sanayinin geçmişi 1950'li yıllara kadar belediye mezbahaları üretimine dayanmaktadır. Belediye mezbahaları 1930 yılında yayımlanan 1580 sayılı Belediye Kanunun 15. Maddesinin 40. bendinde yer alan "Kanuna tevfikân fennî ve sıhî mezbaha ve teferruatından madut olan bağırsakhane ve salre yapmak ve işletmek" hükmü kapsamında belediyelerce kurulmakta idi.

2004 yılında yeniden düzenlenerek kabul edilen 5215 sayılı yeni belediye kanununun 15 maddesinin j bendinde tanımlanan belediyelerin yetki ve imtiyazları "..... ve mezbaha kurmak, kurdurmak, işletmek, işletletmek veya bu yerlerin gerçek ve tüzel kişilerce açılmasına izin vermek." şeklinde tanımlanmıştır. Belediye mezbahalarının büyük bir kısmı oldukça düşük kapasiteye sahip, sadece bulunduğu ilçe ve beldenin et imkânını sağlamak üzere kurulmuş ve yalnız yöre kasapları için kesim yapmaktadır. Çoğunluğu gerekli teknolojik imkânlardan yoksundur. Yine mezbahaların bir kısmında halen yerde kesim yapılmakta, daha sonra kesilmiş gövde kancalara asılarak yüzme ve iç organ çıkarma gibi işlemlerin tümü bir noktada yapılmaktadır. Mezbahaların hemen tamamında şüpheli karkasların bekletilmesi, imha edilmesi gerekenlerin imhası ve şarta tabi etlere uygulanacak işlemler için gerekli yer ve düzenekler bulunmamaktadır. Bu mezbahalar genellikle bir kesim salonu ve bir soğuk depodan oluşmakta, bir kısmında ise soğuk depo bulunmamakta, yine hayvan bekletme padokları, sakatat odası ve bunun gibi bölümler, atık su atma tesisleri (atık sular çevreye ya da derelere verilmektedir) ve hijyenik bir çalışma ortamı ve güvenli ürün elde etmek için gerekli alet ve ekipmanlar bulunmamaktadır. Belediyelerin, bütçe ve kadro bulunmamasını gerekçe göstererek Veteriner Hekim İstihdam etmemesi nedeni ile kasaplık hayvanlar ve kesilen hayvanlardan elde edilen ürünler çoğunlukla kontrolü yapılmadan tüketime sunulmakta ve buralarda konu ile ilgili hemen hiç bir eğitim almamış ve yetersiz sayıda personel görev yapmaktadır. Tüm bu olumsuzluklara rağmen özellikle son yıllarda belediye mezbahalarının bir kısmında kapasitenin de üzerinde kesim yapılmakta ve buralarda kesilen hayvanlardan elde edilen etler büyük şehir merkezlerine sevk edilmektedir. Belediye mezbahalarının çoğu çalışma izni olmadan faaliyet göstermekte, bunların büyük bir kısmı bütçe imkânlarını gerekçe göstererek gerekli yenileşmeyi yapmamaktadırlar.

III- Et ve Balık Ürünleri A.Ş. Kombinaları

Türkiye'de modern anlamda kesim ve üretimin yapıldığı kuruluşlardır. Özelleştirmeler sonucunda günümüzde etkinliğini yitirmeye başlamıştır.

IV- Özel Et Kombinaları

Ülkemizde özel sektöre ait kombina ve mezbahalar arasında günün hemen tüm teknolojik imkânlarına sahip, hijyenik şartlara uygun, yetişmiş personel ile üretim yapan kuruluşlar bulunduğu gibi uzun yıllardır faaliyet gösteren teknolojisiz şartların gerisinde kalmış, mevcut alet, ekipmanı ve binası yıpranmış kuruluş sayısı da azımsanmayacak ölçüdedir. Bu tür işletmelerde mevzuata uymak için çeşitli tadilatlar yapılmakta ancak tam bir düzelme sağlanması binaların ve teknik aksamın yapısı nedeniyle mümkün olamamaktadır. Yine bu işletmelerin bir kısmında atık su atma tesisi bulunmamakta veya maliyeti fazla olduğu için çalıştırılmamakta, katı atıkların değerlendirilmesi veya bertaraf edilmesine uygun tesis veya sistemlerin olmayışı nedeniyle tam olarak yapılamamaktadır.

Ülkemizde mevcut kombina ve mezbahaların kapasite kullanımı büyükbaşta % 20'8, küçükbaş da ise % 15'dir. Kırmızı et üretimimizin % 60'ı Belediye mezbaha ve kombinalarında, % 32'si özel sektör mezbaha ve kombinalarında % 8'i ise EBÜ AŞ'ne ait kombinalarda yapılmaktadır.

V. Genel Değerlendirme

Türkiye'deki kasaplık hayvanların büyük bir çoğunluğunu siğir, koyun, keçi ve manda oluşturmaktadır. Özellikle son 20 yıl içinde hayvan sayısı kısmen azalmış olmakla beraber hayvansal besin üretimi (et, süt) iki katından fazla artmıştır. Türkiye hayvan varlığı açısından Avrupa hatta dünya ülkeleri arasında ön sıralardaki yerini korumaktadır. Bununla birlikte birim başına üretim bakımından yeterli düzeyde değildir. Ülke siğir varlığının yaklaşık % 45'i verim potansiyeli düşük, ancak çevre şartlarına iyi adapte olmuş yerli ırklardan, % 41'i melez ırklardan, % 14'ü de kültür ırkı hayvanlardan, koyun varlığının ise % 95'i yerli ırklardan oluşmaktadır.

Tablo 1. Dünya, Kıtalar ve Türkiye'de Türlelere Göre Karkas Verimleri (kg/baş)

	Siğir	Koyun	Keçi	Manda
Afrika	151	14	12	175
Amerika	255	15	14	-
Asya	144	15	13	136
Avrupa	240	16	10	208
Okyanusya	227	18	21	150
Dünya	205	16	12	138
TÜRKİYE	197	15	15	176

Kaynak: TZMO kırmızı et raporu (2008)

Tablo 2. Türkiye Hayvan Varlığı

	2009	2010	Değişim
Siğir	10.723.165	11.369.800	6
Kültür	3.723.583	4.197.890	12.7
Kültür Melezi	4.406.041	4.707.188	6.8
Yerli	2.594.334	2.464.722	-5.0
Manda	87.207	84.726	-2.8
Toplam	10.811.165	11.454.526	6
Koyun	21.749.508	23.089.691	6.2
Merinos	1.027.583	1.086.392	5.7
Yerli	20.721.925	22.003.299	6.2
Keçi	5.128.285	6.293.233	22.7
Kıl	4.981.299	6.140.627	23.3
Tiftik	146.986	152.606	3.8
Toplam	21.749.508	23.089.691	6.2
Diğer	455.420	417.119	-8.4

Kaynak: <http://www.tuik.gov.tr>

Manda üretimi dünyada çok az ülkede yapılmaktadır. Türkiye 176 kg/baş manda karkas ortalaması ile Avrupa hariç diğer bütün kıtaların ve dünya ortalamasının üzerinde bir verime sahiptir. Manda türünün yok olmasının önlemek amacıyla Tarım ve Köyşleri Bakanlığı 2008 yılında bu türü destekleme kararı almıştır.

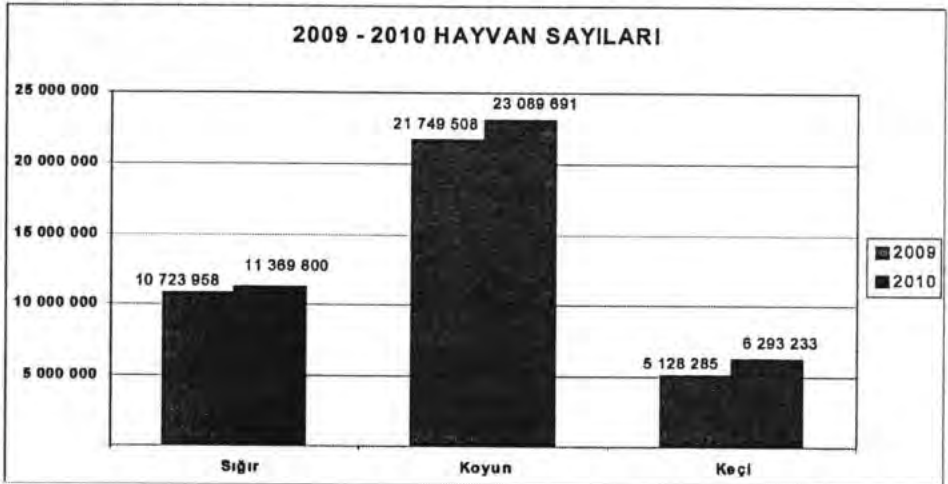
Türkiye'de yok olma tehlikesiyle karşı karşıya kalan bir diğer türümüz kıl keçisidir. Ülkemizde keçi sayısı her yıl azalmaktadır. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı (Yeni adıyla: Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı) 2006 yılından itibaren Koyun-Keçi Yetiştirici Birliklerine kayıt yaptıran üreticilere hayvan başına destek vermektedir. Dünya, Kıtalar ve Türkiye'de Türlerle Göre Karkas Verimleri (kg/baş) olarak Tablo 1' de gösterilmektedir. Tablo 2 ve Grafik 1'de Türkiye hayvan varlığı, Tablo 3'de ise Türkiye'de 2010 yılı itibarıyla et üretimi gösterilmektedir.

Tablo 3. Türkiye'de 2010 Yılı İtibarıyla Et Üretimi

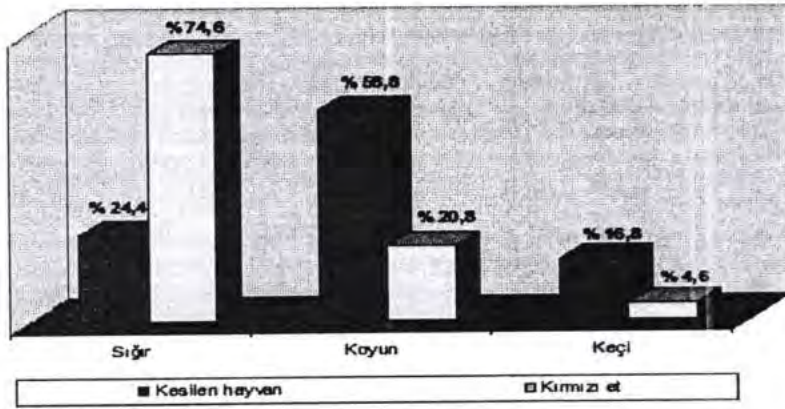
	Et Üretimi (Ton)
Sığır	618 584
Keçi	23 060
Manda	3 387
Koyun	135 687
Toplam	780 718

Tarımsal işletmelerde kurban bayramında kesilen hayvanlar hariç, toplam kesilen hayvanlar içerisinde %58,8 ile koyun ilk sırada yer alırken bunu %24,4 ile sığır ve %16,8 ile keçi takip etmektedir. Üretilen toplam kırmızı etin %74,6'sını sığır eti, %20,8'ini koyun eti ve %4,6'sını ise keçi etinden sağlanmaktadır (Grafik 2).

Grafik 1. Türkiye Hayvan Varlığı



Grafik 2. Türlerine Göre Kesilen Hayvanların ve Üretilen Kırmızı Etin Toplam İçindeki Oranları



Kasaplık hayvan kesimi, bir çoğu sağlık ve teknik imkanlardan yoksun yaklaşık 600'ün üzerinde mezbahane ve/veya kombinada gerçekleştirilmektedir.

Türkiye'de et kesim ve işleme tesislerinin önemli kısmını büyük ve küçükbaş hayvanların birlikte değerlendirildiği karma tesislerden oluşturmaktadır. Özel ve devlete ait Türkiye'de toplam et tesislerinin sayısı 637'dir (Tablo 4).

Türkiye'de et tesisleri 4 kategoriye ayrılmaktadır. Bunlar kombina 1., 2., ve 3. sınıf tesislerdir. Tablo 4'de Türkiye'de kesim tesislerinin dağılımı gösterilmektedir.

Tablo 4. Türkiye'de Kesim Tesislerinin Durumu

	Mezbaha/Kombina Sayısı	Kapasite Büyükbaş Baş/Gün	Kapasite Küçükbaş Baş/Gün
Belediye	Kombina 5 1.Sınıf 28 2.sınıf 12 3.sınıf 417	245 1.539 198	1.250 3.375 393
Özel	Kombina 104 1.Sınıf 54 2.sınıf 9	12.812 5.281 160	69.047 20.545 251
EBK	Kombina 8	1.530	13.500
Toplam	637	21.765	108.361

Devlete ait tesisler toplam kesimlerin %15-20'sini gerçekleştirirken, özel sektöre ait tesisler kesimlerin %75-80'ini yapmaktadırlar. Görüldüğü gibi kesim tesislerinin çoğu devlete aittir fakat kesimlerin büyük çoğunluğunu da özel sektör yapmaktadır. Ülkemizdeki özellikle devlete ait olan 3. sınıf mezbahalar teknik, hijyenik ve mali yönden iyi yönetilmemektedirler. Buralarda kesilen hayvanlar sağlıklı olsa bile, kesilen hayvanlardan elde edilen etlere tüketiciye ulaşana kadar şüpheyle bakılması gerekmektedir.

Türkiye'de kontrollü kesimler sonucunda 2010 verilerine göre 621,971 ton büyükbaş, 158 747 ton küçükbaş olmak üzere toplam 780 718 ton et üretimi gerçekleştirilmektedir. Ülkemiz şartlarında pazara sunulan kırmızı etin ise bu dönemde 1.000.000 ton hatta daha fazla olduğu ileri sürülmektedir. Bu bağlamda, Türkiye'de kişi başına kırmızı et tüketimi yılda yaklaşık 14 kg düzeyindedir. Bu miktar Avrupa Topluluğu Üyesi ülkelerde, Türkiye'nin dört katından fazladır.

Sonuç

Sonuç olarak mezbahalar ve kesimhaneler et sektörü için büyük önem arz etmektedirler. Özellikle hayvan hastalıklarının tespit edildiği en önemli merkezler olan mezbaha ve kesimhanelerin uygun standartlarda olması, veteriner hekim istihdam etmesi, gıda güvenliği konseptinde üretimin gerçekleştirilmesi, hastalıklarla mücadele edilebilmesi ve halk sağlığını korumasının sağlanabilmesi bu alanların uluslararası standartlara uygun bir biçimde yeniden yapılandırılması, etkin kanun ve yönetmeliklerin uygulamaya konulmasıyla mümkün olabilecektir.

Kaynaklar

Arslan, A. (2002). "Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi". Özkan Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara.

Gökçe, R. (1998). Mezbaha tarihçemize genel bir bakış. Bornova Vet. Kontrol ve Araştırma Enst. MÜD. Derg., 23,37,129-134.

Gökalp, H.Y, Kaya, M ve Zorba, Ö. (1994). "Et Ürünlerini İşleme Mühendisliği". Atatürk Üniv., Yayın No 786. A.Ü. Zlr. Fak.Ofset Tesisi, Erzurum.

Gürbüz, Ü. (2009). Mezbaha Bilgisi ve Pratik Et muayenesi.Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya

İnal, T. (1992). "Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü", Final Ofset, İstanbul.

İnal, T. (1995). "Kesim Hayvanı ve Et Muayenesi", Saray Medikal Yayıncılık Ltd. Şti. Bornova , İzmir.

Kumlu, S. (2000). "Damızlık ve Kasaplık Sığır Yetiştirme", Türkiye Damızlık Sığır Yetiştiricileri Merkez Birliği Yayınları, Yayın No:3,syf. 164, Ankara.

Resmî Gazete (2010).Veteriner Hizmetleri , Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu, Kanun No:5996, sayı 27610, Ankara.

Tarım ve Köylüleri Bakanlığı (1995). 3285 Sayılı Hayvan Sağlığı ve Zabıtası Kanunu. Koruma ve Kontrol Genel Müd. Ankara

Tekinşen, O.C, İzci, C ve Alkan,M.(1997). Türkiye Hayvancılığı: Mevcut Durum ve Geliştirilmesi. S.Ü. Vet.Fak. Yayın Ünitesi, Konya.

Türkiye İstatistik Kurumu (2010). Hayvancılık İstatistikleri. [http://www.tuik.gov.tr/ VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13](http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13) Erişim Tarihi: 03.10.2010.

Türkiye İstatistik Kurumu (2010). Tanım. Erişim Yeri http://www.tuik.gov.tr/AltKategori.do?ust_id=13 Erişim Tarihi: 03.10.2010

Türkiye Ziraat Odaları Birliği (2008). Türkiye Kırmızı Et Sektör Değerlendirmesi 2008 Yılı ve Sonrası Beklentiler. Erişim Yeri: http://www.tzob.org.tr/tzob_web/rapor.htm. Erişim Tarihi: 29.01.2009.

Uğur, M., Nazlı, B ve Bostan. K (1996). "Mezbaha Bilgisi ve Et Muayenesi". Ders Notları. I.Ü. Vet. Fak. Yayın No: 53. İstanbul.

Yıldırım, Y. (1996). " Et Endüstrisi". Kozan Ofset. Ankara.

POSTER
BİLDİRİLER

Bildiri No: 31

Kategori: Genel

TAVUK BURGERLERİNDE NİSİN KULLANIMININ LİSTERİA MONOCYTOGENES ÜZERİNE ETKİLERİ

Sunum Tipi: Poster

**Levent AKKAYA, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Hilmi YAMAN, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Recep KARA, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veli GÖK, Gıda Mühendisliği, Afyon Kocatepe Üniversitesi**

Özet

Yapılan bu çalışmada tavuk burger örneklerine, farklı dozda (25 µg/g, 50 µg/g ve 100 µg/g) uygulanan nisin, +4 °C'de yedi günlük depolama periyodu boyunca, log 4 kob/g ve log 6 kob/g seviyelerindeki *Listeria monocytogenes*'in gelişimi ve canlı kalma yeteneği üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak depolama periyodu boyunca tavuk burger örneklerinin pH'sı 6,10-6,50 değerleri arasında, nem miktarları ise % 65,97-%54,22 seviyelerinde tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan nisin seviyelerinin depolama periyodu boyunca, tavuk burger örneklerinde *L. monocytogenes*'i tamamen inhibe etmede yetersiz olduğu, ancak 100 µg/g seviyesinde kullanılan nisin'in ise *L. monocytogenes* seviyelerini ortalama log 1-2 kob/g değerlerinde düşürdüğü tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kanatlı eti, Tavuk Burger, *Listeria monocytogenes*, Nisin

THE EFFECT OF NISIN USAGE ON L.MONOCYTOGENES IN CHICKEN BURGERS

Abstract

In this study the effect of different amounts of nisin (25 µg/g, 50 µg/g and 100 µg/g) on the growth and survival of *Listeria monocytogenes* in chicken burger samples inoculated at levels of 4 log₁₀ cfu/g and 6 log₁₀ cfu/g were investigated during seven days of storage at +4 °C. The pH and moisture levels of chicken burger samples were determined as between 6,10-6,50 and 65,97-54,22%, respectively. The amounts of nisin used in this study were insufficient to inhibit *Listeria monocytogenes* totally but 100 µg/g nisin was determined to reduce the levels of *Listeria monocytogenes* log 1-2 cfu/g.

Keywords: Poultry meat, Chicken Burger, *Listeria monocytogenes*, Nisin

Bildiri No: 32

Kategori: Genel

KONTAMİNE ÇEMEN KULLANILARAK ÜRETİLEN PASTIRMALARDA E. COLİ O157:H7, L. MONOCYTOGENES VE S. TYPHIMURIUM'UN CANLI KALMA YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sunum Tipi: Poster

**Recep KARA, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Levent AKKAYA, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veli GÖK, Gıda Mühendisliği, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Ersel OBUZ, Gıda Mühendisliği, Celal Bayar Üniversitesi**

Özet

Yapılan bu çalışmada pastırma üretiminde kullanılan çemen hamuru, *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43894), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) ve *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) ile log 4 kob/g ile log 6 kob/g seviyelerinde kontamine edilmiştir. Kontamine çemen hamuru kullanılarak 6 grup pastırma üretilmiştir. Muhafaza periyodunun 0., 7., 15., 30., 60., ve 90. günlerinde çemenden (25 g) ve pastırma yüzeyinden (100 cm²'den swap) örnekler alınmıştır. Çemen numuneleri pH, aw, nem (%), *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, toplam aerobik mezofilik bakteri ve laktik asit bakteri değerleri yönünden analiz edilmiştir. Araştırmada pastırma yüzeyindeki çemenden alınan örneklerde, *E. coli* O157:H7 ve *S. typhimurium* depolamanın 30. gününde; pastırma eti yüzeyinden alınan swap örneklerinde ise 15. günde inhibe olmuştur. Pastırma yüzeyindeki çemenden alınan örneklerde *L. monocytogenes* depolamanın 60. gününde; pastırma eti yüzeyinden alınan swap örneklerinde ise 30. günde inhibe olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada, pastırmanın üretiminde *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S. typhimurium* ile kontamine çemen hamuru kullanılmasıyla, pastırma etine çapraz kontaminasyonun şekillenebileceği belirlenmiştir. Ayrıca kontamine pastırmanın tüketilmesinin halk sağlığı açısından ciddi bir risk oluşturabileceği değerlendirilmektedir.

Anahtar kelimeler: Pastırma, Çemen, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*

SURVIVAL ABILITY OF EXPERIMENTALLY INOCULATED E. COLI O157:H7, L. MONOCYTOGENES VE S. TYPHIMURIUM IN PASTIRMA PRODUCED WITH CONTAMINATED CEMEN.

Abstract

In this study, cemen dough which was used in the production of pastırma was contaminated at the levels of log 4 cfu/g and log 6 cfu/g with *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43894), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) and *Salmonella typhimurium* (ATCC-14028). Six groups of pastırma was produced with the contaminated cemen dough. Samples were taken from cemen (25 g) and surface of pastırma (100 cm² swap) at 0, 7, 15, 30, 60 and 90th days of the storage period. Cemen samples have been analyzed in terms of pH, aw, humidity (%), *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, total aerobic mesophilic bacteria and lactic acid bacteria levels. *E. coli* O157: H7 and *S. typhimurium* have been inhibited on the 30th day in the cemen samples while they have been inhibited on the 15th day in the swap samples taken from the surface of pastırma.

L. monocytogenes has been inhibited on the 60th day in the cemen samples while it has been inhibited on the 30th day in the swap samples taken from the surface of pastirma. As a result of this study it was determined that cross-contamination could be occurred in pastirma meat by using the cemen dough contaminated with *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* and *S. typhimurium* in pastirma production. In addition, it must be considered that consuming contaminated pastirma could cause a serious risk on the public health.

Keywords: Pastirma, Cemen, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*

Bildiri No: 35

Kategori: Genel

OHMIC HEATING AND MICROBIAL INACTIVATION

Sunum Tipi: Poster

Duygu BALPETEK, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, S.Ü. Veteriner Fakültesi
Ümit GÜRBÜZ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, S.Ü. Veteriner Fakültesi

Summary

Ohmic heating (OH) is defined as a process wherein electric current is passed through materials with the primary purpose of heating them. A large number of actual and potential applications exist for OH, including blanching, evaporation, dehydration, fermentation, extraction, sterilization, pasteurization and heating of foods to serving temperature, including in the military field or long-duration space missions. With regards to product safety and quality management, microbial inactivation is a foremost parameter that needs to be taken into consideration in food production process. The presence of unwanted or high amount of certain microorganism can lead to product corruption, loss in quality or health problems. In this compilation, the effect of Ohmic heating innovation on microorganism, which has found an application field in the food industry and has still had some ongoing studies has been examined and discussed in the light of recent researches.

Özet

Ohmik ısıtma materyal içerisinde elektrik akımı geçirilmesi temel prensibine dayanan bir ısıtma prosesi olarak tanımlanmaktadır. Ohmik ısıtma; haşlama, evedaporasyon, dehidrasyon, fermentasyon, ekstraksiyon, sterilizasyon, askeri alanlar veya uzun süreli uzay görevlerinde gıdaların servis sıcaklığına ısıtılmasını kapsayan birçok güncel ve potansiyel uygulamaları içermektedir. Ürün güvenliği ve kalite yönetimi ile ilgili olarak, mikrobiyal inaktivasyon gıda üretim süreçlerinde ele alınması gereken önemli bir parametredir. İstenmeyen veya yüksek miktarda belli mikroorganizmaların varlığı, ürün bozulması, kalite kaybı ve sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Bu derlemede gıda endüstrisinde uygulama alanı bulan ve halen araştırma geliştirme çalışmaları devam eden ohmik ısıtma yönteminin mikroorganizmalar üzerine olan etkisi, son yıllarda yapılan araştırmalar ışığında incelenerek tartışılmıştır.

1- Uzman, S.Ü. Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya/Türkiye. dbalpetek@selcuk.edu.tr
2- Prof.Dr. S.Ü. Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya/ Türkiye. ugurbuz@selcuk.edu.tr

Giriş

Ohmik ısıtma literatürde; joule ısıtma, elektriksel direnç ısıtma, direkt direnç ısıtma, elektro-ısıtma, elektro-iletim ısıtma gibi adlarla da anılmaktadır. Ohmik ısıtma adını Ohm Kanunundan almaktadır. Akım, voltaj ve direnç arasındaki ilişki ise Ohm Kanunu olarak bilinmektedir. Ohmik ısıtma; gıda maddesi ile temas halinde olan elektrotlardan alternatif akım geçirilmesi ve iletkenlik özelliğine sahip olan gıda maddesine karşı göstermiş olduğu direnç, gıda içerisinde ısı jenerasyonuna yol açmaktadır. Başka bir ifade ile elektriksel enerji, ısı enerjisine dönüşmektedir. Oluşan homojen ısı dönüşümü özellikle sıvı gıdalarda homojen ısı ve buna bağlı olarak da homojen sıcaklık dağılımı meydana getirmektedir. Gıda maddesinden geçen akıma bağlı olarak oldukça hızlı bir ısıtma gerçekleşmektedir.

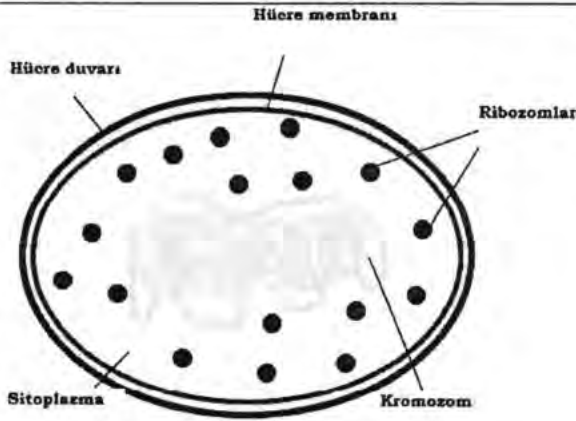
Mikrobiyal İnaktivasyon

Mikroorganizmaların inaktivasyonu birçok endüstriyel gıda uygulamalarında oldukça önemlidir. Düşük-enerjili veya enerji-etkin inaktivasyon gibi yeni yöntemler ilgi çekmeye devam etmektedir. Örneğin; yetersiz pişirmenin *Salmonella* spp. salgınlarının ana nedeni olduğu düşünülmektedir. Ohmik ısıtma sisteminde mikroorganizmaların inaktivasyonu ile ilgili ana mekanizmalar ısı işlemlerin etkinliğine dayanmaktadır. Bununla birlikte ohmik ısıtma sistemi, elektrik alanının varlığına bağlı olarak da ısı olmayan hücre duvarını etkileyebilmektedir. Bu sistemin oluşturduğu ilave etkinin ana sebebi düşük frekans olabilir. Bu frekans genellikle 50-60 Hz düzeyindedir. Bu frekans bakteri hücre duvarlarının yük biriktirmesine ve por (gözenek) oluşturmalarına izin vermektedir (Sastri ve Barach 2000, Anderson 2008, Knirsch ve ark 2010). Bu etkinin doğal sonucu olarak, ohmik ısıtma altında mikroorganizmaların inaktivasyonunda gözlenen D değeri, geleneksel ısıtma yöntemleri ile karşılaştırıldığında daha düşük düzeydedir. Bu düşüş *Bacillus licheniformis* ve *Escherichia coli* (Pereira ve ark 2007), *Bacillus subtilis* (Cho ve ark 1998) ve *Streptococcus thermophilus* (Sun ve ark 2008) üzerine yapılan araştırmalarda gözlemlenmiştir. Elektrik akımından dolayı letal veya subletal etki ortaya çıkarsa biyomalzemeler ve gıdalardaki mikroorganizmaların inaktivasyonu için gereken ısı işlem potansiyeli olarak azaltılabilir (Palaniappan ve ark 1990). Bu sistemde çok dayanıklı patojen suşlar veya belirli dirençli mikroorganizmalarla ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır ve en dirençli patojenlerin muhtemelen ısı işlemdekilerle aynı olabileceği belirtilmektedir (Sastri ve Barach 2000, Pereira ve ark 2007). Pereira ve ark (2007) ohmik ısıtmaya maruz bırakılan *E. coli* ve *B. licheniformis*'in inaktivasyonu üzerine yaptıkları araştırmada bu bakteriler için D ve Z değerlerini daha düşük bulmuşlardır. Bu araştırmada, geleneksel ısıtma ve ohmik ısıtmayı karşılaştırırken, analiz edilen numunelerde *E. coli* için 65 °C'de gözlenen D değerleri, geleneksel ısıtma ve ohmik ısıtma için sırasıyla 3,5+-0,2 ve 0,86 dakika; Z değerleri de sırasıyla 23.1 ve 8.4 °C olarak bildirilmiştir. Araştırmacılar elektrik akımının mikrobiyal ölüm oranlarını etkilemiş olabileceğini belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar *B. licheniformis*'in sporlarının inaktivasyonunda da gözlemlenmiştir. Her iki mikroorganizma türü birlikte değerlendirildiğinde, ohmik ısıtma yöntemi uygulamalarında daha düşük bir D değeri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, ilave ısı olmayan inaktivasyon etkisinin, elektrik akımının varlığından kaynaklandığını ortaya koymaktadır (Pereira ve ark 2007). Cho ve ark (1998) ohmik ve buharlı ısıtma kullanılarak *B. subtilis* ve *Bacillus atrophaeus*' un inaktivasyon kinetiği üzerine yaptıkları araştırmada elektrik uygulamasının geleneksel metoda göre daha kısa zamanda gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Bu farkın muhtemelen ortamdaki elektrik alanından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak, Palaniappan ve Sastri (1992) benzer bir çalışmada ohmik ve geleneksel ısı işlemleri kullanarak mayanın (*Zygosaccharomyces bailii*) ölüm kinetiği üzerindeki etkileri arasında bir fark bulamamışlardır. Bazı durumlarda düşük voltajlı ön uygulama yapıldığında *E. coli* inaktivasyonu için etkinlik artırılabilir. Araştırmacılar 56 °C'den daha düşük ısılarda ohmik ısıtma uygulandığında, *Zygosaccharomyces bailii* ve *E. coli*'nin inaktivasyonu konusunda düşük D değerleri gözlemlenmişlerdir. Her ne kadar bu D değerleri, geleneksel ısıtma ile karşılaştırıldığında daha düşük olsa da, % 95 güvenilirlik seviyesindeki bir t-testi karşılaştırması, işlemler arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Sun ve ark (2008) sütte bulunan aeroblar ve *S. thermophilus* inaktivasyonunu tespit etmek amacıyla bu yöntemi kullanmışlardır. Araştırmacılar, ohmik ısıtmanın geleneksel ısıtma işlemine göre daha yüksek mikrobiyal ölüme sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada, aynı ısı derecelerinde ohmik ısıtma uygulanan numunelerdeki son mikroorganizma sayısının ve hesaplanan D değerlerinin, geleneksel ısıtmadan elde edilenlerden istatistiksel açıdan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, ohmik ısıtmanın incelenen mikroorganizmalarda bir ısı termal etki ve ısı olmayan öldürücü etkiye sebep olduğu vurgulanmıştır.

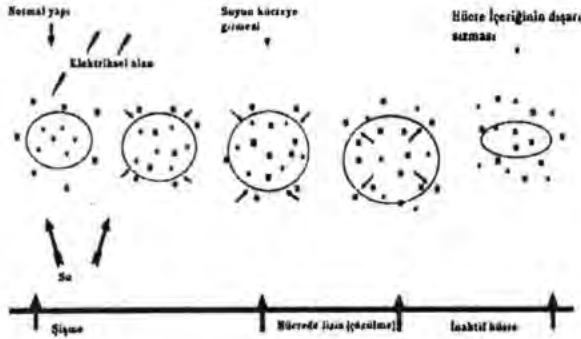
Sun ve ark (2008)' a göre, elektriğin inaktivasyon etkisi ısıninkine göre önemlidir. Bu etkinliğin elektrik voltajı ve frekans ile ilgili olduğu gösterilmiştir. Gıda maddelerindeki mikroorganizmaların inaktivasyonu özellikle termal metotlarla meydana gelmektedir.

Ancak mekanik ve kimyasal etki ile mikroorganizmaların inaktivasyonu da söz konusudur. Mekanik etki ile mikroorganizmaların yıkımı; hücre zarının hasara uğraması ve bunun sonucunda hücresel içeriğin dışarı sızması ile meydana gelmektedir.

Mikroorganizmaların inaktivasyonunda kimyasal etkiler ise; serbest oksijen, hidrojen, hidroksil ve hidropersil radikalleri ve metal iyonları oluşturarak bakterilerin yıkımına sebep olmaktadır. Ohmik ısıtmanın mikroorganizmaların yıkılmasında termal olmayan etkileri araştırılmış ancak termal etkiler tamamen yok edilemediği için bulgular yetersiz kalmıştır. Palaniappan ve Sastry (1992) ohmik ısıtma ve geleneksel ısıtma işlemlerinin maya hücrelerinin ölüm kinetiği üzerine etkileri arasında herhangi bir fark bulamamışlardır. Ohmik ısıtma üzerine yapılan araştırmalarda termal etkinin yok edildiği ileri sürülmektedir. Buna bağlı olarak, elektrik akımı ve benzer yüksek voltaj akımları mikrobiyal inaktivasyonda termal ısıya ilave mekanizma olarak belirlenmiştir. Son araştırmalar ohmik ısıtmanın elektrik alanından dolayı termal ısıya dayanıklı olmayan hücrelere hasar verebileceğini göstermiştir. Ohmik ısıtmanın başlıca etkisi; düşük frekans (genellikle 50-60 Hz) ile hücre duvarlarını ve gözenekli yapıyı etkilemesi ile oluşmaktadır. Bu durumda elektroporasyon olabileceği belirtilmiştir (Şekil 2). Bu etkinin başlıca sonucu olarak, ohmik ısıtma ile oluşan mikrobiyal inaktivasyon, geleneksel ısıtma yöntemleriyle karşılaştırıldığında D değerinde azalma meydana gelmektedir. Bu azalma *Bacillus licheniformis* ve *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus thermophilus* ve *Byssoschlamys fulva* da gözlenmiştir (Anderson 2008).



Şekil 1. Hücre yapısı



Şekil 2. Hücresin elektroporasyon prosesi (Anderson 2008)

Öldürücü düzeyin altında elektriksel işlemin etkisi mikroorganizmaların inaktivasyonu için sonraki termal işlem düzeyini ve süresini azaltmış ve fermentasyon için ilave edilmiş laktik asit bakterilerinde lag periyodunu kısaltmıştır. Ohmik işlem mikrobyal etkisinin doğrulanması için yeni çalışmalara ve metotlara ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir. (Lyng ve McKenna 2007).

Cho ve ark (1998) bakteriyal sporların inaktivasyonunun farmasötik ürünler ve gıdaların sterilizasyonu için önemli olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar tarafından B. subtilis sporlarının ohmik ve geleneksel ısıtma ile canlı kalma alanları incelenmiş, ohmik işlem uygulanan B.subtilis sporlarının geleneksel ısıtmaya göre D değerlerinin daha az olduğu görülmüştür.

Araştırmaların çok azı mikrobyal aktivite ve inaktivasyon üzerine ohmik ısıtmanın etkisi ile ilgili yapılmıştır. Termal ısıtma işlemleri; biyomalzeme ve gıdalardaki mikrobyal inaktivasyon için gereklidir. Elektrik akımı nedeniyle herhangi bir subletal hasar veya ilave olarak öldürücü etkisi varsa potansiyel olarak azaltılmış olabilir.

Elektrik akımından dolayı herhangi bir subletal yaralanma veya ilave olarak öldürücü etkisi ortaya çıkarsa, biyomateryaller ve gıdalardaki mikrobyal inaktivasyon için gerekli termal işlem potansiyel olarak azaltılmış olabilir (Knirsch ve ark 2010).

Palaniappan ve ark (1990), elektriksel akımın mikroorganizmaların üreme mekanizmaları üzerine zarar verdiğini ileri sürmüşler ve kan plazmasından elde edilen protein bazlı ürünlerdeki çoğu zararlı bakteri ve virüslerin ohmik ısıtma işlemi ile yok edilmesi için mümkün olduğunu belirtmişlerdir.

Cho ve ark (1998) ohmik ısıtmanın elektriksel ön işlemlerinin sonraki mikrobyal inaktivasyon için ilave termal uygulamaların şiddetini azaltabildiğini göstermiştir. Ohmik ısıtmanın mikrobyal inaktivasyon eğrilerinin, eğimdeki farklılıklar hariç, geleneksel ısıtma eğrilerine benzerliği muhtemelen daha çok elektriksel alan ile açıklanabilir.

Sun ve ark (2008) sütün pastörizasyonunda geleneksel ve ohmik ısıtma yöntemlerinin aerob mikroorganizmalar ve S. thermophilus'un 2646 yıkılma düzeyleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar geleneksel metoda kıyasla ohmik ısıtmanın yıkılma etkisinin daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte her iki ısıtma sisteminde de protein denatürasyonunda farklılık tespit edilememiştir. Araştırmacılar sütteki mikrobyal inaktivasyon üzerine sadece termal öldürücü etki değil, aynı zamanda termal olmayan elektrik akımının da mikroorganizmaların üzerine etkili olduğunu, bu nedenle ohmik ısıtma sisteminin sütün pastörizasyonunda protein denatürasyonuna sebep olmaksızın gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Zell ve ark (2010) *L. innocua* inoküle edilmiş et numunelerine (semitendinosus) ohmik ısıtma uygulamışlardır. Bu ısıtma yönteminin *L. innocua* üzerine önemli düzeyde etkili olduğunu ve bu sonuçların mikrobiyal güvenlik noktasında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

B. subtilis kullanılan bir denemede iki aşamalı ohmik ısıtma işlemi (ohmik ısıtma, ısıtma, bekleme periyodu, ohmik ısıtma) bu mikroorganizmanın ölüm oranlarının hızlanmasıyla sonuçlanmıştır (Cho ve ark 1998).

Cho ve ark (1998) ohmik ısıtmanın elektriksel ön işlemlerinin sonraki mikrobiyal inaktivasyon için ilave termal uygulamaların şiddetini azaltabildiğini göstermiştir. Ohmik ısıtmanın mikrobiyal inaktivasyon eğrilerinin, eğimdeki farklılıklar hariç, geleneksel ısıtma eğrilerine benzerliği muhtemelen daha çok elektriksel alan ile açıklanabilir.

Sun ve ark (2008) sütün pastörizasyonunda geleneksel ve ohmik ısıtma yöntemlerinin aerob mikroorganizmalar ve *S. thermophilus*'un 2646 yıkımlanma düzeyleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar geleneksel metoda kıyasla ohmik ısıtmanın yıkımlama etkisinin daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte her iki ısıtma sisteminde de protein denatürasyonunda farklılık tespit edilememiştir. Araştırmacılar sütteki mikrobiyal inaktivasyon üzerine sadece termal öldürücü etki değil, aynı zamanda termal olmayan elektrik akımının da mikroorganizmaların üzerine etkili olduğunu, bu nedenle ohmik ısıtma sisteminin sütün pastörizasyonunda protein denatürasyonuna sebep olmaksızın gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Zell ve ark (2010) *L. innocua* inoküle edilmiş et numunelerine (semitendinosus) ohmik ısıtma uygulamışlardır. Bu ısıtma yönteminin *L. innocua* üzerine önemli düzeyde etkili olduğunu ve bu sonuçların mikrobiyal güvenlik noktasında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

B. subtilis kullanılan bir denemede iki aşamalı ohmik ısıtma işlemi (ohmik ısıtma, ısıtma, bekleme periyodu, ohmik ısıtma) bu mikroorganizmanın ölüm oranlarının hızlanmasıyla sonuçlanmıştır (Cho ve ark 1998).

Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak ohmik ısıtma çok sayıda aktüel ve geleceğe dönük uygulamaları olan uzun zamandır tartışılan ve etkinliği son yıllarda ortaya çıkan bir teknolojidir. Ohmik ısıtma kullanılarak, uygulanan elektrik alanının, gelen elektrik alanının ve uygulanan elektrik frekansının farklı mikroorganizmalar ve gıdalar (moleküler ve hücresel düzeyde) üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi gerekmektedir. Eğer doğrulanırsa, ohmik ısıtma ile hücre zarları üzerinde meydana gelen elektroporasyon etkili veya geçici geçirgenlik etkisi, sanayi için önemli ekonomik faydalar sağlayabilir. Bu nedenle, bu sistemin faydalarının en üst düzeye çıkarılması ve sistemden yararlanılması için, sistemin anlaşılması ve özelliklerinin belirlenmesi ayrıca modellenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Anderson RD. Ohmic heating as an alternative food processing technology. Master of Science Food Science Institute College of Agriculture. Manhattan, Kansas 2008.
2. Cho HY, Yousef AE, Sastry SK. Kinetics of inactivation of *Bacillus subtilis* spores by continuous or intermittent ohmic and conventional heating. *Biotechnology and Bioengineering*, 27 March 1998; 62(3):368-372.
3. Knirsch MC, dos Santos CA, de Oliveira Soares Vicente AAM, Penna TCV. Ohmic heating-a review. *Trends In Food Science and Technology*, 2010; 21: 436-441.
4. Lyng J, McKenna BM. Ohmic pasteurization of meat and meat products. *Handbook of Food, Dairy and Food Machinery*, 2007: 553-577.
5. Palaniappan S ve Sastry SK. Effects of electroconductive heat treatment and electrical pretreatment on thermal death kinetics of selected microorganisms. *Biotechnology and Bioengineering*, 1992, 39, 221-232.
6. Palaniappan, S., Richter, E. R., and Sastry, S. K.. Effects of electricity on microorganisms: A review. *Journal Food Processing and Preservation*. 1990;14: 393-414.
7. Pereira R, Martins J, Mateus C, Teixeira JA and Vicente A A. Death kinetics of *Escherichia coli* in goat milk and *Bacillus licheniformis* in cloudberry jam treated by ohmic heating. *Chem. Papers*, 2007;61(2):121-126.
8. Sastry SK (1992). A model for heating of liquid-particle mixtures in a continuous flow ohmic heater. *Journal of Food Process Engineering*,15(4), 263-278. In Knirsch MC, dos Santos CA, de Oliveira Soares Vicente AAM, Penna TCV. Ohmic heating-a review. *Trends in Food Science and Technology*, 2010; 21: 436-441.
9. Sastry SK, Barach JT. Ohmic and inductive heating. *Journal of Food Science*, 2000; 65(4): 42-46.
10. Sun H, Kawamura S, Himoto JI, Itoh K, Wada T, Kimura T. Effects of ohmic heating on microbial counts and denaturation of proteins in milk. *Food Sci. Technol Res*. 2008;14(2):117-123.
11. Zell M, Lyng JG, Cronin DA, Morgan DJ. Ohmic cooking of whole turkey meat- Effect of rapid ohmic heating on selected product parameters. *Food Chemistry* 2010b; 120: 724-729.

Bildiri No: 38

Kategori: Genel

BURDUR'DA TÜKETİME SUNULAN DONDURMA VE PEYNİRLERDE STAPHYLOCOCCUS TÜRLERİ VE ELISA TEKNİĞİ İLE STAFİLOKOKKAL ENTEROTOKSİNLERİN BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Poster

Fulya TAŞCI, Besin Hiyeni ve Teknolojisi, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Fatma ŞAHİNDOKUYUCU, Farmakoloji ve Toksikoloji, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Dilek ÖZTÜRK, Mikrobiyoloji, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Özet

Bu çalışmada Burdur çevresinden temin edilen 50 dondurma ve 50 peynir örnekleri total aerobik mezofilik bakteri, Micrococcus/Staphylococcus ve Staphylococcus aureus yönüyle incelendi. Dondurma örneklerinin ortalama total aerobik mezofilik mikroorganizma, Micrococcus-Staphylococcus ve Staphylococcus aureus sayıları sırasıyla 4,29 log₁₀ kob/g, 3,78 log₁₀ kob/g, 3,00 log₁₀ kob/g; peynir örneklerinin ortalama total aerobik mezofilik mikroorganizma, Micrococcus-Staphylococcus, Staphylococcus aureus sayıları sırasıyla 8,21 log₁₀ kob/g, 6,21 log₁₀ kob/g ve 5,80 log₁₀ kob/g seviyelerinde tespit edildi. Örneklerdeki enterotoksin analizi Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) ticari test kiti ile yapılmıştır. Peynir örneklerinin 3'ünde stafilokokkal enterotoksin B, C ve E belirlenmiştir. Peynir ve dondurma üretiminde kullanılacak olan sütün bakteriyolojik standartlara uygunluğuna önem verilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Stafilokokkal enterotoksin, ELISA, dondurma, peynir

DETECTION OF STAPHYLOCOCCUS SPECIES AND STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXINS BY ELISA IN ICE CREAM AND CHEESE CONSUMED IN BURDUR PROVINCE

Abstract

In this study, 50 ice cream and 50 cheese samples from Burdur province of Turkey were examined for total mesophilic aerobic bacteria, Micrococcus/Staphylococcus and Staphylococcus aureus. In ice cream, total aerobic mesophilic microorganisms, Micrococcus/Staphylococcus and Staphylococcus aureus were determined at levels of 4.29, 3.78 and 3.00 log₁₀ cfu/g, respectively. In cheese, these organisms were present at 8.21, 6.21 and 5.80 log₁₀ cfu/g, respectively. Enterotoxin analyses were performed with Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Enterotoxins were detected in 3 cheese samples and were identified as staphylococcal enterotoxins B, C and E. Further attention should be given to the bacteriological standards for milk used in cheese and ice cream production.

Keywords: Staphylococcal enterotoxin, ELISA, cheese, ice cream

Bildiri No: 41

Kategori: Genel

TAVUK KARKASLARINDA ENTEROCOCCUS SPP. PREVALANSI İLE VANKOMİSİN DİRENÇLİLİĞİ VE SLİME FAKTÖR ÜRETME YETENEKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sunum Tipi: Poster

Belgin SIRIKEN, gıda, ondokuz mayıs üniversitesi veteriner fakültesi
Arzu FINDIK, mikrobiyoloji, ondokuz mayıs üniversitesi veteriner fakültesi
Gökhan İNAT, gıda, ondokuz mayıs üniversitesi veteriner fakültesi
Özgür ÇADIRCI, gıda, ondokuz mayıs üniversitesi veteriner fakültesi
Tahsin Onur KEVENK, gıda, ondokuz mayıs üniversitesi veteriner fakültesi

Özet

Bu çalışma, Samsun İli'nde tüketime sunulan tavuk karkaslarındaki *Enterococcus* spp.'nin prevalansı, vankomisin dirençliliği ve slime faktör oluşturma yeteneklerini belirlemek amacıyla yapıldı. Bu amaçla, Slanetz ve Bartley Besi yerinde direkt kültür tekniği ile 123 adet tavuk karkası analiz edildi. Bu örneklerin 41'inden (%33.3) izole edilen toplam 92 adet suş, fenotipik olarak *Enterococcus* spp. olarak tanımlanarak edildi. Tüm *Enterococcus* spp. izolatları, tuf genini hedefleyen PCR ile cins düzeyinde doğrulandı. Bu izolatların *E. faecalis* veya *E. faecium* olup olmadığını ve vankomisin dirençliliklerini belirlemek üzere, *ddl* ve *van* (*van A*, *B*, *C1/2*, *D*, *E* ve *G*) genlerinin amplifikasyonuna dayalı multiplex PCR gerçekleştirildi. Suşlardan 39 (%42.4) adedi *E. faecalis* olarak doğrulanırken, hiç bir suş *E. faecium* olarak tanımlanmadı. Geri kalan 53 (%57.6) izolat ise *E. faecalis* ve *E. faecium* dışındaki *Enterokok* türleri olarak değerlendirildi. *van A*, *B*, *C1/2*, *D*, *E* ve *G* genleri, hiçbir izolatta belirlenmedi. Slime faktör üretimini belirlemek üzere Kongo Kırmızısı İçeren Agar yöntemi kullanıldı ve hiçbir izolatta slime faktör üretimi belirlenmedi. Sonuç olarak, Samsun İli'nde tavuk karkaslarından izole edilen *E. faecalis* izolatlarının, vankomisin dirençliliği ve slime factor oluşturmaları yönünden halk sağlığı için potansiyel bir risk oluşturmadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: enterokok, slime üretimi, pcr, tavuk karkas, vankomisin direnci

THE INVESTIGATION OF PREVALENCE, VANCOMYCINE RESISTANCE AND SLIME FACTOR PRODUCTION OF ENTEROCOCCI ISOLATED FROM CHICKEN CARCASSES

Abstract

The aim of this study was to investigate the prevalence, vancomycin resistance and slime factor production of *Enterococcus* spp. in chicken carcasses consumed in Samsun province, north of the Turkey. For this purpose, 123 chicken carcasses were analyzed by direct culture technique on Slanetz and Bartley Medium and, a total of 92 *Enterococci* spp. were isolated from 41 (33.3%) out of the 123 samples and identified phenotypically. All *enterococci* isolates were confirmed at the genus level by a single PCR targeted tuf gene using *Enterococcus* specific primers. To identify these *enterococci* as either being *E. faecalis* or *E. faecium* and to detect vancomycin resistance, a multiplex PCR based on the amplification of *ddl* and *van* (*van A*, *B*, *C1/2*, *D*, *E* and *G*) genes were performed.

While 39 (42.4%) and none of these isolates were identified as *E. faecalis* and *E. faecium*, respectively, and the remaining 53 isolates (57.6%) were identified as *Enterococcus* spp. except from *E. faecalis* and *E. faecium*. *vanA*, *vanB*, *C1/2*, *vanD*, *vanE*, *vanG* genes were not detected in any of the isolates by this multiplex PCR. To detect slime factor production, Congo Red Agar Method was used and slime factor production was not detected in any of the isolates. In conclusion, *E. faecalis* isolates from chicken carcasses in Samsun Province of Turkey do not constitute a potential risk to the public health for vancomycin resistance and slime factor production.

Keywords: Chicken carcass, Enterococci, PCR, slime production, vancomycin resistance

BORİK ASİT'İN SALMONELLA TYPHIMURIUM VE LISTERIA MONOCYTOGENES ÜZERİNE ETKİSİNİN FLORESAN İN SİTU HİBRİDİZASYON (FISH) TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Poster

Abdullah DİKİCİ, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tunceli Üniversitesi
Ahmet KOLUMAN, Mikrobiyoloji Bölümü, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı
Atanur TEZEL, Mikrobiyoloji Bölümü, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı
Sibel ÖZKÖK, Mikrobiyoloji Bölümü, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı
Zeynep T. BURKAN, Mikrobiyoloji Bölümü, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı
E. Nazan AKÇELİK, Mikrobiyoloji Bölümü, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı
Erwin BRUCKNER, Ar-Ge, Alfred Paluka ve Şeriki Kolektif Şti.

Özet

Bu çalışmada borik asitin Salmonella Typhimurium ve Listeria monocytogenes suşlarında dekontaminasyon etkisi laktik asit ve ısı uygulaması ile kıyaslamalı olarak konvansiyonel ekim yöntemi ile kantitatif, Floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği ile kantitatif olarak araştırılmıştır. Çalışma sonuçları, FISH teknolojisini kullanan VIT® kitlelerinin Salmonella Typhimurium ve Listeria monocytogenes suşlarında kullanımının uygun olduğunu ortaya koyduğu gibi aynı zamanda dekontaminasyonun izlenmesinde de uygun bir yöntem olabileceğini ortaya koymuştur. FISH yöntemi kullanıldığında canlılığın saptanması moleküler tekniklere göre üstün olan yanı sıra kabul edilebilir. Aynı zamanda yöntemin hızlı ve ekonomik olması da belirgin özelliklerindendir. Borik asit ile yapılan dekontaminasyon uygulamasında sıvı besiyeri ortamında yapılmasına bağlı olarak kombinasyonlar denenmemiş olup, gıdalarda farklı derişimler ve kombinasyonlar denenerek etkili sonuçlar ortaya konulabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: FISH, Borik asit, Hibridizasyon, Salmonella, Listeria monocytogenes, VIT®

EFFECT OF BORIC ACID ON SALMONELLA TYPHIMURIUM AND LISTERIA MONOCYTOGENES AND SCREENING WITH FLORESAN IN SITU HİBRİDİZASYON (FISH) TECHNIQUE

Abstract

This study was designed to determine effect of boric acid compared with lactic acid and heat treatment on Salmonella Typhimurium and Listeria monocytogenes, which is determined with using conventional cultural technique for quantitative measurement and Fluorescent in Situ Hybridization (FISH) for qualitative measurement. The results of the study showed that VIT® kits which uses FISH technology are good tools in determining the effect of decontamination and it is applicable to Salmonella and Listeria monocytogenes. FISH method detects viable cells which is a selective advantage than molecular techniques. Additionally, the method is rapid and economic. The boric acid application for decontamination purpose no combinations were applied due to the limiting factor of broth, on the contrary, it will surely give promising results when different dilutions and combinations are applied on food matrices.

Keywords: FISH, Boric acid, Hybridization, Salmonella, Listeria monocytogenes

Giriş

Mikrobiyolojik analizlerde sürekli daha hassas ve daha spesifik yöntemlere yönelim vardır. Bu yöntemlerin ekonomik ve hızlı olması birçok araştırmacı tarafından tercih edilmesine neden olmaktadır. Floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi 1989 yılında DeLong tarafından radyoaktif izotop yerine floresan işaretli izotopların konulmasına kadar yaygın kullanılmamaktaydı. Floresan işaretleme ile daha güvenli ve daha yüksek çözünürlükte görüntü elde edilmesine ek olarak farklı floresan boyalarla farklı hedefler hibridizasyonu takiben boyanabilmektedir. Farklı hedeflere bağlanan farklı floresan boyalar farklı dalga boylarında ışıma vererek birçok gen bölgesinin tanımlanmasına olanak sağlamaktadır (Moter ve Göbel, 2000).

FISH bütünlüğü bozulmamış hücre içerisinde belirlenmiş nükleik asit bölgesine özgü floresan işaretli oligo-probon bağlanarak hibridize olması prensibi ile çalışır. Özellikle karyotipik bozukluklarda, balık üretiminde canlı ancak kültüre edilemez durumda biyofilm içerisinde bulunan mikroorganizmalar için, atık su yönetiminde, ağız boşluğunda bulunan mikroorganizmaların tespitinde, tümörlerin belirlenmesinde, medikal cihazlarda canlı patojenlerin varlığının belirlenmesinde, kan kültürlerinde, bitki ve hayvan patojenlerinde başarılı kullanımı rapor edilmiştir. Bu amaçla kullanılan oligo-problar 15-30 baz çifti (bp) büyüklüktedir. Oligo-problar çeşitlidir. Genellikle 5' işaretleme kullanılır. Prosedür şu şekildedir (Moter ve Göbel, 2000):

1. Örneğin yüzeye tespiti
2. Örneğe özgü uygulamalarla hücre duvarında mevcut porların genişletilmesi
3. Oligo-probon hücre içine alınması ve ilgili nükleik asit bölümüne bağlanması (hibridizasyon)
4. Bağlanmamış oligo-probların yıkanması
5. Sonucun görüntülenmesi

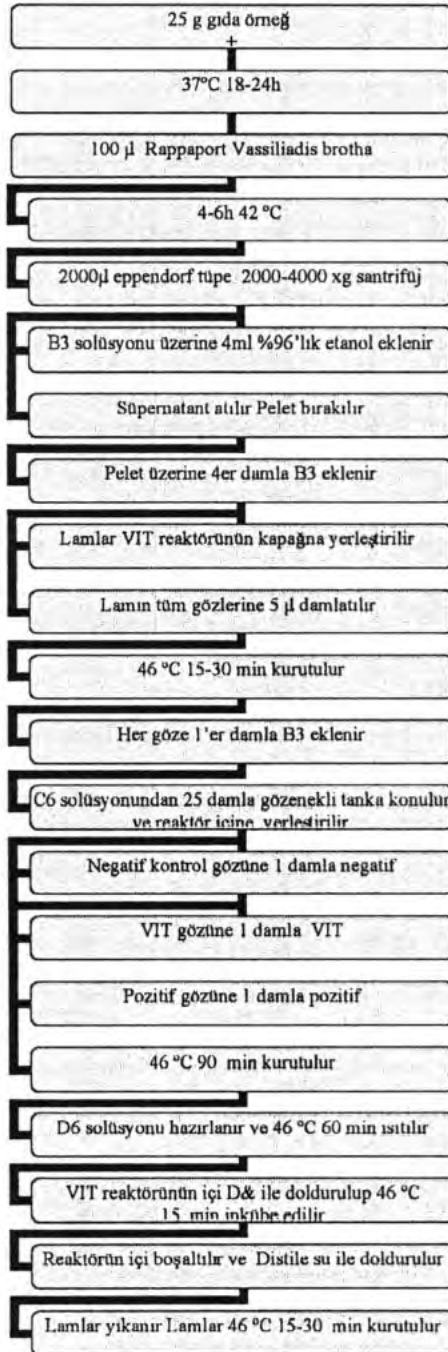
VIT® kitleri gıdalara özgü dizayn edilmiş olup, FISH teknolojisinin kullanımında kolaylık sağlamaktadır. Uygulaması ön zenginleştirmeden sonra sadece bir öğleden sonrayı almaktadır.

Dekontaminasyon, çiftlik hijyeninin yetersiz kaldığı durumlarda özellikle üretim aşamasında meydana gelen ve mikroorganizmalardan kaynaklanan risklerin azaltılması için uygulanan işlemler bütünüdür. Bu kapsamda en yaygın uygulanan teknolojiler fiziksel ve kimyasal uygulamalar olarak ikiye ayrılmaktadır. Kimyasal uygulamalar içerisinde en yaygın kullanılan maddeler laktik asit, cetylpyridinium chloride (CPC), trisodyum fosfat (TSP), asidifiye sodyum klorür (ASK) gibi insan sağlığına zararı olmayan ancak mikroorganizmaların sayısında azalmayı tetikleyen kimyasallardan seçilmektedir (Özdemir ve ark., 2006a, 2006b, Oksuztepe ve ark., 2010, Yeşillik ve ark., 2011). Borik asit genellikle antiseptik, böcek ilacı ve koku giderici amaçla kullanılan bir kimyasaldır. Gıda sektöründe E284 sayılı asitlendirme amaçlı katkı maddesi olarak kullanılmakta ve günlük 0,1 mg/kg'a kadar alınmasına izin verilmektedir (<http://www.food-info.net/tr/e/e284.htm>).

Bu çalışmada borik asitin *Salmonella Typhimurium* ve *Listeria monocytogenes* suşlarında dekontaminasyon etkisi laktik asit ve ısı uygulaması ile kıyaslamalı olarak konvansiyonel ekim yöntemi ile kantitatif, FISH tekniği ile kalitatif olarak araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Salmonella Typhimurium (ATCC 13331) ve *Listeria monocytogenes* (ATCC 19115) suşları stoktan alınarak 90 ml Brain Heart Infusion broth (BHI, Oxoid) içerisine aktarıldıktan sonra 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri süspansiyonu 10ml olacak şekilde steril tüplere dağıtılmıştır. Inkübasyon sonrası işlemsiz kontrol grubu (K), % 1 Borik asit, % 1 Laktik asit, Isı uygulama 75 °C'de 30 dakika



Sayım amacıyla 1 adet operatör ve Spiral Plater (Interscience, France) paralel olarak çalışılmıştır. Sayım için Plate count agar (PCA, Oxoid) kullanılmış olup her dilüsyon için 2 paralelli çalışılmıştır. Ekimleri takiben petrilere 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Floresan in-Situ Hibridizasyon amacıyla Vermicon'a ait VIT® Salmonella ve VIT® Listeria monocytogenes kitleri kullanılmıştır. VIT® Salmonella analiz aşamaları aşağıda bildirilmiştir:

1. Tamponlanmış peptonlu su içerisine 25g gıda örneği alınır 37°C'de 24h inkübe edilir
2. Rappaport Vassiliadis içerisine 100µl aktarılır ve 4-6 saat 42°C'de inkübe edilir.
3. Spesifik selektif besiyerlerinden 2ml alınarak eppendorf tüplere aktarılmıştır
4. 2000-4000 g oda ısında santifüj edilir
5. Süpernatant atılmış ve peletin üzerine 4 damla B3 solüsyonu eklenir
6. Karışım 5µl lam üzerindeki her bir göze yayılmıştır ve kuruması için 46°C'de 15-30 dakika bırakılır
7. Kurumayı takiben tüm gözlerle 1'er damla B3 eklenmiştir ve 46°C'de 15-30 dakika bırakılır
8. Kit ile birlikte gelen C6 solüsyonundan kit ile birlikte gelen tanklara 25 damla konulur
9. Lam üzerindeki gözlerden negatif gözüne "Negatif Kontrol", pozitif gözüne "Pozitif Kontrol" ve VIT gözüne "VIT" 1 damla eklenir.
10. Lam reaktör içine yerleştirilir ve 46°C'de 90 dakika bırakılır.
11. İnkübasyon sonunda 46°C'de önceden hazırlanmış D6 solüsyonuyla tanklar doldurulur ve lamlar içerisine yerleştirilerek 46°C'de 30 dakika bırakılır
12. Solüsyon boşaltılır tanklar distile su ile doldurulup lamlar içine yerleştirilir ve hemen çıkartılır
13. Lamlar kurutulur ve üzerine 1 damla "Finisher" eklendikten sonra floresan açmanı olan mikroskopta değerlendirilir.

VIT® *Salmonella* Değerlendirme prosedürü

	Pozitif kontrol (+)	VIT	Negatif kontrol (-)
Faz kontrast	Faz Kontrast görünüm	Faz Kontrast görünüm	Faz Kontrast görünüm
Yeşil ışık (Zeiss-Filtre 15)	Hücre parlaması yok	Canlı <i>Salmonella</i> kırmızı parlama verir	Hücre parlaması yok
Mavi ışık (Zeiss Filtre 44)	Canlı hücreler yeşil görünür	Canlı <i>Salmonella</i> yeşil parlama verir	Hücre parlaması yok

VIT® *Listeria monocytogenes* analiz akışı aşağıdaki gibidir

1. Half fraser içerisine 25g gıda örneği alınır 30°C'de 24h inkübe edilir
2. Fraser broth içerisine 100µl aktarılır ve 24 saat 30°C'de inkübe edilir.
3. Spesifik selektif besiyerlerinden 2ml alınarak eppendorf tüplere aktarılmıştır
4. 2000-4000 g oda ısında santifüj edilir
5. Süpernatant atılmış ve peletin üzerine 1 damla "Breaker 2" 2 damla E2 solüsyonu eklenir
6. Karışımın 5µl lam üzerindeki her bir göze yayılmıştır ve kuruması için 46°C'de 15-30 dakika bırakılır
7. Kurumayı takiben tüm gözlere 1'er damla B3 eklenmiştir ve 46°C'de 15-30 dakika bırakılır
8. Kit ile birlikte gelen C4 solüsyonundan kit ile birlikte gelen tanklara 25 damla konulur
9. Lam üzerindeki gözlerden negatif gözüne "Negatif Kontrol" , pozitif gözüne "Pozitif Kontrol" ve VIT gözüne " VIT" 1 damla eklenir.
10. Lam reaktör içine yerleştirilir ve 46°C'de 90 dakika bırakılır.
11. İnkübasyon sonunda 46°C'de önceden hazırlanmış D6 solüsyonuyla tanklar doldurulur ve lamlar içerisine yerleştirilerek 46°C'de 30 dakika bırakılır
12. Solüsyon boşaltılır tanklar distile su ile doldurulup lamlar içine yerleştirilir ve hemen çıkartılır
13. Lamlar kurutulur ve üzerine 1 damla "Finisher" eklendikten sonra floresan ataçmanı olan mikroskopta değerlendirilir.

VIT® *Listeria* Değerlendirme prosedürü

	Pozitif kontrol (+)	VIT	Negatif kontrol (-)
Faz kontrast	Faz Kontrast görünüm	Faz Kontrast görünüm	Faz Kontrast görünüm
Mavi ışık (Zeiss Filtre 44)	Hücre parlaması yok	Canlı <i>Listeria</i> yeşil parlama verir	Hücre parlaması yok
Yeşil ışık (Zeiss-Filtre 15)	Canlı hücreler yeşil görünür	Canlı <i>Listeria monocytogenes</i> kırmızı parlama verir	Hücre parlaması yok

Bulgular

Borik asit, Laktik asit ve ısı uygulamasının *Salmonella* Typhimurium ve *Listeria monocytogenes* üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmaya ait sonuçlar tablo x. de verilmiştir.

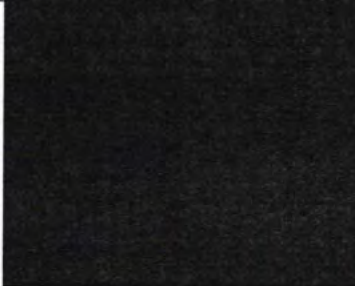
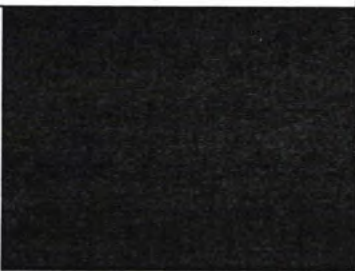
Analiz adı	Ortalama Ekim Sonucu (kob/ml)	
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Konvansiyonel teknik	Spiral Plater
İşlemsiz kontrol	1.6×10^9	1.8×10^9
Laktik asit	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$
Borik asit	1.1×10^9	1.0×10^9
Isı uygulama	$<1.0 \times 10^2$	1.0×10^2
<i>Listeria monocytogenes</i>	Konvansiyonel teknik	Spiral Plater
İşlemsiz kontrol	1.3×10^8	4.5×10^8
Laktik asit	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$
Borik asit	8.7×10^7	9.2×10^7
Isı uygulama	$<1.0 \times 10^2$	$<1.0 \times 10^2$

VIT® sonuçları

Salmonella Typhimurium VIT® sonuçları

	Yeşil Işık (Canlı <i>Salmonella</i>)	Mavi Işık (Canlı <i>Salmonella</i>)
Işlemsiz kontrol		
Laktik asit		
Borik asit		
Isı uygulama		

Listeria monocytogenes VIT® sonuçları

	Mavi Işık (<i>Listeria</i> spp.)	Yeşil Işık (<i>Listeria monocytogenes</i>)
İşlemsiz kontrol		
Laktik asit		
Borik asit		
Isı uygulama		

Tartışma

Gıda dekontaminasyonu özellikle üstesinden gelinemeyen ve risk azaltılamayan gıda üretim aşamalarında ek bir tedbir olarak mikrobiyolojik kaliteye katkıda bulunmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda laktik asit, TSP, CPC, ASC gibi dekontaminasyon ajanlarının belirgin bir azalma sağladığı rapor edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan laktik asit ve ısı uygulaması bu yayınlarla uyum göstermektedir (Özdemir ve ark., 2006a, 2006b, Oksuztepe ve ark., 2010, Yeşillik ve ark., 2011)

Borik asit ile yapılan denemeler literatürde henüz yer almamaktadır. Bu kapsamda gıda katkı maddesi olarak yaygın kullanım alanı bulan borik asitin farklı dozlar ve gıda matrisine bağlı uygulamaları yürütülmesi etkinliğin ölçümünde fayda sağlayacaktır. Farklı derişimlerde uygulanan kimyasalların dekontaminasyon etkisinin değişken olduğu bildirilmiştir. (Sofos ve Smith, 1998)

Sayımlar arasında belirgin bir fark gözlemlenmemiştir. Bu kapsamda tecrübeli bir operatör ve spiral plater aynı şekilde sonuç vermekteyken, Tekrar edilebilirlik ve yeniden üretilebilirlik konusunda spiral plater cihazının seçkin sonuçlar verdiği gösterilerek AOAC tarafından mikrobiyolojiye uygun yöntem olarak bildirilmiştir. (Anon, 1997).

FISH özellikle canlı olan mikroorganizmaların görüntülenmesinde değerli bir yöntemdir. Bu kapsamda sadece o canlıya özgü olmakla kalmayıp aynı zamanda hassasiyetinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile yarışır seviyede olması, ekonomik olması seçkin bir yer sağlamaktadır. FISH'in hassasiyet ve mikroorganizmaya özgü olduğu değişik çalışmalarda bildirilmiştir (Moter ve Göbel, 2000).

Sonuç

VIT® ve spiral plater ülkemiz için yeni teknolojiler olarak kabul edilseler de, bunların hayata geçirilmesi hem ekonomik hem de zaman yönünden kazanç sağlamaya yardımcı olacakları belirgindir. VIT® yöntemi uygulanması kolay, tekrar edilebilir, yeniden üretilebilir, hassasiyeti yüksek ve mikroorganizmaya spesifik olması ile rutin veya araştırma amacıyla birçok alanda kullanılabilecektir.

Borik asitin belirgin bir dekontaminasyon etkisi bu çalışmada tespit edilmemiş olsa dahi derişimlerinde değişiklikler uygulayarak ve kalıntı düzeyleri saptanarak daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmaya destek veren Vermicon AG Ltd. ve Alfred Paluka ve Şeriki Kolektif Şti.'ne teşekkürü bir borç biliriz.

Kaynaklar

Anonim, 1997, AOAC Official Method 977.27. Spiral Plater for cosmetic and food microbiology. JAOAC, 60, 807, revised 1997.

DeLong, E.F., Wickham, G.S., Pace, N.R., 1989. Phylogenetic stains: ribosomal RNA-based probes for the identification of single microbial cells. Science 243, 1360-1363.

Moter, A, Göbel, U. B., 2000. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for direct visualization of microorganisms. Journal of Microbiological Methods 41, 85-112.

Oksuztepe G, İlhak OI, Dıkcı A, Calicioğlu M, Patır B. Effect of Potassium Sorbate on Some Microbiological Properties of Cokelek Stored at Different Temperatures, Kafkas Univ Vet Fak Derg., 16 (Suppl A), 99-105, 2010.

Özdemir H., Y. Yıldırım, Ö. Küplülü, A. Koluman, M. Göncüoğlu ve G. İnät 2006a Effects of lactic acid and hot water treatments on *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on beef. *Journal of Food Control* 18:299-303

Ozdemir H., A. Koluman, Y. Yıldırım, 2006b. Effects of acidified sodium chlorite, cetylpyridinium chloride and hot water on populations of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* on beef. *Letters in Applied Microbiology*.21:259-268

Sofos J. N., G.C. Smith, 1998, Nonacid meat decontamination technologies: Model studies and commercial applications. *International Journal of Food Microbiology*, 44, 171-188.

Yesillik S, Yıldırım N, Dıkıcı A, Yıldız A, Yesillik S. Antibacterial Effects of Some Fermented Commercial and Homemade Dairy Products and 0.9% Lactic Acid against Selected Food-borne Pathogens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6 (2), 189-195, 2011

Bildiri No: 45

Kategori: Genel

BURSA'DA SATIŞA SUNULAN PİLİÇ ETLERİNDE TETRASİKLIN İLAÇ KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI

Sunum Tipi: Poster

Figen ÇETİNKAYA, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

Artun YIBAR, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

Ece SOYUYEMİZ, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

Bülent OKUTAN, HAYVANSAL GIDALAR LABORATUVARI, TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI

Ali ÖZCAN, HAYVANSAL GIDALAR LABORATUVARI, TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI

Mehmet KARACA, HAYVANSAL GIDALAR LABORATUVARI, TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI

Özet

Bu çalışma, Bursa'da satışa sunulan tavuk etlerinde tetrasiklin ilaç kalıntılarının varlığını araştırmak amacıyla gerçekleştirildi. Bu amaçla Ağustos 2009 – Ocak 2010 tarihleri arasında büyük süper marketlerden ve kasap dükkanlarından 180 adet tavuk eti örneği toplandı. Tavuk etlerinde tetrasiklinlerin varlığı ve miktarı, Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) teknikleri ile araştırıldı. ELISA ile analiz edilen tavuk etlerinin 11'inde (%6) tetrasiklin kalıntıları saptandı. 11 ELISA pozitif ve 49 negatif örnek, Avrupa Birliği 2002/657/EEC direktifine göre valide edilmiş LC-MS/MS tekniği ile doğrulamaya alındı. ELISA pozitif 11 örnekten 1'inin doksisisiklin içerdiği belirlendi. 49 ELISA negatif örnekten, 3'ünün doksisisiklin ve 1'inin tetrasiklin içerdiği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Tetrasiklin, kalıntı, ELISA, LC-MS/MS, tavuk eti

INVESTIGATION OF TETRACYCLINE RESIDUES IN CHICKEN MEATS, SOLD IN BURSA

Abstract

The objective of this study was to investigate the presence of tetracycline residues in chicken meats sold in Bursa province (Turkey). For this purpose, 180 samples of chicken meat were collected from large supermarkets and butchers, during August 2009 to January 2010. The presence and quantification of TCs in chicken meats was investigated by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). 11 (6 %) from chicken meats analysed presented the residues of TCs by ELISA. 11 ELISA positive and 49 negative chicken samples were subjected to LC-MS/MS that was validated according to 2002/657/EEC directive, for confirmation. 1 out of the 11 ELISA positive samples was determined to contain doxycycline. From 49 ELISA negative samples, 3 were found to contain doxycycline whereas 1 sample contained tetracycline.

Keywords: Tetracycline, residue, ELISA, LC-MS/MS, chicken meat

Giriş

Oksitetrasiklin (OTC), tetrasiklin (TC), klortetrasiklin (CTC) ve doksisisiklin (DXC) gibi tetrasiklin antibiyotikleri (TCs), dünya'da özellikle kümes hayvanlarının tedavisi başta olmak üzere hayvan sağlığı uygulamalarında ve tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır (1-3). Ancak tetrasiklinlerin fazla ve uygunsuz kullanımı; yenilebilir hayvansal dokularda, insan sağlığı için tehlikeli ve potansiyel alerjik reaksiyonlara neden olabilecek seviyede, kalıntıların bulunmasına neden olabilir. Ayrıca, düşük seviyelerde antibiyotik içeren gıda maddelerinin uzun süre tüketilmesi, antibiyotik-dirençli mikroorganizmaların yayılmasına yol açabilir (4-6). Etkin bir gıda güvenliği sağlamak için, Avrupa Birliği (AB) kas dokuda oksitetrasiklin, tetrasiklin, klortetrasiklin ve doksisisiklin ilaçlarının maksimum kalıntı limitlerini (MKL) 100 µg kg⁻¹ olarak belirlemiştir (7).

İnsan tüketimine sunulan gıdaların güvenliğini kontrol etmede, antibiyotik kalıntılarının izlenmesi çok önemlidir (8). Son yıllarda, tetrasiklinlerin gıdalarda tespit edilmesi ile ilgili olarak birçok analitik yöntem rapor edilmiştir (3,4). ELISA gibi immunoassay temelli tarama teknikleri ile, yüksek duyarlılık ve seçiciliğe sahip gaz kromatografisi veya kütle spektrometrelili sıvı kromatografi gibi doğrulama teknikleri bunlardan bazılarıdır (9-11). Söz konusu çalışmada, Bursa'da satılan tavuk eti örneklerinde tetrasiklin kalıntılarının varlığı ve miktarının belirlenmesi amaçlandı. Çalışma kapsamında kalıntıların taranması için ELISA ve elde edilen sonuçların doğrulanması için LC-MS/MS tekniklerinden yararlanıldı.

Materyal ve Metot

Örnekler

Çalışmada Ağustos 2009 ve Ocak 2010 tarihleri arasında Bursa'da büyük süpermarketler ve kasap dükkanlarından satın alınan, 180 adet tavuk eti (90 adetli but ve 90 adetli göğüs) materyal olarak kullanıldı.

ELISA Analizi

Tavuk eti örneklerinde tetrasiklin kalıntılarının araştırılması amacıyla, ticari ELISA kitinden (Ridascreen, R3503, R-Biopharm, Germany) yararlanıldı. Tüm analizler üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi.

LC-MS/MS Analizi

Analizlerde kullanılan stok standart solüsyonlar (1 mg ml⁻¹) metanol ile hazırlandı ve 4°C'de depolandı. Çalışma standart solüsyonları ise, stok standart solüsyonların metanol ile dilüe edilmesi sonucu elde edildi.

Örneklerin analize hazırlanması amacıyla tavuk but ve göğüs etlerinin 4 g'mı 50 ml'lik plastik santrifüj tüpüne tartıldı. 15 ml metanol ilave edilerek, 5 dakika boyunca multi reax vortex (Heidolph, Schwabach, Germany) yardımıyla karıştırıldı. Daha sonra %1'lik formik asitten 4 ml ve 0.01 M EDTA'dan 400 µl ilave edildi ve tüp vorteksleildi.

15-20°C'de ve 2000 g'da 10 dakikalık santrifüj işlemi sonrası, bir enjektörle üst faz alındı ve filtre edildi. Son olarak filtratın 50 µl'si LC-MS/MS sistemi içerisine enjekte edildi.

LC-MS/MS analizi Tandem Gold Triple Quadrupole mass spectrometer (Zivak, Kocaeli, Turkey) ile ve pozitif elektrosprey iyonizasyon (ESI) modunda gerçekleştirildi.

Kromatografik ayırmda, LC kolon C18 (7.5 x 4.6 mm; 5 µm) kullanıldı. Mobil faz A %1 formik asit içeren su ile hazırlanırken, mobil faz B %0.1 formik asit içeren metanol ile hazırlandı.

Akış hızı 0.5 ml min⁻¹ ve enjeksiyon hacmi 50 µl'ydı, kolon ısı 32°C'de sürdürüldü.

Bulgular

Tavuk eti örneklerinde tetrasiklin kalıntılarını araştırmak amacıyla yürütülen ELISA analizine ilişkin sonuçlar Tablo 1'de, elde edilen sonuçları doğrulamak için gerçekleştirilen LC-MS/MS analizi sonuçları ise Tablo 2'de verilmiştir. Çalışmada Avrupa Birliği'nin 2002/657/EEC direktifine göre valide edilmiş LC-MS/MS metodu uygulanmış olup, metoda ilişkin performans bilgileri Tablo 3 ve Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 1. ELISA ile Analiz Edilen Tavuk Etlerinde Tetrasiklin Kalıntı Seviyeleri ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

Analiz edilen örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı (%)	Ortalama kalıntı seviyesi	SD	Minimum	Maksimum	□MKL örnek sayısı
But	6 (7)	6.97	0.63	6.13	7.78	0
Göğüs	5 (5.5)	14.73	10.02	6.82	26.6	0
Toplam	11 (6)	10.5	7.53	6.13	26.6	0

MKL, maksimum kalıntı limiti (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$, Avrupa Birliği)
SD, standart sapma

Tablo 2. LC-MS/MS Tekniği ile Belirlenen Antibiyotik Kalıntı Düzeyleri

Analiz edilen örneklerin sayısı	LC-MS/MS sonuçları			
	TC	DXC	OTC	CTC
11 ^a	<8.3	1 (35.6) ^c	<7.9	<14.6
49 ^b	1 (17.2)	3 (19.9-24.7)	<7.9	<14.6

TC: tetrasiklin, DXC: doksisisiklin, OTC: oksitetrasiklin, CTC: klortetrasiklin; a)ELISA pozitif örneklerin sayısı; b)ELISA negatif örneklerin sayısı; c)pozitif örneklerin sayısı (antibiyotik seviyeleri, $\mu\text{g kg}^{-1}$)

Tablo 3. LC-MS/MS Metoduna İlişkin LOD, LOQ ve R² Değerleri

Antibiyotikler	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Ölçüm belirsizliği	R ²
Tetrasiklin	8.342	25.280	3.3481	0.9990
Doksisisiklin	13.163	39.889	5.6684	0.9971
Oksitetrasiklin	7.989	24.208	2.1792	0.9996
Klortetrasiklin	14.607	44.263	2.0340	0.9996

LOD: tayin limiti; LOQ: ölçüm limiti; R²: belirlilik katsayısı

Tablo 4. LC-MS/MS Metoduna İlişkin Geri Kazanım ve Tekraredilebilirlik Oranları

Yükleme seviyesi	Antibiyotikler	Ortalama ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	SD	Tekraredilebilirlik (%)	Geri kazanım (%)
50 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Tetrasiklin	39.03	5.75	14.7	78.1
	Doksisiklin	28.45	4.87	17.1	56.9
	Oksitetrasiklin	38.78	5.37	13.8	77.6
	Klortetrasiklin	30.17	4.49	14.9	60.3
100 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Tetrasiklin	88.83	8.11	9.1	88.8
	Doksisiklin	77.85	7.71	9.9	77.9
	Oksitetrasiklin	87.15	7.06	8.1	87.2
	Klortetrasiklin	70.19	6.23	8.9	70.2
150 $\mu\text{g kg}^{-1}$	Tetrasiklin	151.81	13.22	8.7	101.2
	Doksisiklin	134.54	9.17	6.8	89.7
	Oksitetrasiklin	145.97	11.09	7.6	97.3
	Klortetrasiklin	120.22	9.90	8.2	80.1

Negatif örnekler her bir tetrasiklinin 50, 100 ve 150 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'lık konsantrasyonlarında yüklendi. Üç farklı günde her bir seviye için altı tekrar yapıldı.

Sonuç

Çalışmanın sonuçları, Bursa'da tüketime sunulan tavuk etlerinin değişik seviyelerde tetrasiklin kalıntılarını içerdiğini ortaya koymuştur. Belirlenen bu kalıntı düzeyleri Avrupa Birliği ve Türkiye'de belirlenen maksimum kalıntı seviyelerinden (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$) daha düşük olmasına rağmen; alerjik reaksiyonlara ve tüm dünyada insanlarda hastalıkların tedavisini güçleştiren antibiyotik-dirençli bakteri suşlarının gelişimine neden olabileceğinden, tüketiciler için bir sağlık tehlikesi olarak görülmelidir. Bu nedenle hayvanlarda ve bunlardan elde edilen ürünlerde veteriner ilaç kalıntılarının kontrolüne yönelik izleme programlarının planlanması ve yürütülmesi gereği açıktır. Çalışmada elde edilen veriler aynı zamanda ELISA'nın gıdalarda tarama tekniği olarak kullanılabileceğini, ancak yanlış pozitif ve/veya negatif sonuçları elimine etmek amacıyla LC-MS/MS gibi yüksek spesifiklik ve duyarlılığa sahip analitik metotlarla doğrulamanın yapılması gerektiğini göstermiştir.

Teşekkür

Çalışma, Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: V(U)-2009/20).

MANDA SÜTÜ VE SÜT ÜRÜNLERİNDE METSİSİLİN DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS VE İLGİLİ PATOJENLERİN (MRSA) BULUNUŞU VE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Sunum Tipi: Poster

Şebnem PAMUK, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Yeliz YILDIRIM, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Erciyes Üniversitesi
Esra ŞEKER, Mikrobiyoloji, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Zeki GÜRLER, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Recep KARA, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Özet

Türkiye’de, Afyonkarahisar ve çevresi günlük olarak birçok kişi tarafından tüketilen çiğ manda sütü ve süt ürünleri üretimi için önemli merkezlerdir. Gıda kaynaklı patojen olarak *S. aureus* ve *S. intermedius*’un belirgin önemi göz önüne alındığında, bu çalışmada, Türkiye’nin Afyonkarahisar ilinde nüfusun büyük bir bölümü tarafından tüketilen manda sütü ve süt ürünlerinden izole edilen *S. aureus* and *S. intermedius*’un antibiyotik direnci, B-laktamaz aktivitesi ve *mecA* geninin belirlenmesi amaçlanmıştır. Türkiye’de çiğ manda sütü ve ürünlerinden elde edilen *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus intermedius*’un antimikrobiyal direnç, B-laktamaz aktivitesi ve *mecA* geni belirlendi. Tüm suşlar en az bir antibiyotiğe karşı direnç gösterdi ama hiçbir vankomisine dirençli bulunmadı. 97 *S. aureus* suşunun dokuzu (% 9.2) ve 35 *S. intermedius* suşunun 2’si (% 5.7) oksasiline dirençli ve *mecA* pozitif olarak bulundu. *S. aureus* ve *S. intermedius* suşlarının B-laktamaz aktivitesi sırasıyla % 13.4 ve % 5.7 oranında pozitif olarak tespit edildi. Örneklerin % 2.5’inin metisiline dirençli *S. aureus* ile % 0.55’inin ise metisiline dirençli *S. intermedius* ile kontamine olduğu saptandı.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik direnci, CPS, MRSA, MRSI, Manda sütü.

A SURVEY OF THE OCCURRENCE AND PROPERTIES OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA) AND RELATED PATHOGENS IN WATER BUFFALO MILK AND DAIRY PRODUCTS IN TURKEY.

Abstract

In Turkey, Afyonkarahisar and surroundings are important sites for the production of raw buffalo milk and milk products that are consumed by many on a daily basis. Considering the marked importance of *S. aureus* and *S. intermedius* as food-borne pathogens, this study aims to determine the antimicrobial resistance, β -lactamase activity and *mecA* gene of *S. aureus* and *S. intermedius* isolated from raw milk and milk products of water buffalo mostly consumed by significant portion of the population in Afyonkarahisar Turkey. Antimicrobial resistance, β -lactamase activity and *mecA* gene of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius* isolated from raw water buffalo milk and products in Turkey were determined. All strains showed resistance to at least one antibiotic but none was resistant to vancomycin. Of the 97 *S. aureus* and 35 *S. intermedius* strains, nine (9.2%) and two (5.7%) were resistant to oxacillin and harbored *mecA* gene.

β -lactamase activity of 13.4% and 5.7% of *S. aureus* and *S. intermedius* strains were positive respectively. Overall, 2.5% and 0.55% of the samples were contaminated with methicillin resistant *S. aureus* and *S. intermedius* respectively.

Keywords: Antibiotic resistance, CPS, MRSA, MRSI, Water buffalo milk

Bildiri No: 51

Kategori: Genel

EFFECT OF CHITOSAN AND LACTIC ACID ON CHEMICAL AND SENSORY QUALITY OF MUSSEL DURING REFRIGERATED STORAGE

Sunum Tipi: Poster

**Göknur TERZİ, Food Hygiene and Technology, Ondokuz Mayıs University
Özgür ÇADIRCI, Food Hygiene and Technology, Ondokuz Mayıs University
Ali GÜCÜKOĞLU, Food Hygiene and Technology, Ondokuz Mayıs University
Tahsin Onur KEVENK, Food Hygiene and Technology, Ondokuz Mayıs University
Mustafa ALIŞARLI, Food Hygiene and Technology, Ondokuz Mayıs University**

Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Ondokuz Mayıs University, Samsun

Abstract

The objective of this study was to determine the effects of different pretreatment agents such as chitosan and lactic acid on chemical and sensory quality of mussels stored in refrigerator. Initially mussel samples were dipped in 0.5% lactic acid solution (v/v), and 0.5% chitosan solution (medium molecular weight) for 15 min and stored at 4 °C for 11 days. Mussel samples were analysed at 0, 2, 4, 7, 9, and 11 day of storage for chemical and sensory features. Total volatile basic nitrogen (TVB-N), thiobarbituric acid (TBA), trimethylamine nitrogen (TMA-N) and histamine values of control group mussels were increased from (day 0) 13.1 mg/100 g, 1.37 mg MA/kg, 1.97 mg/100 g and 4 ppm to 39.9 mg/100 g, 3.02 mg MA/kg, 4.86 mg/100 g and 7.75 ppm at the end of the storage period (day 11), respectively ($P<0.05$). Chemical and sensory results indicated that the shelf-life of mussels stored at 4 °C is limited to 4 days in the control group. However, mussels pretreated with lactic acid and chitosan were stored 7 days and the shelf-life of mussels extended for ca 2-3 days as compared with the control group ($P<0.05$). In conclusion, the results of this study suggest that the lactic acid and chitosan can be used to extend the shelf-life and maintain the quality of mussel.

Key words: Mussel, quality, shelf-life, lactic acid, chitosan.

LAKTİK ASİT VE KİTOSANIN BUZDOLABI KOŞULLARINDA DEPOLANAN MİDİYELERİN KİMYASAL VE DUYUSAL KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Özet

Bu araştırma, buzdolabı koşullarında muhafaza edilen midyelerin kimyasal ve duyuşal kalitesi üzerine laktik asit ve kitosan çözeltilerinin etkisini belirlemek amacıyla yapıldı. Başlangıçta midye örnekleri % 0.5' lik laktik asit (v/v) ve % 0.5' lik kitosan (v/v) (orta molekül ağırlıklı) çözeltisi içinde 15 dakika bekletildi ve daha sonra +4 oC de 11 gün muhafaza edildi. Muhafazanın 0, 2, 4, 7, 9 ve 11. günlerinde midyede şekillenen kimyasal (TVB-N, TBA, TMA-N, histamin) ve duyuşal değışiklikleri belirlemek için analizler yapıldı. Muhafazanın ilk gününde (0. gün) kontrol grubu midyelerinde toplam volatil bazik azot (TVB-N), tiyobarbitürik asit (TBA), trimetil amin azot (TMA-N) ve histamin değeri sırasıyla 13.1 mg/100 g, 1.37 mg MA/kg, 1.97 mg/100 g ve 4 ppm iken muhafazanın 11. gününde 39.9 mg/100 g, 3.02 mg MA/kg, 4.86 mg/100 g ve 7.75 ppm'e yükseldi ($P<0.05$). Yapılan kimyasal ve duyuşal analizler sonucunda 4 oC'de depolanan kontrol grubu midyelerinin raf ömrünün 4 günle sınırlı olduğu görüldü. Buna karşın laktik asit ve kitosanla muamele edilen midyelerin 7 gün muhafaza edildiği ve bu midyelerin kontrol grubu midyelerine göre raf ömrünün yaklaşık 2-3 gün daha uzun olduğu görüldü ($P<0.05$). Bu çalışmada sonuç olarak; midyelerin kalitesinin korunması ve raf ömrünün uzatılması için muhafazaya alınmadan önce laktik asit ve kitosan uygulamalarının yapılması önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Midye, kalite, raf ömrü, laktik asit, kitosan.

Bildiri No: 55

Kategori: Genel

MUHAFAZA SICAKLIĞI VE MARİNASYONUN SIĞIR ETİNİN KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Sunum Tipi: Poster

**Tolga KAHRAMAN, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Veteriner Fakültesi
Ghassan ISSA, Besin Hijyeni ve, Veteriner Fakültesi**

Özet

Bu çalışmada, muhafaza sıcaklığının ve citrus juice (CJ; *Citrus aurantifolia*) ile yapılan marinasyon işleminin, siğir karkaslarından (10 adet) elde edilen longissimus dorsi lumborum (LDL) kasının kalitesi üzerine olan etkileri araştırıldı. Kesim sonrası, karkaslar ikiye ayrıldıktan sonra sağ yarımlara (RC) hızlı soğutma (6 saat -20 ± 1 °C, 18 saat 2 ± 1 °C), sol yarımlara (DC) kademeli soğutma (6 saat 15 °C, 18 saat 2 ± 1 °C) uygulandı. Postmortem 2. günü, her porsiyondan 5x1x1 cm ebatlarında numuneler alındı ve %50 CJ içeren sıvının içinde 12 saat bekletildi. Et kalitesinin belirlenmesi amacıyla LDL kasında pH, sıcaklık, su tutma kapasitesi (WHC), pişirme kaybı (CL), renk (L^* , a^* , b^*), gerilme kuvveti (SF) ve sarkomer uzunluğu (SL) değerleri incelendi. Sonuç olarak, RC ve CJ uygulamaları ile CL ve WHC değerlerinde önemli azalmalar belirlenmiştir ($p < 0,001$). DC ve CJ ile de, SF ve SL değerlerinin geliştiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, RC ve marinasyonunun beraber uygulanması kaliteyi geliştirme açısından önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Marinasyon; et kalitesi; sarkomer uzunluğu, şok soğutma

EFFECTS OF TEMPERATURE CONDITIONING AND CITRUS JUICE MARINADE ON QUALITY OF BEEF

Abstract

In this study, longissimus dorsi lumborum (LDL) muscles obtained from 10 beef carcasses were used to determine the effects of temperature conditioning and citrus juice (CJ; *Citrus aurantifolia*) marinade on quality of beef carcasses. After slaughter, the right sides were rapidly chilled (RC; -20 °C for 6 h), while the left sides were delay chilled (DC; 15 °C for 6 h) and then placed in a conventional chiller. At 2 days postmortem, each portion (5x1x1 cm) was submitted to the marinade treatment (50 % CJ) and distilled water as control. Meat quality was evaluated by pH, temperature, water holding capacity (WHC), cooking loss (CL), color (L^* , a^* , b^*), shear force (SF) and sarcomere length (SL). Results showed that RC and CJ marinade reduced CL and WHC values. DC and CJ had a positive effect on SF and SL. These results suggest that RC would be useful for applying together with CJ marination for improving the meat quality of beef meat.

Keywords: Marination, meat quality, sarcomere length, rapid chilling

Giriş

Ülkemiz et sanayinde, kalite kavramı gittikçe önem kazanmaya başlayan bir faktör durumuna gelmektedir. Tüketime sunulan etlerin kalitesini saptamada renk, gevreklik, lezzet, su tutma kapasitesi gibi kriterler esas alınmaktadır. Gevreklik ise, tüketiciler tarafından en fazla dikkate alınan kalite kriteri olarak kabul edilmektedir

(Nollet & Toldra, 2006). Etin gevrekliği üzerinde miyofibriler (kas) yapı etkin rol oynamaktadır. Kas liflerinin sertliğinin kesim öncesi koşulların iyileştirilmesi, bazı kesim teknikleri, uygun koşullarda soğutma ve olgunlaştırma ile en aza indirilebildiği bildirilmektedir (James & James, 2002).

Uygun olmayan muhafaza ve depolama şartlarında ise, postmortem aşamanın 1. ve 24. saatleri arasında etlerin sahip oldukları pH değerlerinde, arzu edilmeyen değişimler meydana gelebilmektedir. Bu durum özellikle et kalitesini olumsuz olarak etkileyen soğuk kasılmasına ya da soğuk kışalmasına neden olmaktadır (Savell ve ark., 2005). Sığır ve koyun karkaslarında meydana gelen soğuk kışalmasında, düzensiz kasılmalar nedeni ile et tam bir olgunlaşma devresi geçirememekte ve sert yapı oluşmaktadır. Genellikle bu durumu engellemek amacıyla, karkaslarda kademeli soğutma uygulaması tercih edilmektedir (15 °C 3 saat, 1 °C 21 saat). Kademeli soğutma uygulaması ile etlerde soğuk kasılması riskinin ortadan kalktığı ileri sürülmekte ve böylece etlerin duysal özelliklerinin daha iyi olduğu savunulmaktadır (Martin ve ark., 1983; Fields ve ark., 1976).

Son yıllarda karkaslarda fire oranını azaltmak ve mikrobiyolojik yükü korumak amacıyla hızlı soğutma uygulamalarından da faydalanılmaktadır. Hızlı soğutma uygulamaları, ekonomik yönden et üreticilerine avantajlar sunmasına rağmen, et kalitesi parametreleri üzerine olumsuz etkilerinden bahsedilmektedir (Li ve ark., 2006). Buna karşılık sığır (Bowling ve ark., 1987) ve koyun (Jaime ve ark., 1992) karkasları üzerine yapılan çalışmalarda hızlı soğutulan karkasların, DC uygulananlara nazaran daha gevrek olduğu ortaya konulmuştur. Tomovic ve ark (2008) ise, RC uygulanan karkaslarda, soğuk kışılması riskinin bulunduğunu ve bunun hayvan cinsine, kas yapısına ve yağ oranına bağlı olarak şekillendiğini belirtmişlerdir.

Etin bir dizi enzimatik reaksiyonlar geçirerek sertliğinin çözülmesi ve tüketimin arzu ettiği gevreklik ile aroma ve lezzeti kazanması, olgunlaşma olarak ifade edilmektedir. Olgunlaşma işlemleri doğal olarak gelişebildiği gibi alternatif uygulamalarla da şekillenmektedir. Bunlardan biri marinasyon adı verilen, marinatlar ile hazırlanan solüsyonların ete enjeksiyon, masaj veya immersiyon yoluyla uygulanmasıdır (Barbanti & Pasquini, 2005; Sheard ve ark., 2004). Su tutma kapasitesi ve duysal özellikleri geliştiren, etlerin gevrekleşmesinde etkin rolü olan marinasyon işleminin sığır karkasların üzerine etkileri birçok çalışmada incelenmiştir (Medynski ve ark., 2000; Gault, 1984; Onenc ve ark., 2004; Aktas & Kaya, 2001). Marinatlar içersinde yaygın olarak asetik asit ve laktik asit kullanılmaktadır (Burke & Monahan, 2003).

Ölkemizde karkas muhafaza sıcaklıklarını üzerine yapılan çalışmaların sayısı oldukça kısıtlıdır. Muhafaza sıcaklıklarının, sahip olduğumuz hayvan türlerinin kas yapısına ve yağ oranına etkilerini düşündüğümüzde, et kalitesi üzerinde önemi görülmektedir. Ayrıca kırmızı etlerin Citrus Juice (CJ; Citrus aurantifolia) ile marine edilmesi de araştırmacıların çok ilgisini çeken bir konu olmamıştır. Bu çalışmada, sığır karkaslarına uygulanacak olan hızlı soğutma ve marinasyon işlemlerinin et kalitesi üzerine etkileri incelendi.

Gereç ve Yöntem

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi çiftliğinde yetişmiş, ortalama ağırlıkları 420 kg olan 5-6 yaşlarında 10 adet sığır (Holstein x Friesian) çalışmada materyal olarak kullanıldı. Hayvanlar kesimden 1 gün önce mezbahaya getirildi ve 24 saatlik dinlenme periyodu sonrası kesildi. Sırasıyla kanatma ve derinin yüzülmesi işlemleri sonrası karkaslar ortadan iki eşit parçaya ayrıldı. Sağ yarım karkaslar (RC; n=10) hızlı soğutma (6 saat -20 ± 1 °C, 18 saat 2 ± 1 °C), sol yarım karkaslar (DC; n=10) kademeli soğutma (6 saat 15 °C, 18 saat 2 ± 1 °C) uygulandı. Postmortem 24. saatte, longissimus dorsi lumborum (LDL) kası karkaslardan ayrılmış ve 7. güne kadar yapılacak incelemeler amacıyla porsiyonlara ayrılarak vakum paketlenip 0-4 °C saklandı.

Postmortem 2. günü, her porsiyondan 5x1x1 cm ebatlarında numuneler alındı ve %50 CJ içeren sıvının içinde 12 saat bekletildi. Araştırmada kontrol grubu (C) ise, distile su ile muamele edildi.

Postmortem 1. saatinde LDL kasının üst yüzeyinden alınan örnekler ve bir gün içersinde farklı kontrol zamanlarında örneklerin merkezinden pH ve sıcaklık ölçümleri yapıldı (1, 3, 6, 8, 12, 18, 24 saatlerde). Sıcaklık ölçümünde dijital termometre (Thermolab), pH ölçümünde ise pH metre (Hanna HI 9321) kullanıldı. Termometre ve pH metrenin elektrotları merkeze yakın 3 farklı noktaya sokularak değerler tespit edildi ve 3 değerın ortalaması alındı

Su tutma kapasitesi (WHC) ölçümü için alınan et örnekleri, iyice kıyılmış olarak kurutulmuş süzgeç kâğıdı üzerinde yaklaşık 300 mg tartıldı. Örnek ve süzgeç kâğıdı pleksiglas plakalar arasına konuldu. Ve cam plakalar üzerine 1 kg'lık ağırlık yerleştirilerek 20 dakika beklenildi. Sürenin dolduğunda ağırlık alınıp süzgeç kâğıdı çıkarılarak, süzgeç kâğıdı üzerinde gözlenen dairelerin alanı Autocad 2008 programı ile hesaplandı (Vural & Öztan, 1996). Pişirme kaybı (CL) için alınan 50 g et numunesi 100 °C' deki su banyosunda 10 dakika pişirildi. Pişirme işlemi sonrası et kurutuldu ve tartıldı (Vergara & Gallego, 2000).

LDL kasında gerilme kuvveti (SF) analizlerinde Warner-Bratzler shear force cihazından yararlanıldı. Bu analizde 100 °C'deki su banyosunda 10 dakika pişirilen etler kullanıldı. Her bir örnek için Warner-Bratzler bıçağının kesmesi sırası uygulanan en yüksek kuvvet (kg/cm²) ve kuvvet x zaman grafiği bilgisayara kaydedildi Sarkomer uzunluğu (SL) ölçümü için Cross ve ark. (1981) tarafından belirtilen metot ile yapılmıştır.

Et rengi ölçümü için L, a, b sistemi ile ölçüm yapan, bilgisayar bağlantılı bir chromo meter kullanıldı. Bu sistemde yapılan ölçümlerde üç temel renk parametresi (L*=parlaklık, a*=kırmızı, b*=sarı) rakamsal olarak belirlenmektedir. Her bir renk ölçümünde alınan numunenin kesit yüzeyinin yağsız bölümünden chromo meter aracılığı ile 5 ölçüm yapılacak ve elde edilen sonuçların ortalaması alındı (Hunt ve ark., 1991). Bu çalışmada, SPSS analiz programından ANOVA ve contrast test yöntemi kullanılarak verilerin analizi yapılmıştır (SPSS, 1999).

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışma sonucunda elde edilen pH değerleri Şekil 1'de verilmiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar RC grubuna alt pH değerlerinin DC grubuna göre istatistiksel olarak belirgin bir şekilde daha düşük ($P<0,001$) olduğunu göstermektedir (Şekil 1). DC uygulamasıyla etlerde pH değerleri daha hızlı bir düşüş göstermiştir. Buna benzer sonuçlar, Zhu ve ark. (2011) siğir kaskaslarında ve Petrovic ve ark. (1997) domuz karkaslarında alınmıştır. Soğuk muhafaza sonrası (24 saat), iki grupta belirlenen pH değerleri 5,60'tır. Siğir karkasları üzerine yapılan çalışmada genelde değerlerin 5,3 ile 5,7 arasında olduğu belirtilmiştir (Kahraman ve ark., 2011; Li ve ark., 2006).

Bu çalışmada elde edilen sıcaklık verilerine göre, başlangıç sıcaklıkları 37,14 °C'dir ($P>0,05$) (Şekil 2). İki farklı soğutma uygulanan karkaslarda en büyük düşüş 3. saatte tespit edilmiştir. Muhafaza süresinin 1. ve 24. saatler hariç diğer zaman dillmlerinde istatistiksel anlamda önemli farklar bulunmuştur. Buna karşılık, Janz ve ark. (2001), Jones ve ark. (1993) ve Milligan ve ark. (1998) soğutma uygulaması üzerine yapmış oldukları çalışmalarda, 24. saatteki sıcaklık dereceleri önemli olduğu tespit edilmiştir. Sıcaklık ve pH derecelerinin postmortem seyri, etin kalitesine özellikle de gevrekliği üzerine oldukça etkili olduğu belirtilmiştir (Hannula & Pudanne, 2004). Rigor mortis oluşmadan ya da pH 6,2'ye gelmeden karkas sıcaklığı 10–16 °C'nin altına düşerse cold shortening (soğuk kısalması) oluşacağı ifade edilmiştir (Bendall, 1973). Bu çalışmada DC ve RC de pH 6,2'nin altına düştüğünde sıcaklık dereceleri 16 °C'nin üstünde olduğu görülmüştür.

RC uygulamasının longissimus kasında CL oranını azaltarak WHC değerini geliştirdiği tespit edilmiştir ($P<0,001$) (Tablo 1). Bu değerlerin, depolama süresi boyunca gelişme gösterdiği ve bunun da istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0,001$). Soğutma koşullarının, postmortem enerji metabolizması ve yapısal olarak kaslardaki suların dağılımı üzerine etkilerinden dolayı CL ve WHC değerlerinde değişimler meydana geldiği ifade edilmektedir (Bertram ve ark., 2001). Benzer sonuçlar, boğa (Li ve ark., 2006) ve domuz karkasları (Tomovic ve ark., 2008) üzerine yapılan çalışmalarda da alınmıştır. Buna karşılık, Long & Tarrant (1990) ve Petrović ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada, RC uygulamasının WHC üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır. Bu farklılık, uygulanan sıcaklık derecesinden ya da depolardaki hava akımı şiddetinden kaynaklanmış olabilir.

Marinasyon uygulamasıyla CL ve WHC değerlerinde azalma tespit edilmiştir ($P<0,001$). Asitli marinatların etin pH'sını 5,0'ın altına düşürdüğü, myofibrillerdeki bağlayıcı proteinlerin şişerek su tutmasını sağladığı, buna karşılık CL değerlerini azalttığı ifade edilmiştir (Gault, 1984). Marinasyon öncesi 5,62 olarak ölçülen pH değeri, uygulama ile 4,4 olarak belirlenmiştir. Serdaroglu ve ark. (2006), Ke ve ark. (2009) ve Medynski ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmalar, bizim bulgularımızı destekler durumdadır. Buna karşılık, Mikel ve ark. (1996) organik asitlerle yapılan marinasyonun siğir etleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen SF ve SL değerleri Tablo 1'de sunulmuştur. RC uygulamasının kaslarda SF değerlerini arttırdığı ve DC ile aralarında önemli fark olduğu tespit edilmiştir ($P<0,001$). RC uygulamasının gevreklik üzerine olumsuz etkisi, önceki yıllarda yapılan araştırmalarda da açıkça ortaya konmuştur (Eikelenboom & Smulders, 1996; Wiklund ve ark., 2001). Buna karşılık, Zhu ve ark. (2011) ve Li ve ark. (2006) RC uygulanan karkaslarla, kontroller arasında gevreklik yönünden önemli bir fark bulamamışlardır. Bu değişiklikler, deneysel grupları oluşturan hayvanların tür ve rasyon farklılığından kaynaklanmış olabilir.

CJ ile marinasyonun SF değerleri üzerine olumlu etkisi Tablo 1'de verilmiştir. Asitli marinatların, etlerin pH'larını isoelektrik noktanın aşağısına çekerek, katepsinin etkin hale gelmesi ile proteolizisi hızlandırdığı ve bunun da pişirme esnasında collagen yapıların jelatinel bir hal almasına neden olduğu ifade edilmiştir (Serdaroglu ve ark., 2006; Önenç ve ark., 2004). Katepsinin 3,5–5,0 pH derecelerinde etkin hale geldiği ve özellikle B ve L katepsinin proteolizisde etkin rol oynadığı açıklanmıştır (Burke & Monahan, 2003). Aktaş ve Kaya (2003) etlerin gevrekliğinin artmasının aynı zamanda düşük pH derecelerinde miyofibriller arasında fazla su bağlama kapasitesinden kaynaklandığını savunmuşlardır. Bunların aksine, Arganosa & Marriott (1989) düşük molarlı organik asitlerle yaptıkları çalışmalarında, marinasyon işleminin kontrollerle kıyaslandığında gevreklik üzerine etkisi bulunamamıştır. Bu farklılık, kullanılan marinatların molarlarından, marinasyon içersine konulan et parçalarının büyüklüğünden ve marinatlar içinde bekletilme süresinden kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir (Desmond & Troy, 2001).

Depolama süresince farklı muhafaza koşullarında saklanan etlerde, SF değerlerinin düştüğü görülmüştür ($P<0,001$). SF değerlerinin SL'ye bağlı olarak şekillendiği düşünülmektedir (Hannula & Pudanne, 2004). SL arttıkça, SF değerlerinin düştüğü ifade edilmektedir (Claus ve ark., 1997; Sorheim ve ark., 2001). Bowling ve ark. (1987) ise, hızlı soğutulan (-70°C) karkasların gevreklik ve SL değerlerinin daha yüksek olduğunu açıklamışlardır. Dreyer ve ark. (1979) yaptıkları çalışmada, etlerin gevrekliğinde sıcaklık faktörünün etkili olduğunu, SL etkisinin önemli olmadığını belirtmişlerdir. Lochner ve ark. (1980) gevrekliğin, sıcaklıkla etkin hale gelen proteolitik enzimler ile sağlandığını ileri sürmüşlerdir. Li ve ark. (2006) ise, postmortem 1. saatindeki pH değerinin gevreklik üzerine etkisini ortaya koymuşlardır. Bir başka araştırmada da Lowe ve ark. (2004), son pH değerinin gevrekliğin belirlenmesindeki önemini savunmuşlardır. Bizim çalışmada bulunan sonuçlara göre, karkaslardaki son pH'nın gevreklik üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı; birinci saatte ölçülen pH değerinin daha belirleyici olduğu düşünülmektedir. Renk, etin tüketiciler tarafından alım sırasında en çok dikkat ettiği kriterdir.

RC etin açık rengi üzerine negatif etki yapmıştır ($P<0,001$) Tablo 2). Ayrıca, a^* ve b^* değerleri üzerine soğutma yöntemlerin bir etkisi bulunamamıştır ($P>0,05$). Benzer sonuçlar, Janz ve ark. (2001) ve Bowling ve ark. (1987) tarafından da belirtilmiştir. L^* değerinin düşük olması, RC uygulanan karkaslardaki pH düşüşlerinin yavaş olmasından kaynaklandığı savunulmuştur (Lawrie, 1998). Buna ek olarak, Pearson & Dutson (1985) hücre yüzeyinde bulunan serbest su miktarının azalmasının da etkili olabileceğini ifade etmişlerdir. Diğer taraftan, Milligan ve ark. (1998) ve Josell ve ark. (2003) kesim sonrası uygulanan soğuk muhafaza metodlarının L^* değeri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını söylemişlerdir.

Marinasyon uygulamasıyla, etlerin L^* ($P<0,001$) ve a^* ($P<0,001$) değerlerinde farklılıklar belirlenirken, b^* değerinde gelişme olmamıştır ($P>0,05$). Marinatların pH dereceleri düştükçe etlerin parlaklığının arttığı tespit edilmiştir. Arganosa ve Marriott (1989) ve Kotula ve Thelappurath (1994) yaptıkları çalışmalarda hemen hemen benzer sonuçlar almışlardır. Önenç ve ark. (2004) sitrik asitle yaptıkları marinasyon işleminde, L^* ve b^* değerinde yükselme, a^* değerinde azalma belirlemişlerdir. Renk değerlerinin değişmesinde pH ve kas proteinlerinin önemli rol oynadığı; yüksek pH değerinin etlerin L^* değerlerini olumsuz olarak etkilediği bildirilmektedir (Serdaroglu ve ark., 2006).

Sonuç ve Öneriler

Sonuçlara göre, RC işlemi ile karkaslarda, DC uygulamasına kıyasla pH düşüşü yavaşlamış olduğu tespit edilmiştir. Et kalitesine yönelik analizler içerisinde sadece CL ve WHC olumlu sonuçlar alınmıştır. Marinasyon işlemi ile de, düşük pH nedeniyle etlerde CL ve WHC hariç tüm değerlerin geliştiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, RC ve marinasyonun beraber uygulanması kaliteyi geliştirme açısından önerilmektedir.

Kaynaklar

- Aktas N. and Kaya M. (2001). The influence of marinating with weak organic acids and salts on the intramuscular connective tissue and sensory properties of beef. *European Food Research Technology*, 213, 88–94.
- Arganosa G.C. and Marriott N.G. (1989). Organic acids as tenderizers of collagen in restructured beef. *Journal of Food Science*, 54, 1173–1176.
- Barbanti D. and Pasquini M. (2005). Influence of cooking conditions on cooking loss and tenderness of raw and marinated chicken breast meat. *LWT*, 38, 895–901.
- Bendall J.R., 1973. The biochemistry of rigor mortis and cold contracture. In *Proceedings of the 19th European Meeting of Meat Research Workers* (pp. 1–27), Paris, France.
- Bertram H.C., Donstrup S., Karlsson A.H., Andersen H.J. and Stodkilde-Jorgensen H. (2001). Post mortem energy metabolism and pH development in porcine M. longissimus dorsi as affected by two different cooling regimes. A ^{31}P -NMR spectroscopic study. *Magnetic Resonance Imaging*, 19, 993–1000.
- Bowling R.A., Dutson T.R., Smith G.C. and Savell J.W. (1987). Effects of cryogenic chilling on beef carcass grade, shrinkage and palatability characteristics. *Meat Science*, 21, 67–72.
- Burke R.M. and Monahan F.J. (2003). The tenderization of shin beef using a citrus juice marinade. *Meat Science*, 63, 161–168.
- Claus J.R., Wang H., Marriott N.G. (1997). Prerigor carcass muscle stretching effects on tenderness of grain-fed beef under commercial conditions. *Journal of Food Science* 1997, 62(6): 1231–1234.
- Cross H.R., West R.L., Dutson T.R. (1981). Comparison of methods for measuring sarcomere length in beef semitendinosus muscle. *Meat Science*, 5, 261–266

Desmond E.M. and Troy D.J. (2001). Effect of lactic and citric acid on low value beef used for emulsion type meat products. *LWT*, 34, 374-379.

Dreyer J.H., Rensburg A.J.J., van Naude R.T., Gouws P.J. and Stiemie S. (1979). The effect of chilling temperatures and mode of suspension of beef carcasses on sarcomere length and meat tenderness. *South African Journal of Animal Science*, 9, 1-9.

Eikelenboom, G. & Smulders, F. J. M., 1986. Effect of electrical stimulation on veal quality. *Meat Science* 16, 103-112.

Fields P.A., Carpenter Z.L. and Smith G.C. (1976). Effects of elevated temperature conditioning on youthful and mature beef carcasses. *Journal of Animal Science*, 42, 72-83.

Gault N.F.S. (1984). The influence of acetic acid concentration on the efficiency of marinating as a process for tenderizing beef. *Proceedings of the 30th European Meeting of Meat Research Workers*, 184-185.

Hannula T. and Puolanne E. (2004). The effect of cooling rate on beef tenderness: the significance of pH at 7 °C. *Meat Science*, 67, 403-408.

Hunt M.C., Acton J.C., Benedict R.C., Calkins C.R., Cornforth D.P., Jeremiah L.E., Olson D.G., Salm C.P., Savell J.W. and Shivas S.D. (1991). AMSA guidelines for meat color evaluation. In E. Schofield (Ed.), *Proceedings of the Forty-Fourth Annual Reciprocal Meat Conference* (pp. 3-17). Manhattan, Kansas: Kansas State University (9-12 July 1991).

Jaime I., Beltran J.A., Cena P., Lopez-Lorenzo P., and Roncales P. (1992). Tenderization of lamb meat: effect of rapid postmortem temperature drop on muscle conditioning and aging. *Meat Science*, 32, 357-366.

James S.J. and James C. (2002). *Meat Refrigeration*. CRC Press. Woodhead Publishing Limited, England.

Janz J.A.M., Aalhus J.L. and Price M.A. (2001). Blast chilling and low voltage electrical stimulation influences on bison meat quality. *Meat Science*, 57, 403-411.

Jones S.D.M., Jeremiah L.E. and Robertson W.M. (1993). The effect of spray and blast-chilling on carcass shrinkage and pork muscle quality. *Meat Science*, 1993, 34, 351-362.

Josell A., von Seth G. and Tornberg E. (2003). Sensory and meat quality traits of pork in relation to post-slaughter treatment and RN genotype. *Meat Science*, 66, 113-124.

Kahraman T., Bayraktaroglu A.G., Bostan K. and Kocak O. (2011). Effects of electrical stimulation on quality and microstructure of rapid chilled beef carcasses. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas*, 17, 291-295.

Ke S., Huang Y., Decker E. A. and Hultin H.O. (2009). Impact of citric acid on the tenderness, microstructure and oxidative stability of beef muscle. *Meat Science*, 82, 113-118.

Kotula K.L. and Thelappurath R. (1994). Microbiological and sensory attributes of retail cuts of beef treated with acetic and lactic acid solutions. *J. Food Prot.*, 57, 665-670.

Lawrie R.A. (1998). In *Lawrie's meat science* (6th ed.). Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England.

Li C.B., Chen Y.J., Xu X.L., Huang M., Hu T.J. and Zhou G.H. (2006). Effects of low voltage electrical stimulation and rapid chilling on meat quality characteristics of Chinese Yellow crossbred bulls. *Meat Science*, 72, 9-17.

Lochner J.V., Kaufman R.G. and Marsh B.B. (1980). Early post-mortem cooling rate and beef tenderness. *Meat Science*, 4, 227-241.

Locker, R.H. and Hagyard C.J. (1963). A cold shortening effect in beef muscles. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 14, 787-793.

Long V.P. and Tarrant P.V. (1990). The effect of pre-slaughter showering and post-slaughter rapid chilling on meat quality in intact pork sides. *Meat Science*, 27, 181-195.

Lowe T.E., Devine C.E., Wells R.W. and Lynch L.L. (2004). The relationship between post-mortem urinary catecholamines, meat ultimate pH, and shear force in bulls and cows. *Meat Science*, 67, 251-260.

Martin A.H., Murray A.C., Jeremiah L.E. and Dutson P.J. (1983). Electrical stimulation and carcass ageing on beef carcasses in relation to postmortem glycolysis rate. *Journal of Animal Science*, 57, 1456-1462.

Medynski, A., Pospiech, E. & Kniat, R., 2000. Effect of various concentrations lactic acid and sodium chloride on selected physico-chemical meat traits. *Meat Science* 55, 285-290.

Mikel W.B., Goddard B.L. and Bradford D.D. (1996). Muscle microstructure and sensory attributes of organic acid-treated beef strip loins. *Journal of Food Science*, 61, 1058-1061.

Milligan S.D., Ramsey C.B., Miller M.F., Kaster C.S. and Thompson L.D. (1998). Resting of pigs and hot-fat trimming and accelerated chilling of carcasses to improve pork quality. *Journal of Animal Science*, 76, 74-86.

Nollet L.M.L. and Toldra F. (2006). *Advanced Technologies for Meat Processing*. CRC Press. Taylor Francis Group, America.

Onenc A., Serdaroglu M. and Abdramov K. (2004). Effect of various additives to marinating baths on some properties of cattle meat. *European Food Research Technology*, 218, 114-117.

Pearson A.M. and Dutson T.R. (1985). Scientific basis of electrical stimulation. In D. H. Pearson & T. R. Dutson (Eds.). *Advances in meat research, electrical stimulation* (Vol. 1). Westport, Connecticut: AVI Publishers Company, USA.

Petrovic L., Okanovic D. and Rede R. (1997). Possibility of cooked ham production from ham deboned early post mortem, 1. Influence of chilling rate on the properties of muscles deboned different time post mortem. *International Fleischwirtschaft*, 3, 27-32.

Savell, J. W., Mueller, S. L. & Baird, B. E., 2005. The Chilling of Carcasses. *Meat Science* 70, 449-459.

Serdaroglu M., Abdramov K. and Onenc, A. (2007). The effects of marinating with citric acid solutions and grapefruit juice on cooking and eating quality of turkey breast. *Journal of Muscle Foods*, 18, 162-172.

Sheard P.R., Nute G.R., Richardson R.I. and Wood J.D. (2005). Effects of breed and marination on the sensory attributes of pork from Large White and Hampshire-sired pigs. *Meat Science*, 70, 699-707.

Sørhøim O., Idland J., Halvorsen E.C., Frøystein T., Lea P. and Hildrum K.I. (2001). Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of *M. longissimus dorsi*. *Meat Science*, 57, 79-85.

SPSS Inc., 1999. *SPSS for Windows*, Release 10.0.

Tomovic V.M., Petrovic L.S. and Dzinic N.R. (2008). Effects of rapid chilling of carcasses and time of deboning on weight loss and technological quality of pork semimembranosus muscle. *Meat Science*, 80, 1188-1193.

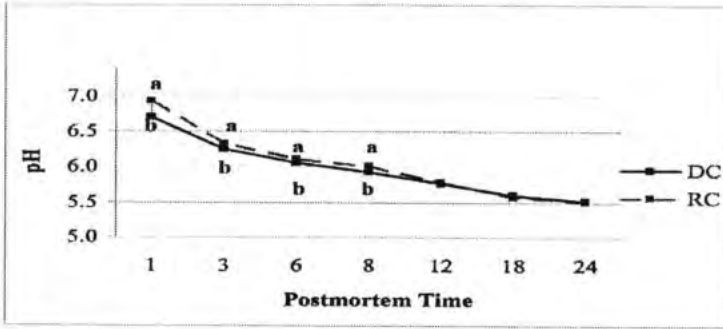
Vergara H. and Gallego L. (2000). Effect of electrical stunning on meat quality of lamb. *Meat Science*, 56, 345-349.

Vural H. ve Öztan A. (1996). Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Kılavuzu, H. Ü. Müh. Fak. Yay., 36, Ankara.

Wiklund E., Stevenson-Barry J.M., Duncan S.J. and Littlejohn R.P. (2001). Electrical stimulation of red deer (*Cervus elaphus*) carcasses - effects on rate of pH-decline, meat tenderness, color stability and water-holding capacity. *Meat Science*, 59, 211-220.

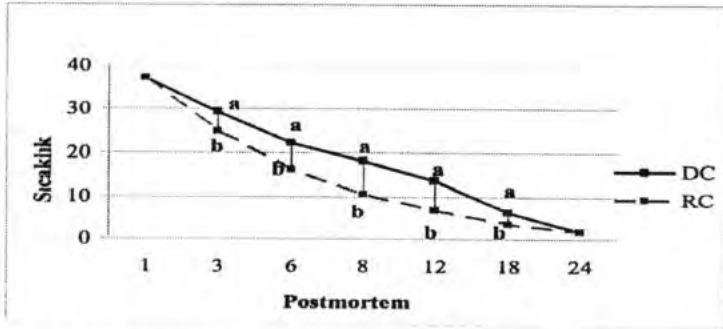
Zhu L., Gao S. and Luo X. (2011). Rapid chilling has no detrimental effect on the tenderness of low voltage electrically stimulated *M. longissimus* in Chinese bulls. *Meat Science*, 88, 597-601.

Şekil 1. Muhafaza süresince pH değerlerindeki değişim



a, b: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık vardır.

Şekil 1. Muhafaza süresince pH değerlerindeki değişim



a, b: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık vardır.

Tablo 1. Muhafaza sıcaklığı ve marinasyon işleminin CL, WHC, SF ve SL değerleri üzerine etkisi

Gruplar		L	a	b
Soğutma		***	N.S	N.S
	DC	38,70 ^a ±0,027	7,28±0,012	10,57±0,013
	RC	37,25 ^b ±0,027	7,31±0,012	10,57±0,013
Marinasyon		***	***	N.S
	C	35,25 ^b ±0,054	8,22 ^a ±0,025	10,60±0,026
	CJ	36,91 ^a ±0,054	7,36 ^b ±0,025	10,61±0,026
Depolama		***	*	N.S
	II gün	37,88 ^b ±0,027	7,24 ^a ±0,012	10,55±0,013
	VII ün	38,07 ^a ±0,027	7,20 ^b ±0,012	10,59±0,013
	Ortalama	37,97±0,019	7,29±0,009	10,57±0,009
Soğutma x Zaman		N.S	N.S	N.S

a, b: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık vardır.

[(***): P < 0,001]

Şekil 1. Muhafaza süresince pH değerlerindeki değişim

Gruplar		CL (%)	WHC (%)	SF (kg)	SL (µm)
Soğutma		***	***	***	***
	DC	41,86 ^a ±0,870	14,33 ^a ±0,024	5,50 ^a ±0,016	1,43 ^a ±0,002
	RC	39,90 ^b ±0,870	14,09 ^b ±0,024	5,75 ^a ±0,016	1,33 ^b ±0,002
Marinasyon		***	***	***	***
	C	41,80 ^a ±0,174	14,92 ^a ±0,019	6,53 ^a ±0,031	1,24 ^b ±0,005
	CJ	40,90 ^b ±0,174	14,06 ^b ±0,019	5,52 ^b ±0,031	1,37 ^a ±0,005
Depolama		***	***	***	***
	II gün	42,65 ^a ±0,870	14,40 ^a ±0,024	5,69 ^a ±0,016	1,37 ^b ±0,002
	VII gün	39,11 ^b ±0,870	14,12 ^b ±0,024	5,55 ^b ±0,016	1,38 ^a ±0,002
	Ortalama	40,88±0,620	14,18±0,021	5,62±0,011	1,38±0,002

a, b: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık vardır.

[(*)]: P < 0,05

(***): P < 0,001

(NS): (P > 0,05)

Bildiri No: 56

Kategori: Genel

Sunum Tipi: Poster

Hüsnü Şahan GÜRAN, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Gülsüm ÖKSÜZTEPE, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Özet

Küreselleşen dünyada gıda güvenliği ve gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar önemli halk sağlığı sorunları arasında yer almaktadır. Botulizm nedenleri içinde insidansı en yüksek olan gıda kaynaklı botulizm nadir ancak ölümcül ve paralizlerle sonuçlanan hastalık durumlarından biri olarak bilinmektedir. Hastalık; Clostridium botulinum ve nadiren botulin toksin üreten Clostridium baratii ve Clostridium butyricum tarafından kontamine olmuş gıda maddelerinin sindirim yolu ile alınması sonucu oluşmaktadır.

Günümüzde ticari amaçlı gıda üretimi yapan işletmelerin uluslararası kabul gören ve birbirinden bağımsız düşünülmemeyen HACCP (Hazard Analyses and Critical Control Point; Kritik Kontrol Noktasında Tehlike Analizleri), GMP (Good Manufacture Practices; İyi Üretim Uygulamaları) ve GHP (Good Hygiene Practices: İyi Hijyen Uygulamaları) gibi sistemleri yeterli düzeyde uygulaması sanayi tipi konservelemlerden veya gıdalardan kaynaklanabilecek botulizm salgınlığının minimum seviyeye indirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İdeal muhafaza ve üretim yöntemlerinin uygulanmadığı ev ve sanayi tipi konservelemler ile genelleşen gıda ürünleri gıda kaynaklı botulizm salgınları/vakaları bakımından halk sağlığı açısından önemini korumaktadır.

Anahtar Kelimeler: Clostridium botulinum, gıda kaynaklı botulizm, halk sağlığı, koruma ve kontrol

FOODBORNE BOTULISM AND ITS IMPORTANCE

Abstract

Food safety and foodborne pathogenic microorganisms is one of the major public health problems in globalizing world. With the highest incidence of botulism among the forms of food-borne botulism is a rare but fatal and is known as disease states resulting in paralyses. The illness: Clostridium botulinum, and rarely, by botulin toxin-producing strains of Clostridium butyricum or Clostridium baratii and the result of taking contaminated food products made with the digestive tract.

Today, commercial enterprises engaged in food production, and independent of each other unthinkable internationally recognized HACCP (Hazard Analyses and Critical Control Point, Hazard Analysis Critical Control Point), GMP (Good Manufacture Practices, Good Manufacturing Practices) and GHP (Good Hygiene Practices: Good Hygiene Practices) satisfactory implementation of systems such as outbreaks of botulism caused by type of industry from canned food or lowering of the minimum level plays an important role. Homemade and industrial types of canned foods which does not to be applied ideal production and preservation methods, or traditional food products are important in terms of food-borne botulism outbreaks/cases for public health.

Keywords: Clostridium botulinum, foodborne botulism, public health, prevention and control

Giriş

Botulizm; *Clostridium botulinum* ile nadiren botulin al nörotoksin üreten *Clostridium* baratii ve *Clostridium butyricum* bakterileri tarafından oluşturulan, sinir sistemini etkileyerek insan ve hayvanlarda yüksek mortalite ile seyreden hastalık olarak tanımlanır (24). İnsanlarda gıda kaynaklı botulizm toksikasyonlara neden olurken botulizmin diğer formları enfeksiyon şeklinde seyreder (23). Dünya'da ilk kez 1964 yılında Amerika'nın Ohio eyaletinde düzenlenen "Dünyada Sağlık Problemi Olarak Botulizm" adlı uluslararası sempozyumun açılış konuşmasında Claude E. Dolman sözlerine botulizmi "nadir ancak genellikle trajik bir hastalık" olarak tanımlamıştır (8). Ticari konserve üretiminde standart metotlarla yapılamadığı 20. yüzyıl başlarına kadar konserve tüketimine bağlı birçok botulizm salgını bildirilmekle birlikte *Clostridium botulinum* bakterisi ilk kez 1896 yılında Belçika'da kontamine olmuş jambon tüketimi sonucu oluşan salgında ölen kişinin dalağında ve şüpheli gıda materyalinden izole edilmiştir (24,27).

Botulizmin klasik formu olarak bilinen gıda kaynaklı botulizm; botulinum toksini içeren gıda maddesinin sindirim yoluyla vücuda alınması, toksinin sindirim kanalından yeterli düzeyde emilmesi ile oluşan intoksikasyon durumudur. Gelişmiş ülkelerde gıda kaynaklı botulizme bağlı vaka/mortalite oranının % 5 ile % 10 arasında olduğu tahmin edilmektedir (23).

Clostridium botulinum, Clostridiaceae familyasında yer alan, zorunlu anaerob, Gram (+), hareketli, 3 µm'den 20 µm'ye kadar değişen uzunlukta, yaklaşık 1 µm genişliğinde ve 4 µm çapında basil şeklinde olan bir mikroorganizmadır. Uygun olmayan koşullarda ısıya dirençli endospor oluştururlar. Etkenin sporlu bir mikroorganizma olması çevresel stres faktörlerine daha dayanıklı olmasında ve ubiquiter karakter kazanmasında önemlidir. Toprakta ve suda doğal olarak bulunan sporları ovalden silindire, terminalden subterminale değişmekle birlikte olgun sporları tenis raketi şeklindedir (10).

Proteolitik aktivitelere göre *Clostridium botulinum*; A, G ile bazı B ve F tiplerini içeren proteolitik grup ile E, F ve bazı B tiplerinin dahil olduğu nonproteolitik grup olmak üzere iki alt grupta sınıflandırılır (Tablo I). Fenotipik ve genotipik özelliklerine göre grup I, II, III ve IV olmak üzere dört farklı grupta incelenir. Grup I, proteolitik ve grup II, nonproteolitik sınıf içerisinde yer alır. Serolojik olarak grup IV tip G toksini, grup III türleri ise tip C ve D toksinlerini üretir.

Tablo I. *Clostridium botulinum* grup I ve II'nin genel özellikleri

	Grup	
	I	II
Nörotoksin tipi	A, B ve F	B, E ve F
External proteazlara ihtiyaç	-	+
İnsanlarda hastalık	Evet	Evet
Gelişme Sıcaklıkları;		
Minimum (°C)	10	3.3
Optimum (°C)	35-40	25-30
Su aktivitesi (a _w)	0.93	0.97
D _{100°C} (min)-etken sporları	25	<0.1
D _{121°C} (min)-etken sporları	0.1-0.2	<0.001
Çevresel dağılımı	Ubiquiter	Ubiquiter
	Tip A; ABD'nin Batı bölgelerinde, Tip B; Avrupa, Asya ve Amerika'nın doğu kesimlerinde	Tip E deniz sularında yaygın

*D (decimal reduction) mikroorganizmaların %90'ının ölmesi için geçen zaman(dakika)

Bir gıda maddesinin botulizme neden olabilmesi için etken ve toksinlerinin bazı koşulları sağlaması gerekir (Tablo II ve III). Clostridium botulinum'un optimal üreme sıcaklığı proteolitik grup I türler için 35-40 °C, proteolitik olmayan grup II türler için 25-30 °C'dir (13). Grup I türler pH 4.6' nın altında grup II türler ise pH 5.0' in altında yavaş gelişirler ve bu pH değerlerinde sporlanmaya başlarlar (17).

Su aktivitesi (aw) Clostridium botulinum grup I için 0.93 iken grup II için 0.97 kadardır. Tuza dirençlilik tipe göre değişiklik göstermektedir. A ve B tipi % 10' a kadar tuzu tolere edebilirken E tipi % 4,5 ve üzerindeki tuz konsantrasyonlarında baskılanmaktadır (17).

Tablo II. Bir gıda maddesinin botulizme neden olabilmesi için (4,22);

1-	Gıda maddesi Clostridium botulinum sporları ile kontamine olmalı,
2-	Sporlar gıda muhafaza metodlarından etkilenmeden canlı kalmalı,
3-	Spor gelişimi ve toksin üretimi için yeterli koşullar mevcut olmalı,
4-	Gıda maddesine tüketilmeden önce yeterli derecede ısıtılmalı

Tablo III. Clostridium botulinum'un gıda maddesinde gelişimi ve nörotoksin üretimi için gerekli faktörler (4,23,25);

1-	Anaerobik bir ortam,
2-	Asidik olmayan bir pH (genellikle 4.6-4.8),
3-	10°C lik minimum sıcaklık [proteolitik türler için optimum gelişim sıcaklığı 35°C' ye yakın, bazı proteolitik olmayan türler buzdolabı ısılarında (3-4°C) toksin üretebilme yeteneğine sahip],
4-	Yeterli su aktivitesi.

Kaynağı ve İntoksikasyonda Rol Oynayan Vektör Gıdalar

İnsan: Clostridium botulinum sağlıklı erişkin insan ve bebeklerin normal barsak florasında bulunmayan bir mikroorganizmadır.

Hayvan: Clostridium botulinum sporları balıkların, kuşların ve memeli hayvanların barsak florasında bulunmasına rağmen hayvanlarda hastalık tablosu toksinin sindirim yoluyla vücuda alınması ile gerçekleşir.

Çevre: Ubiquiter özelliğinden dolayı yeryüzünde geniş bir dağılıma sahiptir.

Gıda: Birçok araştırmada gıdalarda Clostridium botulinum sporlarının varlığı ortaya konmuştur. Özellikle balık, et, bal ve sebzeler önemli kaynaklardır.

Gıda maddelerinin Clostridium botulinum ile kontaminasyonu öncelikli olarak mevcut bulaşma kaynaklarına bağlıdır. Etkenin toprak kökenli bir bakteri olmasından dolayı fasulye, havuç, kereviz, mısır, mantar, soğan, patates, turp, zeytin, kayısı, çilek ve domates gibi pek çok meyve ve sebze doğal olarak bulunabilmektedir (7). Toksin taşınmasında aracı olan gıdalar arasında ev yapımı sebze konserveleri başta gelir. 1963 yılına kadar ABD'de çoğu botulizm vakasının evde hazırlanmış sebze konservelerinden ileri geldiği ve bunların A ve B tipi toksinler tarafından oluşturulduğu belirtilmiştir (15). Yeterli ısıtılma görmemiş ve asitliği yeteri düzeyde olmayan sebze konservelerinin yanısıra yine evlerde; tuz-sirke karışımı ve baharatla hazırlanan sebzeler, çiğ jambon, az pişirilen veya fermente balıklar, çeşitli salata sosları, kürlenmiş etler ile salamura et ürünleri gibi gıdalarda Clostridium botulinum toksinlerinin taşınmasında önemli paya sahiptir (7).

Gıda Kaynaklı Botulizm Salgın/Vakaları ile İlgili Literatür Bilgisi

Dünya'da 1899-1967 yılları arasında rapor edilen 640 botulizm salgınında 948 kişinin öldüğü, bu salgınların %30'unun gıda kaynaklı botulizm olduğu ve vektör gıda olarak

%17.8 sebze, %4.1 meyve, %3.6 balık, %2.2 sos, %1.4 kırmızı et ve kanatlı eti geriye kalan %1.1 lik kısmının ise diğer gıda maddelerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (15). 1951-1989 yılları arasında gıda kaynaklı botulizme bağlı 3.353 salgın ve 9.767 vaka bildirilmiştir. Bunlardan 2.622 botulinum salgınının %34'ünün tip A, %52'sinin tip B ve %12'sinin tip E toksinleri tarafından oluşturulduğu ve yalnızca 2 salgının tip F toksin kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (14). Dünya'da 1963 yılına kadar tip E kaynaklı toplam 404 botulizm vakası meydana gelmiş ve bu vakaların 304 (%75)'ü Japonya'dan bildirilmiştir. 1951 yılına kadar herhangi bir botulizm salgını bildirmemiş olan Japonya'nın 1951-1960 yılları arasında 58 ölümle sonuçlanan 160 botulizm vakasının meydana gelmiş olması tüm dikkatleri salgın nedenlerinin üzerine çekmiştir. Bu vakaların çoğunun; çiğ balık, pişmiş pirinç ve az miktarda tuz ile sirkeden yapılan "izushi" adlı ev yapımı geleneksel bir yemekten kaynaklandığı tespit edilmiştir (15).

ABD'de 1941-1982 yılları arasında ticari konserve kaynaklı 8 kişinin ölümüyle sonuçlanan toplam 7 salgın bildirilmiştir. Bu salgınların 3'ü tip A geri kalan 4 salgının tip E'den kaynaklandığı, 1990-2000 yılları arasında ise 263 kişinin etkilendiği toplam 160 gıda kaynaklı botulizm vakasının %50'sini tip A, %33'ünü tip E, %14'ünü tip B, %1'ini tip F ve geriye kalan %2'lik kısmının ise tespit edilemeyen toksinler tarafından meydana geldiği belirtilmiştir (15,24). Kaliforniya eyaletinde 2001-2008 tarihleri arasında 11 gıda kaynaklı botulizm salgını sonucu 1 kişinin öldüğü ve 2009 yılı CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) verilerine göre ABD'de meydana gelen toplam 121 botulizm vakasının %9'unun gıda kaynaklı olduğu bildirilmiştir (5,9).

Mısır'da 1991 yılında "faseikh" olarak adlandırılan tuzlanmış çiğ balık tüketimi sonucu tip E kaynaklı 91 botulizm vakasının meydana geldiği ve 20 kişinin ölümüyle sonuçlandığı belirtilmiştir (20).

Gürcistan'da 1980-2002 yılları arasında 870 vaka, İngiltere'de 1989-2005 tarihleri arasında 3 ölümle sonuçlanan %94'ü tip B tarafından oluşturulan 33 gıda kaynaklı botulizm vakası meydana gelmiştir (16,28).

Polonya'da 1960-2008 yılları arasında 175 ölümle sonuçlanan toplam 12.598 gıda kaynaklı botulizm vakası bildirilmiş ve bu vakaların %81'i et ürünleri (domuz eti), %13'ü balık ve %6'sının sebze kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (12).

Arjantin'de 1992-2004 yılları arasında 41 gıda kaynaklı botulizm vakası bildirilirken bunlar arasında en dikkat çeken 1998 yılında otobüs şoförlerini etkileyen ve 9 kişide hastalık tespit edilen salgındır. Salgının tip A nörotoksinini içeren kırmızı etle hazırlanmış ve "matambre" olarak adlandırılan yemeğin tüketilmesi sonucu olduğu bildirilmiştir (19).

Türkiye'de, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 1996-1998 verilerine göre 446 botulizm vakasına bağlı 36 ölüm, Avrupa Birliği Komisyonu Sağlık ve Tüketiciler Genel Direktörlüğü'nün (European Commission Health And Consumers Directorate) 1997-2006 verilerine göre ise toplam 121 botulizm vakasının meydana geldiği bildirilmiştir (11,29). Ancak bu vakalara neden olan aracı gıdalar ve Clostridium botulinum tipleri ile yararlı olabilecek diğer bilgi veya verilere ulaşılamamıştır. Trabzon'un Ayvadere Köyü'nde peynir tüketimine bağlı salgında 24 kişi, Van ilinde toprak altında kurumaya bırakılan süzme yoğurdun tüketimi sonucu aynı aileden 10 kişinin etkilendiği ve evde hazırlanmış bozuk konserve fasulye tüketimi sonrası 42 yaşındaki bir kadının yoğun paraliz ve solunum yetmezliği sonucu botulizme bağlı olarak öldüğü salgın ve vakalar bildirilmiştir (1,2,3). Türkiye'nin turistik merkezlerinden biri olan Fethiye'de 2008 yılında Alman turistlerin etkilendiği ve ölümle sonuçlanmayan gıda kaynaklı botulizm vakasında klinik semptom gösteren 8 hasta turist 4'ünün dışkı ve serum örneğinde Clostridium botulinum tip B varlığı tespit edilmiştir. Ancak şüpheli gıda örneklerinde herhangi bir etken varlığı tespit edilmediği bildirilmiştir (26).

Semptom ve Tedavi

Gıda kaynaklı botulizm preforme toksin içeren gıdaların alınmasından sonra şekillenir ve inkübasyon periyodu toksik doza bağlı olmak koşuluyla 12-72 saat kadardır. Botulinel nörotoksinlerin sinirlere irreversible bir şekilde bağlanmalarından dolayı erken tanı ve tedavi oldukça önemli ve hayatidir. Botulizm genel belirtileri bulantı, kusma ve diyare gibi tipik gastro-intestinal semptomlar şeklindedir (6). Bu semptomlara deride, ağızda ve boğazda kuruma, baş ağrısı, çift görme, konstipasyon eşlik eder. Ölümün musküler paraliz sonucunda solunum yetmezliği sonucu oluşmaktadır. Hastalığın süresi 1 günden 10 güne kadar devam etmekle birlikte bu süre hastanın direncine ve diğer faktörlere bağlıdır. Hastalığın mortalitesi %30 ile %65 arasında değişiklik göstermektedir. Tüm toksin tipleri için benzer semptomlar ortaya çıkmasına rağmen tip B ve E toksinlerine göre tip A toksini daha şiddetli ve mortalitesi daha yüksek olan bir hastalık tablosu oluşturmaktadır (21).

ABD'de laboratuvar sonuçları beklenmeksizin intravenöz ilaç uygulamaları gibi destekleyici tedaviler ile birlikte aynı anda trivalent botulizm antitoksin uygulamalarının yapılması tedavide öncelikli olarak önerilmektedir (15).

Koruma ve Kontrol

Gıda kaynaklı botulizmden korunma; gıda kontaminasyonunun önlenmesi, bakterinin gelişmesi ve toksin üretiminin engellenmesi, bakteri veya toksinlerinin tahrip edilmesi ile şüpheli gıdaların tüketilmemesi şeklinde sıralanabilir (tablo IV) (10). Buna göre Clostridium botulinum'u öldürmek amacıyla engeller teknolojisi (hurdle technology) kapsamında gıdalar ısıtma işlemi ve ısıtılma uygulamasına maruz bırakılırken, toksin oluşmasının engellenmesi için su aktivitesi, pH, redoks potansiyeli, koruyucuların kullanımı, diğer mikroorganizmaların antagonistik etkisi, tuzlama gibi koruma yöntemlerinden yararlanılmaktadır.

Gıda maddelerinde üreme ve toksin oluşumunu engelleyecek intrinsik faktörler	Gıda maddelerinde üreme ve toksin oluşumunu engelleyecek ekstrinsik faktörler
1. Su aktivitesi (aw) < 0,93 2. pH < 4,6 3. Redoks potansiyeli (Eh): + 30 ile + 250 4. D121,1= 0,1 - 0,2 dakika	1. Rekabetçi flora: Özellikle bakteriyosin üreten laktik asit bakterileri 2. Soğuk muhafaza: grup I < 10 °C, grup II < 3,3 °C 3. İnhibitörlerin kullanımı: Nitrit, Nisin, Polifosfatlar, Sorbik asit, Ascorbatlar

Gıdalarda Clostridium botulinum gelişimini inhibe etmek için en basit metot, gıdaların gelişmenin meydana geldiği sıcaklıktan daha düşük bir sıcaklıkta muhafaza etmektir. Ancak gıdaların dondurulması toksini ve sporları tahrip etmediği dikkate alınmalıdır.

Gıdaların üretim, işleme veya muhafaza edilmeleri aşamalarında Clostridium botulinum ile kontaminasyonu önlenmeye çalışılmalı, mevcut vejetatif veya spor formları özellikle ticari konserve yapımında etkin ısı işlemi için uygun "F" değeri seçilerek uygulanmalı ve kontrolü yapılmalıdır. Gıda güvenliğinde uluslararası kabul gören HACCP gibi gıda güvenliği sistemlerinin ticari gıda üretim prosesinde eksiksiz bir şekilde yerine getirilmesine dikkat edilmelidir.

Geleneksel gıdaların tüketiminin yaygın olduğu ülkelerde kamuoyu, uygun koşullar altında hazırlanmayan ev yapımı ve geleneksel gıdalar konusunda bilinçlendirilmeli, bozulmuş, kokuşmuş konserve veya diğer gıda ürünlerini tüketmemeleri konusunda uyarılmalıdır.

Sağlık çalışanlarının olası botulizm salgın veya vakalarına karşı her zaman için dikkatli olmaları ve botulinel antitoksinlerin acil müdahale durumları için stoklarda bulundurulması konusuna azami önem verilmelidir.

Sonuç ve Öneriler

Gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi, ham ürünlerin ve hazırlanmış besinlerin çiftlikten sofraya getirildiği tüm aşamalarda dikkatlice işlenmesine ve besinlere bulaşmayı önleyen veya azaltan teknolojilere bağlıdır. Patojen risk etmeni mikroorganizmaların özgün karakterleri teknolojik uygulamaların seçiminde ve potansiyel tehlike olasılıklarının değerlendirilmesinde büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde ticari amaçlı gıda üretimi yapan işletmelerin uluslararası geçerliliği olan HACCP (Hazard Analyses and Critical Control Point; Kritik Kontrol noktasında Tehlike Analizleri), GMP (Good Manufacture Practices; İyi Üretim Uygulamaları) ve GHP (Good Hygiene Practices; İyi Hijyen Uygulamaları) gibi sistemleri yeterli düzeyde uygulaması, sanayi tipi konservelerden veya gıdalardan kaynaklanabilecek botulizm salgınlarının minimum seviyeye indirilmesinde önemli rol oynadığı bir gerçektir. İdeal muhafaza ve sterilizasyon yöntemlerinin uygulanmadığı ev yapımı konserveler ile geleneksel ürünler botulizm vaka/salgınları açısından önemli bir tehdit oluşturmaya devam etmektedir. Gıda ürünlerinin ulusal ve uluslararası hareketliliğinin hızlı olduğu günümüzde ticari konserve veya gıdalara bağlı botulizm salgınlarının çıkması durumunda halk sağlığı, gıda güvenliği ve gıda endüstrisi için oldukça ciddi kayıplara neden olması kaçınılmaz olacaktır.

Gıda güvenliği, gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların kontrolü ve bu kapsamdaki halk sağlığı sorunlarının çözümü küreselleşen dünyada ulusal ve uluslararası düzeyde geliştirilecek ve azami düzeyde uygulanabilecek kararlı strateji ve politikalar ile mümkün olacaktır. Az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde meydana gelen botulizm vaka ve salgınların ne kadarının gıda kaynaklı olduğu, hangi gıdalar aracılığıyla meydana geldiği, hangi Clostridium botulinum tipi tarafından oluşturulduğu ve diğer yararlı olabilecek bilgilerin bulunmaması hastalığın epidemiyolojik açıdan ülke ve dünya genelinde değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Gıda kaynaklı botulizm ile ilgili salgın/vaka durumlarının yerel, bölgesel ve ulusal düzeyde sistematik veri toplama, bu verilerin analiz etme, yorumlama ve ilgili kurum/kuruluşlarla paylaşma gerekliliğinin göz ardı edilmemesi hastalığın epidemiyolojik açıdan değerlendirilmesini kolaylaştırarak gerekli koruma, kontrol ve acil müdahalelerin yapılabilmesine önemli katkı sağlayacaktır.

Sonuç olarak gıda kaynaklı botulizm günümüz dünyasında nadir ancak ölümcül bir hastalık olarak halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından gelişmiş gıda üretim teknolojilerine, alternatif tanı ve tedavi seçeneklerine rağmen önemini korumaktadır.

Kaynaklar

1. Akdeniz H., Buzgan T., Tekin M., Karsen H. and Karahocagil M.K. (2005). An outbreak of botulism in a family in Eastern Anatolia associated with eating süzme yoghurt buried under soil. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 39, 108-114.
2. Beyaztaş F.Y., Çelik M., Elaldi N. (2004). Ev Yapımı Konserve Fasulye ile Gelişen Ölümcül Botulizm Olgusu. *Türkiye Klinikleri J. Foren. Med.*, 1, 1, 93-96.
3. Cavlani R., Çan G., Aydın K., Kostakoğlu U., Boz C., Alloğlu Z., Üstünakin M., Koksak İ. (2001). Bir Botulismus Salgını: 24 Olgunun İrdelenmesi. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi (FLORA)*, 6, 42-48.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (1998). *Botulism In the United States, 1899-1996, handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers*. Atlanta: The Centers.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). http://www.cdc.gov/national-surveillance/PDFs/Botulism_CSTE_2009.pdf. (01.07.2011)
6. Cherington M. (2004). Botulism: update and review. *Semin. Neurol.* 24, 155-163.

7. Doğan H.B, Çakır İ., Halkman A.K. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara.
8. Dolman C.E. Botulism as a world problem. In: Botulism, Proceedings of a Symposium US Public Health. Lewis K.H., Cassel K.Jr. Service Publication No. 999-FP-1. Cincinnati: Public Health Service, 1964, 5-30.
9. Epidemiologic Summary of Foodborne Botulism in California, 2001 – 2008. www.cdph.ca.gov/data/statistics/.../foodbotulism-episummary.pdf. (26.05.2011)
10. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti, 2007.
11. European Commission Health And Consumers Directorate-General Directorate C - Public Health and Risk Assessment C2 - Health information (Indicator No. 18-Bot (SL88) updated by SANCO.C.2 in March 2009)
12. Galazka A., Przybylska A. (1999). Surveillance of foodborne botulism in Poland: 1960-1998. Euro Surveill., 4, 69-72.
13. Gilbert S., Lake R., Hudson A., Cressey P. (2006). Risk profile: Clostridium botulinum in honey, New Zealand Food Safety Authority.
14. Hauschild A.H.W. (1992). Epidemiology of human foodborne botulism, p. 68-104. In A. H. W. Hauschild, and K. L. Dodds (ed.), Clostridium botulinum-ecology and control in foods. Marcel Dekker, New York, N.Y.
15. Jay J.M, Loessner M.J, Golden D.A. Modern Food Microbiology. Seventh Edition. Springer. (2005)
16. Jim M., Grant K.A., Little C.L. (2006). Food-borne botulism in the United Kingdom. Journal of Public Health, 28, 337-342.
17. Lund B.M., Baird-Parker T.C., Gould G.W. The Microbiological Safety and Quality of Food. Aspen Publisher. (2000).
18. NFPA/CMI Task Force. (1984). Botulism risk from post processing contamination of commercially canned foods in metal containers. J.Food Protect., 47, 801-816.
19. Rebagliati V., Philippi R., Tornese M., Paiva A., Rossi L., Troncoso A. (2009). Food-borne botulism in Argentina. J. Infect. Dev. Ctries. 3, 250-254.
20. Seppo L.E., and Genigeorgis C.A. (1986). Probability of growth and toxin production by nonproteolytic Clostridium botulinum in rockfish stored under modified atmospheres. International Journal of Food Microbiology. 3, 167-181.
21. Shapiro R.L., Hatheway C., Swerdlow D.L. (1998). Botulism in the United States: A Clinical and Epidemiologic Review. Ann. Intern. Med., 129, 221-228.
22. Siegel L.S. (1993). Destruction of botulinum toxins in food and water. In: Hauschild AH, Dodds KL, eds. Clostridium botulinum: ecology and control in foods. New York, NY: Marcel Dekker Inc, 323-41 123.
23. Smith L.D.S. and Sugiyama H. (1988). Botulism. The organism, its toxins, the disease. Charles C. Thomas, Springfield, III.
24. Sobel J., Tucker N., Sulka A., McLauchlin J. and Maslanka S. (2004). Food-borne botulism in the United States, 1990-2000. Emerg. Infect. Dis., 10, 1606-1611.
25. Solomon H.M., Lilly T.Jr. (2001). Clostridium botulinum. In: Jackson GH, Merker RI, Bandler R, project coordinators. Bacteriological analytical manual online. Washington DC: FDA CFSAN.
26. Swaan C.M., Van Ouwerekerk I.M., Roest H.J. (2010). Cluster of botulism among Dutch tourists in Turkey, June 2008. Euro Surveill. 15,19532
27. Van Ermengem E. (1897). Über einen neuen anaeroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. Z Hygiene Infektions, 26, 1-56.
28. Varma J.K., Katsitadze G., Moiscrafshvili M., Zardiashevili T., Chokheli M., Tarkhashvili N., Jhorjholiani E., Chubiniidze M., Kukhalashvili T., Khmaladze I., Chakvetadze N., Imnadze P. and Sobel J. (2004). Foodborne Botulism in the Republic of Georgia. Emerging Infectious Diseases, 10, 1601-1605.
29. World Health Organisation (WHO) Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. <http://www.bfr.bund.de/>

Sonuç ve Öneriler

Gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi, ham ürünlerin ve hazırlanmış besinlerin çiftlikten sofraya getirildiği tüm aşamalarda dikkatlice işlenmesine ve besinlere bulaşmayı önleyen veya azaltan teknolojilere bağlıdır. Patojen risk etmeni mikroorganizmaların özgün karakterleri teknolojik uygulamaların seçiminde ve potansiyel tehlike olasılıklarının değerlendirilmesinde büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde ticari amaçlı gıda üretimi yapan işletmelerin uluslararası geçerliliği olan HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point; Kritik Kontrol noktasında Tehlike Analizleri), GMP (Good Manufacture Practices; İyi Üretim Uygulamaları) ve GHP (Good Hygiene Practices; İyi Hijyen Uygulamaları) gibi sistemleri yeterli düzeyde uygulaması, sanayi tipi konserveleşen veya gıdalardan kaynaklanabilecek botulizm salgınlarının minimum seviyeye indirilmesinde önemli rol oynadığı bir gerçektir. İdeal muhafaza ve sterilizasyon yöntemlerinin uygulanmadığı ev yapımı konserveleşen ile geleneksel ürünler botulizm vaka/salgınları açısından önemli bir tehdit oluşturmaya devam etmektedir. Gıda ürünlerinin ulusal ve uluslararası hareketliliğinin hızlı olduğu günümüzde ticari konserve veya gıdalara bağlı botulizm salgınlarının çıkması durumunda halk sağlığı, gıda güvenliği ve gıda endüstrisi için oldukça ciddi kayıplara neden olması kaçınılmaz olacaktır.

Gıda güvenliği, gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların kontrolü ve bu kapsamdaki halk sağlığı sorunlarının çözümü küreselleşen dünyada ulusal ve uluslararası düzeyde geliştirilecek ve azami düzeyde uygulanabilecek kararlı strateji ve politikalar ile mümkün olacaktır. Az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde meydana gelen botulizm vaka ve salgınların ne kadarının gıda kaynaklı olduğu, hangi gıdalar aracılığıyla meydana geldiği, hangi Clostridium botulinum tipi tarafından oluşturulduğu ve diğer yararlı olabilecek bilgilerin bulunmaması hastalığın epidemiyolojik açıdan ülke ve dünya genelinde değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Gıda kaynaklı botulizm ile ilgili salgın/vaka durumlarının yerel, bölgesel ve ulusal düzeyde sistematik veri toplama, bu verileri analiz etme, yorumlama ve ilgili kurum/kuruluşlarla paylaşma gerekliliğinin göz ardı edilmemesi hastalığın epidemiyolojik açıdan değerlendirilmesini kolaylaştırarak gerekli koruma, kontrol ve acil müdahalelerin yapılabilmesine önemli katkı sağlayacaktır.

Sonuç olarak gıda kaynaklı botulizm günümüz dünyasında nadir ancak ölümcül bir hastalık olarak halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından gelişmiş gıda üretim teknolojilerine, alternatif tanı ve tedavi seçeneklerine rağmen önemini korumaktadır.

Kaynaklar

1. Akdeniz H., Buzgan T., Tekin M., Karsen H. and Karahocagil M.K. (2005). An outbreak of botulism in a family in Eastern Anatolia associated with eating süzme yoghurt buried under soil. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 39, 108-114.
2. Beyaztaş F.Y., Çelik M., Elaldı N. (2004). Ev Yapımı Konserve Fasulye ile Gelişen Ölümcül Botulizm Olgusu. *Türkiye Klinikleri J. Foren. Med.*, 1, 93-96.
3. Cavlan R., Çan G., Aydın K., Kostakoğlu U., Boz C., Alloğlu Z., Üstünakin M., Koksak İ. (2001). Bir Botulismus Salgını: 24 Olgunun İrdelenmesi. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi (FLORA)*, 6, 42-48.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (1998). *Botulism in the United States, 1899-1996, handbook for epidemiologists, clinicians and laboratory workers*. Atlanta: The Centers.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). http://www.cdc.gov/national-surveillance/PDFs/Botulism_CSTE_2009.pdf. (01.07.2011)
6. Cherington M. (2004). Botulism: update and review. *Semin. Neurol.* 24, 155-163.

7. Doğan H.B, Çakır İ., Halkman A.K. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara.
8. Dolman C.E. Botulism as a world problem. In: Botulism, Proceedings of a Symposium US Public Health. Lewis K.H., Cassel K.Jr. Service Publication No. 999-FP-1. Cincinnati: Public Health Service, 1964, 5-30.
9. Epidemiologic Summary of Foodborne Botulism In California, 2001 – 2008. www.cdph.ca.gov/data/statistics/.../foodbotulism-episummary.pdf. (26.05.2011)
10. Erol İ. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti, 2007.
11. European Commission Health And Consumers Directorate-General Directorate C - Public Health and Risk Assessment C2 - Health Information (Indicator No. 18-Bot (SL88) updated by SANCO.C.2 in March 2009)
12. Galazka A., Przybylska A. (1999). Surveillance of foodborne botulism in Poland: 1960-1998. *Euro Surveill.*, 4, 69-72.
13. Gilbert S., Lake R., Hudson A., Cressey P. (2006). Risk profile: Clostridium botulinum in honey, New Zealand Food Safety Authority.
14. Hauschild A.H.W. (1992). Epidemiology of human foodborne botulism, p. 68-104. In A. H. W. Hauschild, and K. L. Dodds (ed.), Clostridium botulinum-ecology and control in foods. Marcel Dekker, New York, N.Y.
15. Jay J.M, Loessner M.J, Golden D.A. Modern Food Microbiology. Seventh Edition. Springer. (2005)
16. Jim M., Grant K.A., Little C.L. (2006). Food-borne botulism in the United Kingdom. *Journal of Public Health*, 28, 337-342.
17. Lund B.M., Baird-Parker T.C., Gould G.W. The Microbiological Safety and Quality of Food. Aspen Publisher. (2000).
18. NFPA/CMI Task Force. (1984). Botulism risk from post processing contamination of commercially canned foods in metal containers. *J.Food Protect.*, 47, 801-816.
19. Rebagliati V., Philippi R., Tornese M., Paiva A., Rossi L., Troncoso A. (2009). Food-borne botulism in Argentina. *J. Infect. Dev. Ctries.* 3, 250-254.
20. Seppo L.E., and Genigeorgis C.A. (1986). Probability of growth and toxin production by nonproteolytic Clostridium botulinum in rockfish stored under modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*. 3, 167-181.
21. Shapiro R.L., Hatheway C., Swerdlow D.L. (1998). Botulism in the United States: A Clinical and Epidemiologic Review. *Ann. Intern. Med.*, 129, 221-228.
22. Slegel L.S. (1993). Destruction of botulinum toxins in food and water. In: Hauschild AH, Dodds KL, eds. Clostridium botulinum: ecology and control in foods. New York, NY: Marcel Dekker Inc, 323-41 123.
23. Smith L.D.S. and Sugiyama H. (1988). Botulism. The organism, its toxins, the disease. Charles C. Thomas, Springfield, III.
24. Sobel J., Tucker N., Sulka A., McLauchlin J. and Maslanka S. (2004). Food-borne botulism in the United States, 1990-2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 10, 1606-1611.
25. Solomon H.M., Lilly T.Jr. (2001). Clostridium botulinum. In: Jackson GH, Merker RI, Bandler R, project coordinators. Bacteriological analytical manual online. Washington DC: FDA CFSAN.
26. Swaan C.M., Van Ouwkerk I.M., Roest H.J. (2010). Cluster of botulism among Dutch tourists in Turkey, June 2008. *Euro Surveill.* 15,19532
27. Van Ermengem E. (1897). Über einen neuen anaeroben Bacillus und seine Beziehungen zum Botulismus. *Z Hygiene Infektions*, 26, 1-56.
28. Varma J.K., Katsitadze G., Moiscrafishvili M., Zardiashvili T., Chokheli M., Tarkhashvili N., Jhorjoliani E., Chubinidze M., Kukhalashvili T., Khmaladze I., Chakvetadze N., Imnadze P. and Sobel J. (2004). Foodborne Botulism in the Republic of Georgia. *Emerging Infectious Diseases*, 10, 1601-1605.
29. World Health Organisation (WHO) Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe. http://www.bfr.bund.de/internet/7threport/7threp_fr.htm. (01.07.2011).

GIDA VE PARAZİTLER

Sunum Tipi: Poster

NAZAN KAVAS, Süt ve Ürünleri Teknolojisi, ege üniversitesi
GÖKHAN KAVAS, Süt Teknolojisi, Ege üniversitesi

Konakçıya zarar vererek yaşayan tek hücreli canlılara parazit denmekte ve küçük tek hücreli mikroskobik organizmalardan gözle görülebilen çok hücreli solucanlara kadar gıda kaynaklı hastalıkların etmeni olabilmektedirler. Parazitler, kontamine olmuş insanlar, taşıyıcı hayvanların doku ve organlarında yaşamakta, çoğalmakta ve genellikle dışkı ile atılmaktadırlar. Bunlar arasında; *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Toxoplasma gondii*, *Trichinella spiralis*, *Taenia saginata* (sığır tenyası), ve *Taenia solium* (domuz tenyası) sayılabilir. Günümüzde sıklıkla görülen ancak çocuklarda daha ağır seyreden enfeksiyon tipidir. Bulaşma, dışkı ile kontamine olmuş su ve gıdaların tüketilmesi ya da protozoonların enfeksiyöz formlarını içeren çiğ ya da az pişmiş et ürünlerinin yenmesi ile olabilmektedir. Bulaşma riski küreme, tütsüleme, tuzlama, salamura ya da havada kurutma uygulanmış et ve balığın tüketilmesi ile artmaktadır. Kuşlar ve böcekler gibi çeşitli taşıyıcılar gıdaların yüzeylerinin kontamine olmasında doğrudan rol oynamaktadırlar. Dolaylı bulaşmalarda ise, gübre ve kontamine sular etkili olmakta, kontamine sulanın sulama amacıyla ya da pestisit preparatlarının hazırlanmasında kullanılmaları ile kontaminasyon gerçekleşmektedir. Gıdalara uygulanan teknolojik işlemlerden olan dondurma işlemi, parazit gelişimini ve canlılığını arttırabilmekte, özellikle kötü hijyen şartları parazitlerin taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Gıda kaynaklı Giardiasis ve Cryptosporidiosis, düşük enfeksiyon düzeyleri ve dirençlilikleri, ayrıca gelişim evrelerinde dezenfeksiyonlara karşı stabiliteyi koruyabilmeleri nedeniyle önem taşımaktadırlar. *Toxoplasma*, ABD ile Avrupa'da gıdalardan bulaşan parazitlerin en önemlisi olup, öncelikle domuz, koyun ve kuzu etleri ile taşınabilmektedir.

FOOD AND PARASITES

Parasites are single-celled organisms living by damaging to the host and they can be cause food-borne diseases up small single-celled microscopic organisms to multi-cellular worms that can be seen with the eye. Parasites live on the people who have been contaminated and the carrier animals tissues and organs, grow and usually excreted in feces. These include; *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayetanensis*, *Toxoplasma gondii*, *Trichinella spiralis*, *Taenia saginata* (beef tapeworm) and *Taenia solium* (pork tapeworm) be considered. Nowadays often seen, but type of infection more severe in children. The infection may be by fecal-contaminated water and food consumption or eating of raw or undercooked meat products which include infectious forms of protozoa. The infection risk increases with cured, smoked, salted, brined, open air dried meat and fish consumption. Various carriers such as birds and insects play a direct role of being contamination of the foods surfaces. Fertilizer and contaminated waters are effective in the indirect contamination. Contamination occurs by irrigation or using of pesticide preparats preparation with contaminated water. Freezing of the foods can increase the parasite development and vitality, especially poor hygen conditions play important role on parasites transportation. Foodborne Giardiasis and Cryptosporidiosis has importance because of the low infection levels and resistance, also preserve stabilities by themselves against disinfections in the stages of development. *Toxoplasma* is the most important food borne parasite in the United States and Europe. And primarily it can be transported with pigs, sheep and lamb meat.

Bildiri No: 58

Kategori: Genel

MODİFİYE ATMOSFER PAKETLENMİŞ DEVEKUŞU ETLERİNİN RENK VE OKSİDATİF KARARLILIĞININ RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİSİ

Sunum Tipi: Poster

Enver Barış BİNGÖL, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, İ.Ü.Vetriner Fakültesi
Özer ERGÜN, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, İ.Ü.Veteriner Fakültesi

Özet

Değişik konsantrasyonlarda O₂/CO₂ karışımı ihtiva eden farklı modifiye atmosfer paketleme uygulamaları ile devekuşu etlerinin renk ve oksidatif kararlılığının belirlenmesi ile raf ömrü üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, 9-12 aylık devekuşları kesimden 18-24 saat sonra kas gruplarına göre parçalanmaya tabi tutulmuş ve M.iliofibularis kasi ayrılarak kuşbaşı haline getirildikten sonra 5 ayrı gruba ayrılarak her biri önceden belirlenen gaz karışımları (ortam havası ve 80:20:0, 60:20:20, 60:40:0, 40:40:20 O₂:CO₂:N₂) ile paketlenmiştir. Her bir grup iç hacimleri birbirinden farklı iki kap kullanılarak, 1:1 ve 1:3 oranında tepe boşluğu mesafesi olacak şekilde dizayn edilmiş ve üzerleri aynı paketlenme filmi ile kaplanmıştır. Paketlenmiş etler 4°C'de 10 gün süreyle muhafaza edilmiş ve fiziko-kimyasal (pH, Tiyoobarbitürik asit değeri ve yüzey renk değerleri: CIE L*, a*, b*) ve duyuşsal (renk, koku, genel görünüm) yönden analiz edilmiştir. Sonuç olarak, farklı gaz kompozisyonlarıyla modifiye atmosfer paketli devekuşu etlerinin et kalitesi ve raf ömrü belli ölçülerde geliştirilebilmiş; raf ömründe 5 ile 7 gün arasında artış sağlanmıştır. Raf ömründe uzama ve paket içerisindeki yüksek CO₂ miktarı devekuşu etlerinin lipid oksidasyon değerlerinin artmasını engellemiştir. Bunun yanı sıra, paket içi O₂ miktarının artması, devekuşu etlerinde hızlı dekarboksilasyona neden olarak arzu edilen parlak kırmızı rengin oluşmasını engelleyeceğinden dolayı tüketici beğenisinin olumsuz etkileyeceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Devekuşu eti, Renk kararlılığı, Lipid oksidasyonu, Duyuşsal kalite, Raf Ömrü

EFFECT OF COLOUR AND OXIDATIVE STABILITY OF MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGED OSTRICH MEAT ON SHELF LIFE QUALITY

Enver Barış Bingöl, Özer Ergun

Istanbul University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, 34320 Avcılar, Istanbul, Turkey

Abstract

Effects of various concentrations of O₂/CO₂ in MAP was investigated to increase the colour and oxidative stability and to prolong the shelf-life of ostrich meat. For this purpose, 9-12 months aged ostriches were cut into pieces according to muscle groups, 18-24 hours after being slaughtered. M.iliofibularis muscle was cut off and the meat was cut into small cubes; they were divided into five groups and then were separately packaged (air and 80:20:0, 60:20:20, 60:40:0, 40:40:20 O₂:CO₂:N₂) using 2 different headspace volume ratios (1:1 and 3:1). The packaged meats were kept at 4°C for 10 days and were analyzed physico-chemically (pH, TBARS and surface colour (CIE L*, a*, b*) values) and sensorially (red colour, off-odour and general appearance acceptability).

As a result, the meat quality and shelf-life of ostrich meat packaged by various gas compositions were somewhat improved; shelf-life was increased by 5-7 days. Prolonged shelf-life and the high CO₂ content inside the package prevented the increase of lipid oxidation in ostrich meat. Furthermore, the increase in O₂ inside the package causes rapid decarboxylation of the ostrich meat and thus the desired red-colour is not obtained. It is concluded that the consumer may be adversely affected by this.

Keywords: Ostrich meat, Colour stability, Lipid oxidation, Sensorial Quality, Shelf life

1. Giriş

Devekuşu eti yüksek düzeyde proteinin yanında, daha az yağ ve kolesterol içerdiği için insan beslenmesi açısından sağlıklı bir ürün olup, kırmızı etin sahip olduğu görünüme, dokuya ve tada sahiptir (1).

Devekuşlarında et kalitesi yem, cinsiyet, kesim yaşı, kesim öncesi bayılma ve kesim yöntemi ile karkasın soğuk zincirde muhafazası gibi birçok faktör tarafından etkilenmektedir (3, 17). Devekuşu eti, siğir eti gibi kırmızı et olmasına rağmen daha koyudur (15, 17). Kesimden 2-6 saat sonra en yüksek pH değerine sahip olur ki, bu değer koyun ve siğir etinde 24-48 saattir. Rutubetinin yüksek olması ve daha kısa zamanda olgunlaşması nedeniyle de işlenmiş et ürünleri için önemlidir (17). Yüksek pH değeri devekuşu etinin raf ömrünün siğir etine göre daha kısa olmasına neden olur (8, 19).

Günümüzde gıdaların bozulmasına neden olabilen etkenlerin faaliyetlerini durdurmak, engellemek ya da tamamen ortadan kaldırmak, gıdaların dayanma sürelerini uzatmak, kalitelerini artırmak ve sağlık açısından risk oluşturmalarını en aza indirmek amacıyla birçok koruma yöntemlerinden ve işleme tekniklerinden yararlanılmaktadır (4, 26, 28).

Paketleme ve ambalajlamanın ürünün raf ömrünü arttırmada ve sonradan olan kontaminasyonları önlemede özel bir önemi vardır. Aynı zamanda gıda maddelerinin uzun süre taşınmasında kolaylık sağlar (25). Gıdaların kalitelerini korumak ve dayanma sürelerini arttırmak amacıyla uygulanan muhafaza yöntemlerinden biri olan modifiye atmosfer paketleme yöntemi (MAP), kırmızı et, kanatlı etleri, pişmiş ve kürlenmiş etler, balık, kabuklu deniz ürünleri, hamur işleri, peynir, kurutulmuş gıdalar, hazır gıdalar, sebze ve meyvelerde sıklıkla kullanılan etkin bir yöntemdir (7).

MAP uygulamaları öncelikle etin parlak kırmızı görüntüsünü korumak amacıyla denense de (23), mikrobiyal gelişim ve lipid oksidasyonu üzerine yaptıkları etkiler nedeniyle ürünün raf ömrünün uzatılmasında tercih edilen bir yöntem olmuştur (11). Çeşitli araştırmalar sonucunda MAP teknikleri kullanılarak et ve et ürünlerinin raf ömrülerinin %50-400 arasında uzatıldığı ortaya konulmuştur (7, 11, 12, 13, 27). Her ne kadar farklı türlere ait kırmızı etler benzer özelliklerde olsalar da, sahip oldukları spesifik farklılıklar ürünlerin raf ömürlerinde değişikliklere sebep olur. Bu amaçla paketleme havasının O₂/CO₂ bileşenlerinde değişiklikler ürünün raf ömrünü uzatabilmektedir (6, 7).

Bir kanatlı eti olmasına karşılık, kırmızı et özellikleri taşıyan devekuşu eti, besleyici değeri yüksek bir ürün olmasına rağmen, pH değerinin ve su tutma kapasitesin kırmızı ete oranla daha yüksek olması nedeniyle, bozulma yapıcı mikroorganizmaların kolay üreyip gelişebileceği bir ortam oluşturmakta, bu da devekuşu etinin raf ömrünün kısa olmasına yol açmaktadır (17, 19). Renginin siğir etinden daha koyu olması ve depolama süresince var olan rengin daha da koyulaşması tüketici beğenisini olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Bu çalışma kapsamında, değişik konsantrasyonlarda O₂/CO₂ bileşenleri ihtiva eden farklı modifiye atmosfer paketleme uygulamaları ile besleyici değeri yüksek bir et olan devekuşu etinin renk ve oksidatif kararlılığının belirlenmesi ve raf ömrünün uzatılması amaçlanmıştır.

2. Gereç ve Yöntem

2.1. Devekuşu etlerinin hazırlanması

Aynı yaş, cins ve yemleme prosedürüne tabi tutulmuş 9-12 aylık devekuşları seçilerek kesim öncesi ayıldı. Mezbahada kesim hijyenine özen gösterilerek kesime tabi tutulan hayvanlar, kesim sonrası bütün karkas halinde soğuk depoya kaldırıldı. Devekuşu karkasları kesimden 18-24 saat sonra kas gruplarına göre parçalama işlemine tabi tutuldu. Parçalama sırasında karkaslardan çıkartılan M. iliofibularis kasi denemelerde kullanıldı. Ayrılan M. iliofibularis kasları kuşbaşı haline getirildikten sonra biri kontrol grubu olmak üzere 5 ayrı gruba ayrılarak her biri önceden belirlenen gaz karışımları (ortam havası ve 80:20:0, 60:20:20, 60:40:0, 40:40:20 O₂:CO₂:N₂) ile paketiendi. Her bir grup için paketlenmede iç hacimleri birbirinden farklı iki kap kullanıldı. Kaplar 1:1 ve 1:3 oranında tepe boşluğu mesafeli (ürün/gaz oranı) olarak dizayn edildi ve üzerleri aynı paketlenme filmi ile kaplandı. Paketlenmiş etler soğukta (4°C) muhafaza edildi. Her bir deneme farklı tarihlerde üç kere tekrarlandı.

2.2. Fiziko-Kimyasal analizler

Devekuşu eti örnekleri soğuk muhafazanın 1, 3, 5, 7 ve 10. günlerinde pH ve tiyobarbitürik asit değeri (TBARS) yönünden incelendi.

Homojenize edilmiş ve sulandırılmış (10 g/100 ml saf su) devekuşu eti örneklerinin pH değerleri TSE tarafından önerilen metoda göre dijital bir pH metre (Hanna HI 9321) kullanılarak saptandı (24).

Devekuşu etlerinin TBARS ölçümleri Shrestha ve Min (21) tarafından önerilen yöntemle göre yapıldı. Her bir örnekten iyice parçalandıktan sonra 20 g alınıp üzerine 50 ml %20'lik trikloroasetik asit (2 M fosforik asit solüsyonunda hazırlanmış) ilave edilerek ultraturrax (ART Micra RT) aracılığıyla homojenize edildi. Deiyonize su ile 100 ml'ye tamamlanarak filtre edildikten sonra filtratın 5 ml'si, 5 ml taze hazırlanmış 0,005 M tiyobarbitürik asit solüsyonu ile karıştırıldı. Karışım birkaç defa çevrilmek suretiyle karıştırıldı. Karanlıkta ve oda sıcaklığında 15 saat bekletildikten sonra oluşan rengin absorbansı UV spektrofotometrede (Cheblos Optimum-One) 530 nm'de ölçüldü. TBARS değeri aşağıdaki formül aracılığıyla hesaplandı

$$\text{TBARS değeri} = \frac{(\text{Absorbans} - 0,0121) \times (72,06 / 94)}{0,1379} \text{ mg MDA}^*/\text{kg}$$

*Sonuç, reaksiyonda oluşan malondialdehid (MW: 72,06) üzerinden verilmektedir.

2.3. Renk analizleri

Bütün örnekler 4°C'de buzdolabı koşullarında muhafaza edilme süreçleri boyunca CIE L*, a*, b* [L*: Lightness (parlaklık), a*: redness (kırmızılık), b*: yellowness (sarılık)] değerlerine göre ColorFlex HunterLab Renk Ölçüm Sistemi (Hunter Associates Laboratory, Inc.) kullanılarak değerlendirildi. Her örnekten beş ölçüm yapıldıktan sonra aritmetik ortalaması alınıp ölçüm değeri belirlendi (2).

2.4. Duyusal analizler

Depolama sırasında devekuşu etlerindeki bozulma belirtileri (renk, koku, genel görünüm) vizuel olarak incelendi. Muhafaza sırasında gözlenen değişiklikler 5 kişilik gıda hijyeni ve güvenliği dalında uzman panelistler tarafından kabul edilebilirlik ölçü değerleri göz önünde bulundurularak puanlamaya tabi tutuldu. Puanlandırma 9 üzerinden yapıldı ve panelistlerin %50'sinin olumsuz olarak değerlendirdiği sonuçlar (<5 puan) bozulma başlangıcı olarak kabul edildi (18).

2.5. İstatistiksel analizler

Devekuşu etleri üç farklı tarihte, farklı gaz karışımları ile deneysel olarak paketlenildi ve verilerin varyans analizleri (ANOVA) zaman periyoduna göre paketleme ve tepe boşluğu mesafesinin gruplar arasındaki istatistikî karşılaştırmalarına göre yapıldı. Sonuçlar SPSS 13.00 programı ile hesaplandı (22). Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar $P < 0,05$ 'e göre değerlendirildi.

3. Bulgular ve Tartışma

Besleyici değeri yüksek bir kanatlı eti olmasına rağmen, kırmızı et özellikleri taşıyan devekuşu eti, pH değerinin ve su tutma kapasitesin kırmızı ete oranla daha yüksek olması nedeniyle, bozulma yapıcı mikroorganizmaların kolay üreyip gelişebileceği bir ortam oluşturmakta, bu da devekuşu etinin raf ömrünün kısa olmasına yol açmaktadır (17, 19). Renginin siğir etinden daha koyu olması ve depolama süresince var olan rengin daha da koyulaşması tüketici beğenisini olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Deneysel olarak kesilen ve paketlenen devekuşu etleri soğuk muhafazanın farklı günlerinde duyuşal (renk ve duyuşal panel) ve fiziko-kimyasal (pH ve tiyobarbitirik asit indeksi) yönden analiz edilmiş ve bulgular Tablo 1-4'de özetlenmiştir.

Çalışmamızda pH değerleri bütün gruplarda muhafaza süresince düşüş göstermiştir. Başlangıç pH değeri 6,23-6,26 olan deneysel devekuşu etleri 10 günlük muhafaza süresince kademeli olarak düşüş göstermiştir. Muhafazanın son gününde kontrol grubu etlerde pH değeri 5,9'a, MAP uygulanmış gruplarda ise genel olarak 6,0-6,1'e düşmüştür (Tablo 1).

Seydim ve ark. (20) 1:3 tepe boşluğu mesafeli olacak şekilde modifiye atmosfer paketlenmiş devekuşu kıymalarında, başlangıç pH seviyesi 6,16 olarak kaydedilmiştir. 4°C'de muhafaza edilen farklı atmosfer koşulları altında paketlenmiş devekuşu kıymalarında depolama süresince pH değerlerinde önemli bir değişim olmamıştır. 6,16'dan başlayan pH değeri muhafaza boyunca hafifçe azalma göstermiş ve final pH değeri 6,0'nın altında kaydedilmiştir. Post-mortem sürecin 24. saati sonunda bulunan bu yüksek pH değeri (pH $\approx$ 6,0); diğer etlere oranla devekuşu etlerinde, ante-mortem stresli taklip eden glikojen rezervlerinin tükenmesi sonucu oluşan etkinin önemli bir sonucu olarak gözlemlenmektedir. Fernandez-Lopez ve ark. (5) ise devekuşu bifteklerinde başlangıç pH değerlerini $6,04 \pm 0,10$ olarak saptamışlardır. Bütün saklama koşullarında pH değerinde muhafaza süresince düşüş kaydedildiği bildirilmiştir.

Insausti ve ark. (9) %60 O₂, %30 CO₂ ve %10 N₂ gaz karışımları ile modifiye paketlenmiş siğir bifteklerinin raf ömürleri araştırdıkları çalışmalarında ise 15 günlük muhafaza süresince pH değeri 5,3-5,6 arasında ölçülmüştür. Benzer olarak, Kennedy ve ark. (13) kuzu etlerinde kısa süreli depolamanın etkilerini araştırdıkları çalışmalarında pH değeri, MAP uygulanmış örneklerde 5,8'in altında kaldığı bildirilmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar, bizim çalışmamızda devekuşu etlerinde saptanan paketlemeye bağlı pH değerleri arasındaki değişimleri benzerlik göstermektedir.

Lipid oksidasyonu paketlenmiş ürünlerde raf ömrünü tehdit eden önemli faktörlerden biridir. Muhafaza süresinin uzaması paketlenmiş ürünlerde TBARS değerlerinde artışa sebep olmaktadır. Paket içerisindeki gaz kompozisyonu da lipid oksidasyonu etkileyen başka bir etkidir. Çalışmamızda TBARS değerleri bütün gruplarda muhafaza süresi boyunca artış göstermiştir (Tablo 2). Başlangıç TBARS değerleri 1,34-2,45 mg MDA/kg olan deneysel devekuşu etleri, 10 günlük muhafaza süresince TBARS değerleri bakımından sürekli artış göstermiştir. Muhafazanın son gününde kontrol grubu etlerde TBARS değeri 9 mg MDA/kg'a, MAP uygulanmış etlerde ise 8,7-10,7 mg MDA/kg'a yükselmiştir.

Seydim ve ark. (20) çalışmalarında TBA değerlerini O₂'de yüksek, vakum ve N₂'de düşük bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile uyum göstermektedir. Muhafaza süresi, TBA değerinin paketleme etkisine bağlı olarak artmasında önemli bir faktördür. Araştırmacılar tarafından diğer et preparatlarına oranla (siğir, kanatlı, domuz, tavşan) O₂ paketlenmiş devekuşu etlerinin TBA değerleri 6. ve 9. günler arasında çok yüksek bulunduğu belirtilmiştir (> 20 mg MDA/kg).

Fernandez-Lopez ve ark. (5) ise hava ile paketlenmiş ürünlerde lipid ve hemopigmentasyon oranını yüksek bulmuşlardır. Hava ile paketlenmiş devekuşu biftekleri en yüksek TBARS değerine ulaşmışken ($P < 0,05$), vakum, MAP veya MAP+CO paketlenmiş devekuşu bifteklerinde TBARS değerlerinde bir değişiklik gözlemlenmediği kaydedilmiştir ($P > 0,05$). Vakum, MAP ve MAP+CO paketlenmede oksijen içeriğini azaltmak ya da ortamdan çıkarmak lipid oksidasyonunu sınırlamakta ve örneklerde düşük TBARS değerlerine sebep olmaktadır.

Muhafaza süresince gıda maddelerinde duyuşal değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişiklikler vizuel olarak kontrol edilebileceği gibi, instrumental analizler yardımıyla da değerlendirilebilir. Çalışmamızda yüzey parlaklık (L^*) değerleri yüksek O₂ içeren gruplarda yükseken (34,46 - 34,62), 10 günlük muhafaza süresince sürekli azalma göstermiştir (Muhafazanın 10. günü L^* değeri: 30,18 - 30,79). Ancak bu örneklerin parlaklık değerleri her analiz gününde diğer gruplara kıyasla hep daha yüksek değerleri göstermiştir (Tablo 3).

Yüzey a^* (kırmızılık) değeri, yüksek O₂ paketli örneklerde ilk 3 gün diğer gruplardan daha yüksek olmasına karşın, bütün gruplarda 10 günlük muhafaza süresince azalma gerçekleşmiştir. Ancak bu gruptaki örneklerde meydana gelen azalma diğer gruplardan daha fazla olmuş ve muhafazanın son gününde O₂ uygulanmış diğer örneklerden 1 log ünitelik daha az kırmızılık değerleri vermiştir (Tablo 3).

Yüzey b^* (sarılık) değerleri muhafaza süresince tüm O₂ ve hava paketli devekuşu etlerinde azalmıştır. Azalma kontrol grubu örneklerinde MAP uygulanmış örneklerden daha fazla olurken, 1:3 tepe boşluğu mesafeli örnekler 1:1 tepe boşluğu mesafeli örneklerden daha yüksek sarılık değerleri vermiştir (Tablo 3).

Seydim ve ark. (20) 1:3 tepe boşluğu mesafeli olacak şekilde paketledikleri devekuşu kıymalarında, O₂ paketli örneklerde lipid oksidasyon ve renk özelliklerine bağlı olarak 3 günden az süreli bir raf ömrü saptamışlardır. Yüzey parlaklığı (L^*) ve kırmızılığı (a^*) başlangıçta O₂'li örneklerde yüksekken 9. günde azaldığı bildirilmiştir. Paleari ve ark. (16) devekuşu etlerinde ortalama yüzey L^* değerini 36,7 olduğunu; 33,7 ile yaşlı siğir etleri ve 46,6 ile de hindi butları arasında olduğunu bildirmişlerdir. Devekuşu etlerinin koyu rengi yüksek hem içeriğinden ve yüksek pH etkisiyle su bağlamasından kaynaklanmaktadır.

O₂ ve hava atmosferi paketli etlerde oksimiyoglobinin oksidasyonundan kaynaklı kırmızılık kaybı etin sahip olduğu yüksek pH değerinden ($\geq 6,0$) kaynaklı olduğu sanılmaktadır. Yüksek pH değerlerinde mitokondriyal enzim sistemleri (sitokrom, suksinat ve piruvat-malat oksidaz) kapanmamakta ve var olan oksijeni kullanma eğilimi göstermektedirler (14). Yüksek pH değerine sahip kasların oksijen tüketim oranı normal pH değerlerine sahip kaslardan daha fazladır. Oksimiyoglobinin metmyoglobine dönüşme oranı yüksek pH'lı kaslarda normal pH'lı olanlara oranla 1,5-2,0 kat daha hızlıdır (20).

Fernandez-Lopez ve ark. (5) farklı koşullarda paketledikleri devekuşu bifteklerinde yüzey L^* değeri muhafaza süresince artış göstermiştir. Parlaklık değerleri ile ilgili bu değişim bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile ters orantılı olsa da, kırmızılık değerlerinde elde edilen sonuçlar benzerlik göstermiştir. Vergara ve Gallego (27)'nin kuzu etleri ile yaptıkları çalışmalarında farklı paketieme koşulları arasında zamana bağlı olarak L^* (parlaklık) değerlerinde hiçbir değişiklik oluşmazken; muhafaza süresince bütün gruplarda artış kaydedilmiştir. Sarılık (b^*) değeri O₂ içermeyen gruplarda diğerlerine oranla düşük kalmış, fakat zamana bağlı olarak artış göstermiştir. Buna karşın kırmızılık (a^*) değeri her grupta zamanla beraber azalmıştır. Kennedy ve ark.(13) çalışmalarında 100:0/CO₂:N₂ gaz karışımı ile 7 gün süreyle depolanan kuzu eti örneklerinde a^* değeri diğer gruplardan yüksek bulunmuştur. Araştırmacıların başka bir çalışmasında ise, 80:20:0/CO₂:CO₂:N₂ gaz karışımı ve 2:1 oranında tepe boşluğu mesafesi ile paketlenen koyun etlerinde arzulanan et renginin uzun süre korunması ve raf ömründe artış sağlanabilmiştir (12). Insausti ve ark. (10) siğir etlerinin MAP ile muhafazasının vakum ile muhafazasından daha yüksek parlaklık (L^*) ile daha düşük kırmızılık (a^*) değerleri gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yüksek O₂ içeren gruplar muhafazanın ilk 3 gününde duyuşsal panel değerlendirmelerine göre en iyi renk değerlerine sahip olan gruplar olmuştur (Tablo 4). Paketleme tipine bağılı olarak muhafazanın diğler günlerinde panelistler tarafından farklı skorlar alsalar da, genel olarak 1:3 tepe boşluğı mesafesi olan %80 O₂/%20 CO₂ gaz karışımı ile paketlenen devekuşu eti örnekleri, bütün muhafaza süresi boyunca en beğenilen grup olmuştur. Muhafazanın 5. gününden itibaren bütün grupların renk skorlarında benzer şekilde azalma olmuştur. Görünüm bakımından kabul edilebilirlik skorları renk skorları ile orantılı olmamış, burada 1:1 tepe boşluğı mesafeli ve CO₂ ilaveli paketler panelistler tarafından tercih edilmiştir. Nahos koku teşekkülü ilk 5 günlük muhafaza süresi boyunca hiçbir grupta saptanmasa da, en iyi skorlar 1:3 tepe boşluğı mesafeli ve %60 O₂/%20 CO₂/%20 N₂ paketlenen örneklerde elde edilmiştir. Deneysel devekuşu eti örnekleri 7-10 günler arasında koku bakımından tüketilebilirlik sınırları altında değerlendirilmiştir.

4. Sonuç ve Öneriler

Kırmızı et özellikleri taşıyan devekuşu etinin, farklı gaz karışımları ile modifiye atmosfer paketlenmesi sonucu, et kalitesi ve raf ömrü belli ölçülerde geliştirilebilmiş; etlerde yüksek oranda CO₂ kullanılmasıyla raf ömründe 5 ile 7 gün arasında artış sağlanmıştır. Ancak, muhafaza süresinin uzaması ve paket içi yüksek O₂ miktarı devekuşu etlerinin lipid oksidasyon değerlerinin artmasına ve devekuşu etlerinin 5 günün üzerinde bir raf ömrüne sahip olmasına engel olmuştur. Bunun yanı sıra, paket içi O₂ miktarının artması, devekuşu etlerinde hızlı dekarboksilasyona neden olarak arzu edilen parlak kırmızı rengin oluşmamasından dolayı tüketici beğenisinin olumsuz etkilenebileceğı sonucuna varılmıştır.

5. Kaynakça

1. Albay, R. (2002). Devekuşu etinin özellikleri ve besleyici parametreleri. Gıda, 6, 74-78.
2. AMSA (1991). Guidelines for meat color evaluation. Chicago, IL: Nat. Live Stock and Meat Board.
3. Anonim. (1999). GAP I. Tarım Kongresi. Harran Ün. Zir. Fak. 2. cilt ŞanlıUrfa.
4. Chirife, J. ve Ferro-Fontan, C. (1980). Prediction of water activity of aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods: experimental investigation of the aw lowering behaviour of sodium lactate and some related compounds. J. Food Sci., 45, 802-804.
5. Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Muñoz, T., Sendra, E., Navarro, C., Pérez-Alvarez, J.A. (2008). Effect of packaging conditions on shelf-life of ostrich steaks. Meat Science, 78(1-2), 143-152.
6. Gill, C.O. (1989). The Control of Microbial Spoilage in Fresh Meat. In: Pearson A.M. and Dutson T.R. (Ed.), Advances in Meat Research, Meat and Poultry Microbiology, 2, 49-59.
7. Gün, H., Aksu, H., Bostan, K. (1996). Et ürünlerinin modifiye atmosferde paketlenmesi. Et ve Et Ürünleri Sempozyumu'96 Bildiri Kitabı, İstanbul, 185-190.
8. Hilman, C. ve Merkel, H. (2001) Straubenschlachtung sicher gestalten. Fleischwirtschaft, 12, 21-24.
9. Insausti, K., Beriain, M.J., Purroy, A., Alberti, P., Gorraiz, C., Alzueta, M.J. (2001). Shelf life of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. Meat Science, 57(3), 273-281.

10. Insausti, K., Berialn, M.J., Purroy, A., Alberti, P., Lizaso L., Hernandez, B. (1999). Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. *Meat Science*, 53(4), 241-249.
11. Jakobsen, M. ve Bertelsen, G. (2000). Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. *Meat Science*, 54(1), 49-57.
12. Kennedy, C., Buckley D.J., Kerry J.P. (2004). Display life of sheep meats retail packaged under atmospheres of various volumes and compositions. *Meat Science*, 68(4), 649-658.
13. Kennedy, C., Buckley, D.J., Kerry, J.P. (2005). Influence of different gas compositions on the short-term storage stability of mother-packaged retail-ready lamb packs. *Meat Science*, 69(1), 27-33.
14. Lawrie, R.A. (1998). *Lawrie's meat science* (6th Ed.), Lancaster, PA: Technomic Publishing Inc.
15. Morris, C.A., Haris, S.D., May, S.G., Hale, D.S., Jackson, T.C., Lucia, L.M., Miller, R.K., Keton, J.T., Acuff, G.R., Savell, J.W. (1995b). Ostrich slaughter and fabrication: 2. Carcass weights, fabrication yields, and muscle color evaluation. *Poultry Science*, 74, 1688-1692.
16. Paleari, M.A., Camisasca, S., Beretta, G., Renon, P., Corsico, P., Bertolo, G. (1998). Ostrich meat: Physico-chemical characteristics and comparison with turkey and bovine meat. *Meat Science*, 48, 205-210.
17. Petek, M. (2003). *Devekuşu bakım, beslenme, kuluçka, başlıca hastalıklar ve can güvenliği el kitabı*. Ankara, Türkiye: Medisan Yayın Serisi: 57 1. Baskı.
18. Ranganna, S. (1994). *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products* (2nd Ed.), New Delhi: TATA, Mc Graw-Hill Publishing, 623-627.
19. Sales, J. ve Mellet, F.D. (1996). Post-mortem pH decline in different ostrich muscles. *Meat Science*. 2(2), 235-238.
20. Seydim A.C., Acton J.C., Hall M.A., Dawson P.L. (2006). Effects of packaging atmospheres on shelf-life quality of ground ostrich meat. *Meat Science*, 73(3), 503-510.
21. Shrestha, S. ve Min, Z. (2006). Effect of lactic acid pretreatment on the quality of fresh pork packed in modified atmosphere. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 254-260.
22. SPSS. (2001), *Statistical Package for the Social Sciences*, Release 13.0. SPSS Inc. IL, USA: Chicago.
23. Taylor, A.A., Down, N.F., Shaw, B.G. (1990). A comparison of modified atmosphere and vacuum skin packing for the storage of red meats. *International Journal of Food Science and Technology*, 25, 98-109.
24. TSE (1978). Et ve mamullerinde pH tayini. Referans Metot. TS 3136 Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

25. Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K. (2001). Gıda Hijyeni, İstanbul: Teknik Yayınları.
26. Uğur, M., Nazlı, B., Bostan, K., Aksu, H. (1998). Et ve Et Ürünleri Teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 99, İstanbul.
27. Vergara, H. ve Gallego, L. (2001). Effects of gas composition in modified atmosphere packaging on the meat quality of Spanish Manchega lamb. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81, 1353-1357.
28. Yıldırım, Y. (1996). Et Endüstrisi. (4.Ed.), Ankara: Remzi Ofset.

Tablo 1. Deneysel devekuşu eti örneklerinin muhafaza sürecinde pH değerlerindeki değişimler

Grup	Hava boşluğu	Muhafaza süresi (4°C)				
		1.gün	3.gün	5.gün	7.gün	10.gün
Hava	1:1	6,256 ± 0,03	6,196 ± 0,01	6,090 ± 0,02	6,010 ± 0,005 ^{cd}	5,956 ± 0,01 ^{cd}
80:20:0/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:1	6,233 ± 0,03	6,176 ± 0,04	6,140 ± 0,03	6,030 ± 0,02 ^{bol}	5,920 ± 0,01 ^{de}
60:20:20/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:1	6,266 ± 0,02	6,246 ± 0,02	6,193 ± 0,02	6,170 ± 0,03 ^a	6,123 ± 0,01 ^a
60:40:0/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:1	6,246 ± 0,003	6,216 ± 0,02	6,190 ± 0,01	5,976 ± 0,02 ^{ab}	6,033 ± 0,006 ^{abc}
40:40:20/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:1	6,233 ± 0,008	6,193 ± 0,01	6,113 ± 0,01	6,073 ± 0,03 ^d	5,840 ± 0,05 ^e
Hava	1:3	6,263 ± 0,06	6,196 ± 0,05	6,163 ± 0,05	6,116 ± 0,03 ^{abod}	5,906 ± 0,03 ^{de}
80:20:0/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:3	6,233 ± 0,04	6,200 ± 0,05	6,166 ± 0,04	6,136 ± 0,03 ^{abc}	6,006 ± 0,01 ^{bol}
60:20:20/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:3	6,256 ± 0,04	6,216 ± 0,06	6,160 ± 0,05	6,153 ± 0,04 ^{ab}	6,096 ± 0,03 ^{ab}
60:40:0/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:3	6,233 ± 0,05	6,213 ± 0,05	6,180 ± 0,04	6,076 ± 0,04 ^{ab}	6,123 ± 0,03 ^a
40:40:20/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:3	6,243 ± 0,02	6,190 ± 0,02	6,140 ± 0,02	6,088 ± 0,04 ^{abod}	6,010 ± 0,06 ^{bol}
P		NS	NS	NS	*	***

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir; (P < 0,05)

Tablo 2. Deneysel devekuşu eti örneklerinin muhafaza sürecinde tiyobarbitürik asit (TBARS) değerlerindeki değişimler

Grup	Hava boşluğu	Muhafaza süresi (4°C)				
		1.gün	3.gün	5.gün	7.gün	10.gün
Hava	1:1	1,340 ± 0,20	3,853 ± 0,67 ^{bol}	4,866 ± 0,15 ^d	6,694 ± 0,19 ^{cd}	9,113 ± 0,37
80:20:0/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:1	2,454 ± 0,41	7,440 ± 0,83 ⁿ	8,131 ± 0,66 ^a	9,956 ± 1,01 ^a	10,536 ± 0,61
60:20:20/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:1	1,874 ± 0,21	6,382 ± 1,32 ^{ab}	7,310 ± 0,79 ^{ab}	8,946 ± 0,86 ^{ab}	10,263 ± 0,76
60:40:0/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:1	1,839 ± 0,20	5,920 ± 1,44 ^{ab}	6,837 ± 0,74 ^{abc}	8,644 ± 0,81 ^{ab}	9,796 ± 0,94
40:40:20/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:1	1,744 ± 0,20	5,520 ± 1,34 ^{abc}	6,235 ± 0,71 ^{bol}	9,135 ± 0,86 ^{ab}	10,943 ± 0,46
Hava	1:3	1,466 ± 0,17	2,063 ± 0,07 ^d	4,036 ± 0,34 ^e	5,914 ± 0,96 ^d	9,001 ± 1,81
80:20:0/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:3	1,865 ± 0,59	5,233 ± 0,14 ^{abc}	7,971 ± 0,43 ^{ab}	9,266 ± 0,49 ^{ab}	10,234 ± 0,64
60:20:20/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:3	2,004 ± 0,46	3,808 ± 0,19 ^{bol}	6,939 ± 0,30 ^{abc}	7,525 ± 0,45 ^{bc}	9,507 ± 0,88
60:40:0/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:3	1,794 ± 0,31	2,294 ± 0,43 ^{cd}	6,471 ± 0,47 ^{abod}	6,941 ± 0,46 ^{bol}	8,789 ± 1,08
40:40:20/O ₂ :CO ₂ :N ₂	1:3	1,724 ± 0,30	2,446 ± 0,32 ^d	5,329 ± 0,37 ^d	8,460 ± 0,51 ^{ab}	10,778 ± 0,61
P		NS	**	***	**	NS

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir; (P < 0,05)

Tablo 3. Deneysel devekuşu eti örneklerinin muhafaza sürecinde renk değerlerindeki değişimler [Parlaklık (L*), Kırmızılık (a*), Sarılık (b*)]

Grup	Hava buzuğu	Muhafaza süresi (°C)											
		1.gün			3.gün			5.gün			7.gün		
		L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Hava	1:1	31,55 ^a	14,56	11,42 ^{ab}	31,19 ^a	12,43	10,21 ^a	30,32 ^a	12,25	9,92 ^a	29,59 ^{abc}	11,49 ^a	9,69 ^a
80:20:0:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:1	31,46 ^a	15,40	11,81 ^{ab}	31,60 ^a	13,80	11,50 ^a	32,48 ^a	10,64	10,74 ^{ab}	31,23 ^a	9,22 ^a	9,82 ^a
60:20:20:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:1	30,60 ^a	15,64	14,00 ^a	29,16 ^a	13,86	12,60 ^a	29,78 ^a	12,93	12,05 ^a	28,16 ^{ab}	10,11 ^{ab}	10,92 ^{ab}
40:40:0:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:1	30,33 ^a	14,74	12,64 ^{ab}	29,82 ^a	13,71	12,33 ^{ab}	29,39 ^a	12,80	11,30 ^a	27,44 ^a	9,80 ^{ab}	10,71 ^{ab}
40:40:20:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:1	31,18 ^a	13,93	11,83 ^{ab}	30,30 ^a	12,94	11,11 ^a	30,23 ^a	11,67	10,93 ^{ab}	29,33 ^{ab}	9,79 ^{ab}	10,32 ^{ab}
Hava	1:3	31,93 ^a	14,64	10,80 ^a	31,17 ^a	11,38	10,31 ^a	30,48 ^a	12,58	10,64 ^a	29,99 ^{ab}	11,70 ^a	9,98 ^{ab}
80:20:0:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:3	34,62 ^a	15,82	12,73 ^{ab}	33,36 ^a	14,41	11,76 ^{ab}	32,42 ^a	11,10	10,57 ^{ab}	30,56 ^a	7,79 ^a	10,63 ^{ab}
60:20:20:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:3	30,78 ^a	14,96	14,39 ^a	29,71 ^a	14,08	12,89 ^a	29,77 ^a	12,97	12,04 ^a	28,72 ^{ab}	9,17 ^{ab}	10,88 ^{ab}
40:40:0:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:3	31,13 ^a	14,99	13,28 ^{ab}	30,00 ^a	13,97	12,33 ^{ab}	29,33 ^a	12,72	12,00 ^a	28,29 ^{ab}	10,03 ^{ab}	11,33 ^a
40:40:20:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:3	30,77 ^a	14,41	12,56 ^{ab}	30,20 ^a	13,64	11,43 ^a	29,44 ^a	11,99	11,20 ^{ab}	29,07 ^{ab}	10,31 ^{ab}	27,50 ^{ab}
P		***	NS	***	***	NS	***	**	NS	***	**	*	***

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir, (P < 0,05)

Tablo 4. Deneysel devekuşu eti örneklerinin muhafaza sürecinde duyu analizi değerlerindeki değişimler

Grup	Hava buzuğu	Muhafaza süresi (°C)											
		1.gün			3.gün			5.gün			7.gün		
		İzoh	Koku	Görüşme	İzoh	Koku	Görüşme	İzoh	Koku	Görüşme	İzoh	Koku	Görüşme
Hava	1:1	6,76 ^a	7,33	7,43	5,86 ^a	6,93	7,23	5,60	6,83 ^{ab}	5,86	4,16	3,20 ^a	3,63
80:20:0:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:1	8,36 ^a	7,96	8,33	8,03 ^a	7,70	8,13	5,23	7,26 ^{abc}	5,43	4,10	4,83 ^a	4,83
60:20:20:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:1	7,80 ^{ab}	7,96	8,00	7,43 ^a	7,66	8,33	5,43	7,30 ^{ab}	5,50	4,10	4,80 ^a	4,70
40:40:0:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:1	7,50 ^{abc}	8,00	7,66	7,33 ^a	7,33	8,13	4,86	6,83 ^{ab}	5,16	3,90	5,00 ^a	4,73
40:40:20:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:1	7,53 ^{abc}	7,70	7,26	6,90 ^{ab}	7,43	7,46	5,00	6,66 ^{ab}	5,70	4,60	4,06 ^{ab}	4,16
Hava	1:3	6,90 ^{ab}	6,90	7,26	7,00 ^{ab}	6,83	7,26	6,96	7,00 ^{abc}	6,03	4,73	5,53 ^a	4,83
80:20:0:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:3	8,50 ^a	8,06	8,43	8,00 ^a	7,56	7,20	6,53	7,26 ^{abc}	5,86	4,33	4,66 ^a	4,86
60:20:20:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:3	8,33 ^{ab}	7,70	7,86	7,40 ^a	7,90	7,66	6,06	7,56 ^a	5,73	4,16	4,10 ^{ab}	4,46
40:40:0:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:3	7,46 ^{ab}	7,66	7,53	6,90 ^{ab}	7,86	7,76	6,03	6,90 ^{ab}	5,86	4,26	4,20 ^{ab}	4,73
40:40:20:0 ₂ :C ₆ H ₆	1:3	7,36 ^{ab}	7,33	7,13	7,50 ^a	6,93	7,16	6,50	6,23 ^a	5,53	4,13	3,80 ^a	4,33
P		*	NS	NS	*	NS	NS	NS	**	NS	NS	*	NS

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir, (P < 0,05)

Bildiri No: 60

Kategori: Genel

KOYUN PEYNİRİ VE SÜTLÜ TATLILARDA STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENTEROTOKSİNLERİNİN MULTİPLEKS PCR TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Poster

Nurhan ERTAŞ, Besin Hiyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Zafer GÖNÜLALAN, Besin Hiyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Yeliz YILDIRIM, Besin Hiyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Erhan KUM, Besin Hiyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Özet

Bu çalışmanın amacı, koyun peyniri ve sütlü tatlılarda *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve stafilokokal enterotoksin (SE) genlerinin multipleks PCR ile belirlenmesidir. Çalışmada 50 sütlü tatlı ve 100 koyun peyniri örneği olmak üzere toplam 150 örnek analiz edilmiştir. Analiz edilen 150 örneğin 86(%57.3)'sında koagulaz pozitif stafilokok bulunmuştur. Koyun peyniri ve sütlü tatlı örneklerinin sırasıyla 60 (%60) ve 26 (%52)'sında *S. aureus* izole edilmiştir. Herbir koyun peyniri ve sütlü tatlı örneğinden fenotipik ve genotipik karakterizasyon için beş şüpheli koloni seçilerek test edilmiştir. Çalışma kapsamında toplam 86 pozitif örnekten 430 izolat elde edilmiştir. İzolatlardan 80 (%18.6)'ı *S. aureus* olarak karakterize edilmiştir. Seksen izolatın 13(%3.02)'ünde enterotoksin genlerine (sea, seb, sec, sed) rastlanmıştır. Peynir izolatlarının sırasıyla 5(%1.6), 2(%0.6) ve 1(%0.3)'ünde sea, seb ve sed belirlenmiştir. Sütlü tatlı izolatlarının ise sırasıyla 3(%2.3), 1(%0.76) ve 1(%0.76)'ünde sea, sec ve sed saptanmıştır. Elde edilen 80 izolatın 12(%2.8)'sinde SE'lerin varlığı ELISA tekniği ile ortaya konmuştur. Örneklerde SE dağılımı ise: 7 (%1.6) SEA, 2 (%0.46) SEB, 1 (%0.23) SEC ve 2 (%0.46) SED olarak belirlenmiştir. Peynir örneklerinin 7(%2.3)'sinde ve sütlü tatlı örneklerinin ise 5(%3.8)'inde SE'lere rastlanmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada analiz edilen koyun peyniri ve sütlü tatlı örneklerinde *S. aureus* ve SE'lerin varlığı ortaya konmuştur. Koyun peyniri ve sütlü tatlı örneklerinde *S. aureus* ve SE varlığının halk sağlığı açısından potansiyel bir risk olarak değerlendirilebileceği vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Koyun peyniri, m PCR, *S. aureus*, SE genleri, Sütlü tatlılar

DETECTION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENTEROTOXINS IN SHEEP CHEESE AND DAIRY DESSERTS BY MULTIPLEX PCR TECHNIQUE

Abstract

The aim of this study was to investigate the presence of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and staphylococcal enterotoxins (SEs) genes in sheep cheese and dairy desserts samples by multiplex PCR (mPCR) technique. A total of 150 samples were analyzed consisting of 50 dairy desserts samples and 100 sheep cheese. Coagulase positive staphylococci (CPS) were found in 86 (57.3%) out of 150 analysed samples. *S. aureus* were isolated from 60 (60%), 26 (52%) of sheep cheese and from of dairy desserts, respectively. Five suspected colonies were tested from each sheep cheese and dairy dessert samples for phenotypic and genotypic characterization. A total of 430 isolates from the 86 positive samples were investigated in this study. Eighty (18.6%) isolates were characterized as *S. aureus*. The enterotoxin genes (sea, seb, sec, sed) was found in 13 (3.02%) out of 80 isolates. From cheese isolates, sea, seb and sed were detected in 5 (1.6%), 2 (0.6%), 1 (0.3%), respectively. From dairy desserts isolates, sea, sec and sed were detected in 3 (2.3%), 1 (0.76%), 1 (0.76%), respectively. The presence of SEs was identified in 12 (2.8%) out of 80 isolates by using ELISA technique. It was determined that these SEs had a distribution of 7 (1.6%) SEA, 2 (0.46%) SEB, 1 (0.23%) SEC, and 2 (0.46%) SED. SEs was found in 7 (2.3%) cheese and 5 (3.8%) dairy desserts isolates. In conclusion, *S. aureus* and their SEs were found to be present in sheep cheese and dairy desserts in this study. It is emphasized that the presence of *S. aureus* and their SEs genes in sheep cheese and dairy desserts may be regarded as a potential risk for human health.

Key Words: *S. aureus*; SEs genes; Sheep cheese; Dairy desserts; m PCR

Bildiri No: 62

Kategori: Genel

DİVLE TULUM PEYNİRİNDE AFLATOKSİN M1 DÜZEYİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Sunum Tipi: Poster

Özgür İŞLEYİCİ, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü/Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Yakup Can SANCAK, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü/Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Fatih MORUL, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Özet

Bu çalışma Karaman ve Konya illerinde tüketilen geleneksel peynir çeşitlerinden Divle tulum peynirinde aflatoksin M1 (AFM1) varlığını ve seviyesini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla halk pazarlarından ve peynir satılan marketlerden alınan 55 peynir örneğinin ELISA tekniği ile AFM1 analizleri yapılmıştır. Örneklerin 10 tanesinde (%18.18) 5.15 ng/kg ile 26.44 ng/kg arasında değişen miktarlarda ortalama 10.835 ± 6.70 ng/kg AFM1 belirlenmiştir. AFM1 örneklerin 23 tanesinde (%41.82) 5 ng/kg'ın altında bulunurken, 22 tanesinde (%40.0) hiç tespit edilememiştir. Analize alınan örneklerin tamamının Türk Gıda Kodeksi'nde peynirler için verilen maksimum değerin (500 ng/kg) altında AFM1 içerdiği saptanmıştır. Çalışma sonucunda hiçbir Divle tulum peyniri örneğinde yasal limitlerden yüksek AFM1 tespit edilmemesi, bu peynir çeşidimizin AFM1 yönünden halk sağlığı için herhangi bir risk oluşturmadığını ortaya koymuştur. Ancak bazı peynir örneklerinin düşük düzeyde de olsa AFM1 içermesinden dolayı bu peynir çeşidinin halk sağlığı yönünden bir risk oluşturabileceği hiçbir zaman göz ardı edilmemelidir.

Anahtar Kelimeler: Divle tulum peyniri, AFM1, ELISA

A STUDY ON THE LEVEL OF AFLATOXIN M1 IN DIVLE TULUM CHEESE

Summary

This study was conducted to determine the presence and levels of aflatoxin M1 (AFM1) in Divle Tulum cheese consumed in Karaman and Konya provinces. For this purpose, a total of 55 cheese samples obtained from public markets and cheese selling supermarkets and AFM1 analyses have been conducted on those cheese samples using ELISA technique. In 10 of samples taken (18.18%) averagely 10.835 ± 6.70 ng/kg AFM1 is determined in amounts varying between 5.15 ng/kg and 26.44 ng/kg. AFM1 is determined to be below 5 ng/kg in 23 (41.82%) of the samples taken and to be none is determined in 22 (40.0%). It has been determined that all of the samples analyzed contain AFM1 below the maximum value given for cheese by Turkish Food Codex (500 ng/kg). The fact that higher than the legal limits of AFM1 is not determined in any of Divle Tulum Cheese samples has shown that this cheese type of ours does not cause any risks with regards to public health for AFM1. However, the determination of AFM1 low level in some cheese samples indicated that could be pose a risk in terms of public health.

Keywords: Divle tulum cheese, AFM1, ELISA

Giriş

Mikotoksinler bazı mantarlar tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Mantar üreyen gıdalarda ve yemlerde oluşabilirler ve bunları tüketen insan ve hayvanlarda mikotoksikozis olarak isimlendirilen zehirlenmeye neden olurlar. Bitkisel ve hayvansal kökenli gıdalarla insan vücuduna giren mikotoksinler, karaciğer ve böbrek bozuklukları, sinir sistemi ve bağışıklık sistemi bozuklukları, deri duyarlılığı veya nekrozu gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açarlar. İnsanlarda bu tür bozukluklara yol açan mikotoksinleri üreten *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* cinsleri olmak üzere başlıca üç ana grup vardır. Özellikle *Aspergillus* cinsi içerisinde yer alan *A. flavus*, *A. parasiticus*, ve *A. nomius* gibi türler ürettikleri aflatoksin B1 ismi verilen mikotoksin ile insanlarda karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkiler oluştururlar. *A. flavus* yalnızca aflatoksin B1 (AFB1) ve aflatoksin B2 (AFB2) üretirken *A. parasiticus* AFB1 ve AFB2'nin yanı sıra aflatoksin G1 ve aflatoksin G2'yi de üretmektedir (19,36,38).

Aflatoksin sentezleyen *Aspergillus* türleri çevrede yaygın olarak bulunan ve her iklim koşulunda gelişebilen mantarlardır. Bunların ürettiği aflatoksinler ancak 300 °C'nin üzerindeki ısılarla tümüyle parçalanabilirler. Bu nedenle pastörizasyon ısısında parçalanmazlar. Alınan AFB1 miktarının sığırlarda %0.18'i, koyunlarda da %0.1'i süte geçebilmektedir (28,39).

Aflatoksinlerin UV ışık altında mavi floresans veren bileşenlerine AFB1 ve AFB2, sarı-yeşil floresans veren bileşenlerine ise aflatoksin G1 ve G2 ismi verilmiştir. Daha sonra aflatoksinli yemleri tüketen hayvanların sütlerinde de aflatoksinlerin hidroksile olmuş türevlerinin salgılandığı ortaya konmuş ve bunlara da aflatoksin M1 (AFM1) ve aflatoksin M2 (AFM2) ismi verilmiştir. AFM1 ve AFM2 türevleri, AFB1 ve AFB2'nin süt hayvanlarında metabolik değişikliğe uğratılarak atılan şekilleri olarak kabul edilmektedir (1,36,39).

En zehirli olan aflatoksin, AFB1'dir. AFM1'in etki gücü de AFB1 seviyesindedir. Aflatoksinler bilinen en güçlü karaciğer kanserojenidirler. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından AFB1 Grup 1 karsinojen, AFM1 ise Grup 2B karsinojen olarak tanımlanmıştır. Özellikle AFB1 karaciğer karsinojeni olarak tanımlanmış ve hepatitis B/ HBV ile birlikte hepatosellüler karsinomaların en büyük sebebi olarak değerlendirilmiştir. AFM1'in mutajenik ve karsinojenik etkisi AFB1'den daha düşük olmasına rağmen genotoksik etkisi daha yüksektir (2,4,28,30,39).

AFB1 sütlere ve süt ürünlerine geçerek, bunları tüketen insanlarda sağlık problemlerine yol açabilmektedir. AFB1'in AFM1 olarak süte geçme oranı, hayvanın türü, laktasyon periyodu, mevsim ve geçen zaman gibi değişik faktörlere göre değişebilmektedir. Birçok gelişmiş ülkede insan sütünde bulunan AFM1 ile bebeklerin aflatoksinlere maruz kalabildiği bildirilmektedir (20,35;36,40).

Peynir, içerdiği besin elementleri ile beslenmemiz için çok değerli ve yüksek kalorili bir besin maddesidir. Ancak peynirler, içerebilecekleri patojen mikroorganizmalar, toksinler ve kimyasal kalıntılarla bazen halk sağlığı için riskli bir hale gelebilmektedirler (11,15).

Türkiye'de ve Dünya'da yapılan bir çok araştırmada değişik peynir çeşitlerinde AFM1 varlığı tespit edilmiştir (3,9,10,12,16,20,32). Türkiye'de üretilen bazı peynir çeşitlerinde AFM1 seviyeleri ile Türk Gıda Kodeksi'nde (7) verilen limit değerleri aşan örneklerle ilişkin sonuçlar Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Divle tulum peyniri, Karaman ili Ayrancı İlçesine bağlı Uçcharman (Divle) Köyü ve çevresinde üretilen ve yöreye yakın olan şehirlerde sevilerek tüketilen mahallî peynir çeşitlerinden birisidir. Divle tulum peynirinin diğer tulum peynirlerinden en büyük farkı; üretimi sırasında telemenin 2-3 gün boyunca soğuk su ile yıkanması ve yörede bulunan Divle obruğu denilen mağaraya konularak olgunlaştırılmasıdır. Koyun sütünden üretilen Divle tulum peynirli obruğa konduktan yaklaşık 1 ay sonra üzerinde önce mavi, sonra beyaz ve daha sonra da kırmızı renkli küf mantarları üremektedir. Oluşan küf, yaklaşık altı ay sonra kurumakta ve tulumun dış yüzeyi de üreyen küfün rengini almaktadır. Bu durum peynirin tam olgunlaştığını göstermektedir (21,27,29).

Türkiye’de üretilen birçok peynir çeşidi ile birlikte tulum peynirlerinde de AFM1 tespit edilmiştir (Tablo 1). Ancak Divle tulum peynirinde AFM1 varlığı ile ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile ülkemizde üretilen ve son zamanlarda giderek daha fazla tanınan mahalli peynir çeşitlerimizden Divle tulum peynirindeki AFM1 düzeyinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Key Words: Divle tulum peyniri, AFM1, ELISA

A Study on the Level of Aflatoxin M1 in Divle Tulum Cheese

Summary

This study was conducted to determine the presence and levels of aflatoxin M1 (AFM1) in Divle Tulum cheese consumed in Karaman and Konya provinces. For this purpose, a total of 55 cheese samples obtained from public markets and cheese selling supermarkets and AFM1 analyses have been conducted on those cheese samples using ELISA technique. In 10 of samples taken (18.18%) averagely 10.835 ± 6.70 ng/kg AFM1 is determined in amounts varying between 5.15 ng/kg and 26.44 ng/kg. AFM1 is determined to be below 5 ng/kg in 23 (41.82%) of the samples taken and to be none is determined in 22 (40.0%). It has been determined that all of the samples analyzed contain AFM1 below the maximum value given for cheese by Turkish Food Codex (500 ng/kg). The fact that higher than the legal limits of AFM1 is not determined in any of Divle Tulum Cheese samples has shown that this cheese type of ours does not cause any risks with regards to public health for AFM1. However, the determination of AFM1 low level in some cheese samples indicated that could be pose a risk in terms of public health.

Keywords: Divle tulum cheese, AFM1, ELISA

Tablo 1. Türkiye’de üretilen bazı peynir çeşitlerinde AFM1 seviyeleri ve Türk Gıda Kodeksi’nde verilen limiti (500 ng/kg) aşan örnek sayısı

Örnek çeşidi	Örnek sayısı	Tespit aralığı	Ortalama	Pozitif örnek	Limiti aşan örnek	Kaynakça
Beyaz peynir	70	-	-	58 (%82.86)	19 (%27.14)	12
Beyaz peynir	85	58-860 ng/kg	297±216.1 ng/kg	70 (%82.4)	14 (%16.5)	10
Beyaz peynir	50	30.37-1237.80 ppt	115.53±23.62 ng/kg	50 (%100)	1 (%2)	3
Beyaz peynir	100	-	-	82 (%82)	27 (%27)	35
Beyaz peynir	193	52-860 ng/kg	284.6±15.8 ng/kg	159 (%82.4)	51 (%26.4)	9
Beyaz peynir	23	11-106 ng/kg	28.08 ng/kg	9 (%39.1)	-	24
Kaşar peyniri	75	55-850 ng/kg	309.4±206.7 ng/kg	65 (%80)	11 (%14.7)	10
Kaşar peyniri	125	10-740 ng/kg	206.23±15.88	86 (%68.8)	28 (%32.55)	22
Kaşar peyniri	14	7-68 ng/kg	22.80 ng/kg	6 (%42.9)	-	24
Kaşar peyniri	200	120-800 ng/kg	272±59 ng/kg	12 (%6)	2 (%1)	43
Kaşar peyniri	100	-	-	85 (%85)	34 (%34)	35
Kaşar peyniri	132	50-690 ng/kg	194±15 ng/kg	109 (%82.6)	36 (%27.3)	41
Tulum peyniri	11	11-202 ng/kg	74.05 ng/kg	7 (%63.6)	-	24
Tulum peyniri	100	-	-	81 (%81)	24 (%24)	35
Tulum peyniri	45	-	-	-	-	23
Köflü Tulum	75	-	-	-	-	23
Köflü peynir	140	-	-	-	-	33
İvriz peyniri	30	-	-	-	-	23
Urfa Peyniri	50	-	-	14 (%28)	5 (%10)	18
Civil peyniri	62	51-116 ng/kg	66.8±22.6 ng/kg	12 (%19.4)	-	10
Civil peyniri	9	12-18 ng/kg	12.32 ng/kg	4 (%44.4)	-	24
Krem peynir	82	52-860 ng/kg	222.9±158.5 ng/kg	69 (%84.2)	5 (%6.1)	10
Krem peynir	100	0-4100 ng/kg	330±55 ng/kg	99 (%99)	18 (%18)	8
Krem peyniri	200	100-700 ng/kg	285±81 ng/kg	8 (%4)	2 (%1)	43
Lor peyniri	6	13-19 ng/kg	15.95 ng/kg	2 (%33.3)	-	24

Gereç ve Yöntem

Gereç

Bu çalışmada incelenen 55 adet Divle tulum peyniri örneği, 2010 yılı ekim, kasım ve aralık aylarında Ayrancı ve Ereğli'de bulunan halk pazarları ile peynir satan marketlerden en az 300 g olacak şekilde steril ağzı kapaklı plastik kaplara aseptik şartlar altında alınarak +4 oC'lik soğuk zincirde laboratuvara getirilmiş +4 oC'de buzdolabında muhafaza edilerek en kısa sürede analize alınmışlardır.

Yöntem

Peynir örneklerinde AFM1 varlığı ve seviyesi kompetitif ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile R-Biopharm GmbH tarafından verilen prosedüre göre RidascreeN® Aflatoksin M1, R-Biopharm test kiti kullanılarak belirlenmiştir. Kullanılan test kitinin ölçme limiti 50 ppt ve geri alma oranı peynir için ortalama %102'dir. Sonuçların değerlendirilmesi R-Biopharm GmbH tarafından hazırlanan RIDAWIN isimli bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmıştır (5).

Örneklerin hazırlanması

2 g homojenize edilmiş peynir örneği bir santrifüj tüpüne alınarak üzerine 40 ml dichloromethane eklenerek 15 dk karıştırılmış, karışım filtre edilerek (Whatman® Filter No:1, 125 mm) 10 ml filtrat bir santrifüj tüpüne alınmış ve zayıf N2 akımı altında uçurulmuştur. Geriye kalan yağlı kalıntı 0.5 ml metanol, 0.5 ml PBS buffer ve 1 ml heptane ilave edilerek çözülmüş, çözelti 2700 devirde (rpm) 15 dk santrifüj edilmiş ve üst kısımdan heptan fazı uzaklaştırılmıştır. Alt fazdan 100 µl alınarak 400 µl buffer 1 ile seyreltilmiş ve bu çözeltiden 100 µl alınarak analizde kullanılmıştır (5,8).

Örneklerin analiz edilmesi ve sonuçların değerlendirilmesi

Standart solüsyonlar (0, 5, 10, 20, 40 ve 80 ppt konsantrasyonda AFM1 içeren solüsyonlar) ve hazırlanan peynir örnekleri için yeterli sayıda kuyucuk, kuyucuk çerçevesine yerleştirilmiştir. Standart solüsyonların ve hazırlanan örneklerin her birinden otomatik pipet ile 100 µl alınarak kuyucuklara aktarılmış ve oda ısısında (20-25 oC) ve karanlık ortamda 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra kuyucuk çerçevesindeki kuyucuklar yine otomatik yıkayıcıda (Bio-Tek Instruments®, Inc., EL X 50) 250 µl yıkama çözeltisi ile üç defa yıkılmıştır. Yikanan her bir kuyucuğa 100 µl konjugat ilave edilmiş ve tekrar oda ısısında (20-25 oC), karanlıkta 15 dakika bekletildikten sonra kuyucuk çerçevesindeki kuyucuklar otomatik yıkayıcıda 250 µl yıkama çözeltisi ile üç defa yıkılmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa sırayla 100 µl substrat/kromojen enjekte edildikten sonra 15 dakika oda ısısında ve karanlıkta bekletilmiştir. Son olarak her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu ilave edilerek çalkalanmış ve ELISA okuyucuda (Bio-Tek Instruments, Inc., EL X 800) 450 nm'de okutulmuş sonuçlar RIDAWIN ile değerlendirilmiştir (5,8).

Bulgular

Bu çalışmada Ayrancı ve Ereğli'de tüketime sunulan Divle tulum peyniri örnekleri incelenerek AFM1 seviyeleri tespit edilmiştir. Analize alınan 55 örneğin 10 tanesinde (%18.18) 5.15 ng/kg ile 26.44 ng/kg arasında değişen miktarlarda ortalama 10.835 ± 6.70 ng/kg seviyesinde AFM1 tespit edilmiştir. Örneklerin 22'sinde (%40.0) AFM1 hiç belirlenmezken, 23'ünde (%41.82) 5 ng/kg'ın altında bulunmuştur. Örneklerin hepsinin aflatoksin M1 seviyesi yönünden Türk Gıda Kodeksi'nde (7) peynirler için verilen limitlere (500 ng/kg) uygun olduğu ortaya konmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Divle tulum peyniri örneklerinde aflatoksin M1 varlığı ve dağılımı

Örnek sayısı (n)				Konsantrasyon (ng/kg)				
AFM ₁ miktarına (ng/kg) göre örneklerin dağılımı				Pozitif	Limiti aşan	Min	Max	Ort
TE	<5	5-250	>250	n	n			
22 (%40,0)	23 (%41,82)	10 (%18,18)	0	10	0	0	26,44	10,835±6,70

TE: Tespit edilemedi

Tartışma ve Sonuç

Sütte AFM₁ olarak bulunan AFB₁'in metaboliti, sadece sütlerle değil bu sütlerden yapılan süt ürünlerine de geçerek insan sağlığı için önemli riskler oluşturmaktadır (17,28,39).

Ülkemizde yapılan araştırmalarda birçok peynir çeşidinde AFM₁ varlığına rastlanmıştır (Tablo 1). Divle tulum peynirlerinde AFM₁ varlığı ve seviyesini ortaya koymak amacıyla yapılan bu çalışmada ise 55 örneğin 10 tanesinde (%18,18) 5.15 ng/kg ile 26.44 ng/kg arasında değişen miktarlarda AFM₁ bulunurken diğer örneklerdeki AFM₁ miktarı 5 ng/kg'ın altında olarak belirlenmiş ya da hiç tespit edilememiştir (Tablo 2).

Örneklerde belirlenen AFM₁ seviyesi beyaz peynir ve kaşar peyniri gibi birçok peynir çeşidinde belirlenen düzeylerin altındadır (3,9,12,22,35,41). Örneklerin hiçbirinde de Türk Gıda Kodeksi'nde (7) peynirler için verilen üst limitten (500 ng/kg) ve Avrupa Birliği Komisyonu tarafından (6) verilen üst limitten (250 ng/kg) daha yüksek oranda AFM₁ tespit edilememiştir.

Peynir örneklerinin birbirinden farklı oranlarda AFM₁ düzeyine sahip olması, peynir yapılan sütlerin farklı sürülerden temin edilmesine ve bu hayvanlarında farklı beslenmelerine bağlanabilir. Peynir örneklerinde tespit edilen AFM₁ oranlarının diğer peynir çeşitlerinden farklı çıkmasının nedeni ise hem peynir yapımında hammadde olarak kullanılan sütün farklı hayvan türlerinden elde edilmesine hem de farklı bölgelerden sağlanmasına bağlı olabilir. Bu peynir çeşidinin üretiminde kullanılan üretim tekniğinin diğer peynirlerle aynı olmaması ile örneklerde AFM₁ tespitinde kullanılan analiz yöntemlerinin farklılığı da AFM₁ tespit seviyesini etkileyen faktörlerdir (9,13,20).

Elde edilen bulgular, Divle tulum peynirlerine benzeyen diğer tulum peynirleri ve küflü peynirlerde yapılan çalışmaların sonuçları ile büyük oranda benzerlik göstermektedir. Nitekim, Gürbüz ve ark. (23) 45 adet tulum peyniri, 75 adet küflü tulum peyniri ve 30 adet İvriz peynirinde, Gürses ve ark. (24) 11 adet tulum peynirinde, Özkalp ve Durak (33) ise 140 adet küflü peynirde Türk Gıda Kodeksi'nde (7) verilen limitlerin üzerinde AFM₁ içeren örneğe rastlamamışlardır. Sadece Sarımehtemoglu ve ark. (35) 100 adet tulum peynirinin %24'ünün yasal limitlerin üzerinde AFM₁ içerdiğini bildirmişlerdir. Özellikle Divle peynirinin üretildiği bölgeye yakın olan bölgelerden toplanan benzer peynir örnekleri üzerinde yapılan çalışmalarda (23,33) AFM₁ düzeyinin tespit limitlerinin altında olduğu ve yasal limitleri geçmediği görülmektedir.

Bu durum, Divle tulum peyniri ve aynı bölgedeki benzer peynirlerin çoğunlukla koyun sütlerinden üretilmesine bağlanabilir. AFB₁'in AFM₁ olarak süte geçme düzeyinin koyunlarda ineklere göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (28,39).

Ayrıca Divle tulum peyniri ve bu bölgede üretilen diğer koyun sütü peynirlerinin genellikle entansif beslenen koyunların sütünden değil de nisan ayından itibaren sağım sonuna kadar merada otlayan koyunların sütünden yapılması da AFM₁ oranını azaltan bir faktör olarak değerlendirilebilir (1). AFM₁'in sütteki seviyesinin yaz aylarında daha düşük olduğu, bunun sebebinin de yaz aylarında konsantre yemlerden çok taze otlarla beslenme olduğu bildirilmiştir (20,35,40).

Daha önce yapılan bir çok çalışmada koyun sütü ve peynirinin inek sütü ve peynirinden daha düşük oranlarda AFM₁ içerdiği ortaya konulmuştur (25,32,34).

Montagna ve ark. (32), Güney İtalya'da koyun sütünden elde edilen 94 peynir örneğinin 12 tanesini (%12.8), inek sütünden üretilen 92 peynir örneğinin 25 tanesini (%27.2), koyun ve keçi sütü karışımından üretilen 16 peynir örneğinin 5 tanesini (%31.3), keçi sütünden üretilen 12 peynir örneğinin 2 tanesini (%16.7) AFM1 yönünden pozitif bulurken, manda sütünden üretilen 51 peynir örneğinin hiçbirisinde tespit edilebilir seviyede AFM1 bulunamışlardır.

Divle tulum peynirinin tamamen kırsal alanda üretilmesi de AFM1 seviyesinin düşük olmasına etki eden faktörlerden birisi olabilir. Nitekim Hussain ve ark. (25), inek ve manda sütlerindeki AFM1 seviyelerini araştırdıkları bir çalışmalarında kırsal bölgelerden elde edilen süt örneklerinde AFM1 seviyesini şehirleşmiş ya da yarı şehirleşmiş bölgelerden daha düşük olarak bulmuşlardır.

Koyunlarda yemlerle alınan AFB1 miktarının sütlerdeki ve bu sütlerden yapılan peynir ve peynir altı suyundaki AFM1 miktarını etkilediği ortaya konmuştur (13,14). Diğer yandan sütte bulunan AFM1, sütün pastörizasyonu veya peynir üretim aşamalarında uygulanan işlemlerden etkilenerek yok olmamakta ve peynirlerde de bulunabilmektedir (42,43). Bazı araştırmacılar peynirde kazein fraksiyonları ile ilişkili olan AFM1'in peynirlerde hammadde olarak kullanılan süttten daha da yüksek oranda bulunabileceğini bildirirken (24), bazı araştırmacılar da sütte bulunan AFM1'in peynire aynı oranda geçmediği, peynirde daha düşük oranlarda bulunduğunu bildirmişlerdir (31,37).

Sonuç olarak, son yıllarda ülke genelinde de adını duyurmaya başlayan Divle tulum peynirinin halk sağlığını riske sokacak düzeylerde AFM1 içermediği, bu peynirin koyun sütünden ilkbahar ve yaz aylarında üretilmesinin AFM1 miktarının az olmasını sağlayan önemli bir faktör olabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak bazı örneklerde az da olsa AFM1 tespit edilmiş olması, bu peynirlerde AFM1 riskinin her zaman göz önünde bulundurulması gereken bir problem olduğunu, bu nedenle üretim öncesi hammadde olarak kullanılan sütün elde edildiği koyunların beslenmesinden üretim sonuna ve tüketime kadar olan aşamalarda aflatoksin üreten küflerle kontaminasyondan kaçınmak gerektiğini, gerekli tedbirler alındıktan sonra da hem hayvan yemlerinin, hem sütlerin hem de peynirlerin aflatoksin düzeylerinin rutin kontrollerle sürekli izlenmesinin şart olduğunu göz önünde bulundurmak gerekmektedir. Böylece AFM1 düzeyi yönünden uygun gıdaların tüketilmesi sağlanarak halk sağlığı da güvenceye alınmış olacaktır.

KAYNAKÇA

1. Akdemir Ç., Altıntaş A. (2004). Ankara'da işlenen sütlerde aflatoksin M1 varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 51, 175-179.
2. Aljicevic M., Hamzic S. (2010). Aflatoxin in the urine of patients suffering from HCC and HBV. Journal of Society for Development in New Net Environment in B&H, 4,4, 852-856.
3. Alkan Y., Gönülalan Z., Üstün F. (2006). Amasya ilinde satışa sunulan beyaz peynirlerde aflatoksin M1, rutubet ve asidite değerleri üzerine bir araştırma. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi (Uluslararası katılımlı) Bildiri Kitabı, 18-20 Eylül 2006, İSTANBUL, s. 775-785.
4. Anonymous (1993). Some natural occurring substances: Food items and constituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human (Vol. 56), International Agency for Research on Cancer.
5. Anonymous (2006a). Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M1. Art.No.:R1111, Lot:13400, R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany.
6. Anonymous (2006b). EC No: 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Off J Eur Union, 364, 5-24, 2006.
7. Anonim (2008). Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete, 17 Mayıs 2008, sayı: 26879, Başbakanlık Basımevi, Ankara.

8. Anonymous (2010). Peynir, Ridascreen® Aflatoxin M1 30/15 Aflatoksin M1'in ELISA sistemi ile tespiti. Uygulama Notu, Sincer, R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany.
9. Ardic M., Karakaya Y., Atasever M., Adiguzel G. (2009). Aflatoxin M1 levels of Turkish white brined cheese. 3. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi Bildiri Kitabı, 14-16 Mayıs 2009, BURSA, s. 229-233.
10. Atasever M.A., Adigüzel G., Atasever M., Özturan K. (2010). Determination of aflatoxin M1 levels in some cheese types consumed in Erzurum-Turkey. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16(Suppl A), 87-91.
11. Atasever M., Keleş A. (1998). İnsan beslenmesinde kalsiyumun rolü ve önemi. Türk Veteriner Hekimliği Dergisi, 10,3, 21-23.
12. Atasever M., Nizamlioğlu M., Özturhan K., Karakaya Y., Ünsal C. (2006). Erzurum bölgesinde tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinin aflatoksin M1 yönünden incelenmesi. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi (Uluslararası katılımlı) Bildiri Kitabı, 18-20 Eylül 2006, İSTANBUL, s.231-240.
13. Bakirci I. (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.
14. Battaccone G., Nudda A., Palomba M., Pascale M., Nicolussi P., Pulina G. (2005). Transfer of aflatoxin B1 from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. Journal of Dairy Science, 88,9, 3063-3069.
15. Çağlar A., Çoşkun H., Bakirci İ. (1996). Peynirlerde patojen mikroorganizmalar ve bunların kontrol altına alınmaları. Süt Teknolojisi Dergisi, 1,1, 42-46.
16. Dashti B., Al-Hamli S., Alomirah H., Al-Zenki S., Abbas A.B., Sawaya W. (2009). Levels of aflatoxin M1 in milk, cheese consumed in Kuwait and occurrence of total aflatoxin in local and imported animal feed. Food Control, 20, 686-690.
17. Decastelli L., Lai J., Gramaglia M., Monaco A., Nachtmann C., Oldano F., Ruffier M., Sezian A., Bandirola C. (2007). Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004-2005. Food Control, 18, 1263-1266.
18. Filazi A., İnce S., Temamoğulları F. (2010). Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in cheeses produced by dairy ewe's milk in Urfa city, Turkey. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 57, 197-199.
19. Frisvad J.C., Skouboe P., Samson R.A. (2005). Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology, 28,5, 442-453.
20. Galvano F., Galafaro V., Galvano G. (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products: A worldwide review. Journal of Food Protection, 59,10, 1079-1090.
21. Gönç S. (1974). Dişle tulum peynirinin teknolojis ve bileşimi üzerine araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, Seri A, 11,3, 515-533.
22. Günşen U., Büyükyörük İ. (2003). Piyasadan temin edilen taze kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ve aflatoksin M1 düzeylerinin belirlenmesi. Türk J Vet Anim Sci, 27, 821-825.
23. Gürbüz Ü., Nizamlioğlu M., Nizamlioğlu F., Dinç İ., Doğruer Y. (1999). Bazı et, süt ürünleri ile baharatlarda aflatoksin B1 ve M1 aranması. Veterinarium, 10, 34-41.
24. Gürses M., Erdoğan A., Çetin B. (2004). Occurrence of aflatoxin M1 in some cheese types sold in Erzurum, Turkey. Turk J Vet Anim Sci, 28, 527-530.
25. Hussain I., Anwar J., Asi M.R., Munawar M.A., Asi M.R. (2008). Variation of levels Aflatoxin M1 in raw milk from different localities in the central areas of Punjab, Pakistan. Food Control, 19, 1126-1129.

16. Hussain I., Anwar J., Asl M.R., Munawar M.A., Kashif M. (2010). Aflatoxin M1 contamination in milk from five dairy species in Pakistan. *Food Control*, 21, 2, 122-124.
17. Kamber U. (2005). Geleneksel Anadolu Peynirleri. Miki Matbaacılık San ve Tic. Ltd. Şti., s. 223, Ankara.
18. Kaya S., Yavuz H. (1993). Yem ve yem hammaddelerinde bulunan olumsuzluk faktörleri ve hayvanlara yönelik etkileri: 1: Organik nitelikli olumsuzluk faktörleri. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 40,4, 586-614.
19. Keleş A., Atasever M. (1996). Karaman Divle Tulum Peynirinin Kimyasal, Mikro biyolojik Ve Duyusal Kalite Nitelikleri. *Süt Teknolojisi*, 1,1, 47-53.
20. Kocabas C.D., Sekerel B.E. (2003). Does systemic exposure to aflatoxin B1 cause allergic sensitization? *Allergy*, 58, 347-352.
21. McKinney J.D., Cavanaugh G.C., Bell J.T., Hoversland A.S., Nelson D.M., Pearson J., Selkirk R.J. (1973). Effects of ammoniation on aflatoxins in rations fed lactating cows. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 50,3, 79-84.
22. Montagna M.T., Napoli C., De Giglio O., Iatta R., Barbuti G. (2008). Occurrence of Aflatoxin M1 in Dairy Products in Southern Italy. *Int. J. Mol. Sci.* 9, 2614-2621.
23. Özkalp B., Durak Y. (1992). Konya ve çevresinde üretilen küflü peynirlerde küf florası ve mikotoksinlerin araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
24. Rahimi E., Bonyadian M., Rafei M., Kazemeini H.R. (2010). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food and Chemical Toxicology*, 48,1, 129-131.
25. Sarımehtemoglu B., Kuplulu O., Celik T.H. (2004). Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. *Food Control*, 15, 45-49.
26. Shephard G.S. (2009). Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. *Anal Bioanal Chem*, 395, 1215-1224.
27. Stoloff L., Trucksess M., Hardin N., Francis O.J., Hayes J.R., Polan C.E., Campbell T.C. (1975). Stability of aflatoxin in milk. *Journal of Dairy Science*, 58, 12, 1789-1793.
28. Sweeney M., Dobson A.D.W. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int J of Food Microbiology*, 43, 141-158.
29. Şanlı Y (1995). Mikotoksinler. *Veteriner Klinik Toksikoloji*, (Ed. Sezai Kaya), sh: 283-306, Medisan Yayınevi, Medisan Yayın Serisi no:21, Ankara.
30. Tajkarimi M., Alibadi-Sh F., Salah Nejad A., Poursoltani H., Motallebi A.A., Mahdavi H. (2008). Aflatoxin M1 contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran. *Food Control*, 19, 1033-1036.
31. Tekinsen K.K., Eken H.S. (2008). Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. *Food Chem Toxicol*, 46, 3287-3289.
32. Tekinşen K.K., Uçar G. (2008). Aflatoxin M1 levels in butter and cream cheese consumed in Turkey. *Food Control*, 19, 27-30.
33. Yaroglu T., Oruc H.H., Tayar M. (2005). Aflatoxin M1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control*, 16, 883-885.

Bildiri No: 71

Kategori: Genel

PREVALENCE OF ARCOBACTER SPECIES IN DRINKING WATER, SPRING WATER, AND RAW MILK AS DETERMINED BY MULTIPLEX PCR

Sunum Tipi: Poster

NURHAN ERTAS, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

YUSUF DOĞRUER, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi

ZAFER GÖNÜLALAN, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

AHMET GÜNER, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi

Abstract

The aim of this study was to investigate the incidence of *Arcobacter* species in water sources and raw milk from healthy animals in Kayseri, Turkey. A total of 175 samples of drinking water (n=100), spring water (n=25), and raw milk (n=50) were examined. *Arcobacter* species were isolated using the membrane filtration technique. Overall, 7 (4%) of the 175 samples yielded *Arcobacter* spp.: 3 (3%) drinking water samples, 1 (4%) spring water sample, and 3 (6%) raw milk samples. Two species of *Arcobacter* were recovered from the seven positive samples: *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter skirrowii*, and *A. butzleri* plus *A. skirrowii* found in 3 (1.7%), 2 (1.1%), and 2 (1.1%) samples, respectively. Our study is the first to report the isolation of both *A. butzleri* and *A. skirrowii* together from drinking water and is the first report of *Arcobacter* in milk from healthy cows in Turkey. Based on these findings, the presence of *Arcobacter* species in environmental waters and raw milk may pose a potential hazard for human health.

Key words: *Arcobacter* spp., drinking water, spring water, raw milk, mPCR

Introduction

Arcobacter species are gram-negative, curved, s-shaped or helical rods 0.2 to 0.9 mm in width and 1 to 3 mm in length (26, 32, 36, 41). They are motile, with a single polar unsheathed flagellum. Most strains are nonhemolytic (15, 25). Although *Arcobacter* species were previously known as aerotolerant *Campylobacter* species, they are now distinguished from *Campylobacter* by their ability to grow in the presence of oxygen (3, 13, 16, 20, 21) and at 15°C (5, 12, 29). They have various fatty acid profiles (34, 41, 43). The presence of *arcobacters* in food, raw milk, and water is a potential risk factor for foodborne or waterborne human illness. *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, and *A. skirrowii* (46) are associated with diarrhea and bacteremia in humans; *A. butzleri* may be the primary human pathogen (2, 24, 28, 44, 45). The nonpathogenic species *A. nitrofigilis* (44, 46) has been isolated from the roots of marsh grass (*Spartina alterniflora*) but has not yet been recovered from humans or animals. In recent years, other *Arcobacter* species such as "*Candidatus Arcobacter sulfidicus*" (50), *A. cibarius* (18), *A. halophilus* (11), *A. mytili* (8), *A. thereius* (17), and *A. marinus* (23) have been reported.

However, the roles of these recently isolated species in human and animal diseases have not been clarified. Livestock might be a significant reservoir for *Arcobacter* spp., which have been isolated from the reproductive tracts and aborted fetuses of various farm animals, animal feces, and the milk of mastitic cows (10, 47, 48) and from chicken meat, beef, pork, and water (12, 19, 22, 27, 31, 37, 39, 41, 45). *Arcobacter* spp. also have been isolated from the stools of healthy humans (16, 47); however, no direct connection has been made between consumption of *Arcobacter*-contaminated food or water and human illness.

The aim of the present study was to assess the prevalence of *arcobacters* in drinking water, spring water, and raw milk from Kayseri, Turkey, using a membrane filtration isolation technique. Isolates were identified using a multiplex PCR method.

Material and Method

Samples. In this study, a total of 175 samples collected from April 2007 to April 2008 in Kayseri, on Turkey were examined. Drinking water samples ($n=100$) and spring water ($n=25$) were obtained from different points in centrum. Raw milk samples ($n=50$) were collected from healthy animals in the farms in Kayseri's towns. The samples were immediately transported to the laboratory in a cool box and examined within 1-2 h of sampling.

Isolation Media. *Arcobacter* Enrichment Broth (AEB) (Oxoid CM965) with ceftiofur-ampicillin-amphotericin-teicoplanin (CAT) selective supplement (Oxoid, SR174E), blood agar involving 5% defibrinated sheep blood (Merck 1.10886.0500) were used and in order to create a microaerophilic environment, gas generating kits (Oxoid CN0025A) were used to isolate *Arcobacter* (4).

Reference Strain. Reference strain of *A. butzleri* LMG 10828, *A. cryaerophilus* LMG 9904, *A. skirrowii* LMG 6621 (LMG Bacterial Culture Collection, Ghent University, Ghent, Belgium) were used as positive control throughout the study.

Isolation of *Arcobacter* Species from Water. Water samples (20 ml) were added to 20 ml of double-strength AEB and mixed thoroughly and incubated in microaerophilic conditions at 30°C for 48 hours for pre-enrichment (4).

Isolation of *Arcobacter* Species in Raw Milk. Each raw milk sample was centrifuged at 1500 rpm for 2 minutes at 22°C. Following the centrifuge, the upper phase, containing milk fat was discarded with sterile pasteur pipet. Then raw milk samples without fat (20 ml) were added to 20 ml of double-strength AEB and mixed thoroughly and incubated in microaerophilic conditions at 30°C for 48 hours for pre-enrichment (4).

Membrane filtration technique. After pre-enrichment procedure, the enriched samples were plated on nonselective blood agar (Merck) using a previously described membrane filtration method with 0.45-mm-pore-size cellulose acetate membrane filters 47 mm in diameter (AG37070, Sartorius, Göttingen, Germany) (4). All the plates were incubated aerobically at 30°C and examined daily for up to 5 to 7 days for visible growth.

Phenotypic characterization of isolates. Suspect colonies were purified by streaking on blood agar and examined for motility, Gram staining, oxidase and catalase reactions, and growth on MacConkey agar (6, 33, 34).

DNA extraction. Total DNA from each characterized *Arcobacter* isolate was extracted according to the protocol developed by Houf et al. (20). Five colonies of each strain grown on blood agar were suspended in 1 ml of sterile distilled water and centrifuged (Genofuge 16M, Techne, Cambridge, UK) at 16,000 X g for 10 min at 10 °C. Bacterial cell pellets were washed with 500 µl of sterile water, resuspended in 100 µl of sterile distilled water, and boiled for 10 min to lyse the cells. After another centrifugation (16,000 X g for 10 min), 2 µl of each supernatant was used as the DNA template for the multiplex PCR assay.

Multiplex PCR. The primers and PCR assay conditions previously described by Houf et al. (20) were used for identification of the *Arcobacter* isolates (Table 1). The PCR mixture contained 2 ml of template DNA, 5 ml of 10 $\times$ PCR buffer, 1.25 mM MgCl₂, 0.2 mM deoxy-nucleoside triphosphate mixture, 50 pmol of the primers ARCO, BUTZ, CRY1, and CRY2, 25 pmol of the primer SKIR, and 1.5 U of Taq DNA polymerase in a total volume of 50 ml. PCR amplification was performed in an automatic thermocycler (TC-512, Techne) with an initial denaturation at 94°C for 2 min, followed by 32 cycles of 94°C for 45 s, 61°C for 45 s, and 72°C for 30 s. The amplification products were then size separated in 1.5% agarose gels at 100 V for 40 min (EC 330, Thermo Fisher Scientific, Pittsburgh, PA), and the bands were visualized with a UV transilluminator (ECX-20-M, Vilber Lourmat, Marne-la-Vallée, France).

Table 1. Oligonucleotid primers for amplification of *Arcobacter* genes

Primer	Oligonucleotides sequence (5' to 3')	Reference
ARCO	CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC	HOUF et al. 2000
BUTZ	CCT GGA CTT GAC ATA GTA AGA ATGA	HOUF et al. 2000
CRY1	TGC TGG AGC GGA TAG AAG TA	HOUF et al. 2000
CRY2	AAC AAC CTA CGT CCT TCG AC	HOUF et al. 2000
SKIR	GGC GAT TTA CTG GAA CAC A	HOUF et al. 2000

Statistical analysis. Data were analyzed with the SPSS 15.0 statistical package program (SPSS Inc., Chicago, IL). The chisquare test was used to compare prevalence differences between the samples.

Results and Discussion

All the isolates were gram-negative, motile, curved rods that were positive for oxidase, catalase, and nitrate reduction but negative for hydrolysis of hippurate and urease activity. Overall, 7 (4%) of 175 samples yielded *Arcobacter* spp.: 3 (3%), 1 (4%), and 3 (6%) of drinking water, spring water, and raw milk samples, respectively. The *Arcobacter* spp. distribution among samples was not significantly different ($P > 0.05$). A total of 35 *Arcobacter* isolates were examined using the species-specific PCR assay. The amplicons of expected sizes 257, 401, and 641 bp were generated for *A. cryaerophilus*, *A. butzleri*, and *A. skirrowii*, respectively (Fig. 1). Two species of *Arcobacter* were isolated from raw milk and water samples (Table 2). Of these species, *A. butzleri* was isolated from 1 of 50 raw milk samples, 1 of 25 spring water samples, and 1 of 100 drinking water samples. *A. skirrowii* was detected in only 2 raw milk samples, and both species were present together in 2 of 100 drinking water samples (Fig. 1). However, the isolation frequencies for *A. skirrowii* and *A. butzleri* from water and raw milk samples were not significantly different ($P > 0.05$).



Figure 1: Identification of *Arcobacter* isolates by multiplex-PCR. Lane M, molecular weight marker (Gene Ruler™ 100 bp DNA Ladder Plus, Fermentas); lane N: Negative control, lane 1: positive control for *A. skirrowii*, lane 2: positive control for *A. butzleri*, lane 3: positive control for *A. cryaerophilus* isolates, lane 4 and 6: *A. butzleri* and *A. skirrowii* isolates, lane 5, 7 and 12: *A. butzleri* isolates, lane 10 and 11: *A. skirrowii* isolates

Table 1. Oligonucleotide primers for amplification of *Arcobacter* genes

Samples	Number (%) of positive samples			
	<i>Arcobacter</i> spp.	<i>A. butzleri</i>	<i>A. skirrowii</i>	<i>A. butzleri</i> + <i>A. skirrowii</i>
Drinking water (n=100)	3 (3 %)	1 (1%)	-	2 (2 %)
Spring water (n=25)	1 (4 %)	1 (4%)	-	-
Raw milk (n=50)	3 (6 %)	1 (2%)	2 (4%)	-
Total (n=175)	7 (4 %)	3 (1.71 %)	2 (1.14%)	2 (1.14%)

Multiplex PCR. The primers and PCR assay conditions previously described by Houf et al. (20) were used for identification of the *Arcobacter* isolates (Table 1). The PCR mixture contained 2 ml of template DNA, 5 ml of 10 $\times$ PCR buffer, 1.25 mM MgCl₂, 0.2 mM deoxy-nucleoside triphosphate mixture, 50 pmol of the primers ARCO, BUTZ, CRY1, and CRY2, 25 pmol of the primer SKIR, and 1.5 U of Taq DNA polymerase in a total volume of 50 ml. PCR amplification was performed in an automatic thermocycler (TC-512, Techne) with an initial denaturation at 94°C for 2 min, followed by 32 cycles of 94°C for 45 s, 61°C for 45 s, and 72°C for 30 s. The amplification products were then size separated in 1.5% agarose gels at 100 V for 40 min (EC 330, Thermo Fisher Scientific, Pittsburgh, PA), and the bands were visualized with a UV transilluminator (ECX-20-M, Vilber Lourmat, Marne-la-Vallée, France).

Arcobacter species, which are causes of important illnesses in people and animals, are most frequently transmitted through contaminated poultry products and water (47, 48). This study focused on the detection of *Arcobacter* species in drinking water, spring water, and raw milk, with 3, 4, and 6% of these samples, respectively, positive for *Arcobacter* spp. Gastroenteritis and other clinical signs may result from ingestion of *Arcobacter* contaminated drinking water. *Arcobacter* has been previously isolated from water samples collected from seawater and from river, lake, well, and drinking water (9, 27, 30, 31, 40). *A. butzleri* was recovered from sewage in Thailand (39) and from drinking water in Germany (13, 49). Hence, water may play an important role in the transmission of these bacteria to humans and animals (9, 27, 29–31, 40, 49). Morita et al. (31) reported an incidence of 23% for *Arcobacter* spp. in river water. Similarly, Moreno et al. (30) isolated *Arcobacter* spp. from 40% of the river and wastewater samples examined, and Collado et al. (9) detected *Arcobacter* spp. in 58.6% of fresh water, seawater, and sewage samples. The contamination rates were relatively high compared with our results (4%). Differences in isolation methods and climatic and geographic conditions might be responsible for the lower prevalence in our study. Unlike Aydın et al. (7), who were unable to isolate *Arcobacter* from drinking water samples in Kayseri, we recovered *Arcobacter* from 3 (3%) of 100 drinking water samples. Because *arcobacters* are known to be sensitive to chlorine (1, 13, 30, 40), our findings suggest ineffective chlorination of the water and/or recontamination after chlorination.

Raw milk also can pose a risk for public health, raw milk samples should be examined for *Arcobacter* contamination. In previous surveys of raw milk, *Arcobacter* prevalence rates were 3.2% (38) to 45% (42). In this study, 6% of the raw milk samples contained *Arcobacter* spp.; this report is first on the recovery of this microorganism from healthy cows in Turkey.

Several researchers have found that the prevalence of arcobacters in raw milk depends on the farm hygienic conditions, source of water, and animal diet (35, 42). Transmission of Arcobacter species to the raw milk analyzed in this study was thought to stem from contaminated drinking water. However, Arcobacter spp. also can be found in the digestive system of healthy farm animals that do not show any clinical signs (7, 35, 48). Scullion et al. (42) reported that Arcobacter prevalence in local raw milk could readily be explained by carriage rates in dairy cattle. Presence of Arcobacter spp. in raw milk from healthy animals is thought to stem from fecal contamination of the teats. In support of this hypothesis, Collado et al. (9) found that Arcobacter spp. were most frequently isolated from samples with the highest levels of fecal contamination.

In the present study, two species of Arcobacter were isolated, *A. butzleri* and *A. skirrowii*, which were recovered from 1.7 and 1.1% of the samples, respectively. These two species were isolated together from 1% of the drinking water samples ($P > 0.05$) (Table 2). This report is the first on isolation of both *A. butzleri* and *A. skirrowii* from the same drinking water samples in Turkey. However, *A. skirrowii* was identified in combination with *A. butzleri* in seawater and river water by Collado et al. (9) in Spain. In conclusion, Arcobacter spp. were found in drinking water, spring water, and raw milk. The presence of Arcobacter spp. in environmental waters and raw milk should be regarded as a hazard for human health. Therefore, drinking water should be disinfected with chlorine and raw milk should be consumed only after pasteurization. Further pathogenicity studies are needed to better understand the role of Arcobacter in human disease.

References

1. Andersen, M. M. E., I. V. Wesley, E. Nestor, and D. W. Trampel. 2007. Prevalence of Arcobacter species in market-weight commercial turkeys. *Antonie Leeuwenhoek* 92:309-317.
2. Anderson, K. F., J. A. Kiehlbauch, D. C. Anderson, H. M. McClure, and I. K. Wachsmuth. 1993. Arcobacter (Campylobacter) butzleri-associated diarrheal illness in a non-human primate population. *Infect Immun.* 61:2220-2223.
3. Antolín, A., I. González, T. García, P. E. Hernández, and R. Martín. 2001. Arcobacter spp. enumeration in poultry meat using a combined PCR-ELISA assay. *Meat Sci.* 59:169-174.
4. Atabay, H. I., F. Aydın, K. Houf, M. S. Ahin, and P. Vandamme. 2003. The prevalence of Arcobacter spp. on chicken carcasses sold in retail markets in Turkey and identification of the isolates using SDS-PAGE. *Int. J. Food Microbiol.* 81:21-28.
5. Atabay, H. I., D. D. Bang, F. Aydın, H. M. Erdogan, and M. Madsen. 2002. Discrimination of Arcobacter butzleri isolates by polymerase chain reaction mediated DNA fingerprinting. *Lett. Appl. Microbiol.* 35:141-145.
6. Atabay, H. I., J. E. L. Corry, and S. L. W. On. 1998. Diversity and prevalence of Arcobacter spp. in broiler chickens. *J. Appl. Microbiol.* 84:1007-1016.
7. Aydın, F., K. S. Gumussoy, H. I. Atabay, T. Ica, and S. Abay. 2007. Prevalence and distribution of Arcobacter species in various sources in Turkey and molecular analysis of isolated strains by ERIC-PCR. *J. Appl. Microbiol.* 103:27-35.
8. Collado, L., I. Cleenwerck, S. Van Trappen, P. De Vos, and M. J. Figueras. 2009. Arcobacter mytili sp. nov., an indoxyl acetate hydrolysis-negative bacterium isolated from mussels. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59:1391-1396.
9. Collado, L., I. Inza, J. Guarro, and M. J. Figueras. 2008. Presence of Arcobacter spp. in environmental waters correlates with high levels of fecal pollution. *Environ. Microbiol.* 10:1635-1640.
10. de Oliveria, S. J., I. V. Wesley, A. L. Baetz, K. M. Harmon, I. I. T. A. Kader, and M. de Uzeda. 1999. Arcobacter cryaerophilus and Arcobacter butzleri isolated from preputial fluid of boars and fattening pigs in Brazil. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11:462-464.

11. Donachie, S. P., J. P. Bowman, S. L. W. On, and M. Alam. 2005. *Arcobacter halophilus* spp. nov., the first obligate halophile in the genus *Arcobacter*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55:1271-1277.
12. Gonza'lez, I., G. A. Antoli'n, P. E. Herna'ndez, and R. Marti'n. 2000. Development of a combined PCR-culture technique for the rapid detection of *Arcobacter* spp. in chicken meat. *Lett. Appl. Microbiol.* 30:207-212.
13. Gude, A., T. J. Hillman, C. R. Helps, V. M. Allen, and J. E. L. Corry. 2005. Ecology of *Arcobacter* species in chicken rearing and processing. *Lett. Appl. Microbiol.* 41:82-87.
14. Hansen, F., and K. E. P. Olsen. 2007. *Arcobacter*- an emerging food borne pathogen? *NMKL Tech. Rep.* 2:1-10.
15. Ho, T. K. H., L. J. A. Lipman, and W. Gastra. 2006. *Arcobacter*, what is known and unknown about a potential foodborne zoonotic agent. *Vet. Microbiol.* 115:1-13.
16. Houf, K., L. A. Devriese, L. De Zutter, J. V. Hoof, and P. Vandamme. 2001. Development of a new protocol for the isolation and quantification of *Arcobacter* species from poultry products. *Int. J. Food Microbiol.* 71:189-196.
17. Houf, K., S. L. W. On, T. Coenye, L. Debruyne, S. De Smet, and P. Vandamme. *Arcobacter theluis* sp. nov., isolated from pigs and ducks. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, in press.
18. Houf, K., S. L. W. On, T. Coenye, J. Mast, J. V. Hoof, and P. Vandamme. 2005. *Arcobacter cbarius* sp. nov., isolated from broiler carcasses. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55:713-717.
19. Houf, K., and R. Stephan. 2007. Isolation and characterization of the emerging foodborne pathogen *Arcobacter* from human stool. *J. Microbiol. Methods* 68:408-413.
20. Houf, K., A. Tutenel, L. De Zutter, J. V. Hoof, and P. Vandamme. 2000. Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection and identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*. *FEMS Microbiol. Lett.* 193:89-94.
21. Kabeya, H., Y. Kobayashi, S. Maruyama, and T. Mikami. 2003. Onestep polymerase chain reaction-based typing of *Arcobacter* species. *Int. J. Food Microbiol.* 81:163-168.
22. Kabeya, H., S. Maruyama, Y. Morita, T. Ohsuga, S. Ozawa, Y. Kobayashi, M. Abe, Y. Katsube, and T. Mikami. 2004. Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan. *Int. J. Food Microbiol.* 90:303-308.
23. Koneman, E. W., S. D. Allen, W. M. Janda, P. C. Schreckenberger, and C. W. Winn. 1997. *Curved gram negative bacilli and oxidase positive fermenters: Campylobacteraceae and Vibrionaceae*. Lippincott Press, New York.
24. Kim, H. M., C. Y. Hwang, and B. C. Cho. *Arcobacter marinus* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, in press.
25. Lehner, A., T. Tasara, and R. Stephan. 2005. Relevant aspects of *Arcobacter* spp. as potential foodborne pathogen. *Int. J. Food Microbiol.* 102:127-135.
26. Long, C., and C. A. Phillips. 2003. The effect of sodium citrate, sodium lactate and nisin on the survival of *Arcobacter butzleri* NCTC 12481 on chicken. *Food Microbiol.* 20:495-502.
27. Maugeri, T. L., M. Carbone, M. T. Fera, G. P. Irrera, and C. Gugliandolo. 2004. Distribution of potentially pathogenic bacteria as free living and plankton associated in a marine coastal zone. *J. Appl. Microbiol.* 97:354-361.
28. Maule' on, V. P., L. Labadi, N. Bouges, A. Me'nard, and F. Me'graud. 2006. *Arcobacter butzleri*: underestimated enteropathogen. *Emerg. Infect. Dis.* 12:307-309.
29. Moreno, Y., J. L. Alonso, S. Botella, M. A. Ferrus, and J. Hernandez. 2004. Survival and Injury of *Arcobacter* after artificial inoculation into drinking water. *Res. Microbiol.* 155:726-730.
30. Moreno, Y., S. Botella, J. L. Alonso, M. A. Ferru's, M. Herna'ndez, and J. Herna'ndez. 2003. Specific detection of *Arcobacter* and *Campylobacter* strains in water and sewage by PCR and fluorescent in situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.*

69:1181-1186.

31. Morita, Y., S. Maruyama, H. Kabeya, S. Boonmar, B. Nimsuphan, K. Kozawa, T. Nakajima, T. Mikami, and H. Kimura. 2004. Isolation and phylogenetic analysis of *Arcobacter* spp. in ground chicken meat and environmental water in Japan and Thailand. *Microbiol. Immunol.* 48:527-533.
32. Nachamkin, I. 2000. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 716-722. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. C. Pfaller, F. E. Tenover, and R. H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*. ASM Press, Washington, DC.
33. On, S. L. W., H. I. Atabay, K. O. Amisu, A. O. Coker, and C. S. Harrington. 2004. Genotyping and genetic diversity of *Arcobacter butzleri* by amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. *Lett. Appl. Microbiol.* 39:347-352.
34. On, S. L. W., C. S. Harrington, and H. I. Atabay. 2003. Differentiation of *Arcobacter* species by numerical analysis of AFLP profiles and description of a novel *Arcobacter* from pig abortions and turkey faeces. *J. Appl. Microbiol.* 95:1096-1105.
35. Ongor, H., B. Cetinkaya, M. N. Acik, and H. I. Atabay. 2004. Investigation of *arcobacters* in meat and faecal samples of clinically healthy cattle in Turkey. *Lett. Appl. Microbiol.* 38:339-344.
36. Phillips, C. A. 2001. *Arcobacter* spp. in food: isolation, identification and control. *Trends Food Sci. Technol.* 12:263-275.
37. Phillips, C. A., and J. Duggan. 2002. The effect of temperature and citric acid, alone, and in combination with nisin, on the growth of *Arcobacter butzleri* in culture. *Food Control* 13:463-468.
38. Planta, C., D. T. Passos, D. Hepp, and S. J. de Oliveira. 2007. Isolation of *Arcobacter* spp. from the milk dairy cows in Brazil. *Cienc. Rural Santa Maria* 37:171-174.
39. Rashid, S. T., I. Dakuna, H. Louie, D. Ng, P. Vandamme, W. Johnson, and V. L. Chan. 2000. Identification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsallensis*, *Arcobacter butzleri*, and *A. butzleri* like species based on the *glyA* gene. *J. Clin. Microbiol.* 38:1488-1494.
40. Rice, E. W., M. R. Rodgers, I. V. Wesley, C. H. Johnson, and S. A. Tanner. 1999. Isolation of *Arcobacter butzleri* from ground water. *Lett. Appl. Microbiol.* 28:31-35.
41. Ridsdale, J. A., H. I. Atabay, and J. E. L. Corry. 1999. *Campylobacter* and *Arcobacter* spp. isolated from the carcasses and caeca of commercially reared ducks. *Anaerobe* 5:317-320.
42. Scullion, R., C. S. Harrington, and R. H. Madden. 2006. Prevalence of *Arcobacter* spp. in raw milk and retail raw meats in Northern Ireland. *J. Food Prot.* 69:1986-1990.
43. Snelling, W. L., M. Matsuda, J. E. Moore, and J. S. G. Dooley. 2006. Under the microscope: *Arcobacter*. *Lett. Appl. Microbiol.* 42:7-14.
44. Son, I., M. D. Englen, M. E. Berrang, P. J. Fedorka-Cray, and M. A. Harrison. 2007. Prevalence of *Arcobacter* and *Campylobacter* on broiler carcasses during processing. *Int. J. Food Microbiol.* 113:16-22.
45. Vandamme, P., P. Pugna, G. Benzi, R. Van Etterijck, L. Vlaes, K. Kersters, J. P. Butzler, H. Lior, and S. Lauwers. 1992. Outbreak of recurrent abdominal cramps associated with *Arcobacter butzleri* in an Italian school. *J. Clin. Microbiol.* 30:2335-2337.
46. Vandamme, P., M. Vancanneyt, B. Pot, L. Mels, B. Hoste, D. Dewettinck, L. Vlaes, B. C. Van Den, R. Higgins, and J. Hommez. 1992. Polyphasic taxonomic study of the emended genus *Arcobacter* with *Arcobacter butzleri* comb. nov. and *Arcobacter skirrowii* sp. nov., an aerotolerant bacterium isolated from veterinary specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42:344-356.
47. Vandenberg, O., A. Dediste, K. Houf, S. Ibekwem, H. Souayah, S. Cadranet, N. Douat, G. Zissls, J.-P. Butzler, and P. Vandamme. 2004. *Arcobacter* species in humans. *Emerg. Infect. Dis.* 10:1863-1867.
48. Van Driessche, E., K. Houf, F. Vangroenweghe, N. Nollet, L. De Zutter, and J. V. Hoof. 2005. Prevalence, enumeration and strain variation of *Arcobacter* species in the faeces of healthy cattle in Belgium. *Vet. Microbiol.* 105:149-154.

49. Wesley, I. V., S. J. Wells, K. M. Harmon, A. Green, L. Schroeder-Tucker, M. Glover, and I. Siddique. 2000. Fecal shedding of *Campylobacter* and *Arcobacter* spp. in dairy cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1994–2000.
50. Wirsén, C. O., S. M. Sievert, C. M. Cavanaugh, S. J. Molyneux, A. Ahmad, L. T. Taylor, E. F. DeLong, and C. D. Taylor. 2002. Characterization of an autotrophic sulfide-oxidizing marine *Arcobacter* sp. that produces filamentous sulfur. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:316–325.

Bildiri No: 76

Kategori: Genel

PERAKENDE A SINIFI YUMURTALARDA SALMONELLA VARLIĞININ ISO 6579 İLE BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Poster

Seran TEMELLİ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Zafer ATA, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Aysegül EYİĞÖR, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Bu çalışmada, insanlarda önemli bir bakteriyel gastroenterit etkeni olan *Salmonella*'nın A sınıfı yumurtalardaki varlığının standart bakteriyolojik metot olan ISO 6579 ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Bursa bölgesi perakende satış yerlerinden rastgele örnekleme ile alınan 100 A sınıfı yumurta örneği (1 örnek $\geq$ 12 vıyollük yumurta) materyal olarak kullanılmıştır. Alınan yumurta örneklerinin iç ve kabuk analizi hazırlığı ISO 6887-4:2003'e göre, *Salmonella* izolasyon ve identifikasyonu ise ISO 6579' standart metoduna göre yapılmıştır. Çalışma sonucunda, incelenen örneklerden bir adedinde (% 1) hem iç hem kabukta, ayrıca farklı örneklerde alt 11 iç (% 11) ve 6 kabuk (% 6) örneğinde olmak üzere toplam 17 (% 17) A sınıfı yumurta örneği *Salmonella* varlığı yönünden pozitif bulunmuştur. Bu durum, perakende satışa sunulmakta olan A sınıfı yumurtaların *Salmonella* varlığı yönünden halen önemli bir halk sağlığı riski oluşturduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: : *Salmonella*, yumurta, ISO 6579

DETECTION OF SALMONELLA IN RETAIL GRADE A EGGS BY ISO 6579

This study aims to determine the presence of *Salmonella*, an important bacterial agent for gastroenteritis in humans, in grade A eggs by the standard bacteriological method ISO 6579. One hundred grade A egg samples (1 sample $\geq$ 12 egg vial), collected randomly from food stores in Bursa, were used as material. Preparation of the egg and shell for analyses, and *Salmonella* isolations and identifications were performed according to ISO 6887-4:2003, and ISO 6579 standard methods, respectively. Results revealed that one egg sample (1%) harbored *Salmonella* both in the inner part and on the shell part. Also, a total of 17 (17%) grade A egg samples, comprised of 11 egg inner part (11%) and 6 shell (6%) samples were found positive for *Salmonella*. This finding indicates that *Salmonella* presence in retail grade A eggs can still pose a risk for public health.

Key words: *Salmonellosis*, gıda kaynaklı bakteriyel enteritler yönünden dünyada birçok ülkede en önemli enfeksiyon olarak bilinmektedir. Dünya genelinde yıllık salmonellozis vaka sayısı 1.3 milyar olarak rapor edilmekte ve bu vakalardan yaklaşık 3 milyonu ölümle sonuçlanmaktadır (33). *Salmonella enterica* (*S. enterica*), serovar spesifik akut enfeksiyonların en önemli etkeni olup, gastroenteritten (*S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium-*S. Typhimurium*) bakteremiye (*S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Choleraesuis* ve *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi) kadar farklı klinik tablolarla kendini göstermektedir (24, 32, 39, 40). İnsanlarda gıda yolu ile bulaşan *S. enterica*'nın yüksek morbidite ve mortalite ile seyretmesinin yanında gıda sektöründe geri çağırımlar ve geri çekmeler ile de ciddi ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir (26, 34, 42).

2005-2006 yılları arasında yapılan Avrupa Baseline Survey çalışmaları sonuçlarına göre Avrupa Birliği'nde *Salmonella* spp. oranı broylerde % 23.7, yumurtacı tavuklarda ise % 30.7 olarak rapor edilmektedir (17). *Salmonella* infeksiyonlarında en önemli kaynak kontamine kanatlı eti, yumurta ve ürünleridir (12). *Salmonella* kaynaklı salgınlarda, gıdaların hazırlanması öncesi, sırası ve sonrasındaki uygulamaların, pişirmenin, yeniden ısıtma ve saklama aşamalarında yapılan hataların büyük payı olduğu rapor edilmektedir (21). Ülkemizde ve dünyada yapılan birçok çalışmada, yumurta ve ürünlerinin *Salmonella* ile farklı oranlarda kontamine olduğu (1, 16, 18, 20, 22, 23, 25, 31, 37, 48) ve *Salmonella* kaynaklı salgınlara neden olduğu (11, 13, 15, 30, 31, 41) bildirilmektedir.

Dünyada son 10 yıl içinde *Salmonella* salgınlığının önüne geçmek amacı ile *Salmonella* kontrol programları yürütülmüş ve vakalarda azalma gözlenmiştir (10, 27, 29, 35, 36). Ülkemizde de Ticari Yumurtacı Kümeslerde *Salmonella* Kontrol Programı Uygulama Talimatı (8) bünyesinde yumurta tavuklarında 2008 yılından itibaren Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Genel Müdürlüğü tarafından *Salmonella* kontrol programı yürütülmektedir. Ancak bu program, 1000 adet kapasite ve üzerindeki işletmeleri kapsamakta, bunun dışında kalan küçük işletmeler ise bu program dışında kalmaktadır. Buna bağlı olarak bu tür işletmelerden elde edilen yumurtalar *Salmonella* yönünden halk sağlığı riski oluşturmaya devam etmektedir.

Bu nedenle çalışmada, insanlarda önemli bir bakteriyel gastroenterit etkeni olan *Salmonella*'nın A sınıfı yumurtalardaki varlığının standart bakteriyolojik metot olan ISO 6579 ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Örnekler

Çalışmada, Bursa'da perakende satış yerlerinden rastgele örnekleme ile satın alınan 'A sınıfı' yumurtalar kullanılmıştır. Örneklemede en küçük hacim olarak 12'li viyol kullanılmış, bu hacimden daha büyük viyoller de (18'li veya 30'lu) örnekleminin çeşitliliği açısından teste tabi tutulmuştur. Her bir viyol bir örnek olarak kabul edilerek toplam 100 adet örnek test edilmiştir.

***Salmonella* suşları**

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar Enteritidis (S. Enteritidis) 64K (M.Y. Popoff, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75015 Paris Cedex 15, France), ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium NCTC 12416 (Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi, Ankara, Türkiye) testlerdepozitif kontrol olarak kullanıldı.

Yöntem

Her bir örnek içinden rastgele örnekleme ile 6 adet yumurta 'iç analizi'nde, 6 adet yumurta ise 'kabuk analizi'nde kullanılmıştır.

İç Analizi: Bir örnek içinden rastgele örnekleme ile 6 adet yumurta steril eldivenle alınmış ve iç analizi için yumurta ISO 6887-4:2003 (5) Bölüm 9.6.1.2.'de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Kısaca her bir yumurta yüzeyi %70 alkol emdirilmiş gazlı bez ile temizlenmiş, alkolün yüzeyden uçması için bir süre bekletildikten sonra yumurta kabuğu kırılarak iç, steril stomacher poşetine aktarılmıştır. Böylece her bir örnekten elde edilen 6 yumurta içi, poşet dıştan elle homojenize edildikten sonra üzerine 300 ml Buffered Peptone Water (BPW) eklenerek homojenizasyona devam edilmiştir. Homojenize edilen iç örneği 37 °C'de 20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İzolasyon ve identifikasyon aşamaları ISO 6579 (4)'da belirtildiği şekilde uygulanmıştır (Şekil).

Kabuk Analizi: Bir örnek içinden rastgele örnekleme ile 6 adet yumurta steril eldivenle alınmış ve kabuk analizi için yumurta ISO 6887-4:2003 (5) Bölüm 9.6.2.4.'de belirtildiği şekilde (Soaking method) hazırlanmıştır. Kısaca her bir yumurta kabuğu kırılarak iç atılmış,

kabuk steril stomacher poşetine aktarılmıştır. Böylece her bir örnekten elde edilen 6 yumurta kabuğu, poşet dıştan elle homojenize edildikten sonra üzerine 100 ml BPW eklener-ek homojenizasyona devam edilmiştir. Homojenize edilen kabuk örneği 37 °C'de 20 saat inkübasyona bırakılmıştır. İzolasyon ve identifikasyon aşamaları ISO 6579 (4)'da belirtildiği şekilde uygulanmıştır (Şekil).

Bulgular ve Tartışma

Çalışma sonucunda, incelenen örneklerden bir adedinde (% 1) hem iç hem ka-
bukta, ayrıca farklı örnekler 11 iç (% 11) ve 6 kabuk (% 6) örneğinde olmak üzere to-
plam 17 (% 17) A sınıfı yumurta örneği *Salmonella* varlığı yönünden pozitif bulunmuştur.
Ülkemizde yapılan çalışmalardan Erkan ve ark. (19), Diyarbakır ilinde satışa sunulan köy
yumurtalarında % 10, market yumurtalarında ise % 21 oranında *Salmonella* spp. izole
etmişlerdir. Erdoğan ve ark. (18), Kahramanmaraş'da yerel süpermarketlerden alınan
123 adet bildirgin yumurtasında % 5.69 oranında *Salmonella* enteritidis D1 olduğunu
bildirmişlerdir. Çakıroğlu ve Gümüşsoy (14) ise Ankara Garnizonu'nda bulunan birlik ve
kurumlarda tüketime sunulan 882 adet yumurta örneklerinin hiçbirinde *Salmonella* spp.
varlığına rastlanmadığını, bu sonucun TSK'nın tedarik ettiği yumurtaların satın alma
aşamasında *Salmonella* spp. yönünden analiz edilmesine ve tedarikçilerin ilgili şartnameye
uyma zorunluluğuna bağlı olabileceğini rapor etmiştir. Bulgularımız, Erkan ve ark.'nın
(19) bulgularından düşük iken Çakıroğlu ve Gümüşsoy'un (14) bulgularından yüksek
olarak saptanmıştır.

Ticari yumurtalarda *Salmonella* spp. varlığının araştırıldığı farklı ülkelerde yapılan
diğer çalışmalarda, prevalans oranlarını Suresh ve ark. (38) Hindistan'da % 7.7, Adesiyun
ve ark. (2) Trinidad ve Tobago'da % 3.7, Little ve ark. (25) İspanya ve Fransa'dan Birleşik
Krallık'a getirilen yumurtalarda % 3.3, Betancor ve ark. (9), Uruguay'da % 2.14, Murchie
ve ark. (28). İngiltere ve İrlanda'da % 0 - 0.38, Radkowski (37) ile Adesiyun ve ark. (3)
ise % 0 olarak belirtmişlerdir. Elde ettiğimiz bulguların bu araştırmacıların (2, 3, 9, 25, 28,
37, 38) bulgularından yüksek düzeyde olması ülkemizde, perakende satışa sunulmakta
olan A sınıfı yumurtaların *Salmonella* varlığı yönünden halen önemli bir halk sağlığı riski
oluşturduğunu göstermektedir.

23 Ocak 2008 tarihli Türk Gıda Kodeksi (TGK) Yumurta ve Yumurta Ürünleri
Tebliği (6) tebliğinde, perakende satışa sunulan ve tüketilen yumurtalar 'A sınıfı yumur-
ta' olarak adlandırılmış ve 'Gallus gallus var. domesticus cinsi tavuklardan elde edilen ve
doğrudan insan tüketimine sunulan kabuklu yumurta' olarak tanımlanmıştır. Aynı tebliğde,
bu tip yumurtanın hammadde, işlem ve ürün özellikleri belirtilmiş, katkı maddeleri, aroma
maddeleri, buşanlar, pestisitler ve veteriner ilaç kalıntı düzeyleri hakkında uyulması ger-
ekli olan tebliğ ve yönetmeliklere sırasıyla Madde 8, 9, 10 ve 11'de değinilmiştir. Ayrıca
halen faaliyet gösteren ve bu tebliğ kapsamında yer alan ürünleri üreten satış yerlerinin
bu tebliğin 13. maddesine uyum sağlamış olmaları da gerekmektedir. Ambalajlama, etike-
tleme ve işaretleme ile ilgili düzenlemeleri içeren bu madde üretici, pazarlayıcı ve tüketicili
korumaya yönelik bilgileri içermektedir.

TGK Yumurta ve Yumurta Ürünleri Tebliği (6)'nde 'yumurta ürünleri için mikrobi-
yolojik kriterler' başlıklı Ek-3 6 Şubat 2009'da yürürlükten kaldırılmış olup Madde 11'de
tebliğ kapsamında ürünlerin TGK Yönetmeliği Gıda Hijyen Bölümü ile TGK Mikrobiyolojik
Kriterler Tebliği (7)'nde yer alan ilgili hükümlere uygun olması gerektiği öngörülmektedir.
TGK Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği Ek-1'de yumurta ürünleri (pastörize ve dondurulmuş
yumurta, yumurta tozu vb.) için uyulması gereken bazı kriterlere değinilmiştir. Bunlar, yu-
murt ürünlerinde Enterobacteriaceae'nin ve koagülaz pozitif stafylokokların rastgele alınan
5 örneğin gramında/mililitresinde en fazla iki örnekte sırasıyla 101 - 102 kob ve 102 - 103
kob sınırları içinde bulunmasına izin verilmesi, *Salmonella* spp.'nin ise alınan bu 5 örneğin
hiçbirinde bulunmaması kriteridir.

TGK Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği (7)'nde yer verilen 'yumurta ürünleri' adı
altında geçen ürünler, A sınıfı yumurtayı kapsamamaktadır. Bu nedenle bu sınıf yumurta için
de mikrobiyolojik kriterlerin belirlenerek tebliğde yer alması, satışa sunulan yumurtaların

Salmonella yönünden test edilip edilmeyeceğinin belirsizliğine neden olan bu durumun ortadan kaldırılması gerekmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Ülkemizde perakende olarak satılan A sınıfı yumurtalarda Salmonella varlığı halen önemli bir halk sağlığı riski oluşturmaktadır.

2011 itibarı ile elimizde bulunan kaynaklar ve içerdikleri bilgiler göz önünde bulundurulduğunda; Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde (7) yumurta ürünleri için uyulması gereken kriterlerin 'A sınıfı yumurta' için de geçerli olduğunu belirtir şekilde bir düzeltme yapılması ve bunun açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Böyle bir düzenleme sonrasında ise 'A sınıfı yumurta'nın da Entrobacteriaceae, koagulaz pozitif stafilocoklar ve Salmonella spp. yönünden kriterlere uyup uymadığının test edilmesi zorunlu hale gelecektir.

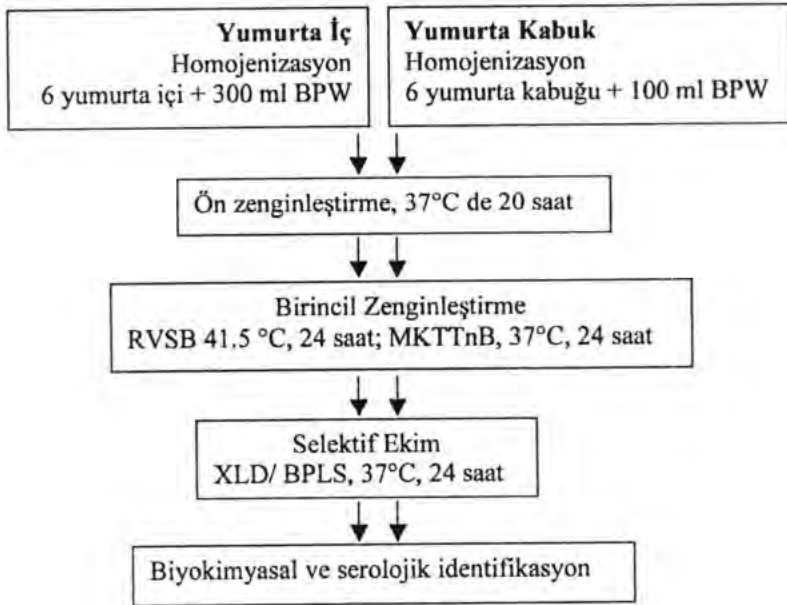
Kaynakça

1. Adesiyun A., Offiah N., Seepersadsingh N., Rodrigo S., Lashley V., Musai L. and Georges K. (2005). Microbial health risk posed by table eggs in Trinidad. *Epidemiology and Infection*, 133, 1049-1056.
2. Adesiyun A., Offiah N., Seepersadsingh N., Rodrigo S., Lashley V. and Musai L. (2007). Antimicrobial resistance of Salmonella spp. and Escherichia coli isolated from table eggs. *Food Control*, 18, 306-311.
3. Adesiyun A., Offiah N., Seepersadsingh N., Rodrigo S., Lashley V. and Musai L. (2006). Frequency and antimicrobial resistance of enteric bacteria with spoilage potential isolated from table eggs. *Food Research International*, 39, 212-219.
4. Anonymous. (2002). Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of Salmonella spp. ISO 6579:2002(E), Fourth Edition, 2002-07-15.
5. Anonymous. (2003). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products. ISO 6887-4:2003/Cor.1:2004(E).
6. Anonymous. (2007). Türk Gıda Kodeksi (TGK) Yumurta ve Yumurta Ürünleri Tebliği. Tebliğ No: 2007/54.
7. Anonymous. (2009). Türk Gıda Kodeksi (TGK) Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Tebliğ No: 2009/6.
8. Anonymous. (2009). Türk Gıda Kodeksi (TGK) Ticari Yumurtacı Kümeslerde Salmonella Kontrol Programı Uygulama Talimatı. 27.04.2009 tarih ve 015125 sayılı KKGm yazısı.
9. Betancor L., Pereira M., Martinez A., Glossa G., Fookes M., Flores K., Barrios P., Repiso V., Vignoli R., Cordeiro N., Algorta G., Thomson N., Maskell D., Schelotto F. and Chabalgoity J.A. (2010). Prevalence of Salmonella enterica in poultry and eggs in Uruguay during an epidemic due to Salmonella enterica Serovar Enteritidis. *Journal of Clinical Microbiology*, 48, 2413-2423.
10. Braden C.R. (2006). Salmonella enterica serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 43, 512-517.

11. Centers for Disease Control (CDC), Update (1990). *Salmonella enteritidis* infections and grade A shell eggs, United States, 1989. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 38, 877-880.
12. Cogan T.A. and Humphrey T.J. (2003). The rise and fall of *Salmonella Enteritidis* in the UK. *Journal of Applied Microbiology*, 94(Suppl), 114-119.
13. Collard J.M., Bertrand S., Dierick K., Godard C., Wildemaue C., Vermeersch K., Ducu-lot J., Van Immerseel F., Pasmans F., Imberechts H. and Quinet C. (2008). Drastic decrease of *Salmonella Enteritidis* isolated from humans in Belgium in 2005, shift in phage types and influence on foodborne outbreaks. *Epidemiology and Infection*, 136, 771-781.
14. Çakiroğlu H.S. and Gümüşsoy K.S. (2005). Ankara garnizonunda tüketime sunulan tavuk yumurtalarının *Salmonella* spp. yönünden analizi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14, 158-162.
15. Davies R. and Breslin M. (2001). Environmental contamination and detection of *Salmonella enterica* serovar enteritidis in laying flocks. *Veterinary Record*, 149, 699-704.
16. Davison S., Benson C.E., Munro D.S., Rankin S.C., Ziegler A.F. and Eckroade R.J. (2003). The role of disinfectant resistance of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in recurring infections in Pennsylvania egg quality assurance program monitored flocks. *Avian Diseases*, 47, 143-148.
17. EFSA. (2007). Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, in the EU, 2005-2006. Part A: *Salmonella* prevalence estimates. *The EFSA Journal*, 1-85.
18. Erdoğan Ö.T., Özkan N. and Çakiroğlu E. (2002). *Salmonella enteritidis* in quail eggs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26, 321-323.
19. Erkan M.E., Vural A. and Güran H.Ş. (2008). Diyarbakır ilinde satışa sunulan köy ve market yumurtalarının hijyenik kalitesi üzerine bir araştırma. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1, 11-16.
20. Fris C. and Van den Bos J. (1995). A retrospective case-control study of risk factors associated with *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis infections on Dutch broiler breeder farms. *Avian Pathology*, 24, 255-272.
21. Gorman R., Adley C.C. (2004). Characterization of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium Isolates from human, food, and animal sources in the Republic of Ireland. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 2314-2316.
22. Hogue A., White P., Guard-Petter J., Schlosser W., Gast R., Ebel E., Farrar J., Gomez T., Madden J., Madison M., McNamara A.M., Morales R., Parham D., Sparling P., Sutherland W. and Swerdlow D. (1997). Epidemiology and control of egg-associated *Salmonella enteritidis* in the United States of America. *Revue Scientifique et Technique*, 16, 542-553.
23. Hope B.K., Baker R., Edel E.D., Hogue A.T., Schlosser W.D., Whiting R., McDowell R.M. and Morales R.A. (2002). An overview of the *S. enteritidis* risk assessment for shell eggs and egg products. *Risk Analysis*, 22, 203-218.
24. Jean S.S., Wang J.Y., Hsueh P.R. (2006). Bacteremia caused by *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis in Taiwan. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*, 39, 358-365.

25. Little C.L., Walsh S., Hucklesby L., Surman-Lee S., Pathak K., Gatty Y., Greenwood M., De Pinna E., Threlfall E.J., Maund A. and Chan C.H. (2007). Survey of *Salmonella* contamination of non-United Kingdom-produced raw shell eggs on retail sale in the northwest of England and London, 2005 to 2006. *Journal of Food Protection*, 70, 2259-2265.
26. Miller M.A., Sentz J., Rabaa M.A. and Mintz E.D. (2008). Global epidemiology of infections due to *Shigella*, *Salmonella* serotype Typhi, and enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Epidemiology and Infection*, 136, 433-435.
27. Murchie L., Whyte P., Xia B., Horrigan S., Kelly L. and Madden R.H. (2007). Prevalence of *Salmonella* in grade A whole shell eggs in the island of Ireland. *Journal of Food Protection*, 70, 1238-1240.
28. Murchie L., Xia B., Madden R.H., Whyte P. and Kelly L. (2008). Qualitative exposure assessment for *Salmonella* spp. in shell eggs produced on the island of Ireland. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 308-319.
29. Namata H., Me´roc E., Aerts M., Faes C., Abrahantes J.C., Imberechts H. and Mintiens K. (2008). *Salmonella* in Belgian laying hens: An identification of risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 83, 323-336.
30. Nunes I.A., Helmuth R., Schroeter A., Mead G.C., Santos M.A., Solari C.A., Silva O.R. and Ferrelra A.J. (2003). Phage typing of *Salmonella* Enteritidis from different sources in Brazil. *Journal of Food Protection*, 66, 324-327.
31. Nygard K., De Jong B., Guerin P.J., Andersson Y., Olsson A. and Giesecke J. (2004). Emergence of new *Salmonella* Enteritidis phage types in Europe? Surveillance of infections in returning travelers. *BioMed Central Medicine*, 2, 32.
32. Olsen S.J., Bishop R., Brenner F.W., Roels T.H., Bean N., Tauxe R.V. and Slutsker L. (2001). The changing epidemiology of *Salmonella*: trends in serotypes isolated from humans in the United States, 1987-1997. *Journal of Infectious Diseases*, 183, 753-761.
33. Pang T., Bhutta Z.A., Finlay B.B., Altwegg M. (1995). Typhoid fever and other salmonellosis: A continuing challenge. *Trends in Microbiology*, 3, 253-255.
34. Pangloli P., Dje Y., Ahmed O., Doane C.A., Oliver S.P. and Draughon F.A. (2008). Seasonal incidence and molecular characterization of *Salmonella* from dairy cows, calves, and farm environment. *Foodborne Pathogens and Disease*, 5, 87-96.
35. Patrick M.E., Adcock P.M., Gomez T.M., Altekruse S.F., Holland B.H., Tauxe R.V. and Swardlow D.L. (2004). *Salmonella* enteritidis infections, United States, 1985-1999. *Emerging Infectious Diseases*, 10, 1-7.
36. Piao Z., Toyota-Hanatani Y., Ohta H., Sasai K., Tani H., Baba E. (2007). Effects of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis vaccination in layer hens subjected to *S. Enteritidis* challenge and various feed withdrawal regimens. *Veterinary Microbiology*, 125, 111-119.
37. Radkowski M. (2001). Occurrence of *Salmonella* spp. in consumption eggs in Poland. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 189-191.

38. Suresh T., Hatha, A.A.M., Sreenivasan D., Sangeetha N. and Lashmanaperumal-samy P. (2006). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella enteritidis* and other salmonellas in the eggs and egg-storing trays from retails markets of Coimbatore, South India. *Food Microbiology*, 23, 294–299.
39. Thorns C.J. (2000). Bacterial food-borne zoonoses. *Revue Scientifique et Technique*, 19, 226–239.
40. Tietjen M. and Fung D.Y. (1995). *Salmonellae* and food safety. *Critical Reviews in Microbiology*, 21, 53–83.
41. Van Immerseel F., De Buck J., Boyen F., Pasmans F., Bertrand S., Collard J.M., Saegerman C., Hooyberghs J., Haesebrouck F. and Ducatelle R. (2005). *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les oeufs, un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. *Annales de Medecine Veterinaire*, 149, 34–48.
42. Vugia D.J., Samuel M., Farley M.M., Marcus R., Shiferaw B., Shallow S., Smith K. and Angulo F.J. (2004). Invasive *Salmonella* infections in the United States, FoodNet, 1996–1999: Incidence, serotype distribution, and outcome. *Clinical Infectious Diseases*, 38 (Suppl. 3), 149–156.
48. White P.L., Schlosser W., Benson C.E., Maddox C. and Hogue A. (1997). Environmental survey by manure drag sampling for *Salmonella enteritidis* in chicken layer houses. *Journal of Food Protection*, 60, 1189–1193.



Bildiri No: 80

Kategori: Genel

GIDA KATKI MADDESİ OLARAK PONCEAU 4R

Sunum Tipi: Poster

Buket ER, Besin Analizleri Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Gülderen YENTÜR, Besin Analizleri Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Özet

Renk, gıda kalitesi ve lezzetinin değerlendirildiği ilk duyuşal parametredir. Bu nedenle de boyaların gıda maddelerini estetik ve psikolojik açıdan daha çekici yaptığı bilinmektedir. Sentetik gıda boyaları doğal boyalara göre daha ucuz ve dayanıklı olduğu için gıda sanayisinde önemli role sahiptir. Şekerlemeler ve tatlılar başta olmak üzere pek çok gıdaya ve içeceklere sentetik boya maddesi katılmaktadır. Ancak bu maddelerin aşırı derecede tüketilmesi insan sağlığı açısından potansiyel risk teşkil edebilmektedir. Bu nedenle kullanımları ve miktarları yasal düzenlemeler doğrultusunda sınırlandırılmıştır. Azo grubunda yer alan bazı boyaların kendilerinin veya diğer boyalarla kombinasyonlarının duyarlı kişilerde alerjik veya psödoalerjik reaksiyonları teşvik ederek sağlık problemleri yaratabileceği bilinmektedir. Bu azo boyalarından biri de görsel olarak çekici kırmızı renginden dolayı gıda ürünleri, ilaçlar ve kozmetikler de yaygın kullanıma sahip olan Ponceau 4R'dir.

Derlemede, önemli bir sentetik gıda boyası olan Ponceau 4R'nin kimyasal yapısı, özellikleri, gıdalarda varlığı, toksikolojik olarak değerlendirilmesi ve yasal düzenlemeler hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ponceau 4R, renk, gıda katkısı, gıda boyası

PONCEAU 4R AS A FOOD ADDITIVE

Abstract

Colour is the first sensorial parameter while evaluating the food quality and taste. For this reason, it is well known that dyes make food stuff attractive estetically and psychologically. Since, synthetic food dyes are cheaper and more stable, they have an important role in food industry. Synthetic food dyes are added to many food and drinks, especially sweeteners and desserts. However, overconsuming these stuff may result in potential risk for human health. For this reason, consumption and levels of these stuff are limited through regulations. It is known that, some azo group dyes may induce allergic or pseudoallergic reactions in sensitive individuals alone or in combination with other dyes, which result in health problems. One of these azo group dyes is Ponceau 4R and because of its attractive red color it is widely used in food stuff, drugs and cosmetics. In this review, information about chemical structure, properties, presence in food stuff, toxicological evaluation and regulations is indicated for an important synthetic food dye, Ponceau 4R.

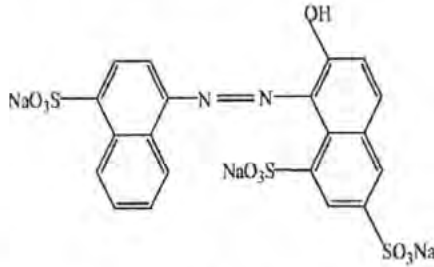
Key words: Ponceau 4R, colour, food additive, food dye

Giriş

Sentetik boyalar gıda katkı maddelerinin çok önemli bir sınıfını oluşturmaktadır. Gıdanın işlenmesi ve depolaması sırasında kaybolan doğal rengin telafî edilerek tüketicilerin arzu ettiği görünümün sağlanması, toplu üretimde renk bütünlüğünün sağlanması ve bazı renksiz gıdalara renk verilmesi amacıyla kullanılmaktadır (32, 42). Pek çok şekerleme ürünü, tatlılar ve içecekler gıda boyası olmadığı takdirde istenilen şekilde görünmemektedir (34). Ancak bunun yanında boyaların gıdalara eklenmesinin besin değeri açısından önemli yoktur (10). Gıda boyaları gıda tüketiminde önemli role sahiptir. Renk, gıdanın kalitesi ve lezzeti ile ilgili ilk duyuşsal parametredir. Gıda boyalarının katkı maddesi olarak kullanımının gıdayı estetik ve psikolojik açıdan daha çekici yaptığı yıllardır bilinmektedir (34, 46, 55). Ancak bu maddeler aşırı derecede tüketildiğinde insan sağlığı açısından potansiyel risk teşkil edebilmektedir. Bu nedenle gıdalarda kullanımları yasa ve yönetmeliklerle sıkı bir biçimde kontrol edilmektedir (32, 36). Gıda sanayisinde çekici kırmızı renginden dolayı içecekler, süt ürünleri, fırıncılık ürünleri, şurup, yapay içecek tozları, şekerlemeler, dondurmalar ve tatlılarda yaygın olarak kullanılan azo sentetik boyalardan biri de Ponceau 4R'dir (2, 8, 54, 57). Bu boya gıda ürünleri haricinde ilaçlarda ve kozmetiklerde de kullanılmaktadır (43). Ponceau 4R'nin insanlar için ADI (Acceptable Daily Intake- Kabul Edilebilir Günlük Tüketim Miktarı) değeri 0-4,0 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirtilmiştir (25, 26). Bu derlemede, önemli bir sentetik gıda boyası olan Ponceau 4R'nin kimyasal yapısı ve özellikleri, gıdalardaki varlığı, toksisitesi ve yasal düzenlemeler hakkında bilgi verilmiştir.

Ponceau 4R'nin yapısı ve özellikleri

Ponceau 4R'nin (Coccine; Cochinealred; E-124; 16255; Acid red 18; Food red 7) kimyasal adı trisodium 2-hidroxy-1-(4-sulfonato-1-naphthylazo)-6,8-naphthalenedisulfonate'dır. Monoazo sınıfında yer alan bu boyanın kimyasal formülü $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{13}S_3 \cdot 1.5H_2O$ ve molekül ağırlığı 604,48 g/mol'dür. Ponceau 4R, sodyum tuzu olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca kalsiyum ve potasyum tuzuna da izin verildiği belirtilmektedir. Kırmızımsı toz veya granül halindedir. Suda çözünür ve etanol de az çözünür özelliktedir (14, 15). Yapısında $-N=N-$ grubu içeren sentetik (sertifikalı) bir boya olan Ponceau 4R'nin kimyasal yapısı Şekil 1'de verilmiştir (28, 58).



Ponceau 4R'nin metabolizması ve toksikolojik etkileri

Ponceau 4R ile ilgili yapılan metabolizma çalışmalarında bu boyanın gastrointestinal sistemden hızla absorbe olduğu ve naphthionic acid ve 7-hidroxy-8 aminonaphthalene-1,3 sulfonic acid formasyonunda metabolize olduğu belirtilmektedir (22). Phillips ve ark (37) yaptıkları çalışmada erkek ve dişi ratlarda, farelerde ve gine domuzlarında oral yolla alınan 14C işaretli Ponceau 4R'nin absorpsiyonu, metabolizması ve atılımını araştırmışlardır. Çalışmada, ince bağırsaktan absorpsiyonun ratlarda önemli olmadığı, düşük konsantrasyonlarda farelerde ve gine domuzlarında ise yüksek konsantrasyonlarda emilim olabildiği belirtilmiştir.

0,5 mg/kg va veya 50 mg/kg va dozlarından birinin tek doz olarak verilmesinden 72 saat sonra verilen miktarın tamamının idrar ve feçesle atıldığı ve bu atılımın %90'nin feçesle olduğu bildirilmiştir. Üç tür içinde naphthionic acid major üriner metabolit iken feçeste naphthionic acid, 7 hydroxy-8-amino-napthalene-1,3 disulfonic acid ve değişmemiş halde boya bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca üç türde de boyanın yaklaşık %25-35'inin feçesten 24 saat süresince değişmeden atıldığı bildirilmiştir.

1950 yılına kadar insanlarda herhangi bir toksik etki görülmemesi nedeniyle gıdalarda kullanılan boya maddelerinin güvenliği üzerinde önemle durulmamıştır. Ancak bu tarihten sonra bazı toksik etkilerin gözlenmesiyle gıda boyalarının zararlı etkileri üzerine ilgi artmış, Gıda ve İlaç Teşkilatı (Food and Drug Administration-FDA) toksikoloji laboratuvarlarında önemli ölçüde kronik toksisite testleri uygulamaya başlamıştır (51). Ponceau 4R'nin akut ve kronik toksik etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Lück ve Rickerl (30) yaptıkları çalışmada Ponceau 4R'nin 0,5g/100 mL E. coli kültüründe mutajenik etkisini test etmişler ve mutajenik etkili bulmadıklarını bildirmişlerdir. Gaunt ve ark (17) fare ve ratlarda Ponceau 4R'nin akut toksisitesini çalışmışlardır ve LD50 (Lethal Dose-Öldürücü Doz) değerini erkek ve dişi ratlarda sırasıyla 0,6 mg/kg ve 2,69 mg/kg olarak belirtmişlerdir. Ayrıca bu değerin fareler için 1,9 g/kg ve 1,6 g/kg olduğu ve her 2 türde de oral LD50 değerinin 8 g/kg aştığını bildirilmiştir. Gaunt ve ark (18) 3 grup beyaz domuzları yaptıkları çalışmada Ponceau 4R'nin akut toksisitesini çalışmışlardır. Bu çalışmada domuzların diyetlerine 90 gün boyunca 0 (kontrol), 100, 300, 900 mg/kg va miktarlarında Ponceau 4R eklediklerini ve etki etmeyen düzeyli 300 mg/kg/gün olarak tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Meyer ve Hansen (31) yaptıkları çalışmada gebeliklerin 1. ve 20. günü arasında gavaş yoluyla 0, 1000, 2000, 4000 mg/kg va/gün miktarlarında Ponceau 4R verdikleri ratlarda embriyo-toksik etki olmadığını belirtmişlerdir. Momma ve ark (33) yaptıkları çalışmada hamilelikleri süresince farelere %0,05-0,7 Ponceau 4R içeren diyet uyguladıklarını ve teratojenik etki veya postnatal etki görülmediğini belirtmişlerdir. Gautou ve ark (19) 90 günlük kısa dönem toksisite çalışmalarında içme suyuyla Ponceau 4R verilen ratların hemoglobininde %36,6 azalma olduğunu belirtmişlerdir. Sonuçta ratlarda demir eksikliği anemisinin boyaların tüketimi ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada ise araştırmacılar 11 rata 216 gün %1 oranında içme suyuunda Ponceau 4R vererek 791 gün gözlem yaptıklarını belirtmişlerdir. Sonuç olarak deney süresince 2 hayvanın öldüğünü ve birinin karaciğerinde sarkoma geliştiğini bildirmişlerdir (12). Brantom ve ark (6) yaptıkları çalışmada ratlarda Ponceau 4R'nin NOAEL (No Observed Advers Effect Level- Gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz) değerini 1250 mg/kg/gün olarak belirtmişlerdir. İzbirak ve ark (23) yaptıkları çalışmada Ponceau 4R, Amarant, Sunset Yellow FCF ve Tartrazini mutajenik özellikleri açısından Ames/Salmonella/mikrozom test yöntemiyle araştırmışlardır. Bu azo boyaların test suşları üzerine mutajenik etki göstermediğini bildirmişlerdir. Rao ve ark (39) yaptıkları çalışmada yüksek düzeylerde Ponceau 4R içeriğine sahip anasonu tüketen çocuklarda dil iltihabı semptomlarının görüldüğünü bildirilmişlerdir. Tanaka ve ark (43) diyetle Ponceau 4R verilen 5 ve 9 haftalık fareler üzerine yaptıkları çalışmalarında NOAEL değerini % 0,12 (205 mg/kg/gün) olarak belirtmişlerdir. Bununla birlikte çalışmada kullanılan orta doz ve yüksek doz Ponceau 4R miktarlarında insanların gerçekte tükettiklerinden çok daha düşük olduğu tahmin edildiği ve bu bağlamda Ponceau 4R alımının insanlarda üreme veya nörodavranışsal etki yaratabileceği de belirtmişlerdir. Ayrıca Ponceau 4R'nin astımlı ve aspirine duyarlı kişilerde problemlere neden olduğu bilinmektedir (7). Ponceau 4R'nin de içinde bulunduğu azo boya grubuna dahil olan bazı sentetik boyaların kendileri veya diğer boya maddeleri ile kombinasyonları özellikle aspirin ve diğer non-steroid anti-enflamatuvar ajanlara alerjisi olan veya ürtiker ve astım şikayeti olan insanlarda alerjik veya psödoalerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir (24, 34, 38, 39). Ponceau 4R ile ilgili sınırlı sonuçlara sahip olan bazı çalışmalar değerlendirildiğinde karsinojenik etkisinin olmadığı belirtilmiştir (12).

Yapılan pek çok toksisite çalışması sonunda ise insanlar için ADI değeri 0-4,0 mg/kg v/gün olarak belirtilmiştir (25, 26).

Gıdalarda Ponceau 4R varlığı

Sentetik boyalar gıdanın orijinal renk tonunun yenilenmesinde güvenilir ve ekonomik olmasından dolayı pahalı, dayanıklılığı az, boyama gücü düşük olan doğal boyaların yerini almıştır (27). Sentetik boyalar aynı zamanda doğal boyalara göre boyama gücü, renk tonlarının aralığı, rengin parlaklığı, rengin kalıcılığı, uygulanma kolaylığı açısından da daha üstün olduklarından tercih edilmektedir ve gıdaya solüsyon veya dispersiyon olarak eklenmektedirler (1, 35, 41). Gıda güvenliği açısından sentetik boyaların güvenilir ve doğru analitik metotlarla saptanması önem taşımaktadır. Sentetik boyaların analizleri için ince tabaka kromatografisi, kapiller elektroforez, differansiyel puls polarografi, yüksek basınç sıvı kromatografisi, voltametri ve spektrofotometri gibi pek çok analitik yöntem kullanılmaktadır (1, 8, 9, 20, 32, 56).

Türkiye'de çeşitli gıda maddelerinde Ponceau 4R'yide içeren sentetik boya varlığının ve miktarlarının araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Bayhan ve Yentür (3) Ankara marketlerinden sağladıkları çemen, sumak ve kırmızı biberlerde sentetik boya varlığını araştırmışlar, 25 çemenin tamamında ve 25 sumağın 18'inde boya varlığına rastlanırken 25 kırmızı biber de sentetik boya varlığına rastlanmadığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar (50) yaptıkları diğer çalışmada ise 30 tereyağ örneğinin beşinde p-dimetilaminoazo benzen olmak üzere gıdalarda kullanımı yasaklanmış olan boya varlığına rastladıklarını bildirmişlerdir. Yentür ve Karakaya (53) yaptıkları çalışmada 25 şekerin 11'inde Ponceau 4R, Ponceau SX, Brilliant Blue FCF ve Amarant, 29 meyveli dondurma örneğinin 16'sında ise Sunset Yellow FCF, Tartrazin, Ponceau 4R ve Ponceau SX boyalarını saptadıklarını belirtmişlerdir. Yentür ve ark (52) yaptıkları çalışmada toplam 100 adet pasta süsü, pamuk şeker, elma ve yalapa şekerlerinde Ponceau 4R, Tartrazin, Sunset Yellow FCF, Eritrosin, İndigotin, Azorubin, Patent Blue V boyalarının varlığını araştırmışlardır. Ponceau 4R saptanan örneklerde miktarların 74-867 mg/kg arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Yentür ve ark (54) yaptıkları çalışmada reçel, puding, şeker ve yapay içecek tozu olmak üzere toplam 263 örnekte sentetik gıda boyası varlığını araştırmışlardır ve Ponceau 4R miktarı, şekerlerde ortalama $117,45 \pm 19,37$ mg/kg, içecek tozlarında ise ortalama $294,79 \pm 26,21$ mg/kg olarak saptanmıştır. Bu değerler yasal sınır değerlere uygun olmadığını belirtmişlerdir. Büyükpamukçu ve Saldamlı (5) yaptıkları çalışmada Ankara piyasasından sağlanan 81 şekerlemede kalitatif olarak Eritrosin, İndigotin, Sunset Yellow FCF, Tartrazin, Patent Blue V ve Ponceau 4R boyalarını araştırmışlardır. Bu çalışmada 81 örneğin 9'unda Eritrosin, 2'sinde İndigotin, 12'sinde Sunset Yellow FCF, 15'inde Tartrazin, 5'inde B-karoten ve 16'sında Ponceau 4R bulduklarını bildirmişlerdir. Yentür ve ark (55) yaptıkları çalışmada reçel, meyveli yoğurt, meyve suyu alkolsüz içecek ve elma şekeri örneklerinden oluşan 160 gıda ve içecek örneğinde bazı sentetik boyaların varlığını araştırmışlardır. Çalışmada 11 adet alkolsüz içecek örneğinde Carmoisine ve Ponceau 4R boyalarının toplamının ortalama değerini $49,2405 \pm 0,0002$ mg/l olarak, A ve B pastanelerine alt şeker örneklerinin Ponceau 4R miktarlarının da sırasıyla $2265,3140 \pm 36,0215$ mg/kg ve $584,4700 \pm 3,5281$ mg/kg olarak saptadıklarını belirtmişlerdir. Üstün ve Tosun (49) yaptıkları çalışmada 19 reçel örneğinin 10'unda boya saptadıklarını bildirmişlerdir. Topsoy (47) yaptığı çalışmada akide şekerleri, kuru içecek tozları ve meyveli dondurmaları içeren toplam 190 numunede boya varlığını araştırmıştır. Bu çalışmada 80 akide şekerinin 25'inde Tartrazin, 20'sinde Ponceau 4R, 15'inde Eritrosin, 19'unda Sunset Yellow FCF, 5'inde İndigotin, 3'ünde Patent Blue V saptadığını belirtmiştir. Ayrıca 60 adet yapay içecek tozunun 24'ünde Tartrazin, 21'inde Sunset Yellow FCF, 18'inde Ponceau 4R ve 5'inde İndigotin bulunduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada 50 dondurma örneğinin 11'inde Tartrazin, 20'sinde Ponceau 4R, 6'sında Eritrosin ve 2'sinde Tartrazin+İndigotin saptandığını da belirtmiştir. Topsoy (48) diğer bir çalışmasında ise şekerleme, içecek tozları, pasta süsü, jöle, dondurma, puding ve reçel olmak üzere toplam 250 gıda ve içecek örneğinde boya varlığını araştırmıştır.

Analizini yaptığı pasta süsleri, jöleler, dondurmalar, şekerlemeler, içecek tozları, pudringler ve reçellerin sırasıyla %100, %80, %72, %84, %94, %76 ve %8'inde boya bulunduğunu bildirmiştir. Güler ve Enecür (21) yaptıkları çalışmada 40 adet drajede Tartrazin, Sunset Yellow FCF, Ponceau 4R, Azorubin ve İndigotin boyalarının ortalama miktarlarını sırasıyla 188 mg/kg, 226 mg/kg, 381 mg/kg, 374 mg/kg, 204 mg/kg olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Dinç ve Arıcı (11) çalışmalarında alkolsüz aromalı içecek, yenilebilir buz ve şekerlemeler olmak üzere toplam 46 örnekte yüksek basınç sıvı kromatografisi yöntemi ile Ponceau 4R analizi yapmışlar ve 2 örnekte 27,67-69,43 ppm arasında Ponceau 4R bulduklarını bildirmişlerdir. Bununla birlikte dünyanın farklı ülkelerinde de gıdalarda Ponceau 4R ve diğer sentetik boyaların araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır (4, 16, 27, 29). Garcia-Falcon ve Simal-Gandara (16) İspanya'da yaptıkları çalışmada 9 adet alkolsüz içecekte doğal ve sentetik boya varlığını araştırmışlar ve saptadıkları boya miktarlarının yasal sınır değerlerinden düşük olduğunu belirtmişlerdir. Jonnalladga ve ark (27) Hindistan'da yaptıkları çalışmada alkolsüz içecek, şekerler ve diğer bazı gıdaları da içeren 545 hazır gıda örneğinde %90 izin verilen ve %2 izin verilmeyen boya saptadıklarını bildirmişlerdir.

Ponceau 4R ile ilgili yasal düzenlemeler

Halk sağlığının korunması amacıyla pek çok ülkede boyaların izin verilen çeşitleri ve miktarları düzenlenmiştir (15). Bu düzenlemelere göre sentetik boyaların kullanımı ve miktarları ülkelere göre farklılık gösterebilmektedir. 1964 yılında FAO/WHO (Food and Agriculture Organization-Gıda ve Tarım Örgütü/World Health Organization-Dünya Sağlık Örgütü) birleşik komitesinin yaptığı toplantıda renk maddelerinin gıda imalatında kullanımı ile ilgili bilgiler ve sınıflandırmalar yer almıştır (40). Avrupa'da gıdalarda sentetik boyaların kullanımı ve miktarları 94/36/EC sayılı "gıdalarda kullanılan renklendiriciler" direktifi ile yeniden düzenlenmiştir. Bu direktife göre Ponceau 4R'nin izin verilen düzeyleri farklı gıdalar için 50-500 mg/kg aralığındadır (13). Türkiye'de Ponceau 4R ile ilgili son düzenlemeler bu direktif dikkate alınarak hazırlanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine (16/11/1997 tarihli 23172 sayılı) göre hazırlanan 2002/55 numaralı tebliğe göre farklı gıdalarda Ponceau 4R'nin izin verilen miktar değişebilmektedir (44). Ancak alkolsüz aromalı içecekler, yenilebilir buzlar, dondurma, tatlılar, hafif fırıncılık ürünleri ve şekerlemelerde Ponceau 4R miktarının 50 mg/kg veya 50 mg/l yi geçemeyeceği bildirilmiştir. Ayrıca gıda maddelerinde kullanılan renklendiricilerin saflık kriterleri 95/45/EC sayılı Avrupa Birliği direktifi ile yeniden düzenlenmiştir (14). Bu direktif dikkate alınarak hazırlanan Türk Gıda Kodeksi'nin 2002/27 numaralı tebliği kapsamında Ponceau 4R'nin saflık kriterleri ile ilgili bilgilerde belirtilmektedir (45).

Sonuç ve Öneriler

Gıda boyaları gıdayı çekici ve arzu edilir hale getirmek için yüzyıllardır kullanılmaktadır. 1950'li yıllarda bazı sentetik boyaların insanlar üzerinde yaptığı toksik etkilerin dikkati çekmesiyle sentetik boyaların gıdalarda kullanılmasının halk sağlığı açısından risk yaratabileceği düşünülmüştür. Bu sentetik boyalardan biri olan Ponceau 4R hakkında yapılan toksikolojik çalışmalar incelendiğinde ise özellikle duyarlı kişilerde sağlık problemlerine yol açabileceği görülmektedir. Bu nedenle de gıda sanayinde yaygın kullanım alanına sahip olan Ponceau 4R'nin düzenli kontroller ile kullanım miktarının denetim altında tutulması önem taşımaktadır. Sonuç olarak, gıdanın üretiminden tüketimine kadar olan işlem basamaklarında, Ponceau 4R ve diğer sentetik boyaların kullanımları ve miktarları kontrol edilmeli ve bu boyaların yasal sınır değerlerini geçmesine izin verilmemelidir.

Kaynaklar

1. Altinöz S. and Toptan S. (2002). Determination of Tartrazine and Ponceau-4R in various food samples by Vierordt's Method and ratio spectra first-order derivative UV spectrophotometry. *Journal Food Composition and Analysis*, 15, 667-683.
2. Altinöz S. and Toptan S. (2003). Simultaneous determination of Indigotin and Ponceau-4R in food samples by using Vierordt's method, ratio spectra first-order derivative and derivative UV spectrophotometry. *Journal Food Composition and Analysis*, 16, 517-530.
3. Bayhan A. and Yentür G. (1988). Research on the existence of synthetic dyes in some samples of çemen, sumac and red pepper collected from local markets in Ankara. *GUEDE Gazi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 5(2)(175-183).
4. Biswas G., Sarkar S. and Chatterjee T.K. (1994). Surveillance on artificial colours in food products marketed in Calcutta and Adjoining Areas. *Journal of Food Science and Technology*, 3, 1, 66-67.
5. Büyükpamukçu E. ve Saldamlı İ. (1995). Ankara piyasasında satışa sunulan şekerlemelerin renk maddesi içeriklerinin belirlenmesi. *Gıda*, 20, 6, 397-404.
6. Brantom P.G., Stevenson B.I. and Wright M.G. (1987). Long-term toxicity study of Ponceau 4R in rats using animals exposed in utero. *Food and Chemical Toxicology*, 25, 955-962.
7. Brownsell V.L., Griffith C.J. and Jones E. *Applied Science for Studies*, 2nd Ed., Longman Scientific & Technical, UK, (1992) pp:127.
8. Chanlon S., Joly-Pottuz L., Chatelut M., Vlttori O. and Cretier J.L. (2005). Determination of Carmoisine, Allura red and Ponceau 4R in sweets and soft drinks by differential pulse polarography. *Journal Food Composition and Analysis*, 18, 503-515.
9. Capitan-Vallvey L.F., Fernandez M.D., Orbe I. and Avidad R. (1998). Simultaneous determination of the colorants Tartrazine, Ponceau 4R and Sunset Yellow FCF in foodstuffs by solid phase spectrophotometry using partial least squares multivariate calibration. *Talanta*, 47, 861-868.
10. Del Giovine L. and Piccioli Boca A. (2003). Determination of synthetic dyes in Ice-cream by capillary electrophoresis. *Food Control*, 14, 131-135.
11. Dinç M. ve Arıcı M. Gıdalara Katılan Suda Çözünen Bazı Sentetik Boyaların Belirlenmesi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, ERZURUM, s.1027-1029.
12. EFSA European Food Safety Authority. (2009) Scientific Opinion on the re-evaluation of Ponceau 4R (E-124) as a food additive. *EFSA Journal*, 7(11):1328-39.
13. EC European Parliament and Council Directive. On colours for use in foodstuffs, 94/36/EC. http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/ flav08_en.pdf (20 Temmuz 2011).
14. EC European Parliament and Council Directive. Laying down specific purity criteria concerning colours for use in foodstuffs, 95/45/EC. http://ec.europa.eu/food/fs/sfp / addit_flavor/ flav 13_en.pdf (20 Temmuz 2011).
15. Feng F., Zhao Y., Yong W., Sun L., Jiang G. and Chu X. (2011). Highly sensitive and accurate screening of 40 dyes in soft drinks by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 879, 1813- 1818.
16. Garcia-Falcon M.S. and Simal-Gandara J. (2005). Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid chromatography with minimal clean-up. *Food Control*, 16, 3, 293-297.
17. Gaunt I.F., Farmer M., Grasso P and Gangolli S.D. (1967). Acute (mouse and rat) and short-term (rat) toxicity studies on Ponceau 4R. *Food and Cosmetics Toxicology*, 5(2), 187-94.
18. Gaunt I.F., Grasso P., Creasey M. and Gangolli S.D. (1969). Short-term toxicity on Ponceau 4R in the pig. *Food and Cosmetics Toxicology*, 7, 443-449.

19. Gautam D., Sinha R.K. and Milne D.B. (1986). Interaction of Ponceau 4R with copper and effect of feeding Ponceau 4R on iron metabolism. *Journal of Food Science and Technology*, 23, 6, 303-307.
20. Gennaro M.C., Gioannini E., Angelino S., Aigotti R. and Giacosa D. (1997). Identification and determination of red dyes in confectionery by ion-interaction high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 767, 87-92.
21. Güler Z. ve Enecür H. (2005). Draje yüzeyinde kullanılan renklendiricilerin UV/VIS spektrofotometre ile kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi. *Gıda*, 30, 4, 287-292.
22. INCHEM International Programme of Chemical Safety. Ponceau 4R, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v18je12.htm> (8 Ağustos 2011).
23. İzbirak A., Sümer S. ve Diril N. (1990). Gıdalara katılan bazı boyaların mutajenik etkilerinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 24, 48-56.
24. Jaworska M., Szulinska Z., Wilk M. and Anuszevska E. (2005). Separation of synthetic food colourants in the mixed micellar system application to pharmaceutical analysis. *Journal of Chromatography A*, 1081, 42-47.
25. JECFA Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (1983). Evaluation of certain food additives and contaminants. *World Health Organization Technical Report Series*, 696, p. 20
26. JECFA Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (1996). Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 1956-1995 (First Through Forty-fourth Meetings), International Life Sciences Institute (ILSI) Press, Washington, DC (1996) pp. P-14.
27. Jonnalagadda P.R., Rao P., Bhat R.V. and Naidu A.N. (2004). Type, extend and use of colours in ready-to-eat foods prepared in the non-industrial sector-a case study from Hyderabad, India. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 2, 125-131.
28. Karaali A. ve Özçelik B. (1993). Gıda katkıları olarak doğal ve sentetik boyalar. *Gıda*, 18, 6, 389-396.
29. Lau O., Poon M.M.K., Siu C.M. and Wong F.M.Y. (1996). Spectrophotometric determination of single synthetic food colour in soft drinks, using ion-pair formation and extraction. *International Journal of Food Science and Technology*, 30, 6, 793-798.
30. Lück H. and Rickerl E. (1960). Food additives and mutative effects. VI Report, *Z. Lebensmittel Untersuch.* 112, 157-174.
31. Meyer O. and Hansen E.V. (1975). A study of the embryotoxicity of the food colour Ponceau 4R in rats. *Toxicology*, 5, 201-207.
32. Minioti K.S., Sakellariou C.F. and Thomaidis N.S. (2007). Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytica Chimica Acta*, 583, 103-110.
33. Momma J., Kawamata K., Takada K., Horiuchi S. and Tobe M. (1981). A study on teratogenicity of new cocine, Food Red No. 102, in mice. *Bulletin of National Institute of Hygienic Science*, 99, 73-78.
34. Nevado J.J.B., Flores J.R., Cabanillas C.G., Llerena M.J. and Salcedo A.C. (1998). Resolution of ternary mixtures of Tartrazine, Sunset Yellow and Ponceau 4R by derivative spectrophotometric ratio spectrum-zero crossing method in commercial. *Talanta*, 46, 933-942.
35. Özdemir Y. and Akkan A. (1999). Determination of Patent Blue V and Carmoisine in gelatin desserts by derivative spectrophotometry. *Turkish Journal of Chemistry*, 23, 221-229.
36. Perez-Urquiza M. and Beltran J.L. (2000). Determination of dyes in foodstuffs by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 898, 271-275.
37. Phillips J.C., Bex C.S. and Gaunt I.F. (1982). The metabolic disposition of 14C-labelled Ponceau 4R in the rat, mouse and guinea-pig. *Food and Chemical Toxicology*, 20, 499-505.

38. Ram F.S. and Ardern K.D. (2001) Tartrazine exclusion for allergic asthma. Cochrane Database of Systematic Reviews, 4, Art. No.: CD000460. DOI: 10.1002/14651858.CD000460.
39. Rao P., Bhat R.V., Sudershan R.V., Krishna T.P. and Naidu N. (2004). Exposure assessment to synthetic food colours of a selected population in Hyderabad, India. Food Additives and Contaminants, 21, 5, 415-421.
40. Saldamlı, İ. Gıda katkı maddeleri ve İçeriyenler, Ankara, (1985) pp:1-28.
41. Sayar S. and Özdemir Y. (1998). First-derivative spectrophotometric determination of Ponceau 4R, Sunset Yellow and Tartrazine in confectionery products. Food Chemistry, 61, 3, 367-72.
42. Scotter M.J. (2003) Properties and determinants of synthetic pigments. Colorants, 1556-1566.
43. Tanaka, T. (2006). Reproductive and neurobehavioural toxicity study of Ponceau 4R administered to mice in the diet. Food and Chemical Toxicology, 44,1651-1658.
44. TKG Türk Gıda Kodeksi. (2002). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı, Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği, (No:2002/55), Resmi Gazete.
45. TKG Türk Gıda Kodeksi. (2002). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Sağlık Bakanlığı, Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiricilerin Saflık Kriterleri Tebliği, (No:2002/27), Resmi Gazete.
46. Tripathi M., Khanna S.K. and Das M. (2007). Surveillance on use of synthetic colours in eatables vis a vis prevention of food adulteration act of India. Food Control, 18, 211-219.
47. Topsoy H. (1990). Bazı şekerli gıdalara katılan sentetik boya miktar tayini, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Ankara.
48. Topsoy H. (1998). Ankara piyasasında satılan bazı şeker ve şekerli gıda maddelerine katılan gıda boyalarının türev spektroskopik yöntemi ile kantitatif tayini, Doktora Tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Ankara.
49. Üstün N.Ş ve Tosun İ. (1998). Çeşitli reçellerin bileşimi üzerine bir araştırma, Gıda, 23, 2, 125-131.
50. Yentür G. ve Bayhan, A. (1988). Ankara piyasasında açıkta satılan ve pastörize tereyağlarında aromatik azo yapısındaki gıda boyalarının araştırılması. Gıda, 13,6,(389-392).
51. Yentür G. (1998). Bazı gıda maddelerinin toksisite yönünden değerlendirilmesi. FABAD, Farmasötik Bilimler Dergisi, 13,1, 332-338.
52. Yentür G., Ekşi A. ve Bayhan A. (1996). Ankara piyasasından sağlanan pasta süsleri ve bazı şekerlerde sentetik boya miktarlarının araştırılması. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 43, 4, 479-484.
53. Yentür G. ve Karakaya A.E. (1985). Kullanımı yasaklanan aromatik azo yapısındaki gıda boyalarının bazı gıda maddelerinde araştırılması. Gıda, 10, 6, 371-376.
54. Yentür G., Yaman M. ve Bayhan A. (1998). Bazı gıda maddelerine katılan sentetik boya miktarlarının araştırılması. Gıda, 23, 3,195-199.
55. Yentür G., Erdoğan Ş., Er B., Demirhan B. ve Bayhan Öktem A. (2010) Ankara bölgesinde tüketime sunulan bazı gıda maddelerinde sentetik boya düzeylerinin araştırılması. Gıda, 35, 1, 49-53.
56. Yoshioka N. and Ichihashi K. (2008). Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. Talanta, 74, 1408-1413.
57. Zhang Y., Zhang X., Lu X., Yang J. and Wua K. (2010). Multi-wall carbon nanotube film-based electrochemical sensor for rapid detection of Ponceau 4R and Allura Red. Food Chemistry, 122, 909-913.
58. Zhong H., Xu J. and Chen H. (2005). A rapid and sensitive method for the determination of trace proteins based on the interaction between proteins and Ponceau 4R. Talanta, 67, 749-754.

Bildiri No: 81

Kategori: Genel

SAMSUN İLİNDE SATIŞA SUNULAN DONDURMALARDA ENTEROTOKSİJENİK STAPHYLOCOCCUS AUREUS VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Poster

**Ali GÜCÜKOĞLU, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Özgür ÇADIRCI, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Göknuş TERZİ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tahsin Onur KEVENK, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Mustafa ALIŞARLI, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi**

Özet

Bu çalışmada Samsun ilinde satışa sunulan 100 adet dondurma (56 meyveli, 32 vanilyalı ve 12 çikolatalı) örneği enterotoksijenik *S. aureus*'un prevalansı yönünden incelendi. Klasik kültür tekniği ile elde edilen izolatların doğrulanması, multipleks PCR tekniği ile izolatlarda 16S rRNA ve nuc geni tespit edilerek yapıldı. Yapılan çalışmada meyveli dondurma örneklerinin %32,1'inde (18/56), vanilyalı dondurma örneklerinin %12,5'inde (4/32) ve çikolatalı dondurma örneklerinin %8,3'ünde (1/12) *S. aureus* belirlendi. Pozitif örneklerde (n=23) klasik kültür tekniği ile izole edilen 38 adet *S. aureus* suşunun PCR ile yapılan doğrulama işleminde %92'si (35/38) *S. aureus* olarak saptandı. PCR ile doğrulanan 35 adet *S. aureus* suşunun enterotoksijenik özelliklerinin (SEA-SED) araştırılmasında Toxin Detection (SET RPLA Oxoid, TD0900) kiti kullanıldı. Yapılan analizde 12 izolat (12/35; %34,2) enterotoksijenik özellikte olup bunların 9'u SEB (9/12; %75), 1'i SED (1/12; %8,3), 1'i SEB+SED (1/12; %8,3) ve 1 tanesi de SEA+SEB+SED (1/12; %8,3) olarak saptandı. Sonuç olarak dondurmaların enterotoksijenik *S. aureus* yönünden halk sağlığı risk oluşturabileceği belirlendi. Koruyucu önlem olarak üretim zincirinde olası kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi, pastörizasyon ve hijyen kurallarına titizlikle uyulması önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Dondurma, Enterotoksijenik *S. aureus*, PCR

DETERMINATION OF ENTEROTOXIGENIC STAPHYLOCOCCUS AUREUS FROM ICE CREAMS CONSUMED IN SAMSUN

Abstract

In this study 100 (56 fruity, 32 vanilla and 12 chocolate) ice cream samples consumed in Samsun was investigated to determine the prevalence of enterotoxigenic *S. aureus*. For confirmation of culture-based isolates, the presence of 16S rRNA and nuc were established with multiplex-PCR. In the study *S. aureus* was identified from 32.1 % of fruity (18/56), 12.5 % of vanilla (4/32) and 8.3% of chocolate (1/12) ice creams. In the positive samples (n=23) *S. aureus* was identified in 38 ice cream by culture-based techniques but only 92% (35/38) *S. aureus* isolates was confirmed by multiplex-PCR. Toxin Detection (SET RPLA Oxoid, TD0900) kit was used to investigate enterotoxigenic properties (SEA-SED) of PCR confirmed *S. aureus* isolates. The analysis showed 12 isolates (12/35; 34.2%) has got enterotoxigenic characteristics. From these, 9 SEB (9/12; 75%), 1 SED (1/12; 8.3%), 1 SEB+SED (1/12; 8.3%) and 1 SEA+SEB+SED (1/12-8.3%) were established. As a result ice cream could pose potential risks for public health in terms of enterotoxigenic *S. aureus*. For prevention of public health, the possible contamination sources in production chain should be determined and to obey pasteurization and hygiene rules is highly recommended.

Keywords: Ice cream, Enterotoxigenic *S. aureus*, PCR

SAMSUN'DA TÜKETİME SUNULAN DONDURMALARDA AFLATOKSİN M1 VARLIĞI

Sunum Tipi: Poster

Özgür ÇADIRCI, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Ali GÜÇÜKOĞLU, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Necati ÖZPINAR, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erciyes Üniversitesi
Göknur TERZİ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Mustafa ALIŞARLI, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Özet

Bu çalışma, Samsun ilinde tüketime sunulan dondurma örneklerinde aflatoksin M1 (AFM1) varlığını ve düzeylerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, 25 vanilyalı dondurma, 65 meyveli dondurma ve 25 çikolatalı dondurma olmak üzere toplam 115 örnek çalışma materyali olarak kullanılmıştır. Örnekler ELISA yöntemiyle analiz edilmiştir. Analiz edilen dondurma örneklerinin 30'unda (%26,08) 6.12 ile 32.15 ng/kg düzeylerinde AFM1 tespit edilmesine karşın 85 (%73.92) örnekte toksin tespit edilememiştir. Örneklerin tamamı Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ'de belirtilen düzeylerden düşük (50 ng/kg) bulunmuştur. Örneklerde aflatoksin tespit edilmesi halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle dondurmanın temel bileşimini oluşturan sütlerin düzenli olarak AFM1 kontaminasyonu açısından izlenmesi gerekmektedir. Ayrıca süt ineklerinin yemleri kontaminasyondan korunmak için uygun şartlarda muhafaza edilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin M1, ELISA, Dondurma

AFLATOXIN M1 CONTAMINATION OF ICE CREAM CONSUMED IN SAMSUN

Abstract

This study was undertaken to determine the presence and levels of aflatoxin M1 (AFM1) in ice cream samples consumed in the province of Samsun. For this purpose, a total of 115 samples comprising 25 vanilla ice creams, 65 fruit ice creams and 25 chocolate ice creams were used as the study materials. The ice cream samples were purchased randomly from 11 different markets. The samples were analysed by the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method. Aflatoxin M1 was detected in 30 (26.08%) of the ice cream samples, ranging from 6.12 to 32.15 ng/kg, whereas 85 samples (73.92%) did not reveal the presence of this toxin. The AFM1 levels were not higher than the limits of the Turkish Food Codex (50 ng/kg for ice cream) in all of the ice cream samples. It was concluded that the aflatoxins contained in some of the investigated samples were potential risks for public health. Therefore, milk, which is the basic ingredient of ice cream, must be continuously monitored for AFM1 contamination. Furthermore, dairy cow feed should be stored in such a way that they do not become contaminated.

Keywords: Aflatoxin M1, ELISA, Ice cream.

Bildiri No: 84

Kategori: Genel

HATAY BÖLGESİNDE ÜRETİLEN GELENEKSEL SÜT ÜRÜNLERİ

Sunum Tipi: Poster

Süleyman ÖNER, Besin hijyeni ve teknolojisel, M.K.Ü.Veteriner fakültesi

Özet

Mandıralar ve fabrikalar dışında, evlerde yapılan yerel süt ürünlerin miktarı hala küçümsenmeyecek düzeydedir ve bu ürünler iç ve dış piyasada satılmadıklarından birçoğu bilinmemektedir. Bu kültürel ve geleneksel ürünlerimizin yaşatılması ve tanıtılması çabaları günden güne artış göstermektedir. Cara ve Sürk; Hatay ili ve ilçelerinde üretilen peynirlerdir. Sürk klasik peynir yapımı olan sütün ısıtılıp maya ile (enzimatik) pıhtılaştırılmasıyla elde edilmeyip, yoğurttan tereyağı yapımı sırasında arta kalan yayık altı (ayran)'nın ısıtılması sonucu oluşan pıhtıdan elde edilmektedir Sürk üretiminde çökelek kullanılmakta ve içerisinde, nane, kekik, tarçın, kırmızıbiber, karabiber, zencefil, sarımsak vs. ilave edilmektedir. Yoğrularak armut biçimi verilen parçalar, bazen zeytinyağına daldırılarak bazen de zeytinyağı ile sıvandktan sonra, plastik bir filmle kaplanarak olgunlaştırılmaktadır. Yine Hatay ili civarında keçi sütünden üretilen Cara peynirine de, kalıplar arasına çökelek ve bazı baharatlar ilave edilir ve testilere (küp) basılarak toprağa gömülür ve 4-5 ay olgunlaştıktan sonra tüketilir (Hayaloğlu ve Fox, 2008). Cara peynir yapımında testinin üstü kül, tuz, zeytinyağı ve su karışımı ile kapatılır ve bu karışımdan sonra kuru ve temiz bir bezle kapatılır (Konar ve Güler, 1998). Künefe peyniri üretiminde ise genellikle inek sütü tercih edilmektedir. Peynirin fermentasyon sonu sıcak suyla yapılan sünme denemesiyle de tespit edilmektedir. Elde edilen taze "Künefe peyniri" bölgede üretilen "Künefe" tatısında ya da telemeye haşlama işlemi uygulanarak Dil veya Sünme peynirlerinin üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır (Berkay ve ark, 2008). Halep, yılan ve ip peyniri olarak sünme peyniri Hatayın Samandağ ilçesinde yapılmaktadır. Taze peynir kendi peyniraltı suyunda haşlandıktan sonra az tuzlanır. Çivli peynirinin yapılışından farkı yağlı süttten yapılmış olmasıdır (Ünsal,1997., Kamber, 2005). Birçok yörede kapalı kalmış, hatta bir kısmı değişen yaşam koşulları nedeniyle unutulmaya yüz tutmuş mahalli süt ürünlerimiz gün ışığına çıkartılıp, gerek iç gerekse dünya pazarlarına sunulması gerekir (Anon., 2001).

KAYNAKLAR

- Anonymus, 2001. Gıda Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu. Süt ve Süt Ürünleri Alt Komisyon Raporu. Devlet Planlama Teşkilatı VIII. Beş Yıllık Kalkınma Planı. DPT yayın no: 2636-ÖİK:644. s.83, Ankara.
- Berkay, K.O., Güven, M., Mutluer U., Saydam, B 2008. Hatay Künefe Peynirinin Yapılışı ve Özellikleri , Türkiye 10. Gıda Kongresi Erzurum.
- Hayaloğlu AA, Fox PF. 2008. Cheeses of Turkey: 3. Varieties containing herbs or spices. Lait.
- Kamber U. 2005. Geleneksel Anadolu Peynirleri, Miki Matbaacılık A.Şi, s. 65, Ankara.
- Konar, A., & Güler, M. B. (1998). Manufacturing, chemical compositions and proteolysis levels of Hatay Carra cheese [In Turkish]. In 5th Symposium of milk and milk products, Tekirdağ, Turkey.
- Ünsal, Artun. 1997. Süt Uyuyunca Türkiye Peynirleri, s. 99, İstanbul.

BAZI DEKONTAMİNANTLARIN BÜTÜN HALDEKİ GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (ONCORHYNCHUS MYKISS, W. 1972) MİKROBİYOLOJİK VE KİMYASAL KALİTESİNE ETKİLERİ VE FARKLI BİR ÖRNEK ALMA METODUNUN KULLANIMI

Sunum Tipi: Poster

Abdullah DİKİCİ, Gıda Mühendisliği, Tunceli Üniversitesi
Emine ÖZPOLAT, Avlama ve İşleme, Fırat Üniversitesi
Ahmet KOLUMAN, Mikrobiyoloji, Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı
Bahri PATIR, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Fırat Üniversitesi
Mehmet ÇALICIOĞLU, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Fırat Üniversitesi

Özet

Bu çalışmada %0.5 cetylpyridinium chloride, %10 trisodium phosphate, %2.5 asetik asit, %2.5 laktik asit ve 1200 ppm asidifiye sodyum klorit'in sindirim sistemi çıkartılmış bütün haldeki gökkuşağı alabalıklarının raf ömrü üzerine etkisi incelenmiştir. Kontrol grubu olarak su kullanılmıştır. Her grupta 6'şar adet balık dekontaminantlarla 20 oC'de 2 dakika muamele edilerek polietilen plastik tabaklarda streç film ile kaplanmış ve 4 oC'de muhafazaya alınmıştır. Örnekler, 0., 3., 6., 9., 12. ve 15. günlerde mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler yönünden analiz edilmiştir. Bu kapsamda, mikrobiyolojik olarak mezofil aerob bakteri, psikrofil aerob bakteri, laktik asit bakterileri, *Pseudomonas* spp., koliform, *Enterobacteriaceae* sayımları ve kimyasal olarak pH, toplam uçucu bazik azot (TVB-N) ve tiobarbiturik asit (TBA) analizleri yapılmıştır. Mikrobiyolojik örnekler, USDA/FSIS tarafından kanatlı karkasları için onaylanmış metod da değişiklikler yapılarak kullanıldı. Bu amaç için yaklaşık 250+25 g ağırlığındaki balıklar karıştırıcı steril poşete konulmuş ve 100 ml peptonlu su ilave edilerek el ile 2 dakika sert şekilde karıştırılmış ve analize alınmıştır. Tüm dekontaminasyon gruplarında istatistiksel olarak kontrol grubuna göre mikrobiyolojik açıdan önemli etki ($p < 0.05$) gözlemlenmiştir. Kullanılan mikrobiyolojik metodun sonuçları diğer çalışmalardaki veriler ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edildiği saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre gökkuşağı alabalıklarında dekontaminasyon yöntemi raf ömrünü artırdığı saptanmıştır. Ayrıca kullanılan mikrobiyolojik örnek alma yönteminin kullanım kolaylığı ve sonuçların tutarlılığı yönünden bilimsel çalışmalarda kullanılması tavsiye edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Balık, dekontaminasyon, raf ömrü, antimikrobiyal.

DETERMINATION OF EFFECTS OF DIFFERENT DECONTAMINANTS ON MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL QUALITY OF WHOLE RAINBOW TROUT (ONCORHYNCHUS MYKISS, W. 1972) AND USE OF A DIFFERENT SAMPLING METHOD

Abstract

This study was designed to determine effect of decontamination with %0.5 cetylpyridinium chloride, %10 trisodium phosphate, %2.5 acetic acid, %2.5 lactic acid and 1200 ppm acidified sodium chloride on shelf life of whole Rainbow trouts. Water was applied in control groups. In every group 6 fish were applied decontaminants at 20 oC for 2 min and placed in polyethylene ware and covered with stretch films and stored at 4 oC.

were analyzed on the analysis day (day 0), 3th, 6th, 9th, 12th and 15th days of application for mesophilic counts, psychrophilic counts, lactic acid bacteria, *Pseudomonas* spp. and *Enterobacteriaceae* for microbiological counts and for chemical quality pH, total volatile alkaline nitrogen (TVB-N), thiobarbituric acid (TBA) were determined. Microbiological samples were evaluated with a modification in USDA/FSIS chicken carcass method. For this purpose samples weighting 250±25 g were put in sterile bags and added 100 ml peptone water and massaged with hand for 2 min. The data of microbiological analysis showed that decontamination application has a significant improvement on microbiological quality with comparing to the control group. The results of microbiological analysis were similar with the data of other studies. The results of this study indicate that decontamination extends the shelf life of Rainbow trout. Additionally microbiological sampling protocol which is easy and gives coherent results, can be used in similar studies.

Key words: Fish, decontamination, shelf life, antimicrobial

Giriş

Dengeli ve sağlıklı beslenmenin gittikçe önem kazandığı günümüzde; gıdaların hijyenik ve ekonomik olmasının yanı sıra, protein, karbonhidrat, yağ, vitamin ve mineral maddeleri yeterli ve dengeli bir biçimde içermesi gerekmektedir. Su ürünleri özellikle balıklar insanların bu ihtiyaçlarına cevap verebilen gıdalar arasında yer almaktadır. Fakat balık eti, avlandığı andan itibaren sahip olduğu yapısı itibarıyla hızla bozulmaya başlar. Bu nedenle avlanmayı takiben kısa süre içinde tüketilmeli veya uygun koşullarda muhafaza edilerek tüketiciye en iyi kalitede ulaştırılması sağlanmalıdır (Anonim, 2000; Varlık vd., 2004).

Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1972) ülkemizde yetiştiriciliği oldukça yaygınlaşan bir tür olup son on yıl içerisinde yaklaşık 8 kat artarak 5.000 ton/yıl'dan 40.000 ton/yıl'a ulaşmıştır (DPT, 2004). 2008 istatistiklerine göre ülkemizdeki alabalık üretimi yaklaşık 65.928 tondur (URL, 2010). Alabalıklar genellikle kırmızı etli balıklar olarak bilinmesine rağmen kültür alabalığının et rengi verilen yemle değişim göstermektedir. Et verimi yaklaşık %60,73'tür. (Köprücü ve Özdemir, 2000; Dönmez ve Tatar, 2001).

Balık etlerini kontaminasyonlardan korumak ve sağlıklı bir şekilde tüketiciye ulaştırmak amacıyla çeşitli maddelerden yararlanılır. Trisodyum fosfat (TSP); güçlü çözücü tozlar olup, çok korozotiftirler, proteinleri etkili şekilde çözme yetenekleri nedeni ile alkali bileşikler temizlik ürünlerinin temel bileşenidir. Uygulanabilirliği pH değeri ve çözeltinin tamponlama kapasitesine bağlıdır. Uzun süreli temaslarda dokularda kalıcı zararlara yol açarlar. Korozyon etkilerini azaltmak için azot oksit/silikon dioksit (N_2O/SiO_2)'i yüksek oranda içeren silikatlar ilave edilebilir (Özdemir, 2006; Karagözoğlu ve Karagözoğlu, 2004). Asetik asit (AA); asit bileşikler sınıfında olup, materyallerin yüzeyinde kabuklaşmış kir tabakalarını uzaklaştırmak için kullanılır. Asidik temizleme bileşikleri spesifik tipte bir temizleyici olup genel amaçlı ve etkili bir temizleme bileşiği olarak tanımlanmazlar. Mineral birikintilerinin temizlenmesinde pH değerlerine bağlı olarak etki gösteren maddelerdir (Karagözoğlu ve Karagözoğlu, 2004). Laktik asit (LA), ayırtmama yeteneğinden dolayı bakteri hücre zarındaki proton pompasını etkisiz hale getirerek bakterisit etki sağladığı belirlenmiştir. Kanatlı etlerinde kullanılmaktadır (Yalçın ve Arslan 2011). Asidifiye sodyum klorür (ASC), kanatlılarda karkas dekontaminasyonu için kullanılan maddelerden biridir. Cetylridium klorür (CPC) ise, suda çözünmeyen, pH'sı nötre yakın bir maddedir. Kanatlı hayvanlarda, balık, kırmızı et sektörü ve hazır gıdalarda bakteriyel kontrol amaçlı kullanılmaktadır (Yalçın ve Arslan 2011).

Bu çalışmada sindirim sistemi çıkarılmamış gök kuşuğu alabalıklarının %0.5 CPC, %10 TSP, %2.5 asetik asit, %2.5 laktik asit, 1200 ppm asidifiye sodyum klorit ve su ile dekontaminasyonlarının gökkuşuğu alabalıklarının mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Ayrıca mikrobiyolojik örnek alma yöntemi, kanatlı karkaslarında kullanılan yöntemin değiştirilmesi ile elde edilen farklı, pratik bir metod olup, bu metodun kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Elazığ bölgesinde kültür alabalık yetiştiriciliği yapan bir işletmeden elde edilen balıklar kullanıldı. Çalışma 3 tekrar halinde yapıldı. Farklı dekontaminatların kullanıldığı 6 deneysel grubun 0., 3., 6., 9., 12. ve 15. günlerinde kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapıldı. Çalışma boyunca toplam 108 adet balık (250+25 g) numunesi değerlendirildi. Deneysel Gruplar

1. Grup: Kontrol (su)
2. Grup: %0.5 CPC (Sigma, Taufkirchen, Germany)
3. Grup: %10 TSP (Merck, Darmstadt, Germany)
4. Grup: %2.5 asetik asit (Carlo Erba Reactifs, Val de Reuil, France)
5. Grup: %2.5 laktik asit (Carlo Erba Reactifs, Val de Reuil, France)
6. Grup: 1200 ppm asidifiye sodyum klorit (Merck, Darmstadt, Germany)

Yöntem

Her tekrarda bir grup için toplam 6 balık numunesi (0., 3., 6., 9., 12. ve 15. gün) kullanıldı. Balıklar 2 litrelik tankta 20 °C'de 2 dakika dekontamine edildikten sonra polietilen plastik tabaklara yerleştirildi ve üzeri streç filmle kaplandıktan sonra +4 °C'de muhafaza edildi.

Mikrobiyolojik Örnek Alma Yöntemi ve Analizler

Tavuk karkaslarında karkas başına 400 ml steril peptonlu su ilave edip 2 dakika çalkalama sonrası, çalkalama sıvısından örnek alma metodu (USDA/FSIS, 2002) modifiye edilerek kullanıldı. Bu amaçla yaklaşık 200 g ağırlığındaki sindirim sistemi çıkartılmamış balık karkaslarına 100 ml steril peptonlu su ilave edilip 2 dak. elde sert bir şekilde çalkalandı. Çalkalama sıvısından 1/10'luk düzende 1/108'e kadar seyreltilerek çeşitli bakteriler için ekimleri yapıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Mikrobiyolojik analizler için kullanılan besiyeri, inkübasyon yöntemi ve referanslar.

Mikroorganizma	Besiyeri	İnkübasyon		Referans
		°C	Zaman	
Mezofil aerob bakteri	Plate count agar (PCA)	30	72 saat	Jay (2002)
Psikrofil aerob bakteri	Plate count agar (PCA)	7	10 gün	Cousin ve ark. (2001)
Enterobacteriaceae	Violet red bile glucose agar (VRBGA)	35	24 saat	Baird ve ark. (1987)
Koliform	Violet red bile agar (VRBA)	35	24 saat	Baird ve ark. (1987)
Laktik asit bakterisi	Man, Rogosa, Sharpe (MRS) agar	30	72 saat	Baird ve ark. (1987)
Maya	Rose Bengal Agar Base (RBC), Kloramfenikol katkı ilaveli	25	3-5 gün	Zeitoun ve Debevere (1990)
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> Agar Base, cetrinide, fucidin, and cephaloridine (CFC) katkı ilaveli	25	48 saat	Sallam (2007)

Kımyasal Analizler

pH ölçümü taze balıkların anterior-dorsal bölgelerinde bulunan kaslardan cam elektrodun (pH 2001, Selecta, Spain) direkt batırılması sonu elde edilmiştir. Toplam uçucu bazık azot (TVB-N) miktarları su buharı distilasyonu cihazı kullanılarak Varlık vd. (1993) bildirdiği yöntemle göre belirlendi. TBA sayısı ise, spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve 1000 g örnekteki malonaldehit miktarı üzerinden hesaplanmıştır (Tariadgis vd. 1960).

İstatistiksel Analiz

Analiz sonucunda elde edilen ve log₁₀ 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 interaksyonlar 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

Kımyasal ve mikrobiyolojik sonuçlar tablo 2 ve tablo 3'de verilmiştir.

Tartışma

Bu çalışmada farklı dekontaminatların organları çıkarılmamış gökkuşağı alabalıklarında raf ömrü üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırmada farklı bir örnek alma metodu kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm deneysel gruplar ile kontrol grubu arasında mikrobiyolojik yönden istatistiksel anlamda önemli bir fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Kullanılan mikrobiyolojik metodun bu konuda yapılan diğer çalışmalar ile uyum içinde olduğu saptanmıştır (Sallam, 2007; Yalçın ve Arslan, 2011; Zeitoun ve Debever, 1990). Özellikle uygulama kolaylığı nedeniyle ve yüzey örnekleme metodu ile alınan örneklerle arasında uyumsuzluk bulunmamasından dolayı bu yeni metodun laboratuvarlarda örnek almak amacıyla kullanılması tavsiye edilmektedir.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2000. Su Ürünleri Kalite Kontrol El Kitabı. Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara
- Baird R.M., Corry J.E.L., Curtis G.D.W. (1987). Pharmacopeia of culture media for food microbiology. International Journal of Food Microbiology 5, 221-222.
- Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Florou-Paneri, P., Christaki, E. ve Spais, A.B. 2003. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopherylacetate supplementation, Food Research International. 36: 207-213.
- Cousin M.A., Jay J.M., Vasavada P.C. (2001). Psychrotrophic microorganisms, In: Downes, F.P., Ito, K. (Eds.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C., pp. 159-166.
- Devlet Planlama Teşkilatı. 2004. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı (2001-2005). 2004 Yılı Programı, DPT, Ankara.
- Dönmez M., Tatar O. (2001). Fileto ve bütün olarak dondurulmuş Gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) muhafazası süresince yağ asitleri bileşimindeki değişimlerin araştırılması. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 18 (1-2), 125-134.
- Jay J.M. (2002). A review of aerobic and psychrotrophic plate count procedures for fresh meat and poultry products. Journal of Food Protection 65, 1200-1206.
- Karagözoğlu C., Karagözoğlu N. (2004). Süt Endüstrisinde Deterjan Ve Dezenfektan Kalıntılarının Önemi. HR. Ü. Z. F. Dergisi, 8(3/4):73-81.

Köprücü K., Özdemir Y. (2000). Farklı esansiyel amino asit düzeylerinin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin büyüme performansına etkisi. Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 12(1), 353-362.

Özdemir H. (2006). Trisodyum fosfatın piliç göğüs derilerinde aerob mezofil bakteriler, psikrotrof bakteriler, *Pseudomonas* spp. ve enterobakteriler üzerine etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 53,61-63.

Sallam K.I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18, 566-575.

Tarlacıs B.G., Watts B.M., Younnathan M.T., Dugan L.R. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. J Am Oil Chem Soc, 37, 44-48.

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

URL, 2010. www.tuik.gov.tr

Varlık C., Erkan N., Özden Ö., Mol S., Baygar T. (2004). Su Ürünleri İşleme, Teknolojisi, İstanbul Üniv., Su ürünleri Fak., İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, 491 s.

Varlık C., Uğur M., Gökoğlu N., Gün H. (1993). Su Ürünlerinde Kalite Kontrol İlke ve Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:17, İstanbul, 174s.

Yalçın H., Arslan A. (2011). *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* İle Kontamine Edilmiş Broyler Karkaslarında Laktik Asit, Cetylpyridinium Chloride ve Trisodyum Fosfat'ın Tekil ve Kombine Etkilerinin İncelenmesi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 17(4): 625-630.

Zeitoun A.A.M., Debevere J.M. (1990). The effect of treatment with buffered lactic acid on microbial decontamination and on shelf life of poultry. International Journal of Food Microbiology, 11, 305-311

Tablo 2. Farklı dekontaminantlar ile muamele sonucu bütün haldeki gökkuşağı alabalıklarındaki kimyasal değişimler (n:3, N:2).

	Gün	Kontrol	%0.5 CPC	1200 ppm ASC	%10 TSP	%2.5 LA	%2.5 AA
pH	0	6.41±0.03 ^{ax}	6.43±0.1 ^{ax}	6.46±0.13 ^{ax}	6.5±0.09 ^{ax}	6.51±0.01 ^{ax}	6.43±0.1 ^{ax}
	3	6.46±0.08 ^{ax}	6.42±0.08 ^{ax}	6.43±0.11 ^{ax}	6.49±0.04 ^{ax}	6.46±0.15 ^{ax}	6.41±0.2 ^{ax}
	6	6.4±0.11 ^{ax}	6.4±0.06 ^{ax}	6.42±0.2 ^{ax}	6.51±0.01 ^{ax}	6.41±0.08 ^{ax}	6.38±0.11 ^{ax}
	9	6.36±0.18 ^{ax}	6.38±0.01 ^{ax}	6.39±0.08 ^{axy}	6.53±0.02 ^{ay}	6.38±0.22 ^{ax}	6.36±0.01 ^{ax}
	12	6.37±0.24 ^{axy}	6.37±0.04 ^{axy}	6.37±0.19 ^{axy}	6.53±0.03 ^{ay}	6.31±0.09 ^{ax}	6.33±0.08 ^{ax}
	15	6.34±0.09 ^{ax}	6.35±0.05 ^{ax}	6.35±0.07 ^{ax}	6.54±0.05 ^{ay}	6.29±0.08 ^{ax}	6.3±0.09 ^{ax}
TVB	0	4.18±0.38 ^{ax}	3.51±0.26 ^{ax}	3.98±0.08 ^{ax}	3.84±0.24 ^{ax}	3.77±0.23 ^{ax}	3.16±0.39 ^{ax}
	3	4.99±0.49 ^{ax}	4.22±0.28 ^{ax}	4.55±0.2 ^{ax}	4.89±0.51 ^{ax}	5.51±0.13 ^{ax}	4.94±0.2 ^{ax}
	6	6.64±1.83 ^{by}	4.94±0.16 ^{ax}	7.24±0.41 ^{byz}	8.22±0.85 ^{cz}	5.93±0.37 ^{axy}	7.91±0.36 ^{cz}
	9	9.12±1.09 ^{cx}	8.33±0.62 ^{bx}	8.89±0.11 ^{cx}	11.51±0.4 ^{ay}	8.95±0.58 ^{cx}	11.24±0.65 ^{ay}
	12	14.39±0.83 ^{ay}	13.29±0.6 ^{axy}	12±0.69 ^{ax}	16.17±1.32 ^{az}	13.58±0.9 ^{axy}	14.67±0.63 ^{ay}
	15	18.74±0.81 ^{ay}	16.38±0.43 ^{ax}	16.42±0.48 ^{cx}	22.02±0.43 ^{cz}	16.69±0.46 ^{cx}	17.44±0.92 ^{cz}
TBA	0	0.22±0.05 ^{ax}	0.16±0.03 ^{ax}	0.22±0.04 ^{ax}	0.23±0.04 ^{ax}	0.24±0.05 ^{ax}	0.23±0.07 ^{ax}
	3	0.41±0.16 ^{ax}	0.49±0.16 ^{ax}	0.46±0.12 ^{ax}	0.61±0.12 ^{ax}	0.44±0.18 ^{ax}	0.57±0.26 ^{ax}
	6	1.33±0.43 ^{ax}	0.53±0.19 ^{ax}	1.19±0.11 ^{ax}	0.96±0.15 ^{ax}	1.14±0.16 ^{ax}	0.94±0.44 ^{ax}
	9	1.63±0.31 ^{axy}	1.13±0.49 ^{ax}	1.99±0.19 ^{by}	2.07±0.27 ^{ay}	2.55±0.3 ^{ay}	1.54±0.28 ^{axy}
	12	3.66±0.11 ^{xyz}	1.37±0.67 ^{bx}	4.17±0.75 ^{cz}	3.53±0.48 ^{xyz}	4.88±0.47 ^{az}	2.79±0.26 ^{ay}
	15	5.05±0.05 ^{ay}	2.39±0.87 ^{cx}	5.52±0.84 ^{xyz}	5.43±0.36 ^{ay}	6.27±0.09 ^{cz}	5.69±0.67 ^{xyz}

abcd: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).
XYZW: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05)

Tablo 3. Farklı dekontaminantlar ile muamele sonucu organları çıkartılmamış gökkuşağı alabalıklarındaki mikrobiyolojik değişimler (log10 kob/ml) (n:3, N:2).

	Gün	Kontrol	%0.5 CPC	1200 ppm ASC	%10 TSP	%2.5 I.A	%2.5 A.A
Aerobik Mezofil Canlı Sayısı	0	3.32±0.13 ^{AY}	1.59±0.9 ^{AT}	2.42±0.17 ^{AY}	2.51±0.16 ^{AY}	2.35±0.07 ^{AY}	2.89±0.21 ^{AY}
	3	5.29±0.27 ^{AY}	2.25±0.74 ^{AT}	2.98±0.1 ^{AY}	3.66±0.37 ^{AY}	3.44±0.6 ^{AY}	3.29±0.5 ^{AY}
	6	6.43±0.28 ^{AY}	3.47±0.73 ^{AT}	3.76±0.73 ^{AY}	4.38±1.11 ^{AY}	4.47±0.89 ^{AY}	4.62±0.43 ^{AY}
	9	7.65±0.09 ^{AY}	6.1±0.17 ^{AT}	5.63±0.28 ^{AY}	5.51±0.55 ^{AY}	5.63±0.59 ^{AY}	5.3±0.45 ^{AY}
	12	8.68±0.18 ^{AY}	7.54±0.3 ^{AT}	6.59±0.07 ^{AY}	7.41±0.39 ^{AY}	7.52±0.39 ^{AY}	6.5±0.47 ^{AY}
	15	9.42±0.25 ^{AY}	8.68±0.28 ^{AY}	7.98±0.21 ^{AY}	8.47±0.32 ^{AY}	8.34±0.25 ^{AY}	7.67±0.38 ^{AY}
Aerobik Psilofili Canlı Sayısı	0	3.06±0.53 ^{AY}	1.09±0.14 ^{AT}	1.61±0.49 ^{AT}	1.16±0.27 ^{AT}	1.18±0.22 ^{AT}	1.23±0.37 ^{AT}
	3	4.01±0.65 ^{AY}	1.96±1.02 ^{AT}	2.65±0.25 ^{AT}	2.36±0.97 ^{AT}	2.67±0.83 ^{AT}	2.1±0.86 ^{AT}
	6	4.98±0.73 ^{AY}	3.47±1.46 ^{AT}	3.5±0.94 ^{AT}	3.85±0.54 ^{AT}	3.35±0.68 ^{AT}	3.43±0.98 ^{AT}
	9	5.77±0.63 ^{AY}	4.65±1.68 ^{AY}	4.32±1.06 ^{AT}	5.33±0.2 ^{AY}	4.72±0.6 ^{AY}	4.11±1.21 ^{AT}
	12	7.06±0.2 ^{AY}	5.75±1.47 ^{AT}	5.35±1.11 ^{AT}	6.51±0.28 ^{AY}	5.78±0.79 ^{AT}	5.43±1.06 ^{AT}
	15	8.23±0.4 ^{AY}	7.05±1.18 ^{AT}	6.1±1.2 ^{AT}	7.48±0.27 ^{AT}	6.94±0.5 ^{AT}	6.51±0.74 ^{AT}
Laktik Asit Bakterisi	0	2.6±0.36 ^{AY}	0.95±0.3 ^{AT}	1.48±0.38 ^{AY}	1.77±0.31 ^{AY}	1.49±0.44 ^{AY}	1.57±0.5 ^{AY}
	3	3.29±0.84 ^{AY}	1.53±0.23 ^{AT}	2.06±0.58 ^{AT}	2.6±0.51 ^{AY}	2.48±0.9 ^{AY}	2.63±0.25 ^{AY}
	6	4.02±0.96 ^{AY}	2.85±0.23 ^{AY}	2.75±0.58 ^{AT}	3.9±0.62 ^{AY}	3.01±1.01 ^{AY}	3.9±0.78 ^{AY}
	9	5.38±0.68 ^{AY}	3.98±0.49 ^{AT}	4.45±0.21 ^{AY}	5.07±0.39 ^{AY}	4.84±0.48 ^{AY}	5.16±0.38 ^{AY}
	12	7.14±0.13 ^{AY}	5.38±0.27 ^{AT}	5.43±0.19 ^{AY}	6.33±0.36 ^{AY}	6.43±0.24 ^{AY}	6.19±0.14 ^{AY}
	15	7.96±0.13 ^{AY}	6.37±0.22 ^{AT}	6.45±0.19 ^{AT}	7.33±0.07 ^{AY}	7.33±0.07 ^{AY}	7.41±0.23 ^{AY}
Pseudomonas spp.	0	1.05±0.12 ^{AT}	0.95±0.1 ^{AT}	0.95±0.11 ^{AT}	0.95±0.21 ^{AT}	0.95±0.19 ^{AT}	0.95±0.11 ^{AT}
	3	1.58±0.39 ^{AY}	0.95±0.13 ^{AT}	1.47±0.26 ^{AY}	0.99±0.38 ^{AT}	0.98±0.37 ^{AT}	0.97±0.21 ^{AT}
	6	2.67±0.18 ^{AT}	1.84±0.09 ^{AY}	2.15±0.19 ^{AY}	1.37±0.23 ^{AY}	1.35±0.11 ^{AY}	1.21±0.16 ^{AT}
	9	4.17±0.16 ^{AT}	2.54±0.21 ^{AY}	2.72±0.14 ^{AY}	2.38±0.22 ^{AY}	2.25±0.12 ^{AY}	1.59±0.16 ^{AT}
	12	6.34±0.34 ^{AT}	4.51±0.46 ^{AT}	3.06±0.18 ^{AY}	3.62±0.23 ^{AY}	4.23±0.25 ^{AT}	2.62±0.26 ^{AT}
	15	7.23±0.22 ^{AY}	5.95±0.39 ^{AT}	4.51±0.27 ^{AT}	4.53±0.31 ^{AY}	5.52±0.21 ^{AT}	3.73±0.17 ^{AT}
Enterobacteriaceae	0	1.78±0.21 ^{AY}	0.95±0.18 ^{AT}	0.95±0.16 ^{AT}	0.95±0.18 ^{AT}	0.95±0.07 ^{AT}	0.95±0.03 ^{AT}
	3	1.86±0.09 ^{AY}	1.14±0.13 ^{AT}	1.3±0.29 ^{AT}	1.04±0.17 ^{AT}	1.38±0.11 ^{AT}	1.25±0.11 ^{AT}
	6	2.66±0.13 ^{AY}	1.5±0.32 ^{AT}	2.35±0.18 ^{AY}	1.89±0.05 ^{AY}	2.48±0.19 ^{AY}	2.58±0.16 ^{AY}
	9	4.68±0.35 ^{AY}	3.09±0.16 ^{AY}	3.27±0.18 ^{AT}	3.28±0.24 ^{AT}	3.61±0.23 ^{AT}	3.41±0.18 ^{AT}
	12	6.47±0.41 ^{AT}	4.48±0.16 ^{AY}	3.74±0.13 ^{AT}	3.87±0.26 ^{AY}	4.59±0.17 ^{AY}	4.61±0.3 ^{AY}
	15	7.03±0.24 ^{AT}	5.75±0.13 ^{AY}	4.71±0.09 ^{AT}	4.54±0.18 ^{AT}	5.4±0.26 ^{AY}	5.61±0.2 ^{AY}
Kolliform	0	1.63±0.12 ^{AY}	0.95±0.04 ^{AT}	0.95±0.02 ^{AT}	0.95±0.02 ^{AT}	0.95±0.02 ^{AT}	0.95±0.03 ^{AT}
	3	2.08±0.23 ^{AT}	0.97±0.08 ^{AT}	1.44±0.11 ^{AT}	0.95±0.04 ^{AT}	1.00±0.12 ^{AT}	0.99±0.09 ^{AT}
	6	2.69±0.07 ^{AT}	1.46±0.27 ^{AT}	1.57±0.16 ^{AY}	1.9±0.41 ^{AY}	1.06±0.19 ^{AT}	1.47±0.15 ^{AT}
	9	4.44±0.33 ^{AT}	2.49±0.17 ^{AY}	3.24±0.22 ^{AT}	2.58±0.06 ^{AY}	1.75±0.11 ^{AT}	1.92±0.08 ^{AY}
	12	5.74±0.11 ^{AT}	4.18±0.16 ^{AY}	3.61±0.22 ^{AY}	3.29±0.27 ^{AT}	3.31±0.34 ^{AT}	3.57±0.44 ^{AY}
	15	6.54±0.16 ^{AT}	5.46±0.16 ^{AY}	4.29±0.18 ^{AT}	4.38±0.15 ^{AT}	4.51±0.22 ^{AT}	4.52±0.25 ^{AT}
Maya	0	1.73±0.41 ^{AY}	0.95±0.03 ^{AT}	0.95±0.02 ^{AT}	0.95±0.03 ^{AT}	0.95±0.04 ^{AT}	1.44±0.23 ^{AY}
	3	2.61±0.4 ^{AY}	1.05±0.84 ^{AT}	1.23±0.1 ^{AY}	1.02±0.07 ^{AT}	1.61±0.16 ^{AT}	1.94±0.04 ^{AT}
	6	2.81±0.11 ^{AT}	1.67±0.09 ^{AT}	1.58±0.38 ^{AT}	2.17±0.25 ^{AY}	2.19±0.15 ^{AY}	2.11±0.11 ^{AY}
	9	3.36±0.11 ^{AT}	3.14±0.08 ^{AY}	3.15±0.15 ^{AT}	3.51±0.13 ^{AY}	3.34±0.11 ^{AT}	3.38±0.09 ^{AT}
	12	4.42±0.21 ^{AY}	4.1±0.08 ^{AY}	3.76±0.23 ^{AT}	3.85±0.06 ^{AT}	4.48±0.27 ^{AY}	4.96±0.31 ^{AT}
	15	5.73±0.14 ^{AT}	5.08±0.09 ^{AY}	4.63±0.24 ^{AY}	4.72±0.19 ^{AY}	5.55±0.18 ^{AT}	6.1±0.34 ^{AY}

abcd: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).
XYZW: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).

Bildiri No: 93

Kategori: Genel

VAN İLİNDE DONDURULMUŞ OLARAK SATIŞA SUNULAN BAZI ET ÜRÜNLERİNİN MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ

Sunum Tipi: Poster

Mustafa ATLAN, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Özgür İŞLEYİCİ, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi-Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Özet

Bu çalışma ile Van'da gittikçe daha yaygın olarak tüketilmeye başlanan ve dondurulmuş olarak satışa sunulan tavuk but, tavuk baget, tavuk göğüs, tavuk kanat, tavuk sakatat, hamburger köfte, İnegöl köfte, Tekirdağ köfte, kasap köfte ve pizzaların mikrobiyolojik kaliteleri ortaya konulmuştur. Analize alınan tüm örneklerde aerobik mezofilik mikroorganizma, *E. coli*, koliform, enterokok, Enterobacteriaceae, laktobasil, koagülaz (+) *S. aureus*, *Pseudomonas* ve maya/küf sayısı ile pH ve su aktivitesi değerlerinin sırasıyla 1.48-5.44, <1.0-2.58, <1.0-3.27, <1.0-3.40, <1.0-3.99, <1.0-4.76, <1.3-3.91, <1.3-3.99, <1.0-3.66 log10 kob/g, 4.71-7.92 ve 0.836-0.988 değerleri arasında değiştiği belirlenmiştir.

Örneklerde *Salmonella* spp. tespit edilemezken, sülfid indirgeyen anaerobik sporlu bakteriler ise örneklerin tamamında analiz tespit sınırının (<10) altında bulunmuştur. Çalışma sonucunda örneklerin büyük bir kısmının yasal kriterlere uygun olduğu, ancak aynı zamanda birçok patojeni az sayıda da olsa içerdiği, bu nedenle bu tür dondurulmuş ürünlerin üretiminden tüketimine kadar olan aşamalarda HACCP gibi uygulamalarla gerekli hijyenik tedbirlerin alınması ve rutin kontrollerin yapılması gerektiği ortaya konmuştur.

Anahtar Sözcük: Dondurulmuş et, et ürünleri, mikrobiyolojik kalite

MICROBIOLOGIC QUALITY OF SOME MEAT PRODUCTS SOLD AS FROZEN IN VAN

Summary:

In this study, microbiologic qualities of chicken leg, chicken baguette, chicken breast, chicken wing, chicken offal, hamburger meatball, İnegöl meatball, Tekirdağ meatball, butcher meatball and pizzas consumed widely and sold frozen in Van were evaluated. Mean aerobic mesophilic microorganism *E. coli* coliform, Enterococcus, Enterobacteriaceae, Lactobacillus, coagulase (+) *S. aureus*, *Pseudomonas* and yeast/mold numbers, pH and water activity values in samples analysed of all samples between 1.48-5.44, <1.0-2.58, <1.0-3.27, <1.0-3.40, <1.0-3.99, <1.0-4.76, <1.3-3.91, <1.3-3.99, <1.0-3.66 log10 kob/g, 4.71-7.92 ve 0.836-0.988

While *Salmonella* species analysed were not found, in all samples sulphite reduction anaerobic spore forming bacteria were found at the border below of normal values (<10). At the end of the study, most of the samples were relevant to legal criteria but at the same time a lot of pathogens were found as low levels, precautions such as HACCP from production to consuming were important in view of public health and food security should be established.

Key words: frozen meat, meat products, microbiologic quality

GİRİŞ

Gıda endüstrisi günümüzün sosyal ve ekonomik şartlarına hızlı bir şekilde uyum sağlamış ve değişen tüketici isteklerine uygun gıdaların üretimine geçmiştir. Gıda tüketim tercihlerindeki değişimlere paralel olarak gelişen sektörlerden birisi de dondurulmuş gıda sektörüdür. Günümüzde kolay ve değişik şekillerde hazırlanabilen, her mevsim tüketilebilen, üretildiği mevsim dışında diğer mevsimlerde de doğal özelliklerini neredeyse tazesine yakın ölçülerde koruyabilen dondurulmuş gıdaların tüketimi hızlı bir şekilde artmaktadır (34,36).

Gıda üretimi içerisinde giderek daha büyük bir pay almaya başlayan dondurulmuş et ve et ürünleri, eğer üretimlerinden tüketilmelerine kadar olan aşamalarda gerekli teknik ve hijyenik şartlara ve soğuk zincir uygulamalarına dikkat edilmezse toplum sağlığı için büyük problemlere yol açabilirler (4,16).

Dondurma işlemi bazen gıdalardaki mikroorganizmaları öldürücü etki gösterse de genellikle onların gelişimini yavaşlatan veya durduran bir muhafaza yöntemidir. Ette bulunan mikroorganizmalar, ürün oda sıcaklığında bekletildiğinde hemen çoalmaya başlar. Dondurulmuş et ve et ürünleri üretiminde en önemli nokta, mikrobiyolojik kalitesi yüksek hammadde kullanımı ve soğuk zincirin sürekliliğidir (15,23,29).

Et ve et ürünlerine bulaşan mikroorganizmaların bu ürünlerde üreyebilmesi, bazen et ya da et ürününün pH, su aktivitesi ve rutubet miktarı gibi özellikleri ile ilgili iken bazen de mikroorganizmanın optimum üreme ısı ve pH'sı gibi özellikleri ya da ürünün depolama şartlarına (depolama ısı, relatif rutubeti, hava akım hızı gibi) bağlıdır. Et ürünlerinde mikrobiyolojik kalitenin, üretim sanitasyon koşullarının ve kalitenin değerlendirilmesinde aerobik mikroorganizmalar, *E. coli*, *S. aureus*, koliform, *Salmonella*, *Clostridium*, *Enterococci*, laktik asit bakterileri ve maya-küf gibi mikroorganizma ya da mikroorganizma gruplarından indikatör mikroorganizmalar olarak yararlanılmaktadır (14,30,39,48).

Bu çalışma ile; ülkemizde üretimi giderek artmakta olan ve dondurulmuş olarak satışa sunulan bazı et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenerek, bu ürünlerin halk sağlığı açısından bir risk oluşturup oluşturmadıklarının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Gereç

Bu araştırmada; Van İl'indeki süpermarketlerde dondurularak muhafaza edilen ve satışa sunulan tavuk but, tavuk baget, tavuk göğüs, tavuk kanat, tavuk sakatat, hamburger köfte, İnegöl köfte, Tekirdağ köfte, kasap köfte ve pizzalardan en az 200 g olacak şekilde ticari ambalajları açılmadan 20'şer adet olmak üzere toplam 200 örnek aseptik şartlarda steril cam kavanozlara alınarak +4 °C'de soğuk zinciri sağlayabilen kaplarda laboratuvara getirilmiş ve örnekler +4 °C'de çözündürüldükten sonra analize alınmıştır (27).

Örneklerin kimyasal ve mikrobiyolojik analizlere hazırlanması

Mikrobiyolojik analizler için; her örnek aseptik şartlarda parçalanarak homojen olarak karıştırıldıktan sonra 25 g'lık kısım tartılarak alınmış ve 225 ml steril tamponlanmış peptonlu su içeren stomacher kabına konularak homojenize edilmiştir. Böylece 1:10 dilüsyonu sağlanan homojenizatın steril peptonlu fizyolojik tuzlu su ile 10-9'a kadar seri desimal dilüsyonlar hazırlanmış ve bu dilüsyonlardan ekim yapılmış, aynı örnek karışımından gerekli miktarlarda alınarak zenginleştirme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Örnekten kalan diğer kısımlar da kimyasal analizler için kullanılmıştır (27).

Yöntem

pH değerinin belirlenmesi

Örneklerde pH değerinin tespit edilmesi Gökalp ve ark., (26) tarafından bildirilen yöntemle göre Hanna-HI 221 ® marka pH-metrede yapılmıştır.

Su aktivitesinin belirlenmesi

Örneklerin su aktiviteleri Rödel ve ark., (43)'nın bildirdiği şekilde Novasina ® MS 1 Set aw cihazı ile yapılmıştır.

Mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analizlerin yapıldığı besiyerleri, ekim şekilleri ve inkubasyon koşulları Tablo 1'de sunulmuştur.

PCA'da üreyen bütün koloniler aerobik mezofilik mikroorganizma (12), VRBA'da üreyen koyu kırmızı ve 1-2 mm çapında veya daha büyük koloniler koliform (41), TBX Medium'da üreyen mavi-yeşil renkli koloniler *E. coli* (6,41), VRBGA'da üreyen 1-2 mm çapında, kırmızı renkli ve oksidaz (-) olan tüm koloniler enterobakteri (12,13), Slanetz&Bartley Medium'da üreyen 1-2 mm'den büyük ve pembe-kırmızıdan kahverengiye kadar değişen renkteki koloniler enterokok (12), PA'da üreyen 1 mm çapından büyük ve oksidaz (+) olan koloniler *Pseudomonas* spp. (12), MRS Agar'da üreyen en az 1 mm büyüklüğünde ve katalaz (-) olan koloniler *Lactobacillus* spp. (10,11,12), SPS Agar'da üreyen siyah renkli koloniler sülfid indirgeyen anaerob mikroorganizma (27) ve PDA'da üreyen tüm koloniler maya/küf olarak (9,12) değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Mikrobiyolojik ekimde kullanılan besiyerleri, ekim şekilleri ve inkubasyon koşulları

Mikroorganizma	Besiyeri	Ekim	Inkubasyon
A. mezofilik genel canlı	Plate Count Agar (PCA) (Oxoid CM463)	Dökme	30°C'de 72 saat aerob
Koliform	Violet Red Bile Agar (VRBA) (Oxoid CM107)	Dökme	37 °C'de 24 saat aerob
<i>E. coli</i>	TBX Medium (Oxoid CM0945)	Dökme	44 °C'de 18-24 saat aerob
Koagülaz (+) <i>S. aureus</i>	Baird-Parker Agar (BP) (Oxoid CM275+SR054C)	Yayma	37 °C'de 24-48 saat aerob
Enterokok	Slanetz&Bartley Medium (Oxoid CM377)	Dökme	37 °C'de 24-48 saat aerob
Enterobakteri	Violet Red Bile Glucose Agar (Oxoid CM485)	Dökme	30 °C'de 24 saat aerob
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> Agar Base (PA) (Oxoid CM559+SR103)	Yayma	25 °C'de 72 saat aerob
Sül. İnd. Anaer. Sporlu	SPS Agar (Merck 1.10235.0500)	Roll tüp	37 °C'de 24 saat anaerob
Laktobasil	MRS Agar (Oxoid CM361)	Dökme	37 °C'de 3-4 gün anaerob
Maya ve Küf	Potato Dextrose Agar (PDA) (Oxoid CM139)	Dökme	20-25 °C'de 5 gün aerob

BP'de üreyen 1-3 mm çapında, parlak, siyah renkli (tellürit reaksiyonu) etrafı halesiz koloniler (atipik) ile etrafı bir hale (yumurta sarısı veya lesitinaz reaksiyonu) ile çevrili koloniler (tipik) stafilocok olarak değerlendirilmiştir. Bu koloniler içerisinde katalaz testi pozitif sonuç veren 5 tipik veya atipik koloni seçilerek bunlara koagülaz ve Staphytect Plus (Oxoid DR850M) testleri uygulanmış ve her iki testte de pozitif sonuç veren koloniler koagülaz pozitif Stafilocok olarak değerlendirilmiştir (12).

Salmonella izolasyonu için; tamponlanmış peptonlu su (Merck 1.07228)'da ön zenginleştirme yapıldıktan sonra Rappaport-Vasiliadis Broth (Oxoid CM 866)'da selektif zenginleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Selektif zenginleştirme sıvı besiyerlerinden Brilliant-Green Phenol-red Lactose Sucrose Agar'a (Merck 7237) ekim yapılarak, plaklar 37°C'de 24-48 saat inkube edilmiştir. Inkubasyon sonrası üreyen tipik kolonilere; Gram boyama, oksidaz testi ve bazı biyokimyasal testler (üreaz, sülfür, indol, motilite, glukoz, laktöz, sukroz, D-mannitol fermentasyon, lizin dekarboksilaz) uygulanmıştır. Yapılan bu testlerde pozitif veya şüpheli sonuç veren mikroorganizmalara polivalan Salmonella antiserumu (Microgen Salmonella Latex 24-C008) ile aglutinasyon testi uygulanmıştır (22).

İstatistiksel değerlendirme:

Gruplar arasındaki ilişkinin öneminin belirlenmesinde korelasyon analizi ve farklı gruplara ait aynı parametreler arasındaki farkın öneminin belirlenmesinde de Duncan Testi kullanılmıştır (1).

Bulgular

Analizler sonucunda elde edilen örneklerle ait fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 2'de, mikrobiyolojik ve kimyasal analiz sonuçları arasındaki farkların istatistiksel önem dereceleri Tablo 3'de verilmiştir.

Analize alınan hiçbir örnekte *Salmonella* türleri tespit edilemezken, sülfid indirgeyen anaerobik sporlu bakteriler ise örneklerin tamamında analiz tespit sınırının (<10) altında bulunmuştur.

Tablo.2 Dondurulmuş Gıda Örneklerinin Mikrobiyolojik (kob/g) ve Kimyasal Analiz Sonuçları

		A. Meme/lik	Koliform	Koagul (+) <i>S. aureus</i>	Enterokok	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Laktobasil	<i>Pseudomonas</i>	Maya Küf	pH	α
Tavuk Böğaz (n=20)	Minimum	1860	<10	<20	40	<10	60	130	70	300	5.54	0.911
	Maksimum	96000	490	8100	1900	380	8600	40000	670	23000	7.04	0.970
	S. Sapma	22497.0	165.9	2410.1	462.4	115.1	2794.1	11219.8	198.6	5322.5	0.52	0.019
Tavuk Böğaz (n=20)	Minimum	1500	<10	<20	50	<10	150	590	<20	340	5.43	0.836
	Maksimum	63000	1880	880	2400	110	9700	9700	9100	46000	6.93	0.935
	S. Sapma	18788.3	463.5	309.2	643.4	34.0	2633.1	3094.5	2732.4	12579.8	0.37	0.022
Tavuk Böğaz (n=20)	Minimum	15445.0	327.9	397.5	551.5	64.4	2219.5	3864.5	1952.9	11615.3	5.90	0.910
	Maksimum	530	<10	<20	50	<10	40	320	<20	<10	6.13	0.893
	S. Sapma	6049.84	142.0	103.1	529.5	71.3	1546.6	1676.3	748.4	847.2	0.56	0.026
Tavuk Böğaz (n=20)	Minimum	1900	<10	<20	190	<10	190	2400	<10	400	5.21	0.883
	Maksimum	276000	570	1200	2260	120	4300	18900	1100	6300	7.92	0.975
	S. Sapma	78129.5	202.4	411.9	745.7	31.7	1449.2	5327.4	412.5	2071.8	0.78	0.027
Tavuk Böğaz (n=20)	Minimum	48971.0	213.9	364.6	764.7	36.0	1367.5	8200.0	314.0	2215.0	6.66	0.930
	Maksimum	7800	<10	<10	<10	<10	60	1000	<20	420	6.14	0.911
	S. Sapma	142000	570	480	700	340	5900	35000	9700	9400	7.03	0.963
Tavuk Böğaz (n=20)	Minimum	46975.1	149.2	161.0	204.6	110.1	2045.5	7919.4	3083.7	3008.7	0.56	0.016
	Maksimum	43875.0	278.3	191.1	374.0	184.4	1460.0	6162.0	1978.0	2922.0	7.08	0.940
	S. Sapma	70	<10	<20	<10	<10	<10	<10	<10	<10	5.69	0.875
Ham- Böğaz (n=20)	Minimum	18000	90	200	200	50	370	2100	3400	6200	7.13	0.975
	Maksimum	11191.5	11.1	48.5	46.1	13.0	71.5	504.2	1434.3	2087.4	0.46	0.028
	S. Sapma	7169.5	75.1	101.8	156.6	32.0	250.9	604.4	1121.0	1135.1	6.30	0.920
I. Köfte (n=20)	Minimum	179	<10	10	<10	<10	<10	70	<20	<10	5.81	0.884
	Maksimum	32400	110	60	310	40	3600	4300	2400	2700	7.57	0.968
	S. Sapma	9774.0	33.1	17.0	84.4	7.1	951.5	1370.1	782.8	912.3	0.56	0.024
T. Köfte (n=20)	Minimum	5193.0	48.2	10.0	115.7	30.0	658.8	1066.0	1097.1	679.8	6.46	0.930
	Maksimum	3840	<10	<20	<10	<10	<10	120	<20	150	4.71	0.889
	S. Sapma	80000	190	70	270	60	370	8600	1180	4190	7.62	0.965
Kıyap Köfte (n=20)	Minimum	21520.8	72.5	18.0	13.0	21.7	152.8	1555.1	401.0	1227.9	0.70	0.022
	Maksimum	22781.0	75.0	24.9	120.9	28.0	228.6	7596.5	435.0	1146.0	6.60	0.930
	S. Sapma	30	<10	<20	<10	<10	<10	20	<20	40	5.67	0.881
Fizan (n=20)	Minimum	8100	140	50	280	60	810	2580	670	26800	7.69	0.968
	Maksimum	2836.5	47.0	13.1	84.8	14.1	318.3	593.8	225.9	6223.3	0.66	0.027
	S. Sapma	1985.0	88.8	35.0	106.9	40.0	376.3	533.8	216.7	2769.5	6.68	0.930
Fizan (n=20)	Minimum	1300	<10	<20	<10	<10	<10	<10	<20	<10	6.13	0.879
	Maksimum	57000	240	90	320	100	530	900	650	290	7.92	0.971
	S. Sapma	16250.4	66.6	27.0	115.3	29.1	192.3	295.1	104.1	61.6	0.44	0.028
	Maksimum	12169.0	160.0	64.0	172.6	85.0	265.0	371.8	234.2	117.1	7.10	0.910

Tablo 3. Örneklerde saptanan ortalama mikrobiyolojik (log10) ve kimyasal analiz sonuçları ile örnek grupları arasındaki farkların istatistiksel önem dereceleri

Mikroorganizma	T. hat (n=20)	T. halet (n=20)	T. g080r (n=20)	T. kanat (n=20)	T. sakatat (n=20)	H. köfte (n=20)	L. köfte (n=20)	T. köfte (n=20)	K. köfte (n=20)	Pizza (n=20)	P
<i>A. Mesofilik</i>	4.03±0.57 ^a	3.91±0.50 ^a	3.61±0.47 ^a	4.28±0.63 ^a	4.43±0.43 ^a	3.21±0.84 ^a	3.17±0.70 ^a	4.11±0.52 ^a	2.73±0.81 ^a	3.81±0.48 ^a	***
<i>Koliform</i>	1.57±1.11 ^a	1.58±1.34 ^a	1.35±1.07 ^{ab}	1.37±1.10 ^{ab}	1.39±1.21 ^{ab}	0.66±0.92 ^{ab}	0.87±0.84 ^a	0.67±0.89 ^{ab}	0.74±0.96 ^a	0.76±1.07 ^{ab}	*
<i>Koagulaz (+) S. aureus</i>	1.86±1.60 ^a	1.45±1.27 ^a	0.80±1.04 ^a	1.28±1.24 ^a	1.16±1.12 ^a	1.07±1.01 ^a	0.70±0.75 ^a	0.56±0.79 ^a	0.39±0.70 ^a	0.44±0.79 ^a	***
<i>Enterokok</i>	2.56±0.44 ^a	2.49±0.48 ^a	2.32±0.49 ^a	2.54±0.74 ^a	1.84±1.15 ^a	0.95±1.08 ^a	1.37±0.96 ^a	1.07±1.03 ^a	1.23±0.97 ^a	1.16±1.11 ^a	***
<i>E. coli</i>	1.19±1.14 ^a	0.80±0.92 ^a	0.87±0.94 ^a	0.73±0.77 ^a	0.96±1.13 ^a	0.37±0.60 ^a	0.37±0.65 ^a	0.33±0.62 ^a	0.47±0.75 ^a	0.39±0.79 ^a	***
<i>Enterobacteriaceae</i>	3.03±0.57 ^a	3.10±0.49 ^a	2.61±0.55 ^a	2.88±0.49 ^a	2.82±0.56 ^{ab}	1.31±1.22 ^a	2.16±1.02 ^a	1.59±1.09 ^a	1.41±1.24 ^a	1.35±1.18 ^a	**
<i>Laktobasil</i>	3.38±0.65 ^a	3.45±0.39 ^{ab}	3.05±0.44 ^a	3.83±0.28 ^a	3.55±0.48 ^{ab}	2.06±1.16 ^a	2.73±0.53 ^a	3.33±0.63 ^a	2.44±0.60 ^a	3.11±1.27 ^a	***
<i>Pseudomonas</i>	1.57±1.22 ^{ab}	2.54±1.19 ^a	1.76±1.17 ^a	1.67±1.09 ^a	2.19±1.38 ^{ab}	1.30±1.43 ^a	2.03±1.41 ^a	1.41±1.27 ^{ab}	1.02±1.19 ^a	1.33±1.15 ^a	**
<i>Maya-Köf</i>	3.24±0.59 ^a	3.75±0.62 ^a	1.80±1.10 ^a	3.16±0.41 ^a	3.28±0.40 ^a	1.61±1.35 ^a	1.47±1.32 ^a	2.80±0.50 ^a	2.76±0.78 ^a	1.42±0.97 ^a	***
<i>pH</i>	6.13±0.52 ^{ab}	5.90±0.37 ^a	6.66±0.50 ^a	6.67±0.78 ^a	7.08±0.56 ^a	6.20±0.46 ^a	6.66±0.56 ^a	6.60±0.70 ^a	6.68±0.60 ^a	7.11±0.44 ^a	***
<i>a_w</i>	0.94±0.02 ^{ab}	0.91±0.02 ^a	0.93±0.03 ^{ab}	0.93±0.02 ^{ab}	0.94±0.02 ^a	0.92±0.03 ^{ab}	0.93±0.02 ^{ab}	0.93±0.02 ^{ab}	0.93±0.03 ^{ab}	0.91±0.03 ^a	***
<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

5. Tartışma ve Sonuç

Dondurulmuş gıdaların tüketiminin her geçen gün artması, bu gıdaların tüketiminden kaynaklanabilecek sağlık risklerini de beraberinde getirmektedir. Bu ürünlerin üretiminden başlayarak tüketime kadar olan bütün aşamalarda hijyenik ve teknolojik yönden yapılacak hatalı uygulamalar, elde edilen ürünlerin özellikle mikrobiyolojik açıdan son derece riskli hale gelmesine neden olabilmektedir (2,4,16,48). Ayrıca *Salmonella*, *Stafylokok* ve *Clostridium* türleri gibi birçok patojenin -18 oC'de bile aylarca canlı kalabilmesi bu riskin daha da artmasına neden olabilmektedir (2,30,37,39,42,46).

Álvarez-Astorga ve ark. (3) İspanya'da yaptıkları bir araştırmada; ortalama aerobik mezofilik mikroorganizma, psikrotrofik, koliform, *E. coli* ve *S. aureus* sayılarını sırasıyla tavuk but örneklerinde 5.79±0.64, 7.07±1.07, 3.56±0.69, 2.60±1.32 ve 2.47±0.64 log10 cfu/g olarak, tavuk kanat örneklerinde 5.85±0.45, 7.21±0.84, 4.27±0.48, 3.68±0.42 ve 3.48±0.89 log10 cfu/g olarak, tavuk sakatat örneklerinde 5.56±0.54, 5.96±0.63, 4.61±0.83, 4.33±0.87 ve 2.56±0.77 log10 cfu/g olarak, hamburger örneklerinde 6.29±0.64, 7.12±0.37, 3.49±0.66, 2.83±0.74 ve 3.19±0.51 log10 cfu/g olarak tespit etmişlerdir. Tavuk parça eti örneklerinin tamamı psikrotropik, *E. coli* ve *S. aureus* sayısı yönünden standartlara uygun bulunmazken, hamburger örneklerinin %80'i İspanyol Mikrobiyolojik Standartları'na aykırı bulunmuştur.

Soyutemiz (44) İnegöl köfteler üzerinde yaptığı bir çalışmada; ortalama toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısını 1.37x10⁷ adet/g, proteolitik sayısını 5.26x10⁵ adet/g, *S. aureus* sayısını 2.4x10⁶ adet/g, koagulaz pozitif *S. aureus* sayısını 8.49x10⁴ adet/g, koliform sayısını ise 1.23x10⁵ adet/g olarak bulmuştur.

Çetin ve Yücel (19), Bursa'da tüketime sunulan kasap köfteler üzerinde yaptıkları bir çalışmada ortalama toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısını 1.11x10⁶ adet/g, koliform sayısını 1.4x10⁵ adet/g, *E. coli* sayısını 1.75x10⁴ adet/g, *S. aureus* sayısını 1.78x10⁴ adet/g, ve *Salmonella* sayısını (3 örnekte) 7.0x10¹ adet/g olarak belirlemişlerdir.

İşgöz ve ark. (28), Bursa'da tüketime sunulan 30 adet hamburger köfte örneğinin mikrobiyolojik analizleri sonucunda ortalama toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısını tüm örneklerde 6.06x10⁵ adet/g, koliform sayısını 26 örnekte 1.81x10⁵ adet/g olarak bulmuşlar, örneklerin %53.3'ünde E. coli tespit ederken, hiçbir örnekte Salmonella'ya rastlamamışlardır. Örneklerin kimyasal analizi sonucunda; pH değerini 6.20 olarak bulmuşlardır.

Yılmaz ve Demirdi (49), Tekirdağ köftesi üzerinde yaptıkları bir çalışmada; birer ay aralıklarla 3 ay olmak üzere 10 işletmeden çiğ ve ızgara Tekirdağ köftesi örnekleri almışlar ve örnekleri pH, toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, proteolitik mikroorganizma, koliform, stafilokok ve maya-küf bakımından incelemişlerdir. Çiğ Tekirdağ köftelerinde bu değerleri sırasıyla 6.07, 19.8x10⁶ adet/g, 2.7x10⁴ adet/g, 6.4x10⁴ adet/g, 2.6x10⁵ adet/g ve 22.6x10⁵ adet/g olarak, ızgara Tekirdağ köftesinde ise 6.34, 2.6x10⁵ adet/g, 15x10¹ adet/g, 46x10¹ adet/g, 1.18x10² adet/g ve 3.5x10³ adet/g olarak tespit etmişlerdir.

Aksu (2) 7 farklı tipten 100 adet dondurulmuş gıda üzerinde yaptığı bir çalışmada; 10 adet dondurulmuş pizza örneğinde ortalama toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısını 3212200 kob/g, koliform sayısını 4370 kob/g ve maya/küf sayısını da 170628 kob/g olarak bulurken, 10 adet dondurulmuş hamburger örneğinde ortalama toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısını 340000 kob/g, koliform sayısını 8000 kob/g ve maya/küf sayısını da 31000 kob/g olarak bulmuş, örneklerin hiçbirisinde Salmonella tespit edememiştir.

Gilla ve ark. (25) tarafından yapılan bir çalışmada, imalathanelerden ve perakende satış yerlerinden toplanan 25'er adet yeni hazırlanmış soğutulmuş ve dondurulmuş hamburger köfte örnekleri, toplam aerobik mikroorganizma, koliform grubu mikroorganizma ve E. coli sayıları açısından incelenmiştir. İmalathanelerden alınan soğutulmuş köfte örneklerinde toplam aerobik mikroorganizma, koliform ve E. coli sayıları sırasıyla 4.4-5.1, 1.7-2.3, 0.9-1.5 log₁₀/g arasında değişmiş, dondurulmuş köfte örneklerinde ise soğutulmuş köfte örneklerindeki aynı değerlerden <0.1-0.5 log₁₀ birimi daha az olduğu saptanmıştır. Perakende satılan donmuş köfte örneklerinde ise toplam aerobik mikroorganizma, koliform ve E. coli sayılarının sırasıyla 3.8-8.5, <0.5-3.6 ve <0.1-1.9 log₁₀/g, soğutulmuş köfte örnekleri için aynı değerlerin sırasıyla 4.8-8.5, 1.8-3.7 ve 1.4-2.7 log₁₀/g arasında değiştiği bulunmuştur.

Soyutemiz (45) Bursa'da marketlerde ve kasap dükkanlarında satılan 12'şer adet hazır hamburger köfte, hazır İnegöl köfte ve hazır kasap köfte örnekleri üzerinde yaptığı bir çalışmada; ortalama toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısını sırasıyla 6.82x10⁶±3.37x10⁶, 3.51x10⁶±1.13x10⁶ ve 1.18x10⁷±8.06x10⁶ olarak, psikrofilik sayısını 9.2x10⁷±3.71x10⁷, 2.73x10⁸±9.19x10⁷ ve 2.33x10⁸±4.0x10⁷ olarak, koliform sayısını 4.56x10⁵±1.23x10⁵, 3.32x10⁵±1.17x10⁵ ve 2.38x10⁵±8.91x10⁴ olarak, E. coli sayısını 7.9x10⁵±1.56x10⁵ (4 örnekte), 1.12x10⁵±6.33x10⁴ (4 örnekte) ve 9.84x10⁴±3.15x10⁴ (8 örnekte) olarak, toplam S. aureus ve Mikrokok sayısını 2.59x10⁵±6.61x10⁴, 6.23x10⁵±1.25x10⁵ ve 6.89x10⁵±1.76x10⁴ olarak, S. aureus sayısını 4.42x10⁴±2.31x10⁵ (8 örnekte), 1.61x10⁵±2.45x10⁴ (8 örnekte) ve 9.68x10⁴±3.16x10⁴ (6 örnekte) olarak, fekal streptokok sayısını 1.24x10⁶±4.62x10⁵, 9.3x10⁵±2.99x10⁵ ve 8.72x10⁵±3.08x10⁵ olarak, maya-küf sayısını ise 1.85x10⁷±1.17x10⁷, 3.44x10⁷±2.18x10⁷ ve 1.52x10⁸±3.55x10⁷ kob/g olarak belirlemiştir. Araştırmacı, tüm köfte gruplarının ortalama pH değerlerini 5.85 ile 7.32 arasında bulmuş ve örneklerin hiçbirinden Salmonella izole edememiştir.

Karaboz ve Dincer (31), İzmir'de satılan 35 adet dondurulmuş köfte üzerine yaptıkları bir çalışmada minimum ve maksimum toplam aerobik mezofilik, toplam psikrofilik, toplam maya/küf, toplam koliform, fekal streptokok, stafilokok sayılarını ve Salmonella pozitif örnek sayısını sırasıyla Tekirdağ köfte örneklerinde 1.0x10⁵-8.0x10⁵ cfu/g, 4.9x10⁴-1.8x10⁵ cfu/g, 1.7x10²-2.5x10³ cfu/g, 4.0x10²-2.4x10⁴ cfu/g, 2.9x10³->1.1x10⁵ cfu/g, 5.5x10²-6.4x10³ cfu/g ve 3 pozitif olarak, İnegöl köfte örneklerinde 1.8x10⁵-2.4x10⁶ cfu/g, 3.1x10⁴-4.1x10⁶ cfu/g, 1.2x10³-1.8x10⁴ cfu/g, 2.4x10⁴->1.1x10⁵

cfu/g, $1.1 \times 10^5 \rightarrow 1.1 \times 10^5$ cfu/g, $3.3 \times 10^3 - 2.8 \times 10^4$ cfu/g ve 4 pozitif olarak, burger köfte örneklerinde $2.7 \times 10^3 - 9.9 \times 10^5$ cfu/g, $6.1 \times 10^3 - 1.2 \times 10^6$ cfu/g, $3.0 \times 10^3 - 3.3 \times 10^4$ cfu/g, $4.3 \times 10^3 \rightarrow 1.1 \times 10^5$ cfu/g, $2.1 \times 10^4 \rightarrow 1.1 \times 10^5$ cfu/g, $2.9 \times 10^3 - 9.9 \times 10^3$ cfu/g ve 4 pozitif olarak, ev köftesi örneklerinde $9.0 \times 10^4 - 2.4 \times 10^6$ cfu/g, $7.8 \times 10^4 - 2.0 \times 10^6$ cfu/g, $9.9 \times 10^2 - 9.4 \times 10^4$ cfu/g, $2.4 \times 10^4 \rightarrow 1.1 \times 10^5$ cfu/g, $5.3 \times 10^3 \rightarrow 1.1 \times 10^5$ cfu/g, $1.0 \times 10^2 - 1.5 \times 10^3$ cfu/g ve 5 pozitif olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar tüm örneklerin %20'sini toplam aerobik mezofilik mikroorganizma, %60'ını psikrofilik, %97.1'ini toplam maya/küf sayısı, %62.9'unu Stafilocoklar, %80'ini Salmonella spp. bakımından Türk Gıda Kodeksine uygun bulmamışlardır.

Katynna ve ark. (33) Venezuela'da satışa sunulan dondurulmuş siğir hamburgerlerinde ortalama aerobik mezofilik sayısını $16.02 \pm 0.69 \log_{10}$ cfu/g, koliform sayısını $8.88 \pm 0.49 \log_{10}$ cfu/g, fekal koliform sayısını $8.12 \pm 0.47 \log_{10}$ cfu/g ve E. coli sayısını $4.02 \pm 0.68 \log_{10}$ cfu/g olarak bulurken örneklerdeki S. aureus sayısını 20 cfu/g'dan az bulmuşlardır. Piliç etinden yapılan hamburgerlerde ise ortalama aerobik mezofilik sayısını $13.22 \pm 0.69 \log_{10}$ cfu/g, koliform sayısını $9.69 \pm 0.49 \log_{10}$ cfu/g, fekal koliform sayısını $7.90 \pm 0.47 \log_{10}$ cfu/g ve E. coli sayısını $4.30 \pm 0.68 \log_{10}$ cfu/g olarak bulurken örneklerdeki S. aureus sayısını 20 cfu/g'dan az bulmuşlardır. Her iki grup örnekte de Salmonella spp. izole edememişlerdir.

Kolsarı ve ark. (35), soğuk ve dondurulmuş depolamanın mekanik ayrılmış tavuk etlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesine etkisini inceledikleri çalışmalarında; bütün örneklerde soğutarak ve dondurularak depolama boyunca pH değerlerinde önemli düşüşler tespit edilmiştir. Soğutarak ve dondurarak muhafazanın başlangıcında tavuk sırt eti, tavuk göğüs kafesi eti ve tavuk boyun etlerinde sırasıyla 6.91, 6.47 ve 6.83 olan pH değerlerinin 120 günlük dondurarak depolamanın sonunda ise sırasıyla 6.44, 6.31 ve 6.61 olarak gerçekleştiğini bildirmişler, aynı şekilde toplam aerobik mezofilik sayısının başlangıçta sırasıyla 5.37, 6.02 ve 5.97 log kob/g iken dondurarak muhafaza sonunda 5.22, 5.01 ve 5.56 log kob/g olarak, toplam psikrofilik aerobik sayısının başlangıçta sırasıyla 5.41, 5.47 ve 5.60 log kob/g iken dondurarak muhafaza sonunda 5.05, 4.95 ve 5.29 log kob/g olarak, koliform sayısının başlangıçta sırasıyla 3.55, 3.78 ve 3.66 log kob/g iken dondurarak muhafaza sonunda 4.14, 3.70 ve 3.53 log kob/g olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Mikrobiyolojik değerlerin soğukta muhafazada önemli düzeyde arttığını belirlerken, donmuş muhafazanın ise aerobik mezofilik ve psikrofilik aerobik sayısında azalmaya sebep olurken koliform sayısında önemli bir etkiye bulunmadığını ortaya koymuşlardır.

Efe ve Gümüşsoy (20), Ankara'da dondurulmuş olarak satın alınan ve depolanan 50 adet bütün tavuk örneğinin but, deri ve göğüs kısımlarının mikrobiyolojik kalitesini araştırdıkları bir çalışmada, aerobik mezofilik mikroorganizma, psikrofilik, Pseudomonas spp., S. aureus, koagülaz (+) S. aureus, Enterobakteri, koliform, E. coli ve Salmonella spp. sayılarını sırasıyla but örneklerinde ortalama 3.3×10^5 , 2.9×10^4 , 4.2×10^4 , 8.1×10^3 , 3.7×10^2 , 1.3×10^2 , 7.2×10^2 , 1.2×10^2 ve 0 kob/g olarak bulurken, deri örneklerinde ortalama 3.1×10^5 , 9.2×10^3 , 4.3×10^4 , 8.6×10^3 , 7.3×10^2 , 4.3×10^2 , 1.1×10^2 , 3.3×10^1 ve 0 kob/g olarak bulmuşlar, göğüs eti örneklerinde ise yine sırasıyla ortalama 6.3×10^5 , 1.7×10^4 , 4.2×10^4 , 8.1×10^2 , 7.3×10^2 , 8.1×10^2 , 1.2×10^2 , 1.1×10^2 ve 0 kob/g olarak tespit etmişlerdir.

Yapılan analizler sonucunda bütün örneklerin incelenen mikrobiyolojik kriterler yönünden Türk Gıda Kodeksi (7)'nde belirtilen kriterlere uygun olduğu belirlenirken sadece 1 tavuk but örneğinin koagülaz (+) S. aureus yönünden verilen sınırdan fazla koagülaz (+) S. aureus içerdiği, kasap köfte örneklerinin ise sadece 1 tanesinin maya/küf sayısı yönünden verilen kriterlere uygunluk göstermediği belirlenmiştir.

İncelenen örneklerde tespit edilen mikrobiyolojik analiz sonuçlarının büyük bir kısmı diğer araştırmacılar (2,3,19,28,31,35,44,45,49) tarafından belirlenen değerlerden düşük, bazı araştırmacılar (20,25,31) tarafından tespit edilen değerlerle ise benzerdir. Örneklerde Karaboz ve Dinçer (31)'in aksine birçok araştırmacının (2,28,33,45) bulgularına paralel olarak Salmonella spp. tespit edilememiştir. Örneklerin pH değerlerinin, Soyutemiz (45) tarafından saptanan değerlere benzediği tespit edilmiştir.

Örneklerde bulunan değişik mikroorganizma gruplarının sayısının genellikle diğer araştırmacıların bulduğu değerlerden düşük olması, örnek alınan bölgelerin farklı olmasına ve ayrıca artık ülkemizde kesimhane ve et entegre tesislerinin daha modern ve hijyenik çalışması ile dondurulmuş gıda üretimi yapan sektörde de gelişmiş teknoloji ve ekipman ile kalifiye ve uzman personel kullanımının oldukça yüksek seviyelerde olmasına bağlanabilir (4,5).

Kanatlı etlerinde aerobik mezofilik bakteri sayısının 1×10^6 kob/g'in üzerinde olması kötü kalite ve depolama şartlarının yetersiz olmasının belirtisidir (18). Bu çalışmada incelenen örneklerin hiçbirisinde bu seviyede aerobik mezofilik mikroorganizma tespit edilememiştir. Normalde tavuk karkasları kesim şartlarından ve tüylerin yolunması için haşlama kazanlarına atılmalarından dolayı kesimden sonra çok yoğun bir şekilde kontamine olurlar (16). Ancak dondurulmuş örneklerde mikroorganizma yükünün daha düşük düzeylerde bulunmasının sebebi, bu mikroorganizmaların uygulanan dondurma işleminden olumsuz yönde etkilenmelerine bağlanabilir (21,24,35,47,48).

Diğer taraftan, çalışmada incelenen örneklerde aerobik mezofilik mikroorganizma, enterokok, Enterobacteriaceae, koliform, maya/küf, E. coli, koagülaz (+) S. aureus ve Pseudomonas spp. ve maya/küf sayısı gibi mikroorganizma sayıları, bazı örneklerde yasal standartları aşmasa da oldukça yüksek bulunmuştur. Bu durum, dondurma işlemi öncesindeki üretim aşamalarında önemli düzeyde kontaminasyon olduğunu veya dondurarak muhafaza esnasında soğuk zincirin bozulduğunu göstermektedir. Bu nedenle bu tür gıdaların üretilmesinde ana materyal olan taze etlerin elde edilmesinden başlayarak bütün üretim aşamalarında ve dondurulmuş ürünlerin taşınması ve tüketimine kadar muhafazasında azami dikkat gösterilmesi gerekmektedir (38,40).

Dondurulmuş ürünler eğer çözündürüldükten sonra uzun süre kullanılmazlarsa patojenler hızla üreyerek önemli sağlık problemlerine yol açarlar. Ev tipi soğutucu ve dondurucularda bu ürünlerin diğer çiğ ürünlerle yan yana muhafaza edilmeleri de çapraz kontaminasyon riski gibi önemli sorunların oluşmasına yol açacaktır. Bu nedenle dondurulmuş et ve et ürünlerini tüketen tüketicilere mutlaka gerekli hijyen ve teknik eğitimin çeşitli yollarla verilmesi gerekmekte, soğuk yada dondurarak muhafazanın mikroorganizmaları öldürmeyen, aksine onların üremesini yalnızca belli bir süre durduran bir muhafaza yöntemi olduğu anlatılmalıdır (17,32).

Sonuç olarak, bu çalışmada incelenen dondurulmuş ürünlerin sağlık açısından önemli bir risk oluşturmadığı, ancak birçok patojeni yasal kriterleri aşmasa da belli sayılarda içerdikleri tespit edilmiştir. Bu nedenle üretimden tüketime kadar olan bütün aşamalarda modern hijyen tedbirlerine, HACCP, GMP, GVP gibi uygulamalara dikkat edilerek gıda güvenliği mutlaka garantiye alınmalıdır. Ülkemizde yeni yeni yerleşen bu tür gıdaların tüketim alışkanlığı, eğer üretimde hijyenik kurallara dikkat edilmezse ve bunun yanı sıra tüketicilere yeterli eğitim verilmez ve tüketici bilinci oluşturulmazsa büyük epidemiler ve zehirlenmelere yol açarak halk sağlığı açısından büyük sorunlar oluşturabilecektir.

Kaynakça

1. Akgül A. (1997). Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri, SPSS Uygulamaları. YÖK Matbaası, Ankara.
2. Aksu H. (1996). Dondurulmuş gıdaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine araştırmalar, Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi., 27, 1, 101-108.
3. Álvarez-Astorga M., Capita R., Alonso-Calleja C., Moreno B., García-Fernández M.C. (2002). Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. Meat Science, 62, 45-50.
4. Anonim (2001a). Gıda Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Et ve Et Ürünleri Sanayii Alt Komisyon Raporu, 8. Beş Yıllık Kalkınma Planı, DPT: 2635 - ÖİK: 643, Ankara.

5. Anonim (2001b). Gıda Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Kanatlı Etleri ve Yumurta Ürünleri Sanayii Alt Komisyon Raporu, 8. Beş Yıllık Kalkınma Planı, DPT: 2638 - ÖİK: 646, Ankara.
6. Anonim (2001c). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs- Horizontal Method for the Enumeration of β -Glucuronidase-Positive *Escherichia coli*. Part 2: Colony-Count Technique A 44°C Using 5-Bromo-4-Chloro-3-Indoyl-Beta-D-Glucuronide, ISO 16649-2.
7. Anonim (2001d). Taze Et-Hazırlanmış Et ve Hazırlanmış Et Karışımları Tebliği Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ; Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, R. Gazete: 17.03.2001-24345, Tebliğ No: 2001/7.
8. Anonim (2006). Çiğ Kanatlı Eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları Tebliği. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, R. Gazete: 07.07.2006/26221. Tebliğ No: 2006/29.
9. Anonymous (1976). American Public Health Assoc., Compendium of Methods for The Microbiological Examinations of Foods. Apha Inc. Washington Dc.
10. Anonymous (1984a). Difco Manual, Tenth Edition, Detroit Michigan USA.
11. Anonymous (1984b). International Organization For Standardization: Enumeration of Lactobacteriaceae in Meat and Meat Products. ISO/TC 34/SC 6/ WG 15, No:3 and 5.
12. Anonymous (1995). The Oxoid Manual, Compiled By EY Bridson, 7th. Ed. Oxoid Ltd. Basingstoke, Hampshire.
13. Anonymous (1997). International Organization for Standardization: Meat and Meat Products-Detection and Enumeration of Enterobacteriaceae. ISO/DIS 5552.
14. Aran N. (1996). Et Endüstrisinde Mikrobiyolojik Riskler ve HACCP Uygulamaları, Et ve Et Ürünleri Sempozyumu Bildiri Kitabı, Sayfa 7-17, İstanbul.
15. Archer D.L. (2004). Freezing: an underutilized food safety technology?, Int. J. Food Microbiol., 90, 127-138.
16. Arslan A. (2002). Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres Matbaacılık Yayıncılık Medikal Veterinerlik Hiz. Hayvansal Ürünler Tic. ve Paz. Ltd. Şti. Malatya.
17. Azevedo I., Regalo M., Mena C., Almeida G., Carneiro L., Teixeira P., Hogg T., Gibbs P.A. (2005). Incidence of *Listeria* spp. in domestic refrigerators in Portugal, Food Control, 16, 121-124.
18. Bautista D.A., Villancourt J.P., Clarke R.A., Renwick S., Griffiths M.W. (1995). Rapid assesment of the microbiological quality of poultry carcasses using ATP bioluminescence. J. Food Prot. 58,5, 551-554.
19. Çetin K., Yücel A. (1992). Bursa'da kasap dükkanlarında üretilen kasap köftesinin üretimi, mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri üzerine araştırma, Gıda Dergisi, 17,4,247-253.
20. Efe M., Gümüşsoy K.S. (2005). Ankara Garnizonunda tüketime sunulan tavuk etlerinin mikrobiyolojik analizi. Sağlık Bilimleri Derg., 14,3,151-157.
21. Escartin E.F., Lozano J.S., Garcia O.R. (2000). Quantative survival of native *Salmonella* serovars during storage of frozen raw pork, Int. J. Food Microbiol., 54, 19-25.
22. Flowers R.S., D'aoust J.Y., Andrews W.H., Bailey J.S. (1992). *Salmonella*. "C Vanderzant, D.F. Splittstoesser (Ed): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods", 3rd Ed, P371-422, American Public Health Association.
23. Garden-Robinson J. (2004). Food Freezing Guide. NDSU Extension Service, September 1985, Reviewed and Revised, 2004, North Dakota State University, Fargo, North Dakota 58105, USA.
24. Georgsson F., Þorkelsson Á.E., Geirsdóttir M., Reiersen J., Stern N. (2006). The Influence of freezing and duration of storage on *Campylobacter* and indicator

- bacteria in broiler carcasses, *Food Microbiol.*, 23, 677-683.
25. Gilla C.O., Rahnb K., Sloanb K., McMullenc L.M. (1997). Assessment of the hygienic performances of hamburger patty production processes, *Int. J. Food Microbiol.*, 36, 2-3, 171-178.
 26. Gökalp H.Y., Kaya M., Tülek Y., Zorba Ö. (1995). Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu. (2. Baskı) Atatürk Üni. Zır.Fak. Ofset Tesisi. Erzurum.
 27. Harrigan W.F., Mccance M.E. (1976). *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. Academic Press Inc. Ltd., London.
 28. İşgöz B.B., Yıldızhan B., Özmunçu B. (1996). Bursa piyasasında tüketime sunulan çiğ hamburger köftelerin mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri, Et ve Et Ürünleri Sempozyumu Bildiri Kitabı, Sayfa 176-184, İstanbul.
 29. James S.J., Evans J., James C. (2007). A Review of the performance of domestic refrigerators, *J. Food Engineering*, (In Press).
 30. Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A. (2005). *Modern Food Microbiology*, Seventh Edition, Springer Science + Business Media Inc, USA.
 31. Karaboz İ., Dinger B. (2002). Microbiological investigations on some of the commercial frozen meat in İzmir, *Turkish Electronic Journal of Biotechnology*, Special Issue, p: 18-23.
 32. Karabudak E., Bas M., Kiziltan G. (2007). Food safety in the home consumption of meat in Turkey, *Food Control*, 19, 3, 320-327.
 33. Katynna P.Q., Piñero M.P., Narvaez C., Uzcátegui S.B., Moreno L.A., Huerta-Leidenz N. (2002). Evaluation of microbiological and physical-chemistry of frozen hamburger patties expended in Maracabo, Zulia State, Venezuela, *Revista Científica, FCV-LUZ*, 12(6): 715-720.
 34. Keskin G. (2002). Dondurulmuş gıda. *Tarım Sal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, TEAE-BAKIŞ*, 1, 8, 1-4.
 35. Kolsarıcı N., Ensoy Ü., Candoğan K., Üzümcüoğlu Ü. (2004). Soğuk ve dondurulmuş depolamanın mekanik ayrılmış tavuk etlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesine etkisi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Derg*, 2, 8, 2-13.
 36. Külekçi M., Topaloğlu A., Aksoy A. (2006). Dondurulmuş gıda tüketimini etkileyen sosyo-ekonomik özelliklerin belirlenmesi; Erzurum ili örneği, *Atatürk Üniv Derg.*, 37, 1, 91-101.
 37. Marriot N.G. (1997). *Essential of Food Sanitation*. Springer-Verlag, 355 p. USA.
 38. Mead G.C. (2004). Microbiological quality of poultry meat: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 6, 3, 135-142.
 39. Mossel D.A.A., Corry J.E.L., Struijk C.B., Baird R.M. (1995). *Essentials of the Microbiology of Foods: A Textbook for Advanced Studies*. Chichester, John Wiley and Sons, p: 699, England.
 40. Nortje G.L., Nel L., Jordan E., Naude R.T., Holzapfel W.H. and Grimbeek R.J. (1989). A microbiological survey of fresh meat in the supermarket trade, Part 1: Carcasses and contact surfaces, *Meat Science*, 25, 2, 81-97.
 41. Pichhardt K. (1993). *Lebensmittelmikrobiologie*. 3. Auflage, Springer Verlag, Berlin, New York, Paris Tokyo, London, Hong Kong, Barcelona, Budapest.
 42. Rodgers S. (2001). Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures- a review, *Trends in Food Science & Technology*, 12, 276-284.
 43. Rödel W., Panert H., Leistner L. (1975). Verbessertes Aw-Wert messer zur bestimmung der wasser aktivität von fleisch und fliesch waren, *Fleischwirtsch.*, 4, 557-558.
 44. Soyutemiz G.E. (1990). İnegöl köfte hazırlanışı, yapım tekniği ve bileşiminin saptanması üzerine araştırmalar, *Doktora Tezi*. U.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
 45. Soyutemiz G.E. (1999). Bursa'da satışa sunulan çeşitli hazır köftelerin hijyenik kalitesinin saptanması, *Gıda Dergisi*, 24, 3, 163-169.

46. Temiz A.. (1998). Gıda Mikrobiyolojisi. (Editörler: Ünlütürk, A., Turantaş, F.). , Birinci Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir.
47. Ünlütürk A., Turantaş F. (1998). Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi, İzmir.
48. Yıldırım Y. (1992). Et Endüstrisi, 4.Baskı, Kozan Ofset, Sayfa 38-348, Ankara.
49. Yılmaz İ., Demirci M. (1996). Tekirdağ köftesinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, Et ve Et Ürünleri Sempozyumu Bildiri Kitabı, Sayfa 196-207, İstanbul.

AFYONKARAHİSAR VE YÖRESİNDEKİ İÇME VE KULLANMA SULARININ BAZI MİKROBİYOLOJİK VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Sunum Tipi: Poster

Zeki GÜRLER, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Şebnem PAMUK, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Ulaş ACARÖZ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Özet

Bu çalışmada, Afyonkarahisar merkez ve ilçelerindeki (Başmakçı, Bayat, Bolvadin, Çay, Çobanlar, Dazkırı, Dinar, Emirdağ, Evciler, Hocalar, İhsaniye, İscehisar, Kızılören, Sandıklı, Sincanlı, Sultandağı, Şuhut) içme-kullanma (şebeke/kaynak-çeşme/kuyu) sularının bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Haziran- Temmuz-Ağustos 2011 döneminde bölgedeki içme ve kuyu sularından (her bir merkezden 3'er şebeke, kaynak ve kuyu suyu olmak üzere) alınan toplam 162 örnek materyal olarak kullanılmıştır. Aerob Mezofil Genel Canlı, psikrofil mikroorganizma sayımları için damla plak yöntemi, pseudomonas spp., enterobakteri, enterekok, koliform, E. coli ve sülfat indirgeyen anaerob (C. perfringens) sayımında membran filtrasyon yöntemi kullanıldı.

Çalışmadan elde edilen mikrobiyolojik bulgulara göre, örneklerin tamamındaki (162) Aerob mezofil genel canlı ve psikrofil mikroorganizma düzeyleri sırasıyla %68 (110) ve %60 (98) olarak tespit edilmiştir. Örneklerin %17 (28)'sinin koliform, %15'ünün (24) enterobakteri, %12'sinin (20) enterekok, %7'sinin (12) E. coli, % 13 (21) Pseudomonas ve %14'ünün (23) sülfat indirgeyen (C. perfringens) mikroorganizmalar ile kontamine olduğu saptanmıştır.

İncelenen örneklerin tamamının berrak, kokusuz, kendine has renk ve tatlı olduğu, ancak bir kısım örneğin mikrobiyolojik kriterler bakımından yönetmeliğe uygun olmadığı belirlendi.

Fiziko-kimyasal analiz sonuçlarına göre, örneklerin (162) ortalama pH, bulanıklık (NTU), iletkenlik ($\mu\text{ohm/cm}$) ve toplam sertlik (Fransız Sertlik Derecesi) değerleri sırasıyla 7,28; 0,497; 362,11; 22,78 olarak tespit edilmiştir. Örneklerin ortalama nitrit, nitrat, arsenik, klor, amonyum, flor, kalsiyum ve sülfat değerleri sırasıyla, 0,09 mg/L; 17,25 mg/L; 0,26 $\mu\text{g/L}$; 0,83 $\mu\text{g/L}$; 0,15 mg/L; 0,94 mg/L; 18,11 mg/L; 20,42 mg/L olarak saptanmıştır.

Anahtar Sözcük: Su, Fiziksel ve kimyasal kalite, İçme suyu, Kullanma suyu, Su hijyeni

SOME MICROBIOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF DRINKING AND UTILITY WATER IN THE PROVINCE OF AFYONKARAHİSAR AND THE SURROUNDING AREA

Abstract:

In this study, the central and districts of Afyonkarahisar (Başmakçı, Bayat, Bolvadin, Çay, Çobanlar, Dazkırı, Dinar, Emirdağ, Evciler, Hocalar, İhsaniye, İscehisar, Kızılören, Sandıklı, Sincanlı, Sultandağı, Şuhut) drinking and utility (city/spring/well) waters in some microbiological and physicochemical properties were investigated. June-July-August 2011 period in the region drinking water and well water (the center of each city water, spring and well water) was used as sample material from the total of 162.

To determine number of aerobic mesophilic bacteria, psikrofil microorganisms drop plate method, *Pseudomonas* spp., Enterobacteriaceae, enterococci, coliform, *E. coli* and sulfite-reducing anaerobes (*C. perfringens*), membrane filtration method used. According to the microbiological findings from the study, in the entire sample (162) levels of aerobic mesophilic bacteria and psikrofil microorganisms have been identified as 68% (110) and 60% (98) respectively. 17% (28) coliform, 15% (24) Enterobacteriaceae, 12% (20) enterokok, 7% (12) *E. coli*, 13% (21), *Pseudomonas* and 14% (23) sulfite-reducing (*C. perfringens*) of the samples were found to be contaminated with microorganisms.

All samples analyzed were clear, odorless and have unique color and taste, but a part of samples were not regulation in terms of microbiological criteria.

According to the results of physico-chemical analysis, the average pH, turbidity (NTU), conductivity ($\mu\text{ohm} / \text{cm}$) and total hardness (French hardness) values of samples (162) were identified as 7,28; 0,497; 362,11; 22,78 respectively. The average values of nitrite, nitrate, arsenic, chlorine, ammonia, fluoride, calcium and sulfate were 0.09 mg/L, 17.25 mg/L, 0.26 mg/L, 0.83 mg/L, 0, 15 mg/L, 0.94 mg/L, 18.11 mg/L, 20.42 mg/L respectively.

Keywords: Water, Physical and chemical quality, Drinking water, Utility water, Water hygiene

Bildiri No: 99

Kategori: Genel

ANADOLU MANDA SÜTLERİNİN BAZI KİMYASAL VE MİKROBİYOLOJİK KALİTESİ

Sunum Tipi: Poster

Zeki GÜRLER, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Yahya KUYUCUOĞLU, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Şebnem PAMUK, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Özet

Bu çalışma, yılın farklı dönemlerinde Anadolu mandalarından alınan 120 süt örneğinde kimyasal ve mikrobiyolojik analizlerin yapılması amacıyla planlandı. Çalışmanın materyalini Afyonkarahisar ilinde yetiştirici elinde bulunan Anadolu mandalarından toplanan süt örnekleri oluşturdu. Süt örneklerinde yapılan kimyasal analizlerde, ortalama kuru madde, yağ, protein, laktoz ve pH değerleri sırasıyla; %16.38, %7.04, %4.36, %4.19, %0.72 ve 6.55 olarak saptandı. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre; toplam aerob mezofil genel canlı, koliform, laktik asit bakterileri, E.coli, S.aureus ve maya- küf düzeyleri (log10 kob/g) sırasıyla; 6.36, 2.95, 5.74, 1.10, 2.46, 2.63 olarak belirlendi.

Kış mevsiminde toplanan örneklerin kimyasal analiz sonuçları laktoz miktarı hariç yüksek bulunurken, mikrobiyolojik analiz bulgularının diğer mevsimlerden yüksek olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Anadolu manda sütü, Mikrobiyolojik kalite, Kimyasal kalite

SOME MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL QUALITY OF ANATOLIAN WATER BUFFALO MILK

Abstract

This study performed to investigate microbiological and chemical quality of 120 milk samples, collected from Anatolian Buffalos at different seasons of year. Materials of this study were milk samples, which were collected from the Anatolian Buffalos in the province of Afyonkarahisar. The results of chemical analysis regarding total solids, fat, protein, lactose and pH were 16.38%, 7.04%, 4.36%, 4.19%, 0.72% and 6.55 respectively. According to microbiological analysis result of levels of total count of mesophilic aerobic bacteria, coliform and lactic acid bacteria, E.coli, S.aureus, mold and yeast were determined as (log10 kob/g) 6.36, 2.95, 5.74, 1.10, 2.46, 2.63 respectively.

Result of chemical analysis of samples, the in winter season collected, were higher than other seasons except amount of lactose. Also, microbiologic analysis results were higher than other seasons.

Keywords: Anatolian water buffalo milk, Microbiological Quality, Chemical quality

Bildiri No: 100

Kategori: Genel

YARMİK İLE ZARMİK ÇİFTLİK YOLLARINDA(SÜT SIĞIRI YETİŞTİRİCİLERİNDE / BAKICILARINDA MİKROORGANİZMA FARKINDALIĞI OLUŞTURMA) *

Sunum Tipi: Poster

Ramazan GÖKÇE, Gıda Mühendisliği, Pamukkale Üniversitesi

Özet

İnsan hayatı için temel gıdalardan olan süt, mikrobiyal aktivite açısından oldukça hassastır. Bu yüzden süt hayvanının genel sağlığı, meme sağlığı hatta yediği yemler süt kompozisyonunu ve güvenliğini etkilemektedir. Bazı genel hastalık hallerinde süt kompozisyonu ve güvenliği ciddi anlamda etkilenmekte ve süt tehlikeli bir gıda maddesine dönüşmektedir. Bunların ötesinde süt sağıcıları ve sağım ekipmanları vasıtasıyla; sağım, soğutma, depolama, taşıma gibi işlemler esnasında da süt bileşimi ve güvenliği zarar görebilmektedir.

Süt hayvanının hastalıkları, uygun olmayan sağım şartları veya sağımdan sonra soğutma, depolama taşıma hataları nedeniyle sütün bozulması, öncelikle onun işlenmesinde sorun yaşanmasına yol açmaktadır. Bu yüzden süt işletmeleri işleyecekleri sütleri öncelikle mikrobiyal aktivite açısından incelemekte, uygun olmayan sütleri işletmeye kabul etmemektedirler. Böylesine önemli bir gıdanın daha hijyenik şartlarda üretilmesi için konu ile ilgili kişilerin bilgilendirilmesi gereklidir.

Bu gerçeklerden hareketle Denizli Merkez ve Sarayköy İlçelerine bağlı 5 ayrı köy veya beldede 25-50 yaşları arası hayvan yetiştirici ve bakıcılarına; hayvan sağlığı ve beslenmesi, temel basit mikrobiyoloji, meme sağlığı ve süt sağımı, sütün soğutulması-depolanması-taşıması ve bazı süt ürünleri konusunda eğitimler verilmiştir. Eğitim başlangıcında ve sonunda yapılan anketlerle yetiştiricilerin eğitimden sağladıkları fayda ortaya konulmuştur. Buna göre yetiştiricilerin neredeyse hiç bilgi sahibi olmadıkları mikrobiyal aktivite konusu başta olmak üzere; hayvan sağlığı, meme sağlığı, sağım hijyeni ve bazı süt ürünleri konusunda bilgi seviyelerinin arttığı gözlenmiştir. Eğitimlerde hayvan hastalıklarına ve ürünlerin bozulmasına yol açan zararlı mikroorganizmalar ZARMİK; yoğurt, peynir, kıymız, kefir gibi süt ürünlerinin oluşmasında etkili olan mikroorganizmalar da YARMİK olarak nitelendirilmiştir. Böylece hem söylemesi kolay, hem de daha akılda kalıcı olmasına çalışılmıştır.

*:Bu proje TÜBİTAK 4004 Bilim ve Toplum Projeleri Müdürlüğü'nce desteklenmiştir.

YARMİK AND ZARMİK ON THE ROADS OF A FARM (CREATING AWARENESS ON DAIRY CATTLE BREEDERS/CARETAKERS ABOUT MICROORGANISMS) *

Abstract

Milk, a basic food for human life, is very sensitive in terms of microbial activity. Therefore, the overall health of dairy animals, udder health of animals even types of feed-stuffs affect the composition and safety of dairy milk. During some animal illnesses, the composition and safety of milk is seriously influenced, and milk may turn into a dangerous food item. Moreover, the composition and safety of milk may be damaged thru all milking personnel and equipments during processes such as milking, cooling, storage and transportation.

Deterioration of milk by dairy animal diseases, improper conditions during milking or after milking like inappropriate cooling and storage leads several problems in the processing of milk. This is why dairy processors primarily determine the microbial activity of milk, and may refuse to process raw milk which is low in microbial quality. It is important to educate milk producers about the microbial quality of dairy milk in order to obtain raw milk to be processed under better hygienic conditions.

Therefore, animal breeders and caregivers between the ages of 25-50 from the Sarayköy Central Districts of Denizli on 5 separate villages or towns were educated about animal health and nutrition, basic microbiology, udder health and milking, milk cooling-storage-transport and some dairy products. At the beginning and the end of education, surveys were provided to the breeders to determine the effectiveness of the education. Accordingly, it was observed that the breeders mostly had the lack of knowledge about microbial activity, animal health, udder health or milking hygiene, and their knowledge was significantly increased after education. During education sessions, animal diseases and harmful organisms that cause deterioration in milk were symbolized as ZARMİK while microorganisms effective in the production of dairy products such as yogurt, cheese, kumiss and kefir was symbolized as YARMİK contraptions. Thus, through this metaphor, perception of breeders was increased to a level where the breeders could easily remember the microbial activity of milk.

*:This project is supported by TUBITAK 4004 Directorate of Science and Society Project

Bildiri No: 103

Kategori: Genel

KARS İLİNDE KASAPLARDA SATIŞA SUNULAN FERMENTE SUCUKLARIN KALİTE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Sunum Tipi: Poster

Çiğdem SEZER, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Aksem AKSOY, Gıda Teknolojisi Programı, Kafkas Üniversitesi Kars Meslek Yüksek Okulu

Özgür ÇELEBİ, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Turgay DEPREM, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Metin ÖĞÜN, Biyokimya Anabilim Dalı, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Nebahat BİLGE ORAL, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Leyla VATANSEVER, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Abamüslüm GÜVEN, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Özet

Bu araştırma Kars ilinde yerel kasaplar tarafından geleneksel yöntemler kullanılarak üretilmiş, satışa sunulan tüketime hazır 30 adet fermente sucuk örneği ile 10 adet ısıtım işlem görmüş sucuk benzeri ürünün mikrobiyolojik, kimyasal ve histolojik yönden kalite kriterlerinin belirlenmesi ve Türk Standartlarına uygun olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmada incelenen örneklerin %10'unda *L. monocytogenes*, %5'inde *Salmonella* spp., %5'inde *E.coli* izole edilmiştir. Örneklerin hiçbirinden *Clostridium perfringens* ve *E.coli* O157:H7 tespit edilememiştir. İncelenen sucuk örneklerinin % 32,5'inde (13 örnekte) epitel dokuya, % 27,5 oranında (11 örnekte) yoğunluğu serö-müköz karakterde olan bez epiteline, % 12,5'inde (5 örnekte) düz kas dokusu ile kırıkdak ve kemik dokusuna rastlanmıştır. İncelenen sucuk örneklerinin pH değerleri yönünden %73,3'ü, yağ oranı yönünden %20'si, su içeriği yönünden fermente sucuk örneklerinin tamamının, nitrat içeriği nedeniyle %60'ının nitrit için ise % 70'inin TKG Et ürünleri Tebliği ve TS 1070 Sucuk Standardında verilen değerlere uymadığı belirlenmiştir.

Giriş

Ülkemizde severek tüketilen bu et ürünü modern tesislerde yüksek kaliteli ve güvenilir ürünler olarak üretilmekle birlikte maalesef küçük işletmelerde veya merdiven altı üretimlerde teknolojik ve hijyenik şartlara uyulmaksızın standart olmayan yöntemlerle de üretilmektedir. Özellikle hammadde olarak düşük kaliteli et, yüksek yağ oranı, farklı tür hayvan etleri, iç organ, kalitesiz baharat kullanımı, katkı maddelerinin bilinçsiz ve limitlerin üstünde kullanılması gibi birçok faktör sucuğun kalitesini etkilemekte daha da önemlisi insan sağlığını riske etmektedir. Üretiminde starter kültür ve kontrollü fermentasyonun kullanılmaması, üretimin tamamen iklim şartlarına bağlı kalınarak doğal fermentasyonla yapılması, ürünlerin tam olgunlaşmadan ekonomik kaygılar ile piyasaya erken sürülmesi fermente sucuklarda görülen kalite bozukluklarının temel sebepleri sayılabilir. Bu çalışma Kars ilinde yerel kasaplar tarafından geleneksel yöntemler kullanılarak üretilmiş tüketime hazır sucukların mikrobiyolojik, kimyasal ve histolojik kalitesini ve halk sağlığı açısından güvenilirliklerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot: Bu araştırmada Kars'daki kasaplarda geleneksel yöntemlerle üretilen ve satışa sunulan 30 adet fermente sucuk ve marketlerde satılan farklı firmalara ait 10 adet ısıtım işlem görmüş sucuk benzeri ürün alınarak en kısa sürede soğuk zincir altında laboratuara getirilmiş ve analizler süresince 40C'de muhafaza edilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler: Aseptik şartlarda numunelerden 25'er g tartılarak steril stomacher poşetlerine alınmış ve 225 ml steril fizyolojik tuzlu su ilave edilerek stomacher'de 2 dakika süreyle homojenize edilmiştir.

Homojenizasyon sonrası örneklerin desimal seyreltileri hazırlanarak dökme ve yayma plak yöntemleri kullanılarak Toplam Aerobik Mezofilik Koloni sayısı için Plate Count Agar 30°C / 48 saat; Kolliform Grubu Bakteriler için Violet Red Bile Lactose Agar 37°C / 24 saat; *Escherichia coli* için Violet Red Bile Lactose Agar 44,5°C / 24-48 saat; Maya-Küf için Potato Dextrose Agar 22°C / 5-10 gün; *Clostridium perfringens* için Perfringens Agar 35°C/18-24saat (Anaerobik); *Staphylococcus aureus* için ise Balrd Parker Agar 37°C / 24-48 saat inkübasyon şartları kullanılarak ekimler yapılmıştır (15, 16). Sucuklara *Salmonella* spp (1, 18), *Listeria monocytogenes* (17, 25) ve *Escherichia coli* O157:H7 izolasyonu (12, 15, 16) için kültürel yöntem kullanılmış, zenginleştirme, katı besiyerine ekim sonrası biyokimyasal ve serolojik testler ile identifikasyona gidilmiştir.

Kimyasal Analizler: Örneklerde tuz miktarı modifiye Mohr yöntemi, yağ oranı modifiye Babcock yöntemi, pH değeri pH metre, kurumadde ve kül miktarı ise gravimetrik yöntem kullanılarak tespit edilmiştir (5, 13). Örneklerin nitrit ve nitrat içerikleri Miranda ve ark. (21)'nin bildirdiği spektrofotometrik yöntemle göre belirlenmiştir.

Histolojik Analizler: Histolojik değerlendirme için sucuk örneklerinden dondurma mikrotomunda (Leica CM 1510 S) 6-8 µm kalınlığında alınan kesitler crom alum jelatinle kaplı lamlara alınmıştır. Sucuğun histolojik olarak yapısını incelemek için alınan kesitlere Crossmanın üçlü boyaması ve hematoksilin-eosin boyamaları uygulanmıştır (7, 20).

Bulgular

Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları: Örneklerde *S.aureus* sayısı bakımından 7 örneğin (%17,5), Maya-Küf sayısı yönünden 4 örneğin (%10) Türk Gıda Kodeksi (TGK) Et Ürünleri Tebliğine göre izin verilen limiti aştığı belirlenmiştir. Örneklerin hiçbirinden *C.perfringens* izole edilememiştir. Isıtım işlem görmüş sucuk benzeri ürünlerden birinde ve bir fermente sucuk örneğinde *E.coli* tespit edilmiştir. Örneklerde *E.coli* O157:H7 izole edilemezken 4 örnekte *L.monocytogenes*, 2 örnekte *Salmonella* spp izole edilmiştir (2,4).

Tablo 1: Mikrobiyolojik analiz sonuçları (kob/g)

Mikroorganizma	N	Min.	Mak.	X	SX
Toplam aerobik mezofilik koloni sayısı	10	4,4x10 ²	1,2x10 ⁷	1,9x10 ⁶	4,1x10 ⁶
	30	2,0x10 ²	8,0x10 ⁷	1,7x10 ⁷	2,3x10 ⁷
<i>S.aureus</i>	10	0	1,2x10 ⁴	3,2x10 ³	4,4x10 ³
	30	4,0x10 ¹	1,3x10 ⁵	1,4x10 ⁴	3,1x10 ⁴
Maya-küf	10	0	0	0	0
	30	1,6x10 ³	1,2x10 ⁶	1,5x10 ⁵	3,9x10 ⁵
Koliform	10	0	2,7x10 ³	2,7x10 ²	8,5x10 ²
	30	4,0x10 ¹	4,9x10 ⁴	1,6x10 ³	1,9x10 ³
<i>E.coli</i>	10	0	4,0x10 ²	4,0x10 ¹	1,2x10 ²
	30	0	6,0x10 ²	2,0x10 ¹	1,1x10 ²

Kimyasal Analiz Sonuçları: Sucukta pH değerlerinin pH 4,94–6,97 gibi bir aralıkta değişim gösterdiği belirlenmiştir. Isıl işlem görmüş sucukların hiçbirinde (%100) pH değerlerinin uygun olmadığı, fermente örneklerde ise 22 örneğin (%73,3) pH değerinin uygunsuz olduğu belirlenmiştir. Sucuk örneklerinin 8'inde (%20) fazla yağ oranının etikette belirtilmediği tespit edilmiştir. Örneklerin rutubet oranının %40'ın çok üstünde olduğu ve fermente sucuk örneklerinin tamamının rutubet oranı yönünden standart ve tebliğe uygun olmadığı tespit edilmiştir. Araştırma sonucu incelenen örneklerin 28 tanesinin (%70) Türk Gıda Kodeksi'nde verilen limitlerden daha fazla kalıntı nitrat içerdiği tespit edilirken, 24 tanesinin (% 60) izin verilen limitlerden fazla kalıntı nitrit içerdiği belirlenmiştir (2, 3, 4).

Tablo 2: Kimyasal analiz sonuçları

Kriter	n	Min.	Mak.	X	SX
Yağ (%)	10	23	37	30,2	4,79
	30	20	58	35,66	9,73
Kurumadde (%)	10	31,3	38,9	35,12	2,96
	30	39,4	52,1	43,69	3,76
Kül (%)	10	2,81	6,03	4,02	1,01
	30	2,77	5,42	3,88	0,57
pH	10	6,4	6,92	6,74	0,14
	30	4,94	6,97	6,18	0,69
Tuz (%)	10	1,64	3,51	2,77	0,51
	30	1,4	3,15	2,36	0,46
Nitrat (mg/kg)	10	96,72	794,90	502,23	186,64
	30	14,88	943,71	358,07	245,01
Nitrit (mg/kg)	10	25,76	378,16	155,54	115,48
	30	0,46	196,90	67,25	50,34

Histolojik Analiz Sonuçları: Örneklerin hepsinde kollagen iplik, bağ doku, sinir doku, adipoz doku ve iskelet kası dokusuna rastlanmıştır. İncelenen sucuk örneklerinin % 32,5'inde (13 örnekte) epitel dokuya, % 27,5 oranında (11 örnekte) çoğunluğu serömüköz karakterde olan bez epiteline, % 12,5'inde (5 örnekte) düz kas dokusu ile kıkırdak ve kemik dokusuna rastlanmıştır. Bunlara ilaveten farklı birer örnekte kıl ve kıl kökü, dalak parçası, özofagus ve duyu organları epitelyum, lenfoid odaklar, elastik membranlar içeren yapılar da gözlenmiştir.

Tablo 3: Sucuklarda rastlanılan doku çeşitleri

Dokular	Dokunun Tespit Edildiği Örnek Sayısı	Yüzde Oranı
Kollagen iplikler	40	100
Bağdoku	40	100
Sinir Doku	40	100
Adipoz Doku	40	100
Epitel Doku	13	32,5
Kıl ve Kıl Kökü	1	2,5
Bez Epiteli	11	27,5
İskelet Kası	40	100
Düz Kas	5	12,5
Kalp Kası	-	-
Karaciğer Dokusu	-	-
Dalak Dokusu	1	2,5
Meme Dokusu	-	-
Kıkırdak ve Kemik Dokusu	5	12,5

Tartışma ve Sonuç

Geleneksel et ürünümüz fermente sucuk geniş bir kitle tarafından sevilerek tüketilmektedir. Piyasada ısıtma işlemi görmüş sucuk benzeri ürün olarak ambalajlanarak satılan ürünler maalesef halkın bu konuda yetersiz bilgiye sahip olması nedeniyle fermente sucuk olarak değerlendirilmektedir. Her iki ürün arasında oldukça ciddi bir lezzet farkı bulunmaktadır. Özellikle yöre halkı hazır sucuk olarak değerlendirdikleri bu haşlanmış sucuklarda aradıkları fermente lezzeti bulamadıklarından kasap sucuklarına yönelmişlerdir. Yöre kasaplarında her bütçeye uyabilecek fiyatta fermente sucuk bulmak mümkündür. Fakat ne yazık ki bu ücretlendirme sucuğun kalitesine göre yapılmamaktadır. Kars ilinde kasaplarda geleneksel yöntem kullanılarak üretilmiş fermente sucukların kalitesini ve güvenilirliğini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada elde edilen bulgular genel anlamda değerlendirildiğinde hem mikrobiyolojik hem kimyasal hem de duyuşsal anlamda sucuk örneklerinin hiçbirinin TS 1070 Sucuk Standardı ve TKG Et Ürünleri Tebliğine uygun olmadığı gözlemlenmiştir.

Ülkemizde özellikle fermente sucuk örnekleri üzerine yapılan çalışmalarda patojen mikroorganizma varlığının tespit edilmesi ve müsaade edilen limitlerin üzerinde nitrat ve nitrit kullanımının belirlenmesi kontrollü üretim ve üretim sonrası denetimlerin ne denli önemli olduğunu göstermektedir (9, 19, 24).

Birçok üretim yerinde üretim şartları ve yöntemleri incelendiğinde durumun ciddiye ortaya çıkmaktadır. Starter kültür kullanılmadan teknolojik ve hijyenik şartlara uymadan kontrolsüz ve tamamen doğa şartlarına bağlı olarak yapılan üretimler sonucu elde edilen sucuk örnekleri yine uygunsuz şartlarda satışa sunulmaktadır. Elde edilen ürünlerin ise kimyasal, fiziksel, duyuşsal ve mikrobiyolojik özellikleri tamamen farklı olmaktadır. Bu araştırmada incelenen örneklerin %10'unda *L. monocytogenes*, %5'inde *Salmonella* spp., %5'inde *E.coli* izole edilmiştir. İncelenen sucuk örneklerinin pH değerleri yönünden %73,3'ü, yağ oranı yönünden %20'si, su içeriği yönünden fermente sucuk örneklerinin %60'ının nitrat içeriği nedeniyle %60'ının nitrit için ise % 70'inin TKG Et ürünleri Tebliği ve TS 1070 Sucuk Standardında verilen değerlere uymadığı belirlenmiştir.

Ülkemizde farklı şehirlerde üretilen ve satışa sunulan sucukların kalitelerini araştırmak için birçok çalışma yapılmıştır (8, 10, 14, 22). Bu araştırmalarda analiz sonuçları oldukça değişken verilere neden olabilmektedir. Üretimde standart bir yöntem kullanılmaması, fermentasyonun kontrolsüz şartlarda gerçekleştirilmesi ve özellikle olgunlaşma sürelerinin tamamlanmadan satışa sunulmaları gibi birçok etken kimyasal özelliklerin farklı değerler almasına ve mikrobiyel yükün değişmesine neden olabilmektedir.

Salam, sosis ve sucuk gibi et ürünleri hileye oldukça açık ürünlerdir. Bu ürünlerin üretimlerinde çok sıkı kontrollerin yapılması gerekmektedir. Bu konuda yapılan araştırmalarda da sucukta farklı dokular tespit edilmiştir (6, 11). Sucukta yapılan en büyük hilelerden biri Türk Gıda Kodeksinde belirtilen miktardan fazla oranda yağ kullanılması fakat etikette bu oranın belirtilmemesidir. Bu durum tüketiciye ekonomik anlamda da zarar vermektedir. Araştırmalarda su oranları yüksek bulunmaktadır. Bu durum çoğunlukla sucukların gereği kadar olgunlaştırılmadan satışa sunulduğunu gösterir. Su oranının yüksek olması sucukların yapısını, dillenebilirliğini etkilediği gibi en önemlisi mikrobiyel yükün kontrol edilmesini de olumsuz etkiler. Sucuk üretiminde pH değerinin düşmesi renk, lezzet, kıvam ve mikrobiyel güvenilirlik için oldukça önemlidir. Sucuk örneklerinde yüksek pH eldesi starter kültür kullanılmadığından doğal floranın yavaş çalışmasına ve/veya sucukların yeterince olgunlaştırılmadan piyasaya sunulmasına bağlanabilir. Sucuklarda bulunan nitrit ve nitrat miktarının araştırıldığı çalışma sonuçları farklılıklar göstermekle birlikte kalıntı miktarların izin verilen limitlerin üstünde olduğu tespit edilmiştir (23, 26). Kanserojenik etkili nitrozamin bileşikler yönünden nitrat ve nitritlerin risk oluşturabileceği göz önünde bulundurulduğunda hem üreticiler hem de tüketiciler bu konuda bilinçlendirilmelidir.

Toplum tarafından sevilerek tüketilen fermente sucukların hijyenik ve teknolojik şartlarda kontrollü fermentasyonunu tamamlayarak fermente tadını ve yapısını kazanarak üretilmesi, bu üretimin her aşamasında eğitim almış kalifiye eleman çalıştırılması, denetimlerin küçük ölçekli-büyük ölçekli işletmelerde düzenli ve kurallı olarak yapılması tüketici sağlığını korumak için zorunludur. Üretici ve tüketicilerin güvenli gıda konusunda bilinçlendirilmesine yönelik seminerler düzenlenmesi oldukça önemlidir.

Kaynaklar

1. Andrews WH, Hammack T (1995) Salmonella. Chapter 5. In: Bacteriological Analytical Manual, 8th Edt, FDA, US.
2. Anonim (1992) Türk Sucuğu, TS 1070, Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
3. Anonim (1997) Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete, 16 Kasım 1997, Sayı 23172, S:44. Ankara.
4. Anonim (2001) Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği, Resmi Gazete Sayı 24345, Tebliğ No 2001-08. Ankara.
5. Association of Official Analytical Chemists (1990) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. 15th edt, Washington.
6. Atasever M, Çelik İ, Keleş A, Boyak M (1999) Fermente sucuklardaki doku tiplerinin histolojik yöntemlerle belirlenmesi. Vet Bil Derg, 15, 147-154.
7. Culling CFA, Allison RT, Barr WT (1985) Cellular Pathology Technique. Butterworths and Co Publ Ltd, London.
8. Çon AH, Doğu M, Gökalp HY (2002) Afyon'da büyük kapasiteli et işletmelerinde üretilen sucuk örneklerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin periyodik olarak belirlenmesi. Turk J Vet Anim Sci, 26, 11-16.
9. Çon AH, Gökalp HY (1998) Türkiye pazarlarındaki sucukların bazı kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri. Gıda, 23, 347-355.
10. Doğu M, Çon AH, Gökalp HY (2002) Afyon ilindeki yüksek kapasiteli et işletmelerinde üretilen sucukların bazı kalite özelliklerinin periyodik olarak belirlenmesi. Turk J Vet Anim Sci, 26, 1-9.
11. Erdoğan ÖT (2002) Kahramanmaraş'ta satışa sunulan sucuk ve sosların histolojik yapılarının incelenmesi. KSÜ Fen ve Müh Derg, 5, 9-13.
12. Feng P, Weagant SD (2011) Diarrheagenic Escherichia coli. Chapter 4a. In: Bacteriological Analytical Manual, FDA, US.
13. Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y, Zorba Ö (2001) Et ve Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu. IV. Baskı, Atatürk Üniv. Yayınları, Yayın No: 751.
14. Güven A, Patır B (1998) Elazığ İlinde Tüketime Sunulan Et ve Bazı Et Ürünlerinde Listeria Türlerinin Araştırılması. Turk J Vet Anim Sci, 22, 205-212.
15. Halkman AK (2005) Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd Şti, Ankara.
16. Harrigan WF (1998) Laboratory Methods in Food Microbiology. Third ed., Academic Press, California, USA.
17. Hitchins AD (2011) Detection and Enumeration of Listeria monocytogenes in Foods. Chapter 10. In: Bacteriological Analytical Manual, FDA, US.
18. ISO (6579) International Organization for Standardization (2002) Microbiology - General guidance on methods for the detection of Salmonella, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
19. Kök F, Özbey G, Muz A (2007) Aydın ilinde satışa sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik kalitelerin incelenmesi. Fırat Üniv Sağ Bil Derg, 21, 249-252.
20. Luna LG (1968) Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third Ed. Mc Graw-Hill Book Comp, New York.
21. Miranda KM, Espey MG, Wink DA (2001) A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. Nitric Oxide: Biol Chem, 5, 62-7

22. Nazlı B, Uğur M, Akol N (1986) İstanbul piyasasında tüketime sunulan sucuk, salam ve sosislerin mikrobiyolojik kaliteleri üzerine araştırmalar. İstanbul Üniv Vet Fak Derg, 12, 1-10.
23. Sancak YC, Ekici K, İşiyici Ö (2008) Fermente Türk sucuğu ve pastırmalarda kalıntı nitrat ve nitrit düzeyleri. Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg, 19, 41-45.
24. Sancak YC, Kayayardı S, Sağun E, İşleyici Ö, Sancak H (1996) Van piyasasında tüketime sunulan fermente Türk sucuklarının fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik niteliklerinin incelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg, 7, 67-73.
25. Seeliger HPR, Jones D (1986) Genus *Listeria*. 1235-1245. In: PHA Sneath, NS Mair, ME Sharpe, JG Holt (Eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, MD. New York.
26. Soyutemiz GE, Özenir A (1996) Bursa'da tüketilen sucuk, salam, sosis ve pastırmalardaki kalıntı nitrat ve nitrit miktarlarının saptanması. Gıda, 21, 471-476.

Bildiri No: 105

Kategori: Genel

BATI AKDENİZ BÖLGESİNDE SATIŞA SUNULAN BAHARATLARDA AFLATOKSİN SEVİYESİ

Sunum Tipi: Poster

Özen KURŞUN, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Mehmet Akif ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Ayşe Gül MUTLU, Biyoloji, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

Aflatoksinli gıdaların tüketimi, insan sağlığı üzerinde henüz tam olarak anlaşılmamış bazı riskler içerir. Aflatoksinler değişik gıda gruplarında bulunabilir ve normal pişirme ve endüstriyel prosesler ile yok edilemez. Bu çalışmada toz kırmızı biber, pul biber, kara biber ve kimyon olarak toplam 134 baharat örneği, ELISA testi ile total aflatoksin miktarları açısından incelenmiştir. Baharat örnekleri, Burdur, Isparta ve Antalya şehir merkezlerindeki market ve pazarlardan satın alınmıştır. Örneklerin hiçbirinde total aflatoksin miktarının, Avrupa Birliği limiti olan 10 µg/kg'ı aşmadığı gözlenmiştir. Kırmızı biberlerde kontaminasyon seviyesi 3,55 - 9,55 µg/kg arasında, kara biberlerde 0,67 - 6,15 µg/kg arasında, kimyonlarda ise 4,55 - 8,57 µg/kg arasında bulunmuştur. Pul biberlerde ise maksimum aflatoksin seviyesi 9,46 µg/kg olarak ölçülmüştür.

AFLATOXIN LEVELS IN SPICES MARKETED IN THE WEST MEDITERRANEAN REGION

Aflatoxins display an insufficiently recognized risk to human health. They can be found in a variety of food items and are not destroyed by normal industrial processing or cooking. In this study, totally 134 spice samples including powdered red pepper, flaked red pepper, black pepper and cumin were investigated for total aflatoxin levels by ELISA. Spice samples were obtained from bazaars and markets in Burdur, Isparta and Antalya city centers. Total aflatoxin values of the samples not exceeded 10 µg/kg as legal limit of the European Union. All of the red pepper samples were contaminated with levels ranging from 3,55 to 9,55 µg/kg. Black pepper samples contained levels ranging from 0,67 to 6,15 µg/kg. Cumin aflatoxin levels were found to be ranging from 4,55 to 8,57 µg/kg, while flaked red pepper contained aflatoxin levels maximum 9,46 µg/kg.

MERSİN'DE TÜKETİME SUNULAN SALAM, SOSİS VE SUCUKLARDAKİ KALINTI NİTRAT VE NİTRİT DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Sunum Tipi: Poster

Özlem Pelin CAN, Gıda Mühendisliği, Cumhuriyet Üniversitesi
Halil YALÇIN, -, Mersin İl Kontrol
Mustafa TÜRKÖĞLU, -, Mersin İl Kontrol

Özet

Bu çalışma, Mersin'de satışa sunulan toplam 150 et ürünündeki (50 adet sucuk, 50 adet salam ve 50 adet sosis) kalıntı nitrat ve nitrit düzeyini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Ürünler yerel marketlerden rastgele toplanmıştır. Sucuk örneklerinin 5 tanesinde, salam örneklerinin 7 tanesinde ve sosis örneklerinin ise 9 tanesinde belirlenen kalıntı nitrit değeri 7,5 ppm in üzerinde bulunmuştur. Salam, sosis ve sucuk örneklerinde kalıntı nitrat ve nitrit değerleri HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. Toplanan numuneler içerisindeki en yüksek kalıntı nitrit değerleri sucuklarda 178,32, salamlarda 42,28 ve sosislerde ise 42,46 ppm olarak belirlenmiştir. Piyasadan toplanan örnekler gıda kodeksi tarafından belirlenen limit değerlerinin altında bulunmuştur. Bu sonuç gıda güvenliği açısından önemlidir.

Anahtar kelimeler: Nitrat, nitrit, salam, sosis, sucuk

THE RESIDUAL NITRATE AND NITRITE DETECTION OF SALAMI, SAUSAGES AND DRY FERMENTED SAUSAGES SOLD IN MERSIN PROVINCE

Abstract

This study was aimed to determine the residual nitrate and nitrite of totally 150 meat product (50 pieces dry fermented sausages, 50 pieces salami and 50 pieces sausages) in Mersin province. The product were randomly collected. The residual nitrite value detected over 7.5 ppm which dry fermented sausages samples in 5, salami samples in 7 and sausages samples in 9. The residual nitrite and nitrate detected use HPLC method in dry fermented sausages, salami and sausages. The high residual nitrite value in collected samples determined in dry fermented sausages 178.32, salami 42.28 and sausages 42.46 ppm. The samples from collected market were below limit codex. This result is important for food safety.

Anahtar kelimeler: Nitrate, nitrite, salami, sausage, dry fermented sausage

GİRİŞ

Et, yapısında birçok esansiyel aminoasitleri içeren yüksek biyolojik değere sahip bir gıdadır. Bu özelliğinden dolayı insanların yeterli ve dengeli beslenmesinde önemli yer tutmaktadır. Değerli bir besin kaynağı olan etten iyi bir şekilde yararlanmak amacıyla çeşitli ürünler üretilmektedir (1). Ülkemizde en fazla üretilen et ürünleri sucuk, salam, sosis ve pastırmadır. Sucuk ve benzeri ürünler; kıyma makinesinde veya kuterde kıyılmış et ve yağın, tuz, şeker, çeşitli baharatlar ve çok az miktardaki diğer katkı maddeleri ile karıştırılıp, doğal veya yapay kılıflara doldurulması ve belirli bir sıcaklık derecesinde, nispi rutubet, hava cereyanı ve sürede olgunlaştırılması ile elde edilen fermente kuru et ürünleridir (4). Salam ve sosis ise emülsifiye tip et ürünü olup, belirli miktarlarda hayvansal yağ, et ve su karışımından oluşmaktadır (1). Et ürünlerinin tüketici tarafından seçiminde rengi ürünün önem arz etmektedir.

Et ürünlerinde kürlleme maddesi olarak kullanılan katkı maddelerinin en önemlileri arasında nitrat ve nitrit tuzları yer almaktadır. Nitrit ete rengini veren miyoglobin pigmenti ile birleşerek nitrosomiyoglobini oluşturarak, üründe kalıcı renk oluşturmaktadır. Nitrat ve nitrit tuzlarının zararlı mikroorganizmalar üzerinde de önemli etkileri vardır. Fakat bu katkı maddelerinin fazla miktarda kullanılması oldukça sakıncalıdır (10). Fermente ve emülsifiye tip et ürünlerinin üretimden tüketime kadar geçen safhada oluşabilen biyogen aminler insan sağlığı için toksik etkili olup kalıntı nitrit ile oluşturdıkları kanserojenik nitrozaminler de son derece tehlikelidir (8). Bu nedenle salam, sosis ve sucuk gibi et ürünlerinin üretimi sırasında kullanılan nitrat ve nitrit ilavesi önem arz etmektedir. Nitrat ve nitrit miktarı gıdalar ile yüksek miktarda alındığında tüketicilerde akut veya kronik gıda zehirlenmelerine sebebiyet verebilir (12). Et ürünlerinin vazgeçilmez olan nitrat ve nitrit, zararlı etkilerinden dolayı çok tartışılan gıda katkı maddeleri olarak bilinmektedirler. Bu çalışmanın yapılmasındaki amaç, çok fazla tüketilen sucuk, salam ve sosislerdeki kalıntı nitrat ve nitrit düzeylerini belirleyerek, halk sağlığının güvence altına alınmasını sağlamaktır.

MATERYAL-METOD

1.Örneklerin toplanması

Analizi yapılan örnekler Mersin'de yerel marketlerden rastgele Şubat-Haziran ayları arasında toplanmıştır. Çalışmada 50 salam, 50 sosis ve 50 sucuk örneği analize tabi tutulmuştur. Bu örnekler ulusal ve yerel firmalar tarafından üretilen örnekler olup, kanşık olarak toplanmıştır.

2.Nitrat ve nitrit kalıntısının belirlenmesi

Analiz edilecek örnekler analiz yapılmadan önce ve analiz sırasında sıcaklıkları 25oC' nin altında tutulmuştur. Örnekler kıyma makinesi yardımıyla homojen hale getirildikten sonra 10 g tartılarak, üzerine 5 ml doymuş Borax (1 litre suda çözünmüş 50 gr. disodyum tetra borate decahydrate) çözeltisi eklendi ve karıştırıldı. Üzerine 70oC 100 ml saf su ilave edilerek 15 dakika çalkalayıcıda karıştırıldı ve işlem tamamlandıktan sonra numuneler oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Üzerine sırasıyla 2 ml Carrez 1 (1 litre suda çözünmüş potasyum ferrosiyano trihidrate) ve 2 ml Carrez 2 (30 ml. Glasiyel asetik asit eklenerek 1 litre suda çözündürülmüş 220 gr. çinko asetat dihydrate) eklenerek, karıştırıldı. Örnekler saf su ile 200ml' ye tamamlanarak oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Kaba filtre kağıdı yardımıyla süzülen örnekler karıştırılarak 0,45 µm lik enjektör filtresinden geçirildi ve ci-haza (HPLC) verilmek üzere 2 ml' lik vial e alındı. Örneklerin dilisyon faktörü 20 olarak belirlilip cihaza enjekte edildi. Numuneler cihaza verilmeden önce miktarı bilinen bir standart enjekte edilerek kalibrasyonda herhangi bir sapmanın olup olmadığı tespit edildi. Şayet standart enjeksiyonu sonucu kalibrasyon tablosunda ± %5'den daha küçük bir sapma elde edilmiş ise numunelerin enjeksiyonuna geçildi (6).

BULGULAR

Çalışmada, toplam 150 adet örnek kalıntı nitrat ve nitrit açısından incelenmiştir. Cihaz 7,5 ppm e kadar hassas olup, bu değerin üzerindeki kalıntı değerlerini belirlemiştir. Örneklerde belirlenen kalıntı nitrat değerleri Tablo 1' de, kalıntı nitrit değerleri ise Tablo 2' de verilmiştir (7,5 ppm in üzerindeki değerler tabloda verilmiş olup, 7,5 ppm ve altındaki değerlere tabloda yer verilmemiştir).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sucuk, salam ve sosis ülkemizde fazla tüketilen et ürünleri arasında yer almaktadır. Üretimden tüketime kadar geçen safhada oluşabilen biyogen aminler insan sağlığı için toksik etkili olup kalıntı nitrit ile oluşturdıkları kanserojenik nitrozaminler de son derece tehlikelidir (5). Nitrat ve nitrit et ve et ürünlerinde vazgeçilmez katkı maddelerindendir. Ancak öngörülen dozdan daha yüksek oranlarda ilave edildiklerinde ortaya çıkabilecek zararlı etkilerinden korunmak için bazı ülkelerde (örneğin Norveç) nitrat ve nitrit kullanımı tamamen yasaklanmıştır (8).

Diğer ülkelerde de kullanımına belli bir dozda olmak şartıyla izin verilmiştir. Et ürünlerindeki kalıntı nitrit miktarı Avrupa Topluluğu standartlarında 15 ppm, Codex Alimentarius'ta da 30 ppm'den fazla olmamalıdır (8, 9). Ülkemizde de Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde et ve et ürünleri için kullanımına müsaade edilen nitrit (NaNO_2) ısı işlemleri görmüş et ürünlerinde 125 mg/kg, nitrat (NaNO_3) miktarı da fermente ürünlerde 500 mg/kg, ısı işlemleri görmeyenlerde 300 mg/kg olarak belirtilmektedir (16). Yine Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'ne göre kalıntı nitrat ve nitrit miktarı 150 ppm'den fazla olmamalıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği değerlere göre, nitrat ve nitrit için günlük alınabilir maksimum değerler (kg vücut ağırlığı başına) sırasıyla 0-5 mg ve 0-0.5 mg olarak belirlenmiştir. Ancak yine de vücuda alınan günlük miktarın nitrat için 50-120 mg'ı, nitrit için de 2-5 mg'ı geçmemesi gerektiği bildirilmektedir (10, 11).

Tablo 1. de görüldüğü gibi sucuk örneklerinin ikisinde sodyum nitrat miktarı belirlenen limit değeri aştı. Örneklerde belirlenen sodyum nitrat miktarı 253,38 ve 298,93 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Yine sucuk örneklerinin bir tanesinde sodyum nitrit miktarı 265,7 mg/kg olarak belirlenmiştir. Salam ve sosis örneklerinde sodyum nitrit miktarı 150 mg/kg'dan düşük tespit edilirken, salam örneklerinin bir tanesinde 196,7 ve sosis örneklerinin bir tanesinde ise 231,6 mg/kg sodyum nitrat tespit edilmiştir. Wirth (16), yaptığı çalışmada fermente et ürünlerinde sağlıklı bir fermentasyonla tüketim aşamasına gelmiş bir üründe 10 mg/kg'dan daha fazla nitrit olamayacağını ortaya koymuştur. Oysaki yapılan analiz sonuçlarına göre 50 sucuk örneğinin 24 tanesinde belirlenen değer 10 mg/kg'nin üzerindedir (Tablo1).

Araştırmacılar olgunlaşma sonunda fermente sosislerde kalıntı nitrit miktarının düşük olması gerektiğini belirtmektedirler. Putresin, kadaverin, spermin ve spermidin gibi aminlerin nitrit varlığında kanserojenik nitrosaminleri oluşturabileceği de belirtilmektedir (2). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre sucuk, salam ve sosis örneklerinin çoğunda kalıntı nitrat ve nitrit miktarı 7,5 ppm'den küçük bulunmuştur. Bunun sebebi nitrat ve nitrit ilave edilen örneklerle katılan askorbik asidin nitrit miktarını düşürdüğü ile alakalı olduğu düşünülmektedir.

Soyutemiz ve Özener (14), Bursa'da yaptıkları piyasa araştırmasında 25 sucuk örneğinin 7 tanesindeki nitrat ve nitrit değerinin 100 ppm'in üzerinde olduğunu ve sucuklarda belirlendiği nitrat miktarının ortalama 89,50 ppm, nitrit miktarının ise 4,94 ppm olduğunu rapor etmişlerdir. Kayaardı (7), Manisa'da tüketilen sucuklarda yaptığı araştırmada nitrat miktarını 343,49 ppm, nitrit miktarını ise 10,53 ppm olarak tespit etmiştir. Yine Tandler (15), fermente sucuklar üzerine yapmış olduğu araştırmada en yüksek sodyum nitrit miktarını 5,5 ppm, en yüksek potasyum nitrat değerini ise 143,2 ppm olduğunu bildirmiştir. Soyutemiz ve arkadaşları (13) yapmış oldukları çalışmada deneysel sucuk örneklerine belirli miktarlarda nitrat ilave edip, olgunlaşma sonrası kalıntı miktarını araştırmışlar ve 300 ppm ilave ettikleri sodyum nitrat değerini, olgunlaşma sonrası 179,61 ppm olarak tespit etmişlerdir. Küba'da yapılan bir araştırmada domuz etinden yapılan sucuklardaki kalıntı nitrat ve nitrit miktarını 125 mg/kg in altında bulduklarını bildirmişlerdir (3). Soyutemiz ve ark. (14) yapmış oldukları piyasa araştırmasında 15 adet salam örneğinin 9 tanesinin, 15 adet sosis örneğinin ise 10 tanesinin belirlenen kalıntı nitrat ve nitrit değerini aştığını rapor etmişlerdir. Bu bulgular mevcut çalışma bulguları ile karşılaştırıldığında değerlerin yüksek olduğu dikkat çekmektedir. Özcan ve ark. (9) yapmış oldukları başka bir çalışmada, 100 ppm nitrit ilave ederek yapmış oldukları sosis örneklerinde kalıntı miktarı 40,70 ppm, 150 ppm nitrit ilave ettikleri örneklerdeki kalıntı nitrit miktarı ise 56,50 ppm olarak bulmuşlardır.

Salam, sosis ve sucuk üzerine yapılan araştırmaların çoğunda ürünlerin kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine bakılmış fakat nitrat ve nitrit kalıntıları ile ilgili çalışmalara rastlanmamıştır. Elde edilen çalışmalar eski tarihlidir ve gerçek durumu yansıtmadığı düşünülmektedir. Bu nedenle sağlığımızı tehlikeye düşüren fakat kullanılmasında gerekli olan bu katkı maddelerinin kalıntı değerleri sık sık kontrol edilmeli ve sürekli güncellenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, çok fazla tüketilen salam, sosis ve sucuk gibi et ürünlerine katılan nitrat ve nitritin kontrol altına alınabilmesi için satış noktalarından alınan örneklerin belirli aralıklarla kontrol edilmesi için yasal bir düzenlemenin getirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Arslan A. Salam ve sucuk üretimi, Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi, Medipres Yayıncılık, Türkiye, (2002) pp: 344-353.
2. Bover Cid S., Hugas M., Izquierdo Pulido M., Vidal Carou M.C. (2001). Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 185-189.
3. Cordova V., Roche M.O., Valera G.E., Beltran G. (1990). Nitrate and nitrite content of meat and sausages products in the Republic of Cuba. *Z. Gesamte Hygiene*, 36, 221-222.
4. Gökalp H.Y., Erçoskun H., Çon A.H. (1998). Fermente et ürünlerinde bazı biyokimyasal reaksiyonlar ve aroma üzerine etkileri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 4(3), 805-811.
5. Genççelep H. (2006). Sucuk üretiminde değişik starter kültürler ve farklı nitrit seviyelerinin biyogen amin oluşumu üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*.
6. ISO 2918-1975 Meat and Meat Products-Determination of Nitrite content
7. Kayaardı S. (1998). Manisa'da tüketilen salam, sosis, sucukların bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin incelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimler Dergisi*, 4, 32-39.
8. Öztan A., Vural H., Helvacı R. (1991). Sosis üretiminde nitrozomyoglobin ve kalıntı nitrit miktarlarını etkileyen faktörler. *Gıda*, 16(2), 117-12.
9. Öztan H., Vural H. (1991). Et ürünlerinde nitrozamin oluşumunun laktik asit bakterileri kullanımıyla önlenmesi. *Gıda*, 16(4), 237-240.
10. Piringci İ., Acet A. (1984). Yemlerde nitrat ve nitrit düzeyleriyle ilgili çalışmalar. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 31(1), 41-52.
11. Selenka F. (1980). Sanitary evaluation of nitrate in drinking water. *Zentrald. Bacteria Microbiol. Hygiene*, 172 (1-3), 44-58.
12. Servi K. (1991). Elazığ bölgesinde tüketime sunulan et ve süt ürünlerinde nitrat ve nitrit düzeylerinin belirlenmesi. *Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, doktora Tezi*.
13. Suyutemiz E., Oruç H.H., Ceylan S., Çetinkaya F. (2004). Farklı teknolojilerle üretilen yerli sucukların üretim aşamalarında nitrat ve nitrit miktarlarında meydana gelen değişimler. *Gıda*, 29, 73-78.
14. Soyutemiz E., Özenir A. (1996). Bursa'da tüketilen sucuk, salam, sosis ve pastırmalardaki kalıntı nitrat ve nitrit miktarlarının hesaplanması. *Gıda*, 21, 471-476.
15. Tandler K., Rödel W. (1983). Manufacture and stability of thin calibre long life sausages. *Fleischwirtschaft*, 62, 1574-1575.
16. Wirth F. (1986). Curing: colour formation and colour retention in frankfurter type sausages. *Fleischwirtschaft*, 66(3), 354-358.

Tablo 1. Salam, sosis ve sucuk örneklerinde belirlenen kalıntı sodyum nitrat ve nitrat değerleri (mg/kg)

Örnek No	Sosis		Salam		Sucuk	
	Sodyum nitrat miktarı	Nitrat miktarı	Sodyum nitrat miktarı	Nitrat miktarı	Sodyum nitrat miktarı	Nitrat miktarı
1	11,54	8,42	12,42	9,06	13,52	9,86
2	14,29	10,43	15,89	11,60	13,99	10,21
3	16,00	11,68	16,08	11,74	15,30	11,17
4	16,19	11,82	17,68	12,91	16,57	12,09
5	23,04	16,82	17,95	13,10	21,18	15,45
6	23,56	17,20	18,71	13,65	22,97	16,76
7	23,98	17,50	23,99	17,51	26,99	19,70
8	24,36	17,78	27,45	20,04	30,21	22,05
9	25,10	18,32	32,80	23,94	31,03	22,64
10	26,10	19,05	33,52	24,46	32,59	23,79
11	26,58	19,40	33,74	24,63	38,78	28,30
12	29,28	21,37	34,00	24,82	40,85	29,81
13	40,21	29,35	34,11	24,90	48,35	35,29
14	45,02	32,86	36,18	26,40	50,85	37,11
15	50,00	36,50	41,61	30,37	56,81	41,46
16	66,03	48,20	42,07	30,70	58,25	42,51
17	74,20	54,16	49,24	35,94	61,99	45,25
18	87,97	64,21	50,97	37,21	65,89	48,09
19	102,30	74,67	69,19	50,50	66,99	48,90
20	103,19	75,32	69,62	50,82	70,04	51,13
21	231,60	169,05	76,84	56,08	78,24	57,10
22	-	-	80,38	58,67	98,00	71,53
23	-	-	196,70	143,58	253,38	184,94
24	-	-	-	-	298,93	218,2

Tablo 2. Salam, sosis ve sucuk örneklerinde belirlenen kalıntı sodyum nitrit ve nitrit değerleri (mg/kg)

Örnek No	Sosis		Salam		Sucuk	
	Sodyum nitrit miktarı	Nitrit miktarı	Sodyum nitrit miktarı	Nitrit miktarı	Sodyum nitrit miktarı	Nitrit miktarı
1	14,02	9,41	15,65	10,50	14,35	9,63
2	21,25	14,26	19,98	13,40	34,57	23,20
3	23,75	15,94	25,99	17,44	45,23	30,36
4	24,15	16,20	32,45	21,77	78,24	52,51
5	29,10	19,53	35,35	23,72	265,70	178,32
6	35,14	22,58	54,44	36,54	-	-
7	48,28	32,40	63,00	42,28	-	-
8	60,61	40,67	-	-	-	-
9	63,27	42,46	-	-	-	-

Bildiri No: 109

Kategori: Genel

BROİLER ENTEGRASYONUNDA SALMONELLA ÖRNEKLEME MODELİ

Sunum Tipi: Poster

**Mehmet AKAN, Mikrobiyoloji A.B.D., Ankara Ü.V.
Nihan BUĞDAYCI, robioyoloji A.B.D., Ankara Ü.V.**

Özet

İnsan beslenmesinde önemli bir yer tutan tavuk eti, hayvansal gıdalar arasında uygun bileşimi ve çevre koşulları nedeniyle mikroorganizmaların gelişimi açısından önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Mikroorganizmalar ürünün raf ömrünü ve kalitesini önemli ölçüde etkilemekte ve insanlar için potansiyel bir risk oluşturmaktadır. Tavuk etinde gelişen veya yaşamını sürdüren mikroorganizmalar veya toksinleri, tavuk eti veya ürünlerinin tüketimiyle insana geçebilmekte ve insanda çeşitli infeksiyonlara veya intoksikasyonlara neden olarak önemli sağlık sorunları yaratabilmektedir. Gerçekleştirilen birçok araştırma sonucunda insanlarda tavuk eti ve ürünlerinden gıda kaynaklı infeksiyonlarda, tüketimin artmasına paralel olarak bir artış olmuş ve bu infeksiyonlar arasında Salmonella infeksiyonları ön plana çıkmıştır. Salmonella etkenlerinin insan sağlığı açısından bir başka önemli özelliği, izole edilen etkenlerde saptanan çoklu antibiyotik dirençliliğidir.

Ülkemizde kanatlı eti üretiminin büyük bir bölümü (%85), entegrasyon modeli ile gerçekleştirilmektedir. Broiler entegrasyon modelinde, broiler damızlık çiftlikleri, kuluçka, ticari broiler çiftlikleri, yem ünitesi ve kesimhane bulunmaktadır. Salmonella etkenlerinin broilerlere bulaşması, üretimin farklı aşamalarında farklı kaynaklardan olabilmektedir. Bu nedenle üretimin her aşamasında bulaşma kaynaklarının araştırılması, elde edilen sonuçlara göre bir program uygulanması, son üründe Salmonella varlığını azaltmaya katkı sağlayacaktır.

Çalışmada, entegrasyon birimlerindeki muhtemel Salmonella varlığını ve kontaminasyon kaynaklarını belirlemek için uygun örneklem modeli oluşturulması hedeflenmiştir.

Anahtar kelimeler: broiler, entegrasyon, Salmonella, örneklem

SAMPLING MODEL OF SALMONELLA IN BROILER INTEGRATION

Abstract

Chicken is an important place in human nutrition, the appropriate composition of animal foods and because of environmental conditions is an important resource for the development of micro-organisms. Significantly affect product shelf life and quality of micro-organisms and is a potential risk for humans. Developing or surviving microorganisms or toxins in meat, people to cross the consumption of poultry meat or products, and various infections in humans or as a result toxication can create significant health problems. As a result of research carried out in many food-borne infections in humans from poultry meat and products, and has been an increase in parallel with an increase in the consumption of these infections, *Salmonella* infections are prominent. Factors for human health is another important feature of *Salmonella*, isolated pathogens detected multiple multiple antibiotic resistivity. In our country, a large part of the production of poultry meat (85%), the integration is carried out with the model. Broiler breeder farms, hatchery, commercial broiler farms, feed unit, and slaughterhouse are in the model of broiler integration. *Salmonella* in broilers infected agents, may be from different sources at different stages of production. Therefore, for sources of contamination at every stage of production, according to the results of the implementation of a program, the final product will contribute to reduce the presence of *Salmonella*. In the study, envisaged to establish the appropriate sampling model for the presence of *Salmonella* and to identify sources of possible contamination of the integration units.

Keywords: broiler, integration, *Salmonella*, sampling

Bildiri No: 113

Kategori: Genel

TÜRKİYE'NİN DEĞİŞİK BÖLGELERİNDEKİ YARI SERT PEYNİRLERDE LİSTERİA MONOCYTOGENES'İN VARLIĞI

Sunum Tipi: Poster

**Ahmet GÜNER, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi
Nihat TELLİ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi
Arife Ezgi YILMAZ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Selçuk Üniversitesi**

Özet

Bu çalışmada, Türkiye'nin değişik bölgelerinde üretimi yöresel olarak yapılan yarı-sert peynirlerden Van otlı, Carra, Konya küflü ve Urfa tulumunda *Listeria monocytogenes*'in varlığı araştırıldı. Toplam 120 numune incelendi. İncelenen 120 numunenin 50 tanesinde *Listeria* spp. tespit edildi. Kontamine numune oranları Van otlı peynirinde %36,6 (11/30), Carra peynirinde %56,6 (17/30), Konya küflü peynirinde %43,3 (13/30), Urfa tulum peynirinde %30 (9/30) olarak bulundu. Van Otlı peynirinde 9 (%30), Carra peynirinde 14 (%46,6), Konya küflü peynirinde 7 (%23,3), Urfa tulum peynirinde 4 (%13,3) toplamda 34 numune *L. monocytogenes* ile kontamine bulundu. *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri* ve *Listeria grayi* ile kontamine numune sayısı sırasıyla 2, 12 ve 2 olarak saptandı. Peynirlerin kimyasal bileşimiyle *Listeria* türlerinin bulunması arasında herhangi bir ilişki bulunmadı.

Anahtar kelimeler: *Listeria monocytogenes*, yarı sert peynirler, Van otlı, Carra, Konya küflü, Urfa tulum.

PRESENCE OF LISTERIA MONOCYTOGENES IN VARIOUS SEMI-HARD CHEESES FROM DIFFERENT REGIONS OF TURKEY

Abstract:

Presence of *Listeria monocytogenes* in various semi-hard traditional cheeses including Van otlı (herby), Carra, Konya küflü (mouldy) and Urfa tulum produced at different regions of Turkey was investigated. A total of 120 samples from these four cheese types were surveyed. *Listeria* spp. were detected in 50 of the 120 samples. Ratios of contaminated samples with *Listeria* spp. in four cheese types were Van otlı, 36,6% (11/30), Carra, 56,6% (17/30), Konya küflü 43,3% (13/30), Urfa tulum, 30% (9/30). *L. monocytogenes* was determined in 34 of the 120 samples. Numbers of contaminated samples with *L. monocytogenes* in four cheese types were Van otlı, 9 (30%), Carra, 14 (46,6%), Konya küflü, 7 (23,3%), Urfa tulum, 4 (13,3%). *Listeria innocua*, *Listeria welshimeri* and *Listeria grayi* were isolated from 2, 12, and 2 of the all samples respectively. *Listeria ivanovii* and *Listeria seeligeri* were not detected in any of the samples. Any correlation was not observed between the presence of *Listeria* spp. and chemical composition of the cheeses.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, semi-hard cheeses, Van otlı, Carra, Konya küflü, Urfa tulum.

Giriş

Peynir, Türk insanının beslenmesinde önemli bir gıda maddesidir (Yılmaz ve ark., 2005). Türkiye’de 100’den fazla peynir çeşidi bulunmaktadır (Hayaloglu ve ark., 2002; Yılmaz ve ark., 2005; Kamber ve Terzi, 2008). Üretim kapasitesi bakımından üç temel peynir çeşidine ilave olarak pek çok yöresel peynir çeşidi bulunmaktadır (Yılmaz ve ark., 2005). Van otlu, Carra, Konya küflü ve Urfa tulum peynirleri, yöresel peynirlerin en bilinen çeşitlerindendir (Aygün ve ark., 2005; Erkan ve ark., 2007; Hayaloglu ve Kırbağ, 2007). Van otlu peyniri genellikle Türkiye’nin Doğu ve Güneydoğu bölgelerinde üretilen ve tüketilen yarı-sert tipte bir peynir çeşididir (Erkan ve ark., 2007). Cara peyniri, Türkiye’nin Antakya yöresinde en çok tüketilen yarı sert veya sert tipteki bir peynirdir (Aygün ve ark., 2005). Konya küflü peyniri, Konya ve çevresinde küfle olgunlaştırılarak üretilir ve yarı sert bir tekstüre sahiptir (Ozkalp ve Durak, 1998; Hayaloglu ve Kırbağ, 2007; Akcamli, 2008). Urfa tulum peyniri, Türkiye’nin güneydoğu bölgesinde pamuktan keselerde olgunlaştırılarak üretilen yarı sert tekstüre sahip bir peynir çeşididir. Küçük işletmelerde çiğ süttten elde üretilen bu peynir çeşitleri son yirmi yıla kadar yalnızca kendi yörelerinde tüketilmiştir. Bunun yanı sıra bu peynir çeşitleri son yıllarda Ankara, İstanbul ve İzmir gibi büyük şehirlerde ortaya çıkan tüketici talebini gidermek amacıyla modern süt işletmelerinde pastörize süttten de üretilmiş ve bu üretim artarak devam etmektedir (Kıvanç, 1989; Erkan ve ark., 2007; Hayaloglu ve Kırbağ, 2007; Hayaloglu ve ark., 2008).

Son yıllarda, Avrupa’da rapor edilen invaziv ve noninvaziv listeriozis salgınlarının yaklaşık yarısı süt ürünlerinden kaynaklanmıştır (Lunden ve ark., 2004). Türkiye ’de üretilen çeşitli peynirlerde bulunan gıda kaynaklı patojenlerin prevalansına yönelik yapılan çalışmalarda *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* O157:H7, peynirlerde rastlanan önemli patojenler olarak kabul edilmiştir (Kıvanç, 1989; Turantas ve ark., 1989; Cetinkaya ve ark., 1999; Gulmez ve Guven, 2001; Ugur, 2001; Hayaloglu ve ark., 2002; Baz ve ark., 2003; Aygün ve ark., 2005; Akkaya ve Alisarli, 2006; Tekinsen ve Ozdemir, 2006; Colak ve ark., 2007; Erkan ve ark., 2007; Hayaloglu ve Kırbağ, 2007; Akcamli, 2008). Türkiye’de süt ürünlerinden özellikle de çiğ süttten elde edilen yumuşak peynirlerde *L. monocytogenes* varlığı ile ilgili pek çok araştırma (Cetinkaya ve ark., 1999; Kara ve ark., 1999; Gulmez ve Guven, 2001; Gonc ve Kilic, 2002; Uysal ve Ang, 2003; Akkaya ve Alisarli, 2006) yapılmış olmasına karşın Türkiye’de üretilen sert ve yarı sert peynirlerde *L. monocytogenes* varlığı ile ilgili çok az kaynak vardır. (Arda ve ark., 1996; Sagun ve ark., 2001; Sengun ve ark., 2006; Colak ve ark., 2007; Erkan ve ark., 2007), Van otlu peynirinde *L. monocytogenes*’in bulunmasıyla ilgili iki adet araştırma bulunmasına karşın (Sagun ve ark., 2001; Erkan ve ark., 2007), Carra, Konya küflü ve Urfa tulum peynirleriyle ilgili herhangi bir bilgi bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, üretimi yöresel olan yarı-sert peynirlerden Van otlu, Carra, Konya küflü ve Urfa tulum peynirinde *L. monocytogenes*’in varlığı araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Van, Hatay ve Konya’da marketlerde satışa sunulan peynirlerin her bir çeşidinden 30 toplamda 120 numune toplandı.

Metot

Mikrobiyolojik Analizler

Numuneler, *L. monocytogenes* varlığı yönünden Bacteriological Analytical Manual (FDA, 2003)'a göre değerlendirildi (FDA, 2003). 25 g numune, aseptik olarak tartıldı ve 225 ml *Listeria* Enrichment Broth (Merck, 1.11951.0500, Darmstadt, Germany) içersinde Colworth Stomacher Lab-Blender 400 (Seward Medical, London, UK) ile en az 2 dk süresince homojenize edildi. 30 °C'de 4 saatlik ön zenginleştirmeden sonra, *Listeria* Selective Supplement (Merck, 1.07006.0001) eklendi ve 30 °C'de 44 saat inkübasyona devam edildi. Broth'dan izolasyon amacıyla Palcam Agar (Merck, 1.11755.0500) ile Oxford Agar (Merck, 1.07004.0500) ekim yapıldı ve petriler 35°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Tipik morfoloji gösteren şüpheli 5 koloninin saflaştırılması amacıyla Yeast Extract'lı Tryptone Soy Agar (TSA) (Oxoid, CM 131, Hampshire, UK) ekim yapıldı ve petriler 30°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. *Listeria* türlerinin identifikasyonu için, Gram boyama, katalaz reaksiyonu testi, oksidaz ve indol testleri, üre kullanımı, H₂S, SIM medium'da hareketlilik testi, methyl red, Voges-Proskauer, nitrat indirgeme testi, kanlı agar'da hemoliz, karbohidrat fermentasyon testleri (dekstroz, eskülin, maltoz, ramnoz, xyloz, mannitol) ve CAMP testi kullanıldı.

Kimyasal analizler

Peynir örneklerindeki toplam kuru madde ve tuz içeriği AOAC (1990) prosedürlerine göre belirlendi. Örneklerin pH değerleri dijital pH metre (InoLab pH 720 model, WTW, GmbH, Germany) kullanılarak ölçüldü. Toplam asitlik laktik asit cinsinden, titrasyon metoduyla belirlendi (Bradley ve ark., 1993).

İstatistiksel analizler

Kimyasal analizlerden elde edilen verilere SPSS istatistik paket programı (16.0; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak one-way ANOVA istatistik yöntemi uygulandı (Steel ve Torrie, 1981).

Bulgular

Toplam 120 örnek *L. monocytogenes*'in varlığı yönünden analiz edildi. 120 numuneden 50 tanesinde *Listeria* spp. saptandı. Dört peynir türünde *Listeria* spp. ile kontamine olan örneklerin oranı; Van otlı peynirinde %36,6 (11/30), Carra peynirinde %56,6 (17/30), Konya küflü peynirinde %43,3 (13/30), Urfa tulum peynirinde %30 (9/30) olarak bulundu. 120 numunenin 34'ünde (%28,3) *L. monocytogenes* saptandı. *Listeria* spp. ile kontamine numunelerdeki *L. monocytogenes*'in oranı %68 olarak bulundu. *L. innocua*, *L. welshimeri* ve *L. grayi* incelenen numunelerin sırasıyla 2, 12 ve 2 tanesinde saptandı. *Listeria* *ivanovii* ve *Listeria* *seeligeri* hiçbir numunede tespit edilmedi (Tablo 1). Örneklerin mikrobiyal aktivitesi için önemli faktörler olan toplam kuru madde, tuz miktarı, pH ve asitlik değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Tablo 2'den izleneceği üzere toplam kuru madde, tuz, pH ve asitlik değerlerinin geniş bir aralık gösterdiği ve Carra peynirinin toplam kuru madde ve tuz içeriğinde en yüksek, asitlikte en düşük değere sahip olduğu gözlenmektedir. Fakat, kontamine örneklerle kontamine olmayan örnekler, kimyasal karakteristikleri yönünden karşılaştırıldığında *Listeria* spp.'nin varlığıyla peynirlerin kimyasal kompozisyonu arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır. (Tablo 3).

Tablo 1. *Listeria* spp. ile kontamine örnek sayısı

	Van otlu	Carra	Konya kuflu	Urfa tulum	Total
Numune sayısı	30	30	30	30	120
<i>Listeria monocytogenes</i>	9	14	7	4	34
<i>Listeria innocua</i>	-	-	-	2	2
<i>Listeria welshimeri</i>	1	3	5	3	12
<i>Listeria grayi</i>	1	-	1	-	2
Total	11	17	13	9	50

Tablo 2. Peynir türlerindeki bazı kimyasal özellikler

		Van otlu	Carra	Konya kuflu	Urfa tulum	F
Total dry matter (%)	Mean±SE	53,07±0,76 ^b	57,97±1,13 ^a	51,41±0,67 ^b	52,31±1,29 ^b	8,43
	Min.	43,77	46,87	44,84	45,15	
	Max.	60,68	68,06	58,28	71,29	
Salt (%)	Mean±SE	7,36±0,34 ^a	7,24±0,45 ^a	5,58±0,35 ^b	4,72±0,21 ^b	13,80
	Min.	4,33	2,76	1,90	1,90	
	Max.	13,06	11,93	13,52	7,96	
pH	Mean±SE	5,28±0,13 ^c	5,77±0,06 ^b	6,46±0,10 ^a	5,11±0,07 ^c	35,99
	Min.	4,29	5,25	5,59	4,10	
	Max.	6,87	6,83	7,45	6,14	
Acidity (% l.a.)	Mean±SE	0,69±0,06 ^b	0,45±0,04 ^c	0,61±0,05 ^{ab}	0,95±0,10 ^a	8,13
	Min.	0,21	0,07	0,27	0,24	
	Max.	1,57	0,89	1,48	2,59	

"±" sonra gelen değerler standart hatayı temsil etmektedir.

a,b,c: bir satırda üst simge olarak yer alan farklı harfler peynir çeşitleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. Kontamine numunelerin kimyasal özellikleri

<i>Listeria</i> spp.	Peynir çeşidi		Toplam kuru madde (%)	Tuz (%)	pH	Asitlik (% l.a.)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Van otlu	1	54,42	9,36	5,78	0,34
		2	45,94	8,56	6,06	0,47
		3	52,41	6,22	4,85	1,06
		4	55,81	5,76	4,29	1,08
		5	50,66	7,67	4,37	1,17
		6	48,83	5,38	5,80	0,29
		7	56,33	9,83	4,99	0,31
		8	51,68	9,83	6,00	0,21
		9	52,76	8,66	4,42	1,57
	Carra	1	46,87	2,76	5,40	0,43
		2	59,92	4,26	5,70	0,25
		3	62,40	10,53	5,96	0,25
		4	61,52	5,24	5,94	0,22
		5	57,68	4,21	5,73	0,29
		6	54,35	5,15	5,78	0,50
		7	58,65	5,62	5,85	0,37
		8	59,40	6,08	5,55	0,85
		9	59,96	4,45	5,68	0,50
		10	64,35	11,93	5,52	0,72
		11	63,68	9,83	5,58	0,81
		12	54,79	6,08	5,54	0,59
		13	51,44	7,72	6,22	0,14
		14	50,36	6,55	6,83	0,09
	Konya küflü	1	48,15	4,91	5,77	0,47
		2	52,72	5,78	6,44	0,52
		3	58,08	5,24	7,38	0,47
		4	58,00	6,22	6,76	0,66
		5	52,77	1,89	6,26	0,45
		6	49,80	6,53	6,73	0,50
		7	55,51	5,33	7,02	1,08
	Urfâ tulum	1	54,20	4,91	5,28	0,31
		2	50,20	6,81	4,93	0,88
		3	53,34	4,91	5,20	2,05
		4	48,49	4,45	4,85	1,04
<i>Listeria innocua</i>	Urfâ tulum	1	50,49	4,44	4,87	1,51
		2	47,84	4,68	5,10	0,72
<i>Listeria welshimeri</i>	Van otlu	1	55,33	6,32	5,58	0,36
		1	64,90	8,84	5,39	0,61
	Carra	2	50,20	6,79	5,58	0,23
		3	54,82	5,38	6,62	0,07
		1	53,30	5,62	7,29	1,48
	Konya küflü	2	49,20	5,15	7,05	0,52
		3	49,80	4,09	5,90	0,684
		4	50,19	4,09	6,05	0,65
		5	44,84	4,16	5,59	0,58
	Urfâ tulum	1	52,28	4,56	5,74	0,50
		2	48,34	4,14	4,93	1,01
		3	52,56	4,68	5,30	0,63
<i>Listeria grayi</i>	Van otlu	1	55,66	5,15	4,72	0,90
	Konya küflü	1	48,99	5,94	7,17	0,50

Tartışma ve Sonuç

Peynirler, yumuşak, yarı-sert, sert veya çok sert olarak sınıflandırılabilir (Farkye, 2004). Yumuşak ve yarı sert peynirlerin daha yüksek su aktivitesine sahip olması gerçeğine rağmen, *L. monocytogenes* yarı sert peynirlerde yüksek tuz konsantrasyonunda ve düşük su aktivitesinde canlılığını sürdürür (Lunden ve ark., 2004). Benzer bilgiler sonuçlar Lunden ve arkadaşları (2004) tarafından yapılan çalışma sonuçlarıyla ortaya konulmuştur. Benzer olarak, Durmaz ve Sagun (2004), Van Otlı peynirine 102,103,104 ve 105cfu/ml düzeylerinde inokule edilen *L. monocytogenes*'in 60 gün canlı kaldığı bildirilmiştir. Larson ve arkadaşları (1999) *L. monocytogenes*'in salamura peynirde 7 günden 259 güne kadar canlı kaldığı ve bunun pH ve tuz içeriğiyle bir ilişkisinin bulunmadığını göstermiştir. Bununla birlikte birçok ülkede peynir yapımında çiğ süt kullanımı oldukça yaygındır (Farkye, 2004). Ayrıca, sütün pastörize edilmesi *Listeria* spp. ile kontaminasyonunun önüne geçse de, üretim esnasında rekontaminasyon meydana gelebilir (Beckers ve ark., 1987; Lunden ve ark., 2004). Belirtilen bu faktörler, listeriozis salgınları için oldukça önemlidir.

Dünya genelinde peynir teknolojisini yönlendiren başlıca faktörlerin ekonomik, ekipman/mühendislik, tüketici talepleri ve düzenleyici mevzuat (Farkye, 2004) olması gibi Türkiye'de yöresel yarı-sert peynirlere son zamanlarda karakteristik lezzet ve aromasından dolayı artan bir talep vardır (Erkan ve ark., 2007; Hayaloglu ve Kirbag, 2007; Hayaloglu ve ark., 2008). Bu yöresel peynirler günümüzde modern süt işletmelerinde pastörize süttten de üretilse de üretimin önemli bir bölümü kontrolsüz ve hijyenik olmayan şartlardaki küçük işletmeler ve evlerde olmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne (Türk Gıda Kodeksi, 2009) göre *L. monocytogenes*, peynir numunelerinde bulunmamalıdır (sıfır tolerans). Bu nedenle bu çalışmada, elde edilen verilerin yüksek oranda *L. monocytogenes* (34/120) ve diğer *Listeria* spp. ile kontamine olması (16/120) dikkate değerdir. Elde edilen sonuçlar, Erkan ve ark. (2007)'nin Van otlu peynirinde 50 numunenin 8 tanesinde (%16), Colak ve ark. (2007) tarafından tulum peynirinden 250 adet numuneden 12 tanesinde (%4,8) ve Sagun ve ark. (2001) tarafından Van otlu peynirinde yapılan 254 adet numuneden 10 tanesi *L. monocytogenes* ile kontamine, 1 tanesi *L. ivanovi*, 1 tanesi *L. innocua* ve *L. welshmeri* bulunması yönünden birbiriyle uyumludur. Bunun yanı sıra, Çetinkaya ve arkadaşlarının (1999) tulum peynirinde 52 adet numuneden yaptığı çalışmada *L. monocytogenes*'e rastlamadığı, Sengun ve arkadaşlarının (2006) küflü küp peynirinde 15 numuneden yalnızca birinde *L. monocytogenes* izole ettiği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra, Çetinkaya ve arkadaşlarının (1999) tulum peynirinde 52 adet numuneden yaptığı çalışmada *L. monocytogenes*'e rastlamadığı, Sengun ve arkadaşlarının (2006) küflü küp peynirinde 15 numuneden yaptığı çalışmada yalnızca birinde *L. monocytogenes* izole ettiği belirtilmiştir. söz konusu araştırmalarda elde edilen verilerin farklılık arz etmesi, sütün kalitesi, ısı uygulamaları ve etkinliği, farklı üretim teknikleri, üretim yerlerindeki hijyenik durum, olgunlaşma şartları ve zamanı ve kalite kontrolünün yeterliliği gibi çeşitli faktörlere bağlı olabilmektedir. Bu yorumla ilgili sonuçlar, Farkye (2004) tarafından; iyi kalitede peynir üretimi için temel kuralın hammaddenin kalitesiyle ilgili olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Aygun ve arkadaşları (2005), Carra peynirinin mikrobiyolojik kalitesinin geliştirilmesi için; pastörize süt kullanılmasını, işleme, olgunlaşma ve depolama şartlarının iyi hijyenik koşullarda olması gerektiği, Kıvanc (1989), kalite kontrolündeki eksiklik ve peynirlerin satış ve depolama esnasındaki yetersiz hijyenik koşulları olduğunu, Erkan ve ark. (2007), Van Otlı peynir üretimindeki standardizasyon ve modernizasyon ile halk sağlığı yönünden risklerinin önlenmesinin bir gereklilik olduğunu bildirmiştir.

Bu çalışma ile analiz edilen yarı-sert özellikteki yöresel peynirlerin önemli bir kısmının *L. monocytogenes* ve diğer *Listeria* spp. ile kontamine olduğu ve bu sonucun Türk Gıda Kodeksi kriterlerine uymadığı belirlendi. Bu tür peynirlerin tüketimiyle oluşabilecek muhtemel listeriozis salgınlarını önlemek için tüm üretim yerlerinde standardizasyon ve modernizasyon oluşturmak ve peynirlerin depolama, dağıtım ve satış aşamalarında gerçekleştirilecek rekontaminasyonun önlenmesi için tüm önleyici tedbirlerin alınması çok önemlidir. Üretim ve dağıtım tesislerinde yetkili kişiler tarafından düzenli olarak yapılacak kontroller oldukça büyük önem taşımaktadır.

Kaynaklar

- Akcamlı, E., 2008. Konya ilinde pazarda açıkta satılan küflü peynirlerde enterohemorajik *Escherichia coli* O157:H7 suşunun varlığının araştırılması. Master Thesis Selcuk University, Institute of Health Science.
- Akkaya, L. and M. Alisarlı, 2006. Afyonkarahisar'da tüketime sunulan peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. varlığının belirlenmesi. Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg. 17: 87-91.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Arda, G., M. F. Ozsoy, N. Kocak, S. Cavuslu, K. Keskin and O.S. Yenen, 1996. Süt ve süt ürünlerinde *Listeria* araştırılması. Klimik Derg., 9: 152-155.
- Aygun, O., O. Aslantas and S. Oner, 2005. A survey on the microbiological quality of Carra, a traditional Turkish cheese. J. Food Eng., 66: 401-404.
- Baz, E., M., Gulmez, A., Guven, C. Sezer and B. Duman, 2003. Kars ilinde satışa sunulan çiğ süt ve taze beyaz peynirlerin koliform grubu bakteri, *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 yönünden incelenmesi. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 9: 165-167.
- Beckers, H.J., P.S.S. Soentoro and E.H.M. Delgou-van Asch, 1987. The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheeses and raw milk and its resistance to heat. Int. J. Food Microbiol., 4: 249-256.
- Bradley, R.L., E. Arnold, D.M. Barbano, R.G. Semerad, D.E. Smith and B.K. Vines, 1993. Chemical and physical methods. In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Ed. By R.T. Marshall, Pp. 433-529. Washington, DC: APHA.
- Buyser, M.L.D., B. Dufour, M. Maire and V. Lafarge, 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. Int. J. Food Microbiol., 67: 1-17.
- Cetinkaya, B., H.B. Ertas and A. Muz, 1999. Süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin izolasyonu. Fırat Univ. Sağlık Bil. Derg., 13: 21-25.
- Colak, H., H. Hampikyan, E.B. Bingöl and B. Ulusoy, 2007. Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in tulum cheese. Food Control, 18: 576-579.
- Durmaz, H. and E. Sagun, 2004. Otlu peynirlerin üretim ve olgunlaşma sürelerinin *Listeria monocytogenes*'in üremesi üzerine etkileri. Vet. Bil. Derg., 20: 87-93.
- Erkan, E.M., G. Ciftcioglu, A. Vural and H. Aksu, 2007. Some microbiological characteristics of herbed cheese. J. Food Quality, 30: 228-236.
- Farkye, N. 2004. Cheese technology. Int. J. Dairy Technol., 57: 91-98.
- FDA, 2003. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM071400>.
- Gonc, S. and S. Kilic, 2002. Beyaz peynirde *L. monocytogenes* patojeninin aranması üzerine bir araştırma. Gıda, 27: 425-429.
- Gulmez, M. and A. Guven, 2001. Beyaz ve çeçil peynirlerinde *Campylobacter*, *Salmonella*, ve *Listeria* türlerinin araştırılması. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 7: 155-161.
- Hayaloglu, A.A., M. Guven and P.F. Fox, 2002. Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish white cheese 'beyaz peynir'. Int. Dairy J., 12: 635-648.

19. Hayaloglu, A.A. and S. Kirbag, 2007. Microbial quality and presence of moulds in Kufllu cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 115: 376-380. Hayaloglu, A.A., E.Y. Brechany, K.C. Degan and P.L.H. McSweeney, 2008. Characterization of the chemistry, biochemistry and volatile profile of kufllu cheese, a mould-ripened variety. *LWT- Food Sci Technol.*, 41: 1323-1334.
20. Kamber, U. and G. Terzi, 2008. The traditional cheeses of Turkey: Central Anatolian Region. *TUIK*, 24:74-94, www.tuik.gov.tr.
21. Kara, A.A., O.F. Algar and M. Kaya, 1999. Erzurum piyasasından temin edilen beyaz ve civil peynirlerinden, *Listeria* türlerinin izolasyon ve identifikasyonu. *Türk. J. Biol.*, 23:331-337.
22. Kivanc, M., 1989. A survey on the microbiological quality of various cheeses in Turkey. *Int. J. Food Microbiol.*, 9: 73-77.
23. Larson, A.E., E.A. Johnson and J.H. Nelson, 1999. Survival of *Listeria monocytogenes* in commercial cheese brines. *J. Dairy Sci.*, 82: 1860-1868.
24. Lunden, J., R. Tolvanen and H. Korkeala, 2004. Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. *J. Dairy Sci.*, 87, (E. Suppl): 6-11.
25. Ozkalp, B. and Y. Durak, 1998. Konya ve civarı küflü peynirlerinde küf florasının araştırılması. *Türk. J. Biol.*, 22: 341-346.
26. Pinto, M.S., A.F. Carvalho, A.C.S. Pires, J.C.J. Paula, D. Sobral and F.A.R. Magalhaes, 2009. Survival of *Listeria innocua* in Minas Traditional Serro cheese during ripening. *Food Control*, 20: 1167-1170.
27. Sagun, E., Y.C. Sancak, O. İşleyici and K. Ekici, 2001. Van ve çevresi süt ve otlı peynirlerde *Listeria* türlerinin varlığı ve yaygınlığı üzerine bir araştırma. *Türk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25: 15-19.
28. Sengun, İ.Y., M. Karapinar, D.B. Yaman and E. Yenice, 2006. Isparta ili ve yöresine ait geleneksel küflü çömlek peynirinin mikroflorası üzerine bir araştırma. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, 2006, Bolu, 462-464.
29. Solano-Lopez, C. and H. Hernandez-Sanchez, 2000. Behaviour of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Manchego and Chihuahua Mexican cheeses. *Int. J. Food Microbiol.*, 62: 149-153.
30. Steel, R.G.D. and J.H. Torrie, 1981. *Principles and Procedures of Statistics*, 2nd ed. Tokyo: McGraw-Hill Int. Book Co.
31. Tekinsen, K.K. and Z. Ozdemir, 2006. Prevalence of foodborne pathogens in Turkish Van otlı (herb) cheese. *Food Control*, 17: 707-711.
32. Turantas, F., A. Unluturk and D. Goktan, 1989. Microbiological and composition al status of Turkish white cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 8: 19-24.
33. Turkish Food Codex, 2009. Legislation on Microbiological Criteria in Turkish Food Codex. No: 2009/6, Official Gazette: 27133.
34. Ugur, A., 2001. Muğla halk pazarında satışa sunulan ev yapımı peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri. *Ekoloji Çevre Derg.*, 10: 3-8.
35. Uysal, H. K. and O. Ang, 2003. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Listeria* türleri. *Türk Mikrobiol. Cem. Derg.*, 33: 163-169.
36. Yıldırım, Y. and B. Sarimehmetoglu, 2006. Beyaz peynir yapımında probiyotik bakterilerin kullanılmasının *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. *Erciyes Univ. Vet. Fak. Derg.*, 3: 1-7.
37. Yilmaz, G., A. Ayar and N. Akin, 2005. The effect of microbial lipase on the lipolysis during the ripening of tulum cheese. *J. Food Eng.*, 69: 269-274.

Bildiri No: 119

Kategori: Genel

Sunum Tipi: Poster

Kamil EKICI, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Üniversite

Zehra TORAMAN SELÇUK, Van Tarım İl Müdürlüğü, Van Tarım İl Müdürlüğü

Özet

Aeromonas spp. içme suları, tuzlu sularda yaygın olmakla beraber gıdalarda, işlem görmüş sularda ve hastanelerin su şebekelerinde bulunabilir. Bu çalışmada, Van ve çevresindeki kaynak, kuyu ve şehir sularından izole edilen *Aeromonas* türlerinin yaygınlığı ve antibiyotik dirençleri incelendi. Bu amaçla 19 kaynak, 10 kuyu ve 91 adet şebeke suyu olmak üzere toplam 120 örnek toplandı. İçme sularında *Aeromonas* spp., aranması ve sayımında membran filtrasyon yöntemi kullanıldı. Değişik *Aeromonas* suşları izole ve identifiye edildi.

Sonuç olarak, büyük oranda *Aeromonas* türleri ile kontamine olan böyle suların kullanılması sağlık açısından potansiyel bir tehlike oluşturduğu tespit edildi.

Anahtar kelimeler: *Aeromonas* spp., içme suyu, membran filtrasyon,

*Yüksek lisans tezinin bir bölümüdür

THE DETERMINATION PREVALENCE AEROMONAS SPP. ISOLATED FROM DRINKING WATERS FROM VAN AND ITS PROVINCE

Abstract:

Aeromonas spp. are distributed widely in fresh and salt water and can be found also in food, treated drinking or domestic water, and hospital water supply systems. In this study, the prevalence and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. was investigated in spring, well and city waters in Van and its province. For this purpose samples (n = 120) were collected from 19 natural springs, 10 wells and 91 public drinking water supply distribution systems. The membrane filter method was used for detection and counting of the bacteria. Several strains of *Aeromonas* spp. were isolated and identified.

Our results show that caution must be taken because of the high rate of contamination by *Aeromonas* spp., which poses a potential public health hazard from use of such waters.

Key words: *Aeromonas* spp., membrane filtration, drinking water

Giriş

Su hayatın en gerekli ve aynı zamanda kirlenmeye en duyarlı bileşenidir. Bulaşıcı hastalık salgınlarının en önemli nedenlerinden biri, içme suyunun mikrobiyolojik kirlenmesidir. Suları kirleten sebepler arasında bazı patojen bakteriler, virüsler, metaller, bazı radyoaktif izotoplar, deterjanlar, fosfor, azot ve sodyum gibi eksojen mineral maddeler de vardır(2). Dünyada her yıl 25 milyon kadar kişi kirlı sulardan veya su yetersizliğinin neden olduğu hastalıklardan ölmektedir. İçme sularıyla çeşitli bakteri, virüs, protozoon ve helmintler bulaşabilmektedir. Bu enfeksiyonlar genellikle insan ve hayvan dışkıyla yayılmaktadır(17). Sulardan kaynaklanabilecek sağlık risklerinin önlenmesi açısından içme suyunun hijyenik şartlarda elde edilmesi ve uygun arıtma işlemlerinden geçirilmesi önemlidir. Sağlıksız içme suları nedeniyle dünya üzerinde her yıl yaklaşık 5 milyon

çocuğun hayatını kaybettiği tahmin edilmektedir(11). Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde yetersiz sanitasyon nedeniyle mikrobiyel patojenlerin en büyük kaynağı içme suyudur. Sudan kaynaklanan enfeksiyöz ishale bağlı olarak her yıl dünyada 1.7 milyon kişi ölmekte ve bunların onda dokuzunu çocuklar oluşturmaktadır(5).

Aeromonaslar toprakta, tatlı ve tuzlu sulara, içme sularında ve hayvan dışkılarında bulunabilir. Peynir, dondurma, marul, et ve et ürünleri, süt ve balık gibi çeşitli gıda kaynaklarından izole edilmiştir. Aeromonas enfeksiyonlarının insanlara bulaşmasında su ve gıda önemli kaynaklardır(23). *

Hareketli Aeromonaslar insanlarda gastroenteritis, sepsis, pnemoni, endokardit, peritonit, korneal ülser ve menenjit gibi enfeksiyonlar ile deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ile immün sistemi baskılanmış insanlarda çeşitli sendromlara neden olmaktadır(1, 3, 8, 13, 16, 26).

Monfort ve Baleux (20), Fransa'da Akdeniz'e açık olan Thau Lagoon göletinin farklı yerlerinden aldıkları su örneklerinden toplam 452 hareketli Aeromonas türü izole etmişler ve bunların büyük çoğunluğunun A. sobria olduğunu belirlemişlerdir. Emekdaş ve ark.(10), Mersin'de evlerden, iş merkezlerinden ve hastanelerden rasgele topladıkları 148 musluk suyu örneğinin 5'inden (%3.3) A. hydrophila izole etmişler ve bazı A. hydrophila suşlarının ampisiline, ampisilin-sülbaktama, sefalotine ve sülfatrimine dirençli olduklarını bildirmişlerdir. Pavlov ve ark. (23), 2000 yılı şubat ve haziran ayları arasında Güney Afrika'da işlem görmüş ve işlem görmemiş içme sularından izole ettikleri Gram negatif bakterilerin %18,1'nin A. veronii biovar sobria, %3.7'sinin de A. hydrophila olduğunu bildirmişlerdir. Özdemir (22) 70 su örneğinde yaptığı bir çalışmada, örneklerin 6'sından (%8.6) hareketli Aeromonas türleri izole etmişlerdir.

Son yıllarda sosyoekonomik nedenlerle aşırı göç alan Van ve çevresi, evsel ve lağım atıklarıyla ciddi bir kirlenme ile karşı karşıyadır. Özellikle şehir merkezinin kanalizasyon şebekesinin yetersizliği ve sağlıklı bir arıtma sisteminin olmaması sonucu, atık suların bol miktarda patojen ve nonpatojen mikroorganizma içermeleri, bölgede yaşayan insan ve su habitatlarında yaşayan canlılar için potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır. Bahsedilen atıkların bir kısmının direkt toprağa verilmeleri ve içme sularına ve doğal kaynaklara bulaşma riskinden dolayı önemli bir tehlike arz etmektedir.

Bu çalışma ile; Van ve yöresindeki içme sularında hareketli Aeromonas'lar ile kontaminasyon düzeyleri araştırılmış, böylece bu suların halk sağlığı açısından bir risk oluşturup oluşturmadıkları ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Van ve yöresindeki içme sularında (kuyu, kaynak ve çeşme suları) hareketli Aeromonasların yaygınlığı araştırıldı. Bu amaçla önceden belirlenen 120 istasyondan su örnekleri 6 mg tiyosülfat içeren steril 300 ml'lik plastik şişelerde toplanarak 6 saat içinde laboratuara getirildi ve analizleri yapıldı. Su örnekleri alınırken Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği (SKKY) (4) esas alınarak önce musluk ağzı temiz bir bezle silindi. Sonra 2 dk su akıtıldı, daha sonra musluk ağzı alevden geçirilerek kuru ısı ile sterilize edildi. Ardından musluk orta şiddette açıldıktan ve su 2 dakika boş akitildikten sonra, örnek şişelerinin ağzı alevden geçirilerek örnekler 300 ml miktarında alındı ve şişelerin ağızları tekrar alevden geçirilip kapakları kapatıldı ve soğuk zincirde laboratuara getirilerek en kısa zamanda analize alındı(4).

Laboratuara getirilen su örnekleri, membran filtrasyon cihazında (16824, Sartorius, Göttingen, Germany) vakum yoluyla por büyüklüğü 0.45 µm olan sellüloz nitrat filtrelerden süzülür (15, 29). Daha sonra Havelaar ve ark. (12)'nin önerdiği şekilde membran filtreler hava kalmayacak şekilde steril pensle Aeromonas spp. varlığını araştırmak için Aeromonas Medium Base'e, (Oxoid, CM 0833) yerleştirildi ve 30 °C'de 20 saat inkübe edilerek oluşan koloniler hareketli Aeromonas şüpheli olarak değerlendirildi(7, 24, 27, 28). Aeromonas türlerinin identifikasyonunda Aerokey-II yöntemi kullanıldı. Aerokey-II yöntemi; Aeromonas olduğu belirlenen saf kültürleri; Esulin hidrolizasyonu, Sisteinden H₂S oluşumu, D-glukozdan gaz oluşumu, L-arabinozdan asit oluşumu,

D-mannitol ve salisin fermentasyonu, Metil Red – Voges Proskauer testlerinin uygulandığı bir yöntemdir(9).

Bulgular ve Tartışma

Van ve yöresinde değişik kaynaklardan 91'i şebeke (%75.8), 10'u kuyu (%8.3), 19'u kaynak (%15.8) suyu olmak üzere toplam 120 su örneği toplandı. Numuneler membran filtrasyon yöntemiyle ve hareketli *Aeromonas* türleri yönünden incelendi. Tüm örneklerin %30'u da hareketli *Aeromonas*' lar yönünden pozitif bulunurken 91 şebeke suyunun %26.4'ü, 19 kaynak suyunun %57.9'u ve 10 kuyu suyunun ise %10'u hareketli *Aeromonas* türleri yönünden pozitif bulundu.

Su, insan yaşamında vazgeçilmez bir unsur olmasının yanısıra değişik aşamalarda uğradığı kontaminasyonlar sonucu taşıyabileceği birçok patojen etken nedeniyle oluşturabileceği salgın hastalıklar yönünden de büyük önem taşımaktadır. Patojen mikroorganizmalarla kontamine olan suların tüketilmesi sonucu meydana gelen hastalıklar nedeniyle birçok ülkede halk sağlığını korumak için su kaynaklarında bu bakterilerin varlığının araştırılmasına yönelik çalışmalara önem verilmektedir.

Yapılan bu araştırma ile Van ve çevresi içme sularında hareketli *Aeromonas* türlerinin varlığı ve yaygınlığının araştırılması amaçlandı. Böylece halk sağlığı için potansiyel bir sağlık riski oluşturan hareketli *Aeromonas*'ların varlığı ve yaygınlığı ortaya konularak bu suların halk sağlığı yönünden bir risk oluşturup oluşturmadığı tespit edilmeye çalışıldı.

Hazen ve ark. (14), 147 farklı su habitatında yaptıkları bir çalışmada tuzlu su sistemlerinde *A. hydrophila* miktarının tatlı su sistemlerinden daha yüksek olduğunu ancak aşırı tuzlu su sistemlerinden *A. hydrophila* izole edemediklerini bildirmişlerdir.

Köksal ve ark.(17), İstanbul'un içme suyu kaynakları, arıtma sistemleri ve şebeke sularını indikatör ve bazı patojen bakteriler açısından değerlendirdikleri bir çalışmada; şebeke sularında %23 oranında *Aeromonas* türleri bulduklarını bildirmişlerdir. Massa ve ark. (18), İtalya'da bir kuyu suyunda yaptıkları çalışmada; kuyu suyunun 49-1609 kob/250 ml düzeyinde *Aeromonas* türleriyle kontamine olduğunu bulmuşlardır. Hazen ve ark. (14), Amerika'da yaptıkları çalışmada; *A. hydrophila*'nın akarsularda, durgun sulardan daha yoğun olduğunu tespit etmişlerdir. Yine Burke ve ark. (6), Batı Avustralya'daki 21000 nüfuslu bir şehirde Aralık 1981 ve Aralık 1982 arasında bir yıl süre ile evlerde kullanılan içme ve kullanma sularında yaptıkları bir çalışmada; örneklerden %34 hareketli *Aeromonas* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Emekdaş ve ark. (10), Mersin'de evlerden, iş merkezlerinden ve hastanelerden rasgele topladıkları 148 musluk suyu örneğinin 5'inden (%3.3) *A. hydrophila* izole etmişlerdir Pavlov ve ark. (25), 2000 yılı şubat ve haziran ayları arasında Güney Afrika'da işlem görmüş ve işlem görmemiş içme sularından izole ettikleri Gram negatif bakterilerin %18.1'nin *A. veronii* biovar *sobria*, %3.7'sinin de *A. hydrophila* olduğunu bildirmişlerdir. Özdemir (22), 70 su örneğinde yaptığı bir çalışmada, örneklerin 6'sından (%8.6) hareketli *Aeromonas* türleri izole etmiştir.

Mete ve ark.(19), Denizli ve çevresinden topladıkları 449 musluk suyu örneğinin 11'inden (% 2.4) hareketli *Aeromonas* türleri izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada tespit edilen *Aeromonas* spp. değerlerinin Burke ve ark. (6)'nın bildirdiği bulunduğu değerlerinden daha düşük olduğu görüldü. Çalışmada bulunan *A. hydrophila* yüzdesi Emekdaş ve ark. (10) ile Pavlov ve ark., (25)'nin bulunduğu değerlerden düşük. *Aeromonas* spp. yönünden bizim bulduğumuz değerler Mete ve ark. (19)'nın belirledikleri değerlerden daha yüksektir. *A. sobria* yönünden ise Monfort ve Baleux (20)'nin bildirdikleri değerlerden farklı olduğu belirlendi. Bu farklar mevsimsel su sıcaklığındaki değişikliklerden kaynaklanabilir. Bu bulgular musluk ve kaynak sularının patojenik *Aeromonas* türleri için kaynak oluşturabileceğini göstermektedir.

Sonuç ve Öneriler

Sonuç olarak; yapılan bu çalışma ile incelenen içme suyu örneklerinde *Aeromonas* spp. bulunmasının halk sağlığı açısından potansiyel bir sağlık tehlikesi oluşturabileceği sonucuna varılmıştır. Ülkemizde uygun arıtım işlemi uygulanmadan tüketilen sulardan kaynaklanabilecek potansiyel halk sağlığı riskinin önlenmesi amacıyla içme ve kullanma suyunun hijyenik ve ileri teknoloji ile elde edilmesi ve tüketiminde en yeni, detaylı, uygulanabilir standartlar getirilmesi ve bunlara uyulmasını sağlamak amacıyla yetiştirilmiş eleman, alet ekipman ve güvenilir hızlı analiz metotlarının kullanılması önemli bir husustur.

Kaynakça

1. Agger W.A., McCormick J.D. and Gurwith M.J. (1985). Clinical and microbiological features of *Aeromonas hydrophila*-Associated diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology*, 21, 909-913.
2. Akman Y., Ketenoğlu O., Evren H., Kurt L. ve Düzenli S. (2000). Çevre Kirliliği, Çevre Biyolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara. 268.
3. Allen D.A., Austin B. and Colwell R.R. (1983). *Aeromonas media*, a new species isolated from river water. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 33, 599-604.
4. Anonim (1991). Su kirliliği kontrolü yönetmeliği numune alma ve analiz metodları tebliği, Resmi Gazete Sayı: 20748.
5. Ashbolt N.J. (2004). Microbial contamination of drinking water and disease outbreaks in developing regions. *Toxicology*, 198, 229-238.
6. Burke V., Robinson J., Gracey M., Peterson D. and Kim P. (1984). Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a metropolitan water supply: Seasonal correlation with clinical isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 48, 361-366.
7. Callister S.M. and Agger W.A. (1987). Enumeration and characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolated from grocery store produce. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 249- 253.
8. Canonica F.P. and Pisano M.A. (1985). Identification of hydroxy fatty acids in *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* and *Aeromonas caviae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 1061-1062.
9. Carnahan A.M., Behram S. and Joseph S.W. (1991). Aerokey II: A Flexible Key for Identifying Clinical *Aeromonas* in Fresh Waters. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 2843-2849.
10. Emekdas G., Aslan G., Tezcan S., Serin M.S., Yıldız C., Özturhan H. ve Durmaz R. (2006). Detection of the frequency, antimicrobial susceptibility and genotypic discrimination of *Aeromonas* strains isolated from municipally treated tap water samples by cultivation and APPCR in Turkey. *Int. J. Food Microbiol.*, 107, 310-314.
11. Ergün F. (1999). İstanbul'daki su satış istasyonlarında satışa sunulan içme sularının genel hijyen kriterleri ve bazı patojenler yönünden incelenmesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İstanbul.
12. Havelaar A.H., During M. and Versteegh J.F.M. (1987). Ampicillin-dextrin agar medium for the enumeration of *Aeromonas* species in water by membrane filtration. *Journal of Applied Bacteriology*, 62, 279-287.
13. Havelaar A.H., Schets F.M., Silfhout A., Jansen W.H., Wieten G. and Koolj D. (1992). Typing of *Aeromonas* strains from patients with diarrhoea and from drinking water. *Journal of Applied Bacteriology*, 72, 435-444.
14. Hazen T.C., Fliermans C.B., Hirsch R.P. and Esch G.W. (1978). Prevalence and Distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 36, 731-738.
15. Hunter P.R. and Burge S.H. (1987). The bacteriological quality of bottled natural mineral waters. *Epidemiology and Infection*, 99, 439-443.

16. Janda J.M., Dixon A., Raucher B., Clark R.B. and Bottone E.J. (1984). Value of blood agar for primary plating and clinical implication of simultaneous isolation of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* from a patient with gastroenteritis. *Journal of Clinical Microbiology*, 20, 1221-1222.
17. Köksal F., Oğuzkurt N. ve Samast M. (2007). İstanbul içme sularının bakteriyolojik yönden incelenmesi: *Aeromonas* sorunu. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.*, 37(3), 164-168.
18. Massa S., Altieri C. and Angela A. (2001). The occurrence of *Aeromonas* spp. in natural mineral water and well water. *International Journal of Food Microbiology*, 63, 169-173.
19. Mete E., Kaleli I., Demir M. ve Cevahir N. (2002). Çeşitli su örneklerinde *Aeromonas* sıklığının araştırılması. *Ankara Dergisi* 16, 430- 433.
20. Monfort P. and Baleux B. (1991). Distribution of Motile *Aeromonas* spp. in Brackish Water Receiving Sewage Treatment Effluent. *Appl Environ Microbiol*, 57, 2459-2467.
21. Özaslan A. (2009). Adana içme suyunda fekal koliform düzeyinin belirlenmesi ve antibiyotik dirençlilik frekansı. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Adana.
22. Özdemir H. (2007). İçme sularında *Aeromonas* varlığının araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
23. Palú A.P., Gomes L.M., Miguel M.A.L., Almeida A.C.F. and Solares De Oliveria S. (2006). Antimicrobial resistance in food and clinical *Aeromonas* isolates. *Food Microbiol.*, 23, 504-509.
24. Palumbo S.A., Abeyta C. and Stelma S.G. (1992). Chapter 30: *Aeromonas hydrophila* Group. In *Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods*, Editors, C. Vanderzant, D.F. Splittstoesser, Third edition, APHA, Washington D.C., 497-515.
25. Pavlov D., De Wet C.M.E., Grabow W.O.K. and Ehlers M.M. (2004). Potentially pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria isolated from treated and untreated drinking water. *International Journal of Food Microbiology*, 92, 275-287.
26. Pin C., Morales P., Marin M.L., Selgas M.D., Garcia M.L. and Casas C. (1997). Virulence factors- pathogenicity relationships for *Aeromonas* species from clinical and food isolates. *Folia Microbiol.*, 42, 385-389.
27. Popoff M. (1984). Genus III *Aeromonas* Kluyver and Van Niel 1936, 398AL, In '*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*', Editors, NR Krieg, JG Holt, Volume 1, Williams&Wilkins, London. 545-548.
28. Rippey S.R. and Cabelli V.J. (1979). Membrane Filter Procedure for Enumeration of *Aeromonas hydrophila* in Fresh Waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 38, 108-113.
29. Warburton D.W. (2000). Methodology for screening bottled water for the presence of indicator and pathogenic bacteria. *Food Microbiology*, 17, 3-12.

SIĞIR VE BUZAĞI DIŞKI ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN KOMMENSAL E.COLİ VE E.COLİ O157:H7 SUŞLARININ ANTİBAKTERİYEL DİRENÇLİLİĞİ

Sunum Tipi: Poster

Yahya KUYUCUOĞLU, Mikrobiyoloji, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Beytullah KENAR, Mikrobiyoloji, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Selahattin KONAK, Mikrobiyoloji, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Zeki GÜRLER, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
Ulaş ACARÖZ, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Özet

Bu çalışmada Afyonkarahisar ilinde siğir ve buzağı dışkı örneklerinden izole edilen *E. coli* ve *E.coli* O157:H7 suşlarının antimikrobiyel dirençliliği araştırıldı. Toplam 45 *E. coli* ve 14 *E. coli* O157:H7 suşu izole edildi. *E. coli* suşlarının tamamı penicillin'e dirençli bulunurken *E.coli* O157:H7 suşlarının penicillin, ertiyromisin ve neomycin'e dirençli olduğu tespit edildi. *E.coli* izolatlarının çoğu eritromisin (%97.7), neomycin (%95.6), tetracyclin (%73.3) ve ampicillin (%60.0)'e dirençli bulundu. İzole edilen *E. coli* suşlarının ampicillin dirençliliği *E.coli* O157:H7 suşlarından oldukça yüksek bulunurken tetracyclin'in her iki patojen için önemli oranda dirençli olduğu görüldü. Sonuç olarak bu çalışmada izole edilen *E. coli* ve *E.coli* O157:H7 suşlarının cephalothin ve cefoxitim dirençliliklerinin oldukça farklı olduğu gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Siğir, dışkı, *E. coli*, *E.coli* O157:H7, antimikrobiyel dirençlilik

ANTIBACTERIAL RESISTANCE OF COMMENSAL E.COLI AND E.COLI O157:H7 STRAINS ISOLATED FROM CATTLE AND CALVES FAECES SAMPLES

Abstract:

This study investigated the occurrence and antimicrobial resistance profiles of *E. coli* and *E.coli* O157:H7 isolated from cattle and calves faeces samples in Afyonkarahisar. A total of 45 *E. coli* and 14 *E. coli* O157:H7 species was isolated. All the *E. coli* isolates were found to be resistant to the penicillin. However, *E.coli* O157:H7 species were found to be resistant to the penicillin, erythromycin and neomycin. Most of *E.coli* isolates were found to be resistant to the erythromycin (97.7%), neomycin (95.6%), tetracycline (73.3%) and ampicillin (60.0%). The tetracycline to the considerably resistance were seen in both pathogens, although ampicillin resistance was relatively higher in *E. coli* than in *E.coli* O157:H7 species. This study observed that cephalothin and cefoxitim resistances were found to highly different the *E. coli* and *E.coli* O157:H7 strains.

Key words: Cattle, faeces, *E. coli*, *E.coli* O157:H7, antimicrobial resistance

Bildiri No: 128

Kategori: Genel

DÜŞÜK VOLTAJ ELEKTRİK STİMÜLASYONUNUN M. LONGISSIMUS DORSI THORACIS ÜZERİNE ETKİSİ

Sunum Tipi: Poster

Buket EROĞLU, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, İstanbul Üniv
Ömer ÇETİN, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, İstanbul Üniv

Özet

Bu çalışma, düşük voltaj Elektrik Stimülasyonu (ES) uygulamasının inek eti kalitesine olası etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 20 adet Holştayn ırkı inek kullanılmıştır. İnekler 10'ar adet olmak üzere 2 gruba ayrılmış ve kesim işlemleri, kanatma ve iç organlarının çıkarılmasının ardından medyan hattın ikiye ayrılmıştır. Longissimus dorsi thoracis kasları karkaslardan çıkarıldıktan sonra, sağ yarımından elde edilen kasa 50 ve 100 volt (90 saniye, 100Hz) ES uygulaması yapılmış, sol yarımından elde edilen kas ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Et kalitesinin belirlenmesi amacıyla longissimus dorsi thoracis kasından alınan örnekler pH, su tutma kapasitesi (WHC), renk, tekstür ve duyu-sal özellikler yönünden incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, ES uygulanan etlerin pH değerleri kontrol gruplarına nazaran hızlı bir düşüş göstermiştir. WHC değerlerinde ise tüm gruplarda günlere göre bir azalma tespit edilmiş, iki farklı voltaj (50V, 100V) uygulanmış gruplarda saptanan değerler arasında, 3. gün ve 7. gün sonuçlarında istatistikî olarak önemlilik gözlenmiştir ($P<0,001$). Tekstür değerlerinde ES uygulanmış gruplar ile kontrol grubu arasında, çiğ ve pişmiş örneklerde yapılan değerlendirmeler sonucunda, tüm günlerde istatistikî önemlilik gözlenmiştir. Renk ölçümlerinde elde edilen bulgularla renk değerlerinde gelişme gözlenirken; 1. gün kırmızılık, 3. gün parlaklık, kırmızılık ve sarılık, 7. gün parlaklık ve kırmızılık değerlerinde farklılık gözlenmiştir. Duyusal değerlendirmelerde ise, hem pişmiş hem de çiğ değerlerde elektrik stimülasyonu uygulamasının tüm parametrelerde iyileşme gösterdiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Elektrik Stimülasyonu, Gevreklik, Longissimus dorsi thoracis, Et Kalitesi, Renk

THE EFFECT OF LOW VOLTAGE ELECTRICAL STIMULATION ON M. LONGISSIMUS DORSI THORACIS

Abstract:

This work was aimed to determine the probable effects of electrical stimulation on cow meat quality. In this study, twenty Holstein cows were used. Cows were equally distributed in two groups, were cut into halves though median line after exsanguinations and evisceration of slaughter procedure. Longissimus dorsi thoracis have dislodged from carcass and right muscle were applied 100 Hz, 1,5 minutes and 50 or 100 volts of electrical stimulation (ES) and left muscle were kept as control group. Meat quality was assessed in Longissimus dorsi thoracis and was evaluated by examining pH, colour, tenderness, water holding capacity (WHC) and sensory evaluations. As a result, electrical stimulation (ES) introduced faster decrease and lower values of pH decline compared to the control group. It was determined that water holding capacity in all groups there was a reduction on day by day. WHC decreased significantly ($P<0,001$) in samples at 3. and 7. day. Statistical significance was determined in tenderness values of raw and cooked samples of ES and control group for all days.

According to color measurements, it was determined that color values were progressed. Redness was different at day 1, lightness, redness and yellowness were different at day 3 and lightness and redness were different at day 7. In sensory evaluations, there was an advanced with ES application in all parameters.

Key words: Electrical stimulation, Tenderness, Longissimus dorsi thoracis, Meat Quality, Color

Giriş

Son yıllarda sığır eti sanayinde, "kalite" üzerinde daha fazla durulan bir kavram haline gelmiştir. Kalite; üretici, işleyici, dış alımcı, dış satımcı, perakendeci ve tüketici tarafından farklı şekillerde tanımlanabilmektedir. Pazarın gereksinimi dikkate alındığında, karkas ağırlığı, etlenme ve yağlanma durumu ile yağsız et, eti işleyenler tarafından daha çok üzerinde durulan kavramlar arasındadır. Bunun yanı sıra karkas parçalarının büyüklükleri, et ile yağ rengi, mozaik yağ dağılımı, tekstür ve hijyen ise dış alımcı ve dış satımcılarla, perakendecilerin önem verdiği kavramlardır (Dutson, 1983).

Et kalitesi, çiftlikten sofraya et üretiminde, yetiştiricilikten karkas et eldesine, taze et işlemlerinden et mamulleri üretimine kadar uygulanan tüm işlemlerden etkilenmektedir. Et kalitesinin geliştirilmesi tüketici beğenisine olduğu kadar tüketici sağlığına da hizmet eder. Birçok fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik yöntem, et kalitesinin geliştirilmesi ve standartlaştırılması amacıyla uygulamaya konulmuştur. Et sanayinde elektrik akımı uygulamaları da bu yöntemlerden birisidir (Carballo ve ark., 1989; Ferreira ve ark., 2006). Kesimden sonra karkaslara belirli noktalardan elektrik akımı uygulanmasına elektrik stimülasyonu (ES) adı verilir. Uygulamada elektrotların biri boyun kaslarına, diğeri de but kaslarına veya monoray hatta saplanmakta ya da takılmaktadır (Hwang ve ark., 2003; Kahraman ve ark., 2006).

ES uygulamasının yararlı etkisi çok eskiden beri bilinmesine rağmen ilk patent 1950'li yılların başında ABD'de alınmış; 1970'li yılların ortalarında ise Yeni Zelanda'nın et endüstrisinde kullanılmaya başlanmıştır (Smulders ve Laack, 1992). ES, etlerde postmortem glikoliz ve rigor mortis hızlandırır. Böylece hızlı pH düşüşü ile birlikte bir taraftan kasların kasılmasıyla karakterize potansiyel bir et kalitesi sorunu olan soğuk kasılması riski ortadan kalkar. Diğer taraftan da protein denatürasyonunu da artırarak hızlı bir olgunlaşma meydana gelir (Kahraman ve Ergun, 2009). Böylece duyuşal özellikleri iyileştirdiği, özellikle etin gevrekleşmesinde etkin rol oynadığı bildirilmektedir. ES ile etin daha gevrek hale getirilmesinde; aktivitesi artırılmış proteolitik enzimlerin hücre içi proteinleri parçalamasının ve kas liflerinde kopma ve kınmalara neden olmasının ve buna ilave olarak sarkomer kısalmasının önlenmesinin rolü vardır (Ho ve ark., 1996; Birkhold ve Sams, 1993).

Ülkemizde et kalitesinin artırılması amacıyla uygulaması kolay olan bu teknolojiye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma, düşük voltaj elektrik stimülasyonu uygulamasının inek eti kalitesine etkilerinin araştırılmasına yönelik yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, aynı çiftlikten temin edilmiş ve aynı yemleme prosedürüne tabi tutulmuş 3-6 yaş arası sağlıklı 20 adet inek materyal olarak kullanıldı. Kesimden bir gün önce kesilecek hayvanlar ayrı bir bölmede barındırıldı ve kesimden 12 saat önce yemsiz ve 6 saat önce susuz bırakılarak kesim hijyeni bakımından oluşabilecek olumsuzlukların önüne geçilmeye çalışıldı. Hayvanlar dinlendirildikten sonra sağlık muayenesine tabi tutuldu ve strese sokulmadan kesime sevk edildi.

Kesim işlemi gerçekleşen dışı sığırlar monoray sistemde dikey kanatmaya alındı. Asılı vaziyette kanatma işlemini, başın ayrılması, derinin yüzülmesi ve iç organların çıkartılması izledi. Elde edilen karkaslar ortadan iki eşit parçaya bölündü. 5. ve 11. kaburga hizasında longissimus dorsi thoracis (antrikot) kası karkastan çıkarılarak,

ES uygulamaları için ayrıldı. Medyan hattın iki eşit parçaya bölünen karkasların sağ yarımının 5 ve 11. kaburga arasından çıkarılan longissimus dorsi thoracis (antrikot) kasına, postmortem 45. dakikasinda iki farklı voltajda ES uygulandı. ES birinci gruba (ES 50) 50 V (90 saniye, 100Hz), ikinci gruba (ES 100) 100 volt (90 saniye, 100 Hz) olarak tatbik edildi. Araştırmada sol yarımından çıkarılan longissimus dorsi thoracis kası ise kontrol (K) grubunu oluşturdu.

Postmortem farklı zamanlarında (0., 3., 6., 12. ve 24. saatlerde) her karkas yarımına ait longissimus dorsi thoracis kasında pH değeri kontrolü yapıldı. pH ölçümünde, CRISON marka PH-25 model saplama tip dijital pH metre kullanıldı. pH metrenin elektrotları merkeze yakın 3 farklı noktaya sokularak değerler tespit edildi ve 3 değerın ortalaması alındı (İnal, 1995).

Uygulama sonrası karkaslar 24 saat 0-4 °C'lık depolara konuldu. Bu süre sonunda su tutma kapasitesi (WHC), renk (L*, a*, b*), tekstür (SF) ve duyuşal muayene için karkaslar parçalamaya salonuna getirildi ve birinci, üçüncü ve yedinci gün değeriendirilmeleri amacıyla örnekler alındı. Birinci gün analizleri için alınan numuneler laboratuara gönderilirken üçüncü ve yedinci gün için alınan numuneler strafor kaplar içinde vakum paketlenip tekrar soğuk depolara kaldırıldı.

WHC ölçümü için alınan et örnekleri, iyice kıyılmış olarak kurutulmuş süzgeç kâğıdı üzerinde yaklaşık 300 mg tartıldı. Örnek ve süzgeç kâğıdı pleksiglas plakalar arasına konuldu. Cam plakalar üzerine 1 kg'lık ağırlık yerleştirilerek 20 dakika beklenildi. Sürenin dolduğunda ağırlık alınıp süzgeç kâğıdı çıkarılarak, süzgeç kâğıdı üzerinde gözlenen dairelerin alanı milimetrik kâğıt ile ölçülerek belirlendi (Vural ve Öztan, 1996).

Et rengi ölçümü için üç temel renk parametresi (L*=parlaklık, a*=kırmızı, b*=sarı) ile ölçüm yapan, ColorFlexHunter Lab Color Measurement System (Hunter Associates Laboratory Inc.) kullanıldı. Her bir renk ölçümünde alınan numunenin kesit yüzeyinin yağsız bölümünden 5 ölçüm yapıldı ve elde edilen sonuçların ortalaması alındı (Hunt ve ark., 1991).

Numunelerin SF analizlerinde Warner-Bratzler shear force (model 3343, Instron, USA) cihazından yararlanıldı. Her bir örnek için Warner-Bratzler bıçağının kesmesi sırası uygulanan en yüksek kuvvet (kg/cm²) ve 5 farklı okuma yapılarak kuvvet x zaman grafiğı bilgisayaraya kaydedildi (Vergara ve ark., 2005).

Duyuşal muayeneler İ.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Elemanı olan yarı eğitimli 6 kişilik panelist grup tarafından yapılmıştır. Örneklerin duyuşal olarak değeriendirilmeleri kapsamında renk, koku, kıvam, görünüm kriterlerine bakılmıştır. Pişmiş numuneler için bu değerler yanında lezzet parametrelerine (lezzet yoğunluğu ve lezzet kalitesi) de bakılmış olup, her biri için 10 puan üzerinden değer faktörleri saptanmıştır (Halil ve Nazlı, 2001). Bu çalışmada, veriler arasındaki istatistikî farklılıkları saptamak için SPSS analiz programından ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) prosedürü kullanılmıştır (Özdamar, 1999).

Bulgular

Bu çalışma sonucunda elde edilen pH değerleri Tablo 1'de; çiğ ve pişmiş kas örneklerinin tekstür değerleri Tablo 2 ve 3'de, çiğ ve pişmiş kas örneklerinin duyuşal değerleri ise Tablo 4 ve 5 de verilmiştir. Instrumental renk değerleri için tablo verilmemiştir.

Saptanan pH değerleri ES uygulanan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiş ve 100 volt ES uygulanan gruba 50 volt ES uygulanan grup arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Elde edilen pH değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Su tutma kapasitesi yönünden elde edilen değerler göz önünde bulundurulduğunda tüm gruplarda günlere göre bir azalma tespit edilmişken, 1. gün sonuçlarında tüm gruplar arasında istatistikî bir önemlilik gözlenmemiştir (P>0,05).

Diğer taraftan, iki farklı voltaj (50V, 100V) uygulanmış gruplarda saptanan WHC değerleri arasında ve ES 100 grubu ile kontrol grubu arasında, 3. gün ve 7. gün sonuçlarında istatistik olarak yüksek derecede önemlilik ($P<0,001$) gözlenmişken, bu önemlilik kontrol grubu ve ES 50 grupları arasında gözlenmemiştir.

Parlaklık (L^*) değerlerinde 1. gün ES uygulanan gruplar kontrol grubundan yüksek bulunmuş fakat istatistiki bir önemlilik ifade etmemiştir ($P>0,05$). Bunun yanı sıra 3. ve 7. günlerde (L^*) değerinde ise, 100 Volt elektrik stimülasyonu uygulanmış grupla, kontrol grubu arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Kırmızılık (a^*) değerinde elde edilen 1. gün ve 3. gün sonuçlarına göre; 100 volt ES uygulanan gruplarda, 50 volt ES ve kontrol grubu arasındaki farklılığın istatistiki açıdan önemlilik gösterdiği tespit edilmiştir. 100 volt ES uygulanan grupta, 7. gündeki önemliliğin ($P<0,001$), 50 volt ES uygulanan gruba ve kontrol grubuna nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sarılık (b^*) değerinde elde edilen sonuçlarda 1. ve 7. günlerde, kontrol grubu ile stimülasyon uygulanan gruplar arasında belirgin bir düşüş görülmesine rağmen istatistiki açıdan önemlilik olmadığı gözlenmiştir. 3. gün değerlerinde ise; 100 volt ES uygulanan grupla, kontrol ve 50 volt ES uygulanmış grup arasında istatistiki açıdan önemlilik tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Tekstür değerlerinin ES uygulanan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran 1. ve 3. günlerde daha düşük olduğu tespit edilmiş ($P<0,05$), iki farklı voltaj (50 V, 100 V) ES uygulaması yapılan çığ örneklerin sadece 7. günlerinde sonuçların istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Pişmiş örneklerde saptanan tekstür değerlerinin 100 volt ES uygulanan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiş ve her iki grup arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Aynı zamanda iki farklı voltaj (50V, 100V) uygulanmış örneklerde saptanan tekstür değerleri arasındaki farklar genel olarak önemli bulunmamıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 2 ve Tablo 3'de verilmiştir.

Duyusal analiz bulgularında ise çığ örneklerden elde edilen renk, koku, görünüm ve kıvam değerlerinin ES uygulaması yapılan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, pişmiş örneklerden elde edilen renk, koku, görünüm, kıvam, lezzet yoğunluğu ve lezzet kalitesi değerlerinin ES uygulaması yapılan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çığ örneklerden elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, 1. gün renk, görünüm ve kıvam değerlerinde, kontrol ve ES uygulanan gruplar arasında istatistiki bir fark olmadığı tespit edilmiş ($P>0,05$), koku değerinde, 50 V ES uygulanmış örneklerde saptanan koku değerleri ile diğer gruplarda saptanan koku değerleri arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Yedinci gün sonuçlarına göre ise, renk ve görünüm değerlerinde, kontrol ve ES uygulanan gruplar arasında istatistiki bir fark olmadığı tespit edilmiş ($P>0,05$), koku değerinde ise, 50 V ES uygulanmış grupla kontrol grubu arasında saptanan koku değerleri arasındaki farklar önemli bulunmuş ($P<0,01$), kıvam değerinde ise, iki farklı voltaj (50 V, 100 V) uygulanmış örneklerde saptanan değerler, kontrol grubuna göre önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Elde edilen sonuçlar Tablo 4'te verilmiştir.

Pişmiş örneklerden elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, 1. gün kıvam, lezzet yoğunluğu, lezzet kalitesi, 3. gün koku, görünüm, kıvam, lezzet yoğunluğu, lezzet kalitesi, 7. gün renk, koku, görünüm, kıvam, lezzet yoğunluğu, lezzet kalitesi değerlerinin ES uygulaması yapılan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha yüksek olduğu gözlenmiş, istatistiki açıdan önemlilik olmadığı saptanmıştır ($P>0,05$). Diğer taraftan 1. gün; renk, koku ve görünüm değerlerinde 50 V ES uygulanmış grupla kontrol grubu değerleri arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,05$). 3. gün renk değerinde ise iki farklı voltaj (50 V, 100 V) uygulanmış örneklerde saptanan değerler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken, kontrol grubu ile iki farklı voltaj (50 V, 100 V) uygulanmış örneklerde saptanan değerler arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Elde edilen sonuçlar Tablo 5'te verilmiştir.

ES uygulamaları için ayrıldı. Medyan hattan iki eşit parçaya bölünen karkasların sağ yarımının 5 ve 11. kaburga arasından çıkarılan longissimus dorsi thoracis (antrikot) kasına, postmortem 45. dakikasinda iki farklı voltajda ES uygulandı. ES birinci gruba (ES 50) 50 V (90 saniye, 100Hz), ikinci gruba (ES 100) 100 volt (90 saniye, 100 Hz) olarak tatbik edildi. Araştırmada sol yarımından çıkarılan longissimus dorsi thoracis kasi ise kontrol (K) grubunu oluştırdı.

Postmortem farklı zamanlarında (0., 3., 6., 12. ve 24. saatlerde) her karkas yarımına ait longissimus dorsi thoracis kasında pH değeri kontrolü yapıldı. pH ölçümünde, CRISON marka PH-25 model saplama tip dijital pH metre kullanıldı. pH metrenin elektrotları merkeze yakın 3 farklı noktaya sokularak değerler tespit edildi ve 3 değerin ortalaması alındı (İnal, 1995).

Uygulama sonrası karkaslar 24 saat 0-4 °C 'lik depolara konuldu. Bu süre sonunda su tutma kapasitesi (WHC), renk (L*, a*, b*), tekstür (SF) ve duyuusal muayene için karkaslar parçalamaya salonuna getirildi ve birinci, üçüncü ve yedinci gün değerlendirilmeleri amacıyla örnekler alındı. Birinci gün analizleri için alınan numuneler laboratuara gönderilirken üçüncü ve yedinci gün için alınan numuneler strafor kaplar içinde vakum paketlenip tekrar soğuk depolara kaldırıldı.

WHC ölçümü için alınan et örnekleri, iyice kıyılmış olarak kurutulmuş süzgeç kâğıdı üzerinde yaklaşık 300 mg tartıldı. Örnek ve süzgeç kâğıdı pleksiglas plakalar arasına konuldu. Cam plakalar üzerine 1 kg'lık ağırlık yerleştirilerek 20 dakika beklenildi. Sürenin dolduğunda ağırlık alınıp süzgeç kâğıdı çıkarılarak, süzgeç kâğıdı üzerinde gözlenen dairelerin alanı milimetrik kâğıt ile ölçülerek belirlendi (Vural ve Öztan, 1996).

Et rengi ölçümü için üç temel renk parametresi (L*=parlaklık, a*=kırmızı, b*=sarı) ile ölçüm yapan, ColorFlexHunter Lab Color Measurement System (Hunter Associates Laboratory Inc.) kullanıldı. Her bir renk ölçümünde alınan numunenin kesit yüzeyinin yağsız bölümünden 5 ölçüm yapıldı ve elde edilen sonuçların ortalaması alındı (Hunt ve ark., 1991).

Numunelerin SF analizlerinde Warner-Bratzler shear force (model 3343, Instron, USA) cihazından yararlanıldı. Her bir örnek için Warner-Bratzler bıçağının kesmesi sırası uygulanan en yüksek kuvvet (kg/cm²) ve 5 farklı okuma yapılarak kuvvet x zaman grafiği bilgisayara kaydedildi (Vergara ve ark., 2005).

Duyuusal muayeneler İ.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Elemanı olan yarı eğitimli 6 kişilik panelist grup tarafından yapılmıştır. Örneklerin duyuusal olarak değerlendirilmeleri kapsamında renk, koku, kıvam, görünüm kriterlerine bakılmıştır. Pişmiş numuneler için bu değerler yanında lezzet parametrelerine (lezzet yoğunluğu ve lezzet kalitesi) de bakılmış olup, her biri için 10 puan üzerinden değer faktörleri saptanmıştır (Halil ve Nazlı, 2001). Bu çalışmada, veriler arasındaki istatistikî farklılıkları saptamak için SPSS analiz programından ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) prosedürü kullanılmıştır (Özdamar,1999).

Bulgular

Bu çalışma sonucunda elde edilen pH değerleri Tablo 1'de; çiğ ve pişmiş kas örneklerinin tekstür değerleri Tablo 2 ve 3 'de, çiğ ve pişmiş kas örneklerinin duyuusal değerleri ise Tablo 4 ve 5 de verilmiştir. Instrumental renk değerleri için tablo verilmemiştir.

Saptanan pH değerleri ES uygulanan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiş ve 100 volt ES uygulanan gruba 50 volt ES uygulanan grup arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Elde edilen pH değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Su tutma kapasitesi yönünden elde edilen değerler göz önünde bulundurulduğunda tüm gruplarda günlere göre bir azalma tespit edilmişken, 1. gün sonuçlarında tüm gruplar arasında istatistikî bir önemlilik gözlenmemiştir (P>0,05).

Diğer taraftan, iki farklı voltaj (50V, 100V) uygulanmış gruplarda saptanan WHC değerleri arasında ve ES 100 grubu ile kontrol grubu arasında, 3. gün ve 7. gün sonuçlarında istatistik olarak yüksek derecede önemlilik ($P<0,001$) gözlenmişken, bu önemlilik kontrol grubu ve ES 50 grupları arasında gözlenmemiştir.

Parlaklık (L^*) değerlerinde 1. gün ES uygulanan gruplar kontrol grubundan yüksek bulunmuş fakat istatistik bir önemlilik ifade etmemiştir ($P>0,05$). Bunun yanı sıra 3. ve 7. günlerde (L^*) değerinde ise, 100 Volt elektrik stimülasyonu uygulanmış grupla, kontrol grubu arasındaki farklılık istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Kırmızılık (a^*) değerinde elde edilen 1. gün ve 3. gün sonuçlarına göre; 100 volt ES uygulanan gruplarda, 50 volt ES ve kontrol grubu arasındaki farklılığın istatistik açıdan önemlilik gösterdiği tespit edilmiştir. 100 volt ES uygulanan grupta, 7. gündeki önemliliğin ($P<0,001$), 50 volt ES uygulanan gruba ve kontrol grubuna nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sarılık (b^*) değerinde elde edilen sonuçlarda 1. ve 7. günlerde, kontrol grubu ile stimülasyon uygulanan gruplar arasında belirgin bir düşüş görülmesine rağmen istatistik açıdan önemlilik olmadığı gözlenmiştir. 3. gün değerlerinde ise; 100 volt ES uygulanan grupla, kontrol ve 50 volt ES uygulanan grup arasında istatistik açıdan önemlilik tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Tekstür değerlerinin ES uygulanan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran 1. ve 3. günlerde daha düşük olduğu tespit edilmiş ($P<0,05$), iki farklı voltaj (50 V, 100 V) ES uygulaması yapılan çiğ örneklerin sadece 7. günlerinde sonuçların istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Pişmiş örneklerde saptanan tekstür değerlerinin 100 volt ES uygulanan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiş ve her iki grup arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Aynı zamanda iki farklı voltaj (50V, 100V) uygulanmış örneklerde saptanan tekstür değerleri arasındaki farklar genel olarak önemli bulunmamıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 2 ve Tablo 3'de verilmiştir.

Duyusal analiz bulgularında ise çiğ örneklerden elde edilen renk, koku, görünüm ve kıvam değerlerinin ES uygulaması yapılan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, pişmiş örneklerden elde edilen renk, koku, görünüm, kıvam, lezzet yoğunluğu ve lezzet kalitesi değerlerinin ES uygulaması yapılan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çiğ örneklerden elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, 1. gün renk, görünüm ve kıvam değerlerinde, kontrol ve ES uygulanan gruplar arasında istatistik bir fark olmadığı tespit edilmiş ($P>0,05$), koku değerinde, 50 V ES uygulanmış örneklerde saptanan koku değerleri ile diğer gruplarda saptanan koku değerleri arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Yedinci gün sonuçlarına göre ise, renk ve görünüm değerlerinde, kontrol ve ES uygulanan gruplar arasında istatistik bir fark olmadığı tespit edilmiş ($P>0,05$), koku değerinde ise, 50 V ES uygulanmış grupla kontrol grubu arasında saptanan koku değerleri arasındaki farklar önemli bulunmuş ($P<0,01$), kıvam değerinde ise, iki farklı voltaj (50 V, 100 V) uygulanmış örneklerde saptanan değerler, kontrol grubuna göre önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Elde edilen sonuçlar Tablo 4'te verilmiştir.

Pişmiş örneklerden elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, 1. gün kıvam, lezzet yoğunluğu, lezzet kalitesi, 3. gün koku, görünüm, kıvam, lezzet yoğunluğu, lezzet kalitesi, 7. gün renk, koku, görünüm, kıvam, lezzet yoğunluğu, lezzet kalitesi değerlerinin ES uygulaması yapılan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha yüksek olduğu gözlenmiş, istatistik açıdan önemlilik olmadığı saptanmıştır ($P>0,05$). Diğer taraftan 1. gün; renk, koku ve görünüm değerlerinde 50 V ES uygulanmış grupla kontrol grubu değerleri arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,05$). 3. gün renk değerinde ise iki farklı voltaj (50 V, 100 V) uygulanmış örneklerde saptanan değerler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmezken, kontrol grubu ile iki farklı voltaj (50 V, 100 V) uygulanmış örneklerde saptanan değerler arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Elde edilen sonuçlar Tablo 5'te verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Çalışmamızda, 0., 3., 6., 12. ve 24. saatlerde yapılan ölçümlerde elde edilen pH değerlerinin ES uygulanan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiş ve daha hızlı bir düşüş seyrinde olduğu gözlemlenmiştir. 100 Volt elektrik stimülasyonu uygulanmış grup 50 volta göre daha düşük düzeyde pH değerine sahip olmuştur. ES uygulaması ile postmortal glikolizis artışı sonucu pH hızlı bir biçimde düşmüştür. Birçok büyük baş ve küçük baş karkasları ile yapılan ES uygulamaları çalışmalarında bulgularımızı destekler nitelikte sonuçlar elde edilmiştir (Kerth ve ark., 1999; Morton ve ark., 1999; Rodbotten ve ark., 2001).

Göransson ve ark. (2002) boğalar üzerinde yaptıkları çalışmada, longissimus dorsi kasındaki pH değerinde postmortem 3. ve 8. saatleri arasında önemli düşüş gözlerken, postmortem 24. saatinde önemli bir fark olmadığı tespit etmişlerdir. Semimembranosus kasındaki pH değerinde ise ES uygulanan ve uygulanmayan grup arasında önemli bir fark olmadığını tespit etmişlerdir.

Benzer şekilde, Eilers ve ark. (1996) da elektrik stimülasyonunu longissimus kasındaki pH düşme oranını artırdığını ve gerilme gücünü düşürdüğünü; incelenen diğer kaslarda ise önemli bir etki göstermediğini saptamışlardır. Nazlı ve ark. (2010) 40 adet sığırla yaptıkları çalışmada, yüksek voltaj elektrik stimülasyonu uygulamasının et kalitesine olan etkilerini araştırmışlardır. Longissimus dorsi ve semimembranosus kaslarına uygulanan 500-800 V elektrik stimülasyonu sonucunda, ES uygulanan kas gruplarında kontrollere nazaran pH değerinde hızlı bir düşüş, renk değerlerinde iyileşme ve duyuşal değerlerde olumlu gelişmeler olduğunu bildirmişlerdir.

50 volt ES uygulanan kas gruplarında elde edilen su tutma kapasitesi değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş, diğer taraftan 100 volt elektrik stimülasyonu uygulanan kas gruplarında elde edilen su tutma kapasitesi değerleri kontrol gruplarına göre daha düşük tespit edilmiştir. İki farklı voltaj (50V, 100V) uygulanmış gruplarda saptanan WHC değerleri arasında ve ES 100 grubu ile kontrol grubu arasında, 3. gün ve 7. gün sonuçlarında istatistik olarak yüksek derecede önemlilik ($P<0,001$) gözlenmişken, bu önemlilik Kontrol grubu ve ES 50 grupları arasında gözlenmemiştir. Elde ettiğimiz bulgulara benzer bulgular Janz ve ark. (2001) ve Strydom ve ark. (2005) tarafından da bulunmuştur.

Hertog-Meischke ve ark. (1997)'nin 16 adet holştayn boğadan elde edilmiş longissimus thoracis ve semimembranosus kaslarını kullandıkları çalışmalarında, hayvanlar eşit sayılarda iki gruba bölünmüş ve bir gruba 15 saniye boyunca 85 volt ES uygulanmıştır. Her iki kas grubunda da su tutma kapasitesi değerleri ES uygulananlarda, uygulanmayanlara nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiştir ve bu oluşumun, myofibriller parçalardaki sarkoplazmik proteinlerin denatürasyonundan kaynaklandığını öne sürmüşlerdir.

Çalışmamızda, ES uygulanan karkas yarımlarında elde edilen parlaklık ve kırmızılık değerleri kontrol gruplarına göre daha yüksek ve sarılık değerleri daha düşük bulunmuştur. Benzer sonuçlar Topçu (2009) tarafından da tespit edilmiştir.

Elkelenboom ve ark. (1985) yüksek ve düşük voltaj uygulamalarının boğa karkaslarının longissimus dorsi kasında, kontrollere nazaran daha kırmızı renge neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Buna karşılık, McKenna ve ark. (2003) 15 adet siğir kullanarak yaptıkları çalışmalarında, renk değerleri yönünden stimüle edilmiş kaslar ile kontroller arasında bir fark bulunmadığını belirtmişlerdir.

Tekstür değerlerinin ES uygulanan gruplarda, uygulanmayanlara nazaran daha düşük olduğu tespit edilmiş ve bu değerler arasındaki fark önemli bulunmuştur. 7. gün değerleri incelendiğinde, 100 volt ES uygulaması yapılan gruplarda bu farklılık daha belirgin bulunmuştur. Elde edilen verilere dayanarak, ES uygulamasının tekstür değerleri üzerinde olumlu etkisi ortaya konmuştur. Taylor ve Martocchia (1995)'de düşük voltaj ve yüksek voltaj post mortem elektrik stimülasyonunun üç grup domuz etinin kalitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Yüksek voltaj uygulaması en gevrek olan eti vermiştir.

Elkelenboom (1987)'ün çalışmasında, kanatmadan hemen sonra ES (85 V, 14 Hz) uygulanan boğa karkaslarının longissimus kasında kesimi takip eden günlerde renk, sarkomer uzunluğu ve tekstür değerleri ölçülmüştür. Sonuçta ES uygulanan karkasların kontrollerden daha gevrek olduğu görülmüştür. Kesimden 24 saat sonra gerilme gücü ES uygulanan karkaslarda 2,6-3,7 kg/cm² iken, stimüle edilmemişlerde 3,3-8,8 kg/cm² arasında bulunmuştur. ES, aynı zamanda etin rengini de iyileştirmiş, daha yüksek L* ve a* değerleri vermiştir.

Duyusal değerlendirmelerden elde edilen bulgular neticesinde hem çiğ hem de pişmiş numuneler için ES'nin olumlu yönde gelişmeler gösterdiği tespit edilmiştir. Çiğ değerler içerisinde özellikle koku kriteri istatistiki yönden yüksek önemde önemlilik göstermiştir ($P<0,05$). Pişmiş değerler göz önünde bulundurulduğunda, istatistiki olarak önemlilik ifade etmemesine karşılık ($P>0,05$), elde edilen değerler ES uygulanan grupların, kontrol grubuna nazaran daha yüksek olduğunu göstermektedir. Konuyla ilgili yapılan birçok çalışmada ES uygulanan etlerde duysal değerlerin olumlu yönde geliştiği bildirilmektedir.

Fronin ve Uijttenboogaart (1988), kesimden sonra ilk 5 dakikada ES uygulanan etlerde sertleşme, 120-240. dakikalar arasında ES uygulanan etlerde yumuşama meydana geldiğini; ES uygulamasından 30 dakika sonra ise et renginde kontrol grubuna kıyasla arzu edilen parlaklığın ve kırmızılığın arttığını bildirmişlerdir. İngiltere'de yapılan ve 72 domuzun kullanıldığı bir çalışmada, kesim sonrası karkaslar 90 saniye boyunca yüksek voltaj elektrik stimülasyonuna (700 V) tabi tutulduktan sonra 1°C'de soğutulmuştur. Longissimus thoracis et lumborum (LTL) ve Semimembranosus (SM) kaslarından renk, tekstür, ve lezzet değerleri ölçülmüştür. Renk ve lezzet yönünden stimülasyon uygulanan grup en yüksek puanları almıştır (Taylor ve ark., 1995).

Yanar ve Yetim (2003), yaşlı koyunlardan elde edilen karkaslara uygulanan elektrik stimülasyonunun bu tür karkasların ticari değeri ve kalitesini yükselterek et endüstrisi için faydalı olabileceği kanaatine varmışlardır. Polidori ve ark. (1999) koyunlarda yaptıkları bir çalışmada ES uygulaması ile et kalite kriterlerinin iyileşmesi bakımından olumlu sonuçlar alındığını belirtmişlerdir. Hwang ve Thompson (2001) siğir karkaslarında yaptıkları çalışmada ES uygulamasının, gevreklik ve sululuk kriterleri üzerinde olumlu gelişmeler sağladığını savunmuşlardır.

Crouse ve ark. (1983) siğir ve boğa karkaslarında yaptıkları bir çalışmada ES uygulaması yapılan örneklerde sululuğun azalması bakımından önemli veriler elde edildiğini belirtmiş, lezzet ve gevreklik kriterlerinde ise ES uygulamasının herhangi bir etkisi olmadığını belirtmişlerdir. Kerth ve ark. (1999) koyun karkaslarıyla yaptıkları çalışmada, elektriksel stimülasyonu uygulamasının duysal özellikler yönünden uygulanmayanlara nazaran önemli bir fark meydana getirmediğini ortaya koymuşlardır.

Sonuç

Sonuç olarak, düşük voltaj elektrik stimülasyonu uygulamalarının longissimus dorsi thoracis kasında kontrol grubuna göre daha çabuk pH düşüşü sağladığı, gevreklik, renk, görünüm, koku ve lezzet parametrelerini daha iyi geliştirdiği gözlenmiştir. Bu olumlu bulgular göz önüne alındığında, ülkemiz et sanayinde yaşanan bir takım sorunların elektrik stimülasyonu uygulamasıyla önlenileceği ve tüketici beklentilerinin karşılanacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Birkhold, S.G., Sams, A.R., 1993. Fragmentation, tenderness and post-mortem metabolism of early harvested broiler breast filets from carcasses treated with electrical stimulation and muscle tensioning. *Poultry Science* 72, 577-582.
2. Carballo, J., Garcia-Matamoros, E., Jimenez Colmenero, F., 1989. Influence of electrical stimulation on lamb quality during frozen storage. *International Journal of Refrigeration* 12, 164-168.
3. Crouse, J.D., Seideman S.C. and Cross H.R., 1983. The effects of carcass electrical stimulation and cooler temprature on the quality and palatability of bull and ster beef. *Journal of animal science*, 56, 81-90.
4. Dutson, T.R., 1983. The measurement of pH in muscle and its importance to meat quality. *Proceedings of 36th Reciprocal Meat Conference of the American Meat Science Association*, Fargo, North Dakota. 12-15 June. American Meat Science Association, Chicago; 92-97.
5. Eikelenboom G., Smulders F.J.M., Ruderus H., 1985. The effect of high and low voltage of electrical stimulation of beef carcass quality. *Meat Science* 15 (4), 247-254.
6. Eikelenboom, G., 1987. The effect of electrical stimulation processing on meat tenderness. *Fleischwirtsch*, 67 (9), 1103-1104.
7. Eilers, J.D., Tatum, J.D., Morgan, J.B., Simith, G.C., 1996. Modification of earl-postmortem muscle pH and use of postmortem aging to improve beef tenderness. *Journal of Animal Science* 74 (4), 790-798.
8. Ferreira, G.B. , Andrade C.L., Costa F., Freitas M.Q., Silva T.J.P., Santos I.F., 2006. Effects of transport time and rest period on quality of electrical stimulated male cattle carcasses. *Meat Science* 74, 459-466.
8. Froning, G.W., Uijttenboogaart, T.G., 1988. Effect of postmortem electrical stimulation on color, texture, pH, cooking losses of hot and cold deboned chicken broiler breast meat. *Poultry Science* 67, 1536-1544.
9. Göransson, A., Flores, M., Josell, A., Ferrer, J.M., Trelis, M.A., Toldra, F., 2002. Effect of electrical stimulation on the activity of muscle exoproteases during beef ageing. *Food Science Technology International*, 8 (5), 285-289.
10. Halil, A., Nazli, B., 2001. Kesim öncesi kasaplık hayvanlara uygulanan elektrikle bayılma metodunun et kalitesine etkisi üzerine araştırmalar. *İstanbul Üniveritesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 27 (2), 585-603.
11. Hertog-Meischke M.J.A., Smulders F.J.M., Logtestijn J.G., Knapen F., 1997. The effect of electrical stimulation on water holding capacity and protein denaturation of two bovine muscles. *Journal of Animal Science* 75, 118-124.
12. Ho, C.Y., Stromer, M.H., Robson, R.M., 1996. Effect of electrical stimulation on postmortem titin, nebulin, desmin, and troponin-T degradation and ultra structural changes in bovine longissimus muscle. *Journal of Animal Science* 74 (7), 1563-1575.
13. Hunt, M.C., Acton, J.C., Benedict, R.C., Calkins, C.R., Cornforth, D.P., Jeremiah, L.E., Olson, D.G., Salm, C.P., Savell, J.W., Shivas, S.D., 1991. AMSA guidelines for meat color evaluation. In E. Schofield (Ed.), *Proceedings of the Forty-Fourth Annual Reciprocal Meat Conference* (pp. 3-17). Manhattan, Kansas: Kansas State University (9-12 July 1991).
14. Hwang, I.H., Devine, C.E., Hopkins, D.L., 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Science* 65, 677-691.
15. Hwang, I.H., Thompson, J.M., 2001. The effect of time and type of electrical stimulation on the calpain system and meat tenderness in beef longissimus dorsi muscle. *Meat Science* 58, 135-144.
16. İnal, T., 1995. Kesim Hayvanı ve Et Muayenesi. Saray Kitabevleri, İstanbul.

17. Janz, J.A.M., Aalhus, J.L., Price, M.A., 2001. Blast chilling and low voltage electrical stimulation influences on bison meat quality. *Meat Science* 57, 403-411.
18. Kahraman, T., Ergun, O., 2009. Effects of electrical stunning and electrical stimulation on Kivircik carcass quality. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine University of Kafkas*, 15 (3): 461-464.
19. Kahraman, T., Nazlı, B., Ergun, O., 2006. Elektrik Stimülasyonunun Et Kalitesi Üzerine Etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 32 (2), 23-30.
20. Kerth, C.R., Cain, T.L., Jackson, S.P., Ramsey, C.B., Miller, M.F., 1999. Electrical stimulation effects on tenderness of five muscles from Hampshire x Rambouillet crossbred lambs with the callipyge phenotype. *Journal of Animal Science* 77, 2951-2955.
21. McKenna, D.R., Maddock, T.D., Savell, J.W., 2003. Water holding and color characteristics of beef electrically stimulated carcasses. *Journal of Muscle Foods* 14, 33-51.
22. Morton, J.D., Bickerstaaffe, R., Kent, M.P., Dransfield, E., Keeley, G.M., 1999. Calpain-calpastatin and toughness in m. longissimus from electrically stimulated lamb and beef carcasses. *Meat Science* 57, 71-79.
23. Nazlı, B., Çetin, Ö., Bingöl, E. B., Kahraman, T., Ergün, Ö., 2010. Effect of high voltage electrical stimulation on meat quality on beef carcasses. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9(3), 556-560.
24. Özdamar, K., 1999. Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. Kaan Kitabevi, Eskişehir.
25. Polidori, P., Lee, S., Kauffman, R.G., Marsh, B.B., 1999. Low voltage electrical stimulation of lamb carcasses: effects on meat quality. *Meat Science* 53, 179-182.
26. Rodbotten, R., Lea, P., Hildrum, K.I., 2001. Relative influence of low-voltage electrical stimulation, chilling rate and ageing time on tenderness of M.longissimus dorsi of Norwegian Cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica Section A, Animal Science* 51, 184-191.
27. Smulders, F.J.M., Laack, R.L.J.M., 1992. Accelerated processing to improve ageing response of meat. In: *New Technologies for meat and meat products*. Eds. P.181-208.
28. Strydom, P.E., Frylinck, L. and Smith, M.F., 2005. Should electrical stimulation be applied when cold shortening is not a risk?. *Meat Science* 4, 733-742.
29. Taylor, A.A., Martoccia, L., 1995. The effect of low voltage electrical stimulation on pork quality. *Meat Science* 39, 319-326.
30. Taylor, A.A., Nute, G.R., Warkup, C.C., 1995. the effect of chilling, electrical stimulation and conditioning on pork eating quality. *Meat Science* 39, 339-347.
31. Topçu, T., 2009. Keçi Karkaslarına uygulanan elektriksel stimülasyonun et kalitesi üzerine etkisi. *İ.Ü. Sağlık Bil. Enst., Yüksek Lisans Tezi*.
32. Vergara, H., Linares, M.B., Berruga, M.I., Gallego, L., 2005. Meat quality in suckling lambs: effect of preslaughter handling. *Meat Science* 69, 473-478.
33. Vural, H., Öztan, A., 1996. Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Kılavuzu. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları (36), Ankara.
34. Yanar, M., Yetim, H., 2003. The effects of electrical stimulation on the sensory and textural quality properties of mutton carcasses. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences* 27, 433-438.

Tablo 1: M. longissimus dorsi thoracis örneklerinde ölçülen pH değerlerinin ortalaması ve standart hataları

pH Değerleri					
Uygulama	0. Saat	3. Saat	6. Saat	12. Saat	24. Saat
KONTROL	6,39 ±0,04 ^a	6,16 ±0,04 ^a	6,03 ±0,05 ^a	5,81 ±0,04 ^a	5,65 ±0,03 ^a
ES 50	6,32 ±0,03 ^a	6,14 ±0,04 ^a	5,99 ±0,05 ^a	5,76 ±0,04 ^a	5,59 ±0,03 ^a
ES 100	6,09 ±0,02 ^b	5,82±0,05 ^b	5,72±0,06 ^b	5,59±0,05 ^b	5,45±0,07 ^b
ORTALAMA	6,29±0,03	6,07±0,24	5,94±0,04	5,74±0,03	5,59±0,03
P	***	***	***	**	**

a,b: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. [(**):p<0,01 (***)p<0,001]

KONTROL: Kontrol grubu, ES: Elektrik Stimülasyonu Uygulaması

Tablo 2:Çiğ kas örneklerinde ölçülen tekstür değerlerinin ortalaması ve standart hataları

Uygulama	1. Gün	3. Gün	7. Gün
KONTROL	13,43±0,37 ^a	12,12±0,38 ^a	11,00±0,39 ^a
ES 50	11,97±0,55 ^b	10,82±0,51 ^b	9,49±0,54 ^a
ES 100	12,00±0,467 ^b	10,74±0,42 ^b	9,29±0,40 ^b
ORTALAMA	12,70±0,278	11,45±0,270	10,19±0,28
P	*	*	*

Tablo 3:Pişmiş kas örneklerinde ölçülen tekstür değerlerinin ortalaması ve standart hataları

Tekstür Değerleri (Pişmiş)			
Uygulama	1. Gün	3. Gün	7. Gün
KONTROL	11,04±0,34 ^a	9,79±0,39 ^a	8,67±0,40 ^a
ES 50	9,89 ±0,48 ^{ab}	8,85±0,53 ^{ab}	7,85 ±0,56 ^{ab}
ES 100	9,23±0,49 ^b	7,97±0,43 ^b	6,59±0,43 ^b
ORTALAMA	10,29±0,28	9,10±0,28	7,94±0,93
P	*	*	*

Tablo 4: Çiğ kas örneklerinde ölçülen duyuşal değęerlerinin ortalaması ve standart hataları

Çiğ Duyusal Analiz Değerleri												
Gün	1. Gün				3. Gün				7. Gün			
Uygulamalar	Renk	Koku	Görünüm	Kıvam	Renk	Koku	Görünüm	Kıvam	Renk	Koku	Görünüm	Kıvam
KONTROL	6,61±0,11	6,69±0,11 ^a	6,58±0,16	6,57±0,10	6,59±0,11 ^b	6,41±0,12 ^b	6,42±0,15	6,57±0,16	6,05±0,11	5,92±0,10 ^b	6,03±0,14	5,88±0,14 ^b
ES 50	6,98±0,08	7,36±0,10 ^a	6,75±0,08	6,92±0,11	7,06±0,17 ^{ab}	6,97±0,10 ^a	6,81±0,13	6,84±0,14	6,49±0,14	6,65±0,09 ^a	6,52±0,08	6,44±0,06 ^a
ES 100	6,76±0,26	6,70±0,20 ^b	6,70±0,34	6,87±0,17	7,11±0,23 ^a	6,79±0,24 ^{ab}	6,55±0,50	6,97±0,30	6,40±0,25	6,25±0,24 ^{ab}	6,36±0,30	6,41±0,26 ^a
ORTALAMA	6,74±0,09	6,86±0,09	6,65±0,11	6,73±0,07	6,84±0,09	6,64±0,09	6,55±0,15	6,74±0,11	6,25±0,09	6,18±0,09	6,24±0,11	6,15±0,10
P	NS	**	NS	NS	*	*	NS	NS	NS	**	NS	*

Tablo 5: Pişmiş kas örneklerinde ölçülen duyuşal değęerlerinin ortalaması ve standart hataları

Çiğ Duyusal Analiz Değerleri												
Gün	1. Gün				3. Gün				7. Gün			
Uygulamalar	Renk	Koku	Görünüm	Kıvam	Renk	Koku	Görünüm	Kıvam	Renk	Koku	Görünüm	Kıvam
KONTROL	6,61±0,11	6,69±0,11 ^b	6,58±0,16	6,57±0,10	6,59±0,11 ^b	6,41±0,12 ^b	6,42±0,15	6,57±0,16	6,05±0,11	5,92±0,10 ^b	6,03±0,14	5,88±0,14 ^b
ES 50	6,98±0,08	7,36±0,10 ^a	6,75±0,08	6,92±0,11	7,06±0,17 ^{ab}	6,97±0,10 ^a	6,81±0,13	6,84±0,14	6,49±0,14	6,65±0,09 ^a	6,52±0,08	6,44±0,06 ^a
ES 100	6,76±0,26	6,70±0,20 ^b	6,70±0,34	6,87±0,17	7,11±0,23 ^a	6,79±0,24 ^{ab}	6,55±0,50	6,97±0,30	6,40±0,25	6,25±0,24 ^{ab}	6,36±0,30	6,41±0,26 ^a
ORTALAMA	6,74±0,09	6,86±0,09	6,65±0,11	6,73±0,07	6,84±0,09	6,64±0,09	6,55±0,15	6,74±0,11	6,25±0,09	6,18±0,09	6,24±0,11	6,15±0,10
P	NS	**	NS	NS	*	*	NS	NS	NS	**	NS	*

KIL KEÇİSİ SÜTÜNDE SOMATİK HÜCRE SAYISI İLE TOPLAM MEZOFİLİK AEROB BAKTERİ VE BAZI YETİŞTİRİCİLİK ÖZELLİKLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Sunum Tipi: Poster

**BAHRİ PATIR, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, FIRAT ÜNİVERSİTESİ
NİHAT YILDIZ, ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI, FIRAT ÜNİVERSİTESİ
GÖKHAN KÜRŞAD İNCİLİ, GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ BÖLÜMÜ, FIRAT
ÜNİVERSİTESİ
MURAD GÜRSER, GENETİK ANABİLİM DALI, FIRAT ÜNİVERSİTESİ**

Özet

Bu çalışmada, kıl keçisi sütlerindeki somatik hücre sayısı ile toplam mezofilik aerob bakteri ve bazı yetiştiricilik özellikleri arasındaki ilişki araştırıldı. Bu amaçla, yaş ve laktasyon sayısı belirlenen keçilerden elde edilen 37 adet çiğ süt örneğinde somatik hücre sayıları standart analiz yöntemiyle (mikroskopik sayım) saptandı. Sütlerin, mikrobiyolojik analizinde toplam mezofilik aerob bakteri, koliform, E.coli ve Staphylococcus-Micrococcus sayıları belirlendi.

İncelenen çiğ süt örneklerindeki somatik hücre sayısı en az 4,89 log₁₀ hücre/ml, en çok 5,69 log₁₀ hücre/ml, ortalama 5,47 + 4,90 log₁₀ hücre/ml düzeyinde bulundu. Örneklerin 36 tanesinde (% 97,3) somatik hücre sayısının 100.000 hücre/ml' den fazla olduğu belirlendi. Yine, 6 örnekte (% 16,22) somatik hücre sayısının, 100.000-250.000 hücre/ml arasında, 30 tanesinde (%81,08) 250.000-500.000 hücre/ml arasında olduğu ve hiçbir örneğin 500.000 hücre/ml' den fazla somatik hücre içermediği görüldü.

İncelenen örneklerde ortalama toplam mezofilik aerob sayısı 8,33 log₁₀ kob/ml, koliform grup 6,28 log₁₀ kob/ml, Staphylococcus-Micrococcus 2,61 log₁₀ kob/ml miktarlarında saptandı. Örneklerin yalnızca 2 tanesinde (% 5,4) Escherichia coli' nin varlığı tespit edildi.

Somatik hücre sayısı ile toplam mezofilik aerob bakteri, yaş ve laktasyon sayısı arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p>0,05$).

Sonuç olarak, çiğ keçi sütlerinde somatik hücre sayılarının nispeten yüksek olduğu, dolayısıyla sütün elde edilmesinde hijyenik şartlara yeterince uyulmadığı, ya da hayvanlarda meme sağlığı ile ilgili sorunların olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: Çiğ keçi sütü, Somatik hücre, Yaş, Laktasyon sayısı, Mikrobiyolojik

CORRELATION BETWEEN SOMATIC CELL COUNT AND TOTAL MESOPHILIC AEROBIC BACTERIA COUNTS, SOME BREEDING ATTRIBUTES IN HAIR GOAT'S MILK

Abstract:

In this study, the correlation between somatic cell counts and total mesophilic aerobic bacteria counts, some breeding attributes in milk of hair goats were investigated. For this purpose, a total of 37 raw milk samples obtained from hair goats, which were determined their age and number of lactation, were analyzed by direct microscopic technique for determining somatic cell count. For microbiological analyses in milks, counts of total mesophilic aerobic bacteria, coliforms, E. coli and Staphylococcus-Micrococcus were determined.

The minimum, maximum and average somatic cell counts in samples were found to be 4.89 log₁₀ cell/ml, 5.69 log₁₀ cell/ml and 5.47 + 4.90 log₁₀ cell/ml, respectively. In 36 samples (97.3%), somatic cell count was greater than 100.000 cell/ml. In six samples (16.22%), somatic cell count was between 100.000- 250.000 cell/ml, in 30 samples (81.08%) was between 250.000-500.000 cell/ml, and no samples were found to be included somatic cells more than 500.000 cell/ml. The average counts of total mesophilic aerobic bacteria, coliforms and Staphylococcus-Micrococcus were determined as 8,33 log₁₀ cfu/ml, 6.28 log₁₀ cfu/ml, 2.61 log₁₀ cfu/ml, respectively. E. coli was found only in two of the samples (5.4%). Statistically, correlation between somatic cell counts and counts of total mesophilic aerobic bacteria, age, number of lactation were not found significant (p>0.05).

As a result, it is speculated that somatic cell count is relatively high in goat milk because of maybe unhygienic milking procedures, or animals may have problems related to breast health.

Key words: Raw goat milk, Somatic cell, Age, Number of lactation, Microbiological

Giriş

Somatik hücre sayısı (SHS), sütün kalitesinin belirlenmesinde önemli bir kriterdir. Somatik hücre sayısının kabul edilebilir sınırların üzerinde olması, insan sağlığı açısından önemli riskler oluşturabildiği gibi, sütün miktarında azalmalarla birlikte (28), süt ürünlerinin üretiminde kaliteye yönelik olarak istenmeyen bazı hatalara da neden olmaktadır (26,32). Diğer taraftan çiğ sütteki somatik hücre sayısı, hayvanın meme sağlığının bir göstergesi olması özelliğini de taşımaktadır. Özellikle memede meydana gelecek klinik veya subklinik mastitis vakalarında, bahsedilen hücrelerin çiğ süt içeriğindeki sayılarının arttığı da bildirilmektedir (4, 8, 21). Mastitis sonucu sütte artan SHS ile süt verim düzeyi arasında negatif bir ilişki olduğu çoğu araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (11,22,37).

Keçi sütlerinin içerdiği somatik hücre miktarının genellikle inek sütüne oranla daha fazla olduğu, geç laktasyon döneminde sağlıklı süt keçilerinde bile 1 ml sütte 1.000.000 adetten fazla somatik hücreye rastlandığı bildirilmektedir (4,6,15,30,39). Amerika Birleşik Devletleri, ticari standart olarak keçi sütlerindeki azami somatik hücre miktarını 1.000.000/ml olarak kabul etmektedir (2,12). Ülkemizde ise keçi sütlerine ait bir sınır olmamakla birlikte, Türk Gıda Kodeksi "Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş Sütler Tebliği (2000/6)" ne göre, ısıl işlem görmüş içme sütü, süt ürünleri ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılacak çiğ inek sütlerinin ml' sinde 100.000' den az toplam bakteri ve 500.000' den az SHS içermesi zorunlu kılınmıştır (35).

Sütte bulunan somatik hücreler; epitel hücreler, büyük squomoz hücreler, epitel hücre döküntüleri ve nükleussuz hücreler, alyuvarlar (eritrosit), plazma hücreleri, kolostrum korpuskülleri ve lökositler' den ibarettir. Yüksek SHS; ineğin yaşı, laktasyon evresi, stres, mevsim, beslenme ve mastitis gibi faktörlere bağlıdır (4, 8, 21, 33).

Keçi yetiştiriciliği Türkiye'de özellikle son yıllarda önem kazanmaya başlamıştır. Türkiye'de yaklaşık 5,6 milyon baş keçi bulunmakta, bunun da % 97' sini kıl keçisi (karakеçi) oluşturmaktadır. Ege, Akdeniz sahil kesimi, Marmara Bölgesi, Güneydoğu, Doğu ve İç Anadolu Bölgesinde süt, et ve kılı için yetiştirilir. Keçi sütünün kendine özgü tadı, bazı özelliklerinin bulunması ve ürünlere işlemede, tüketimdeki kullanım alanının geniş olması nedeniyle onu değerli kılmaktadır (16, 23).

Süt iyi bir besi ortamı olduğundan birçok mikroorganizma süt içerisinde yaşayıp çoğalabilmektedir. Yapılan araştırmalarda (5,13,25,37) keçi sütünde daha çok;

Staphylococcus aureus, koagülaz negatif *Staphylococcus*, koagülaz pozitif *Staphylococcus*, *Corynebacterium* spp., *Mycoplasma* spp. ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin olduğu gözlemlenmiştir. Bu bakterilerin en önemli özelliği, besin ortamına adapte olduktan sonra çok çabuk şekilde bölünerek çoğalmalarıdır. Memede etkili olan bu bakteriler somatik hücre sayısını hızlı şekilde artırırlar (13).

Bu araştırma, kıl keçisi sütünde somatik hücre sayısını belirlemek, somatik hücre sayısı ile toplam mezofilik aerob bakteri, yaş ve laktasyon sayısı arasındaki ilişkiyi saptamak, üretilen sütlerin hijyenik kalitelerini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Hayvan Materyali: Bu çalışmada, özel bir keçi işletmesinde yetiştirilen ve yaşları 2 ile 6, laktasyon sayıları 1 ile 5 arasında değişen toplam 37 baş Kıl keçisi kullanıldı.

Çiğ süt örnekleri: Çiğ keçi sütü örnekleri 01-31 Mayıs 2011 tarihleri arasında alındı. Steril tüpler içerisine usulüne uygun olarak alınan örnekler, soğuk ortamda muhafaza edildi ve en kısa sürede laboratuvara getirildi. Laboratuvarda analizleri yapıncaya kadar $4 \pm 10^\circ\text{C}$ 'de saklandı.

Metot

Somatik Hücre Sayısının Belirlenmesi: Çiğ inek sütlerinde somatik hücre sayımında IDF'nin (19) belirttiği metot uygulandı.

Şablon Lamin Hazırlanması: Milimetrik kağıt kullanılarak şablon hazırlandı. Bunun için kağıttan 5x20 mm kesildi ve sayımda kullanılacak lamin altına yapıştırıldı. Böylece lamin üzerinde belirtilen ebatlarda saha belirlendi (19).

Preparatların Hazırlanması: Çiğ süt örnekleri oda sıcaklığına getirildikten sonra, tüpler çalkalandı ve otomatik mikro pipetle 0.01 ml (10 µl) alındı. Önceden hazırlanmış şablon yardımıyla lamda belirlenen 5 x 20 mm² alana yayıldı ve lamlar 37 °C'lik etüvde kurutuldu. Sonra, örneklerin üzerine metilen mavisi ile hazırlanmış boya çözeltisi dökülerek 10 dakika bekletildi. Daha sonra boyanın fazlası döküldü ve yine etüvde kurutuldu. Kurutulan preparat bir beherde bulunan su içerisine daldırılarak boyası giderildi ve tekrar aynı derecede kurutuldu. Böylece preparat mikroskopta sayım için hazır hale getirildi (19).

Mikroskopta Sayım: Mikroskopta 40x12 büyütme ile sayım gerçekleştirildi. Sayım işlemi lamda rast gele seçilmiş 50 sahada yapıldı ve buradan 1 ml'deki SHS hesaplandı. Her örnekten iki sayım yapılarak ortalaması alındı (19).

Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizler için, süt örneklerinden 10 ml alındı ve üzerine steril buffered pepton water çözeltisinden 90 ml ilave edilerek homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10-1'lik (1/10) dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan, aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin 10-8'e kadar diğer seyreltileri yapıldı. Örnekten ve her seyreltiden 1'er ml kullanılarak çift seri halinde plak dökme metoduyla ekimleri yapıldı ve inkübasyon süresi sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi (1).

Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizmaların Sayımı: Bu grup mikroorganizmaların sayımı için Plate Count Agar (PCA) (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Plaklar 30±10°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayıldı (14,18).

Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı: Koliform grubu mikroorganizmaların sayımında Violet Red Bile Agar (VRBA) (LAB, Kod No: 31) kullanıldı. Ekimi yapılan plaklar $37\pm 10^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan koloniler sayıldı (14).

Escherichia coli' nin Saptanması: Örneklerde Escherichia coli bakterilerinin varlığını saptamak için, Tryptone Bile X-glucuronide (TBX) (Merck, Kod No: 1.16122.0500) Agar besiyeri kullanıldı. Ekim yapılan plaklar $37\pm 10^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda oluşan mavi-yeşil koloniler E. coli olarak değerlendirildi (27).

Staphylococcus Sayımı: Bu mikroorganizmaların sayımında Balrd Parker Agar Base (Merck, 1.05406) besiyeri ve supplement (Egg Yolk Tellurite Emulsion % 20, Merck, 1.03785) kullanıldı. Yayma yöntemi ile ekim yapılan Plaklar $37\pm 10^{\circ}\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra siyah, parlak konveks koloniler değerlendirildi (27).

İstatistik Analiz: Verilerin analizinde, öncelikle normallik testi (Kolmogorov-Smirnov) uygulanmış, Kolmogorov-Smirnov testi sonucuna göre önemlilik düzeyi 0,05'den küçük ($p<0,05$) bulunduğundan verilerin normal dağılım göstermediği sonucuna varılmış ve bu nedenle istatistiksel karşılaştırmalarda non parametrik testler kullanılmıştır. Somatik Hücre sayıları ile bakteri ve yetiştiricilik özellikleri arasındaki ilişki Spearman Korelasyon Analizi ile belirlenmiştir. İstatistiksel analizler IBM SPSS 19 paket programı ile gerçekleştirilmiştir (34).

BULGULAR

İncelenen toplam 37 adet çiğ keçi sütü örneklerindeki somatik hücrelerin mikroskopik görünüşleri Şekil 1' de, somatik hücre sayıları Tablo 1 ve 2'de, mikrobiyolojik analiz bulguları Tablo 3 ve 4' de, istatistik sonuçları ise Tablo 5' de gösterilmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, bölgemizdeki bir işletmeden yaş ve laktasyon sayısı belirlenen kıl keçilerinden alınan toplam 37 adet çiğ sütte standart analiz yöntemi (mikroskopik sayım) ile somatik hücre sayısı ve toplam mezofilik aerob, koliform, E.coli ve Staphylococcus-Micrococcus sayıları saptandı.

İncelenen çiğ süt örneklerinde somatik hücre sayısı en az $4,89 \log_{10}$ hücre/ml, en çok $5,69 \log_{10}$ hücre/ml, ortalama $5,47 + 4,90 \log_{10}$ hücre/ml düzeyinde bulundu (Tablo 1). Somatik hücre sayısının fazla çıkması inek sütü için memede daha çok bir enfeksiyonun olduğunu göstermekte ve süt kalitesindeki kaybı ifade etmektedir (24). Keçi sütlerinde somatik hücre sayısı inek sütünden farklı olarak değerlendirilmektedir. Amerika da keçi sütü için $1.000.000$ hücre/ml somatik hücre sayısı limiti verilmesine karşın, Avrupa Birliği ülkelerinde keçi sütü için kabul edilebilir somatik hücre sayısı açıkça belirtilmemiştir. Amerika'da meme sağlığının ve süt kalitesinin somatik hücre sayısı ile çok da ilişkili olmadığına dair söylemlerin yanında, başka alternatif ilişkiler bildirilmiştir (29). Bu konuda yapılan çalışmalarda farklı bulgular elde edilmiştir. Şöyleki; Erdoğan ve Batu (1980), Türkiye'nin çeşitli illerinden topladıkları 405 adet Kıl ve Malta keçisi sütlerinde somatik hücre sayısını en az 600.000 hücre/ml, en fazla $9.000.000$ hücre/ml olarak saptamışlardır. Araştırmacılar, söz konusu hayvanların % 16,1'inin mastitisli olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, bakteriyolojik analiz sonuçlarının bunlarla uyumlu sonuç vermediğini bildirmişlerdir. Vihan (1989) ise, Hindistan'da iki ayı keçi sürüsünden elde ettiği 381 çiğ süt örneğinin ortalama 330.000 hücre/ml somatik hücreye sahip olduğunu,

% 8'inde koagülaz negatif *Staphylococcus* bakterisinin olduğunu ve bu bakterilerin 5.295.000 hücre/ml somatik hücreye neden olduğu, ayrıca % 3'ünde koagülaz pozitif *Staphylococcus* bakterisinin olduğu ve bu bakterilerin de 990.000 hücre/ml somatik hücreye neden olduğu, % 2'sinin *Mycoplasma* bakterisi içerdiği ve bunun da 1.830.000 hücre/ml somatik hücreye neden olduğunu saptamıştır. Yine yapılan bazı araştırmalarda (6, 15,30,39), keçi sütlerinin içerdiği somatik hücre sayısının genellikle inek sütüne oranla daha fazla olduğu, geç laktasyon döneminde sağlıklı süt keçilerinde bile 1 ml sütte 1.000.000 adetten fazla somatik hücreye rastlandığını bildirmişlerdir. Zeng (1996) de, keçi sütünde somatik hücre sayısını fossomatik yöntemle belirlemiştir. Araştırmada, inek sütüne göre kalibre edilmiş fossomatik yöntemde somatik hücre sayısı 700.000 hücre/ml bulunurken, keçi sütüne göre kalibre edilmiş fossomatik yöntemde somatik hücre sayısının 550.000 hücre/ml olduğu görülmüştür. Bu çalışmamızda incelenen 37 adet çiğ süt örneğinin % 81,08' inde (30 örnek) SHS 250.000-500.000 hücre/ml arasında tespit edilmiştir. Hiçbir örnekte somatik hücre sayısı 500.000 hücre/ml' den fazla bulunmamıştır (Tablo 2). Bu sonuç, bazı araştırmacıların (36) bulguları ile uyum gösterirken, diğer araştırmacıların (6, 7, 15, 30, 39) bulgularından oldukça düşüktür. Yine, farklı illerden (Elazığ, Samsun, Malatya, Şanlıurfa ve Erzurum) elde ettiğimiz çiğ inek sütlerinde saptadığımız somatik hücre sayısından (6,04 - 6,83 log₁₀ hücre/ml) nispeten düşüktür (31). Bu durum, bu araştırmada incelenen sütlerin yalnızca bir işletmeden elde edilmesiyle açıklanabilir.

Örneklerde, toplam mezofilik aerob mikroorganizmaların sayısı en az 3,60 log₁₀ kob/ml, en çok 9,83 log₁₀ kob/ml, ortalama 8,33 ± 9,049 log₁₀ kob/ml düzeyinde bulundu (Tablo 3). Örneklerdeki toplam mezofilik aerob mikroorganizmalarına ait standart sapmanın, elde edilen ortalamadan daha büyük değerde bulunması, örnekler arasındaki dağılımın çok yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayılarının 37 çiğ süt örneğindeki dağılımına bakıldığında; örneklerin 17 tanesinde (% 45,9) mikroorganizma sayısının 1,0x10³ kob/ml ile 9,9x10⁵ kob/ml arasında olduğu ve 25 örneğin de (% 67,6) >1,0x10⁵ kob/ml' den fazla mikroorganizma içerdiği görülmektedir (Tablo 4). Belirlenen bu değerler göz önüne alındığında, örneklerdeki mezofilik aerob mikroorganizma sayılarının nispeten yüksek olduğu ve önemli bir kısmının (% 67,6) Türk Gıda Kodeksi "Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş Sütler Tebliği (2000/6)' ne (35) uymadığı söylenebilir.

Koliform grubu mikroorganizma sayısının en az <0 log₁₀ kob/ml, en çok 7,66 log₁₀ kob/ml, ortalama 6,28 ± 6,895 log₁₀ kob/ml değerlerinde tespit edildi. Örnekler arasında, koliform grubu bakteri sayısı bakımından önemli farkların olduğu görüldü (Tablo 3). Bu grup bakterilerin örneklerin 18 tanesinde (% 48,6) <0,1x10¹ kob/ml' den az, 13 tanesinde (% 35,1) 1,0x10² kob /ml ile 9,9x10⁵ kob/ml arasında, 6 örnekte de (%16,2) >1,0x10⁶ kob/ml' den fazla olduğu saptandı. İncelenen 37 adet örneğin 2 tanesinin (% 5,4) *Escherichia coli* içerdiği tespit edildi (Tablo 4). Koliform grubu bakterilerin gıdada yüksek miktarlarda saptanması; hijyen koşullarının yetersiz olduğunu gösterir. Bilindiği gibi, koliform grubu bakterilerden olan *Escherichia coli*, insan ve hayvanların bağırsaklarında yaşar ve varlığı ürünün doğrudan ya da dolaylı olarak gaita ile bulaştığını gösterir. Ayrıca üründe bağırsak kökenli olan *Salmonella* ve *Shigella* gibi patojenlerin de bulunabileceği ihtimalini de ortaya koyar (3, 17, 20).

Staphylococcus' ların insan ya da hayvan kaynaklı oldukları bilinmektedir. Gıdada yüksek sayıda bulunmaları yine sanitasyon işlemlerinin yetersizliğini gösterir. *Micrococcus*' lar ise toz, toprak, su, insan ve hayvanların derilerinde bulunurlar ve bozulmada önemli rol oynarlar. (3, 10, 20). Bu araştırmada, *Staphylococcus-Micrococcus* mikroorganizma sayısının en az <0 log₁₀ kob/ml, en çok 3,64 log₁₀ kob/ml, ortalama 2,61 ± 3,044 log₁₀ kob/ml olduğu tespit edildi. Yine, *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları bakımından da ferdi değerler arasında önemli farkın bulunduğu görüldü (Tablo 3). *Staphylococcus-Micrococcus* mikroorganizmaları, örneklerin 26 tanesinde (% 70,3)

<0,1x10¹ kob/ml' den az, 11 tanesinde (% 29,7) 1,0x10² - 9,9x10³ kob/ml arasında bulundu (Tablo 4). Benzer olarak, bu konuda yapılan bir çalışmada (25), incelenen keçi memelerinin % 2'sinin *S. aureus*, % 23'nün ise koagülaz negatif *Staphylococcus* ile enfekte olduğu saptanmıştır. Yine, Contreras et al. (1996), 188 İspanyol Murciano-Granadina keçisinde, memenin % 18 oranında enfekte olduğunu saptamışlardır. Bu oran içinde % 70 koagülaz negatif *Staphylococcus*, % 1 koagülaz pozitif *Staphylococcus*, % 12 *Corynebacterium* spp., % 9 *Mycoplasma* spp. ve % 8 *Enterobacteriaceae* içerdiği belirtilmiştir. Cedden et al., (2002) ise, farklı laktasyon sırasındaki ak keçilerde (Saanen x Kilis) laktasyonun son dönemine ait sütteki somatik hücre değerlerini ortaya koymak; süt verimi, yaş ve bazı meme özellikleri ile olan ilişkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, laktasyon sayısı ile SHS değerleri arasındaki fark önemsiz bulunurken, yaşla SHS değerleri arasındaki korelasyon 0,466 olarak tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Araştırmada, en yüksek SHS değeri 3. laktasyondaki keçilerin sütlerinde bulunurken, meme ölçüleri ile SHS arasında önemli bir ilişki bulunmadığı saptanmıştır. Fahr et al. (1999) da, keçi sütünün somatik hücre değerleri hayvan yaşı ya da laktasyon sayısının artışına paralel olarak ml' de 1.000.000'un birkaç katı olabileceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmalarda (4,9) elde edilen bulgular, bizim tespit ettiğimiz sonuçlardan farklıdır. Bu durumun, farklı materyal ile farklı çevre ve bakım-besleme şartlarından kaynaklandığı söylenebilir.

Yapılan istatistiksel analizde, somatik hücre sayıları ile toplam mezofilik bakteriler ve yetiştiricilik özellikleri arasındaki ilişki önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$) (Tablo 5).

Sonuç olarak, Dünya'da çiğ sütün kalitesinin belirlenmesinde önemli bir kriter olarak değerlendirilen SHS ile ilgili bulgular göz önüne alındığında, özellikle insan sağlığı başta olmak üzere, süt veriminden kaynaklanan ekonomik kayıpların önlenmesi için hijyen kurallarına daha fazla dikkat edilmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

1. American Public Health Association. Standards Methods for the Examination of Dairy Products. 13 th. Ed. American Public Health Association, New York, (1974).
2. Atherton H.V. (1992). Using somatic cell and antibiotic tests for determining the quality of goat milk. In: Proceedings, National Symposium on Dairy Goat Production and Marketing, T. A. Gipson et al. Langston Univ. Oklahoma, 128-135.
3. Banwart, G.J. Basic Food Microbiology. 1. Food Microbiology. Second Edition. Avi Book Published by Van Nostrand Reinhold. New York, (1989).
4. Cedden F, Kor A ve Keskin S. (2002). Laktasyonun geç döneminde keçi sütünde somatik hücre sayımı; yaş, süt verimi ve bazı meme özellikleri ile olan ilişkileri. Yüzüncü Yıl Üniv., Ziraat Fak., Tarım Bilimleri Derg., (J Agric Sci), 12 (2): 63-67.
5. Contreras A., Sierra D., Corrales J.C., Sanchez A. And Marco J. (1996). Physiological threshold of somatic cell count and California mastitis test for diagnosis of caprine subclinical mastitis. Small Rumin. Res. 21, 259-264.
6. Droke E.A., Paape M.J. and Di Carlo A.L. (1993). Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk. J. Dairy Sci., 76: 1035-1039.
7. Erdoğan I. ve Batu E. (1980). Keçi mastitislerinin teşhisinde CMT ve bakteriyolojik yoklamalar ile somatik hücre sayımı yöntemlerinin karşılaştırılması üzerinde bir araştırma. Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Enst. Derg., 12 (2), 5-16.

8. Eydurani E, Özdemir T, Yazgan K ve Keskin S. (2005). Siyah Alaca inek sütündeki somatik hücre sayısına laktasyon sırası ve dönemin etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniv., Vet. Fak. Derg.*, 16(1): 61-65.
9. Fahr R.D., Schulz J., Finn G., Von Lengerken G. and Walther R. (1999). Cell count and differential cell count in goat milk-variability and influencing factors. *Abstract- Medline*, (27): 2, 99-106.
10. Gökten, D. Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi-Et Mikrobiyolojisi, Cilt I., Ege Üniv., Basımevi, Bornova, İzmir, (1990).
11. Göncü S. ve Özkütük K. İnek Sütü Somatik Hücre Varlığı ve Türkiye Süt Sığırcılığı ile Sağlıklı Süt Üretimi Açısından Önemli. Uludağ Üniversitesi, I. Ulusal Zooteknik Bilim Kongresi, Bursa, (1998).
12. Haenlein G.F.W. (1987). Cow and goat milk are not the same-especially in somatic cell content. *Dairy Goat Journal*, 65, 806.
13. Haenlein G.F.W. (2002). Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity. *Small Ruminant Research*, 45, 163-178.
14. Harrigan WF. *Laboratory Methods in Food Microbiology*. 3 rd ed. Academic Press. London, (1998).
15. Hinckley L.S. (1990). Revision of the somatic cell count standart for goat milk. *Dairy Food and Environmental Sanitation*, 10, 548-549.
16. <http://www.veteriner.cc/keci/kil.asp>
17. International Commission on Microbiological Specifications for Foods.: Micro-organisms in Foods - 1. Their Significance and Methods of Enumeration. Second Ed., University of Toronto Press, Toronto, (1978).
18. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Micro-organisms in Foods - 2. Sampling for Microbiological Analysis. 2nd Edition. University of Toronto Press, Toronto, (1986).
19. International Dairy Federation (IDF). Recommended Methods for Somatic Cell Counts in Milk. Doc. No. 168, IDF, Belgium, (1984) pp: 15-30.
20. Jay J.M. *Modern Food Microbiology*. 5th Ed., Chapman and Hall, Dep. BC, 115 Fifth Avenue, New York, (1996).
21. Jones GM., Pearson RE., Clabaugh Gaand and Heald CM. (1984). Relationship between somatic cell counts and milk production. *J Dairy Sci*, 67: 1823-1831.
22. Jones G.M. Qualifying Milk Under Reduced Somatic Cell Count Limit., Dairy Pipeline, Virginia Cooperative Extension, (1999).
23. Kaymakçı M. ve Aşkın Y. Keçi Yetiştiriciliği. Bornova, (1997), 291s.
24. Kesenkas H., Kınık Ö., Akbulut N. ve Uysal H. Somatik Hücre Sayısı ve Çiğ Süt Kalitesi, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 22-23 Mayıs, (2000), Tekirdağ.

25. Lerondelle C., Richard Y. and Issartial J. (1992). Factors affecting somatic cell counts in goat milk. *Small Rumin. Res.*, 8, 129-139.
26. Manlongat N, Yang TJ, Hinckley LS, Bendel RB and Krider HM. (1998). Physiologic-chemo attractant induced migration of polymorphonuclearleukocytes in milk. *Abstract-Medline*,375-381.
27. Merck. Merck Mikrobiyoloji El Kitabı (Hızlı Erişim). Editörler: A.K.Halkman ve Ö.Etiz Sağdaş, Arkadaş Matbaacılık, Ankara (2010), 234 s.
28. Moniello G, Pinna W, Pani R, DE Santis EPL, Mazzetta R and Lai G. Improvement of Sheep Milk Quality in Extensive System of Mediterranean Areas: Practical Approach in Field to Reduce the Somatic Cell Content of Bulk Milk. 47 th Annual Meeting of the European Assoc. For Animal Prod. Lillehammer, Norway, (1996).
29. Paape M.J. Situation regarding the legal limit for somatic cell counts for goats in the United States. 7th International Conference on Goats, France, 15-21 May, (2000).
30. Park Y.W.(1991). Interrelationships between somatic cell counts, electrical conductivity, bacteria counts, percent fat and protein in goat milk. *Small Rumin. Res.*,5, 367- 375,
31. Patır B., Can Ö.P. ve Gürses M. (2010). Farklı illerden toplanan çiğ inek sütlerinde somatik hücre sayıları.Fırat Üniv.,Sağ.Bil.Vet.Derg., 24 (2): 87 – 91.
32. Randolph H.,Erwin R.E. and Richter R.L. (1971). Influence of Mastitis on Properties of Milk VII-Distribution of Milk Proteins. *J. Dairy Sci.*, 57 (1): 15-18.
33. Raubertas R, Shook GE.(1982). Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. *J. Dairy Sci*; 65: 419-425.
34. SPSS, IBM-SPSS. Statistics Software (IBM SPSS Statistics Version 19. SPSS Inc., an IBM Company Headquarters, Chicago, Illinois, USA, (2010).
35. Türk Gıda Kodeksi. Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Resmi Gazete. 14.02.2000/23964, Tebliğ No:2000-6, (2000).
36. Vihan V.S., (1989). determination of NAGase activity in milk for diagnosis of subclinical caprine mastitis. *Small Rumin. Res.*, 16, 165-169.
37. Yalçın C.,Cevger Y., Uysal G., Türkyılmaz, K. İneklerde SubklinikMastitisin Süt Verimine Etkisinin ve Verimi Etkileyen Diğer Faktörlerle Etkileşiminin Kantitatif Metodlarla Tahmini. IV.Ulusal Mikrobiyoloji Kongresi 26-28 Eylül, (2000).
38. Zeng S.S. (1996). Comparison of goat milk standards with cow milk standards for analyses of somatic cell count, fat and protein in goat milk. *Small Ruminant Research*, 21, 221-225.
39. Zeng S.S. and Escobar E.N. (1995). Effect of parity and milk production on somatic cell count, standart plate count and composition of goat milk. *Small Rumin.Res.*,17: 269-274.

Tablo 1. Çiğ Keçi Sütü Örneklerinde Tespit edilen Somatik Hücre Sayıları (Log10 hücre/ml).

Analiz	Ortalama ($\bar{X} \pm S_x$)	En az	En çok
Somatik Hücre	5,47 $\pm$ 4,90	4.89	5.69

Tablo 2. Çiğ Keçi Sütü Örneklerinde Somatik Hücre Sayılarının Dağılımı.

Analiz	Örnek sayısı	< 100.000 (sayı/ml)	100.000 – 250.000 (sayı/ml)	250.000 – 500.000 (sayı/ml)	> 500.000 (sayı/ml)
Somatik Hücre	37	1 (2,70)	6 (16,22)	30 (81,08)	- (0,00)

() : İçindekî rakamlar yüzdeyi göstermektedir.

Tablo 3. Çiğ Keçi Sütü Örneklerinde Mikrobiyolojik Analiz Bulguları (log10 kob/ml).

Mikroorganizma	Ortalama ($\bar{X} \pm S_x$)	En az	En çok
Toplam Mezofilik Aerob	8,33 $\pm$ 9,049	3,60	9,83
Koliform	6,28 $\pm$ 6,895	-	7,66
<i>E.coli</i>	2,34 $\pm$ 3,119	-	3,90
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	2,61 $\pm$ 3,044	-	3,64

Tablo 4. Çiğ Keçi Sütü Örneklerinde Genel ve Özel Mikroorganizma Gruplarının Dağılımı

Mikroorganizma	<0,1x10 ¹ kob/ml		0,1x10 ¹ - 0,9x10 ¹ kob/ml		1,0x10 ¹ - 9,9x10 ¹ kob/ml		1,0x10 ² - 9,9x10 ² kob/ml		1,0x10 ³ - 9,9x10 ³ kob/ml		1,0x10 ⁴ - 9,9x10 ⁴ kob/ml		1,0x10 ⁵ - 9,9x10 ⁵ kob/ml		>1,0x10 ⁶ kob/ml	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Toplam Mezofilik Aerob	-	-	-	-	-	-	-	-	8	21,6	4	10,8	5	13,5	20	54,1
Koliform	18	48,6	-	-	-	-	4	10,8	4	10,8	3	8,1	2	5,4	6	16,2
<i>E.coli</i>	35	94,6	-	-	1	2,7	-	-	1	2,7	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	26	70,3	-	-	-	-	7	18,9	4	10,8	-	-	-	-	-	-

Tablo 5. Çiğ Keçi Sütü Örneklerinde Somatik Hücre Sayısı ile Toplam Mezofilik Aerob ve Yetiştiricilik Özellikleri Arasındaki İlişki.

Özellik	n	Somatik Hücre		Toplam Mezofilik Aerob	
		Spearman's rho	Sig. (2-tailed)	Spearman's rho	Sig. (2-tailed)
Yaş	37	0,196	0,246	-	-
Laktasyon Sayısı	37	0,188	0,266	-	-
Somatik Hücre	37	-	-	- 0,038	0,821



Şekil 1. Somatik Hücrelerin Mikroskopik Görünümü

Bildiri No: 133

Kategori: Genel

CLOSTRİDİUM DİFFİCİLE: YENİ BİR GIDA KAYNAKLI PATOJEN Mİ?

Sunum Tipi: Poster

**Kamuran AYHAN, Gıda Mühendisliği, Ankara Üniversitesi
Serap COŞANSU, Gıda Mühendisliği, Sakarya Üniversitesi**

Özet

Clostridium difficile Gram-pozitif, spor oluşturan, anaerob bir bakteridir. İlk kez 1970'li yıllarda antibiyotik kullanımına bağlı ishal ve pseudomembranöz kolit görülen hastalarda tanımlanmıştır. Antibiyotik kullanımına bağlı *C. difficile* enfeksiyonu, antibiyotik kullanımı sonucunda bağırsaktaki doğal floranın zarar görmesi ve ortamın *C. difficile* sporlarının çimlenmesi için uygun hale gelmesi ile başlar. Bağırsakta sporlar çimlendikten sonra oluşan vejetatif hücreler hızla çoğalır ve toksin üretirler. *C. difficile* enfeksiyonunda klinik tablo kendiliğinden iyileşen hafif ishalden pseudomembranöz kolit, toksik megakolon ve/veya intestinal perforasyon gibi hayati tehlike arz eden hastalıklara kadar değişkenlik gösterir.

C. difficile'ye bağlı ishaller genellikle hastane kaynaklı olmakla birlikte son yıllarda toplum kaynaklı vak'alar artmakta ve özellikle yaşlılarda görülmekte iken daha genç yaş gruplarında da gözlenmektedir. *C. difficile* enfeksiyonlarındaki artışın ve hastalığın daha ciddi seyretmesinin nedenleri konusunda ortaya atılan teorilerden birine göre, koyun, keçi, siğir, tavuk gibi çiftlik hayvanlarında *C. difficile* enfeksiyonları artmakta ve patojen bu çiftlik hayvanlarından elde edilen gıdalarla insanlara taşınmaktadır. *C. difficile* çiftlik hayvanlarının dışkı ve topraktan yüksek oranda izole edildiğinden özellikle kesim sırasında ete bulaştığı düşünülmektedir. *C. difficile* varlığı kırmızı et, kanatlı etleri ve su ürünlerinde gösterilmiş olmakla birlikte bu konuda çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Ayrıca *C. difficile*'nin gıdalardaki davranışı ve çeşitli gıda işleme proseslerinin etkisi konusunda yeterli bilgi mevcut değildir. Bu nedenle, *C. difficile* enfeksiyonlarında gıdaların rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için bahsedilen konularda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Clostridium difficile*, gıda, enfeksiyon, patojen

CLOSTRIDIUM DIFFICILE: IS IT A NEW FOODBORNE PATHOGEN?

Abstract :

Clostridium difficile is a Gram-positive, spore-forming and anaerobic bacterium. It was first recognized in 1970's in patients with diarrhea and pseudomembranous colitis related to antibiotic therapy. Antibiotic associated *C. difficile* infection starts with damaging the natural flora of intestine after antibiotic therapy and then becoming a proper environment for germination of *C. difficile* endospores. After germination the vegetative cells grow and produce toxin. *C. difficile* infection can be developed as self-limiting diarrhea, pseudomembranous colitis, toxic megacolon and/or intestinal perforation.

Although *C. difficile* associated diarrhea is generally related to hospitalization and common in elderly people, in recent years it has been observed in non-hospitalized and younger people. According to one theory on increasing and serious symptoms of the disease, *C. difficile* infection is increasing among the livestock such as sheep, goat, cow and poultry and then people get infection when consume the products obtained from these livestock. Since *C. difficile* has been isolated from feces of livestock and soil at high levels it has been suggested that the meat is contaminated with this pathogen especially during slaughtering.

Although *C. difficile* incidence has been shown in red meat, poultry meats and seafood, there are still a few studies on this subject. Additionally, there is not enough data on behavior of this pathogen in foods and effect of food processing techniques. Therefore, more studies should be done on the subjects mentioned above for a better understanding on the role of foods in *C. difficile* infections.

Keywords: *Clostridium difficile*, food, infection, pathogen

E. COLİ O104:H4 SALGINI, ETKENİN KARAKTERİZASYONU VE GIDALARDA BAZI TESPİT METOTLARI

Sunum Tipi: Poster

Hilal Duygu ÇALIM, Mikrobiyoloji, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı
Atanur TEZEL, Mikrobiyoloji, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı
Sibel ÖZKÖK, Mikrobiyoloji, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı
E. Nazan AKÇELİK, Mikrobiyoloji, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı
Ahmet KOLUMAN, Mikrobiyoloji, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı
Zeynep T. BURKAN, Mikrobiyoloji, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı

Anahtar Kelimeler: E.coli O104:H4, Salgın, STEC, EggEC, Tespit Metodu.

Özet:

Almanya Robert Koch Enstitüsü, 23 Mayıs 2011'de Avrupa Birliği erken uyarı ve yanıt sistemi (EWRS) aracılığı ile Ülke çapında Shiga toxin üreten *Escherichia coli* (STEC)'den kaynaklanan, Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) ve kanlı ishal vakalarının arttığını bildirmiştir. Bu tarihten sonra salgın suşu tarafından oluşturulan vakalar hemen hemen tüm Avrupa Ülkelerinde görülmüştür. Salgında, 782 kişide HUS geliştiği ve 46 kişinin hayatını kaybettiği bildirilmiştir. Bu salgının epidemiyolojik profilinin cinsiyet, yaş dağılımı ve HUS görüme oranının sıklığı açısından daha önceki STEC/VTEC salgınlarından farklı olduğu görülmüştür. Salgın, HUS vakalarının sayısı bakımından Avrupa'da görülen en büyük ve dünya çapında bildirilen 2. büyük salgın olarak bildirilmiştir. Yapılan analizlere göre, Almanya'daki salgın suşunun, bazı STEC virülens faktörlerine sahip *Enteroggregative E. coli* (EaggEC) O104:H4 serotipi olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* O104:H4 serotipi daha önce Güney Kore'de kanlı ishalden sonra HUS gelişen bir kadın hastadan ve dünyanın çeşitli yerlerinden sporadik vakalar olarak izole edilmiştir. Etkenin kanlı ishal ve HUS vakalarında, en yaygın etken olan *E.coli* O157:H7 serotipinin yanında kontrol edilmesi önerilmiştir. Bu salgından da anlaşılabileceği üzere gıdalarda Verositolotoksin (VT) üreten belirli serotiplerin varlığının kontrolü, sadece *E.coli* O157:H7 serotipinin izlenmesinden çok daha önemlidir. Laboratuvarımızda gıda matrislerinde *E.coli* O104:H4 serotipinin tespiti, *E. coli* için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EU-RL VTEC) olan Istituto Superiore di Sanità (ISS) nın önermiş olduğu protokole göre yapılmaktadır. Bu çalışmada yazarlar tarafından etken, salgın ve etkenin gıdalarda belirleme metotlarına dair bilgiler verilmiştir.

E.COLI O104:H4 OUTBREAK, CHARACTERIZATION OF CAUSING AGENT AND SOME DETECTION METHODS IN FOODS

Abstract :

Robert Koch Institute (RKI) in Germany informed by means of Early Warning Response System (EWRS) on 23 May about increased cases of haemolytic uraemic syndrome (HUS) and bloody diarrhoea caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). After that time the cases caused by outbreak strain were seen nearly whole European Countries. 782 people developed HUS and 46 people died during the outbreak. Epidemiologic profile of outbreak was different from previous STEC/VTEC outbreaks in terms of sex, age distribution and HUS frequency. The outbreak was reported as the biggest outbreak in Europe and the second big outbreak in the world in terms of number of HUS cases. The outbreak strain was determined as *Enteroggregative E.coli* (EaggEC) serotype

O104:H4 which has some virulence factor of STEC according to analysis. Before the outbreak, E.coli O104:H4 serotype was isolated from a woman which developed HUS after bloody diarrhoea in South Korea and also different parts of the world as a sporadic case. It was suggested that bloody diarrhoea and HUS cases should be checked about this serotype beside O157:H7 which is most prevalent serotype causing of bloody diarrhoea and HUS. The outbreak highlighted that screening of certain serotype of E.coli which produce VT in foods is more important than only E.coli O157:H7 serotype. In our laboratory, protocols of European Reference Laboratory for E.coli (EU-RL VTEC) is used for detection of E.coli O104:H4 serotype in different food matrices. In this study information about the agent, outbreak and detection methods of agent in foods is given by the authors.

Giriş:

Escherichia coli türünün, bir çok serotipinin varlığı insan ve hayvanlarda hastalık oluşturmamakta, hatta yararlı bakteriler arasında yer almaktadır. Bununla birlikte bazı E.coli serotipleri insanlar için patojen olarak kabul edilmiştir. Bu serotipler içindeki halk sağlığı açısından en tehlikeli olan grup, Enterohemorajik E.coli (EHEC) olup, bu gruptaki en bilinen serotip, E.coli O157:H7' dir. Etkenin sebep olduğu hastalık, 2005 yılından itibaren ülkemizde de "Grup D" bildirim zorunlu hastalıklar arasında yer almıştır. Enterohemorajik E.coli (EHEC), E.coli bakterisinin şigatoksin/verotoksin üreten şigatoksijenik/verotoksijenik E.coli patotipinin bir alt grubudur. Etken, kanlı ishale bazende ilerleyen durumlarda "Hemolitik Üremik Sendrom" (HUS)'a sebep olur. HUS, böbreklerde yıkım oluşturduğu için yaşamı tehdit eden bir hastalıktır.

EHEC, şigatoksin E. coli (STEC) olarak adlandırılmakla birlikte, verositotoksin (VT) üreten E. coli (VTEC) olarak da bilinmektedir. İnsanlar için patojen olan bu grup, hayvanlar için değildir. Her yıl Avrupa ve Dünyanın farklı bölgelerinde bazen HUS ve sonrasında ölümleride görülen EHEC salgınları bildirilmektedir. Ancak etkilenen insanların sayısı genellikle Almanyada'ki salgından çok daha düşüktür. Salgın, Avrupa'da görülen en büyük ve dünya çapında bildirilen 2. büyük salgın olup, daha önce bildirilmiş olan EHEC salgınlarına göre, geniş çaplı ve virulent olması sebebiyle daha ölümcüldür. 1996 yılında Dünya'nın en büyük salgını olarak kayıtlara geçen Japonya'da 8000'in üzerinde vaka bildirilmiştir (1). E. coli O104:H4 (STEC O104:H4) serotipi memelilerin bağırsaklarında yaşayan, E. coli türünün ender görülen bir serotipidir. E. coli O157:H7, 1982 yılında, iyi pişmemiş hamburgerden kaynaklanan bir kanlı ishal salgını sonucu yapılan araştırmalar sırasında keşfedilmiştir. E. coli O104:H4, E. coli O157:H7'nin neden olduğu enfeksiyona benzer bir enfeksiyon meydana getirmektedir. E. coli O104:H4 serotipi daha önce 2005'de Güney Kore'de kanlı ishal geçiren 29 yaşında bir kadından izole edilmiş olup, etkenin daha yaygın serotip olan E. coli O157:H7 gibi kanlı ishal ve HUS vakalarında da kontrol edilmesi gerektiği önerilmiştir (15).

Almanya'da ki salgında klinik tablonun ağır bir şekilde gerçekleşmesinde etkenin STEC ve EaggEC'nin virulens karakterini paylaşmasının etkili olduğu görülmüştür. STEC suşlarının rezervuarı genellikle hayvan kökenli iken, EaggEC'nin rezervuarı Insandır. Geçmişte, benzer suşların (benzer serotip, benzer phylogrup, benzer MLST tipi ve benzer virulens gen sırası) neden olduğu insanlardaki enfeksiyonlar rapor edilmiş olup, ancak bunlar sporadik vakalar olduğundan halk sağlığı açısından ciddi tehlikeye neden olabileceği düşünülmemiştir. Bununla birlikte son salgında etkenin halk sağlığı açısından ciddi bir tehlike oluşturduğu görülmüş ve bunun olası nedeni olarak iki patotipin virülens özelliklerini taşıyan hibrit bir virotipin varlığı sorumlu tutulmuştur (2).

Bu çalışmada E. coli patotipleri ve E. coli O104:H4 serotipinin neden olduğu salgın ile etkenin karakterizasyonu ve E. coli için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EU-RL VTEC) olan Istituto Superiore di Sanità (ISS) nin önermiş olduğu protokole göre Laboratuvarımızda çeşitli gıda matrislerinde E. coli O104:H4 serotipinin tespitine yönelik metotlardan bahsedilecektir.

1. *Escherichia coli* Patotipleri

E. coli normal barsak florasının üyesi sayılan bir bakteridir. *E. coli* tür içi ve tür dışı kendine benzeyen diğer bakteriler (örn., *Salmonella*, *Shigella*) ile kolaylıkla ve sıklıkla horizontal gen transferi (konjugasyon, transformasyon ya da transdüksiyon) aracılığıyla genetik bilgisini değiştirebilen bir bakteridir. Bu özelliği ile bakteri yeni virulens özellikleri kazanarak, daha patojen ve dirençli hale gelebilmektedir (2). *E. coli* basilleri Somatik (O), Flagellar (H), Kapsüler (K) ve Fimbrial (pilus) antijenlerine göre sınıflandırılırlar ve serotip olarak isim alırlar. Bazı *E. coli* serotipleri ciddi infeksiyonlara sebep olabilmelerinden dolayı insanlar için patojen olarak kabul edilmiştir. *E. coli* serotipleri içinde hastalık yapan pek çok tipi vardır. Bunlar hasta ettikleri dokular ve hastalık mekanizmalarına bağlı olarak "patotip" olarak gruplandırılırlar. *E. coli* 6 patotip'e ayrılmıştır (13).

• Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) ;

Dokuya sıkıca bağlandıktan sonra bir enflamasyon reaksiyonu oluştururlar. Toksin salgılayarak değil, hücre içi sinyalizasyona etki ettikleri için ishale yol açtıkları düşünülmektedir (Şekil 1). Hem sulu hemde kanlı ishale neden olabilirler. Düşük derecede ateş ve kusma vardır. EPEC hemaglutinasyon özelliğini belirleyen pilus antijenlerine (bfp) sahiptir.

• Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) ;

Dünya çapında turist ishallerinin başlıca nedenidirler. İnfeksiyon 1 hafta sonra ya da daha uzun bir zamanda sulu diyare ile başlar. Bazen kanın ağrısı, burun akıntısı ve baş ağrısı yapmakta ateş genellikle olmamaktadır. Enterotoksin üreterek hastalık yaparlar. Isıya dayanıklı stabil (ST) ve ısıya dayanıksız labil (LT) toksinler olmak üzere iki tip enterotoksinleri vardır. Toksinler bağırsak hücrelerinin su ve elektrolit salgılamalarına neden olurlar. Sodyum emilimine ve klor sekresyonuna neden olarak sulu ishal yaparlar (Şekil 1).

• Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) ;

Bu grup bakteriler, doku hücrelerinin içine girip çoğalırlar ve hücreden hücreye geçebilme yeteneğindedirler (Şekil 1). Bunun yol açtığı enflamasyon tepkisi doku hasarını artırır. İnfeksiyon kanlı ve mukuslu dışkı ile karakterizedir.

• Enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)/ Verocytotoxinic *E. coli* (VTEC)/ Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) ;

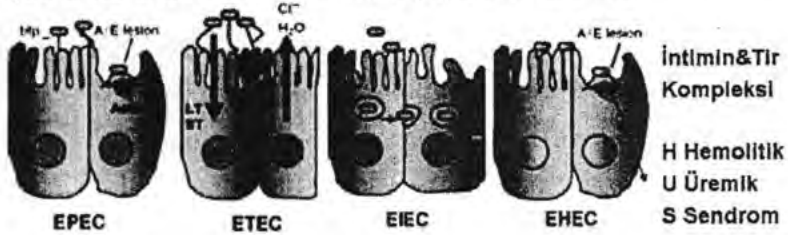
Bu grup bakteriler enteropatogenik özellikler taşımalarına ilaveten, *Shigella dysenteriae* type 1 tarafından üretilen toksine çok benzeyen şigatoksinleri salgılar. Bu sebeple şigatoksin üreten *E. coli* (STEC) olarak adlandırılmışlardır. Fonksiyonel olarak aktif şigatoksinler vero hücre toksisite testi kullanılarak tespit edilebilir. Bundan dolayı bu bakteriler verositotoksin (VT) üreten *E. coli* (VTEC) olarak da adlandırılabilirler. Bu grup bakteriler Stx (stx1 ve/veya stx2) ve intimin (eae) kodlayan genlere sahiptirler. İntimin vasıtasıyla bağırsak epiteline bağlanıp, Stx1 ve Stx2 toksinlerini bağırsak epitel hücrelerine aktararak hücrelerde A/E lezyon (attaching and effacing lesions) oluşturarak hücrelerin ölümüne dolayısı ile kanlı ishale neden olurlar (Şekil 1). Bu durum hemolitik anemi, akut renal yetmezlik ve trombositopeni ile karakterize, HUS'a ve ya trombotik trombositopenik purpura (TTP) gibi komplikasyonlara neden olabilir. Bu durumda bazı vakalarda ölümler de görülebilir. Bu komplikasyonlara neden olan serotipler sıklıkla Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) olarak da adlandırılmaktadır (3). 200 civarında şigatoksin üreten farklı *E. coli* "O" ve "H" serotipi olup, bu serotiplerin 100 kadarı insanlarda infeksiyon meydana getirmektedir. EHEC O26, O103, O111, O118, O121, O145 ve O157 bu grupta yer alan bazı serotiplerdendir. Bu gruba ait olanların en ünlüsü ve grubun en baskın serotipi *E. coli* O157:H7'nin yol açtığı hastalık olup, hemorajik kolit olarak adlandırılır. İshal az sulu, bol kanlı ve mukuslu olur. VTEC için infeksiyöz doz en düşük 10-100 hücredir. Bununla birlikte gruptaki diğer serotiplerin (O26, O111, O103, O118) karıştığı, insanlardaki sporodik vakalarda bildirilmektedir (2).

- **Enteraggregative E. coli (EAggEC) / (EAEC) ;**
Etken, aggR genleri ile kodlanan fimbrae I (AAF/I-II) ile bağırsak epiteline bağlanıp tuğla gibi dizilmiş bakteriler şeklinde görünür. Bu gruptaki bakteriler astA geni ile kodlanan, ısıya dayanıklı toksin (EAST1) üretirler. Bu grup bakteriler akut ve devamlı ishallerle ilişkili olup özellikle gelişmekte olan ülkelerde görülürler. Sulu ve mukoid ishal olup kusma ve ateş yoktur (12).

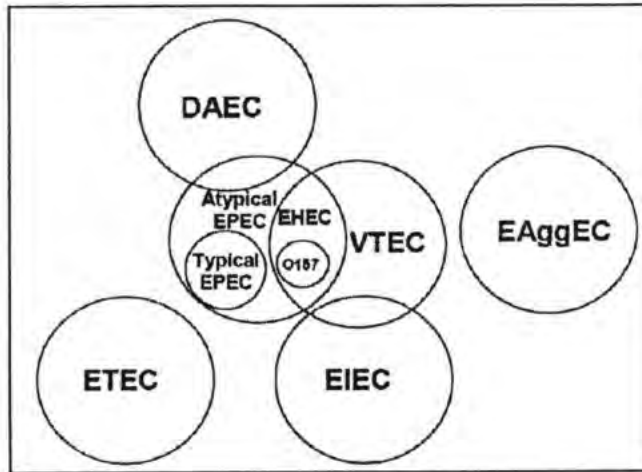
- **Diffusely adherent E. coli (DAEC) ;**
Bu grup bakteriler dünya çapında üriner sistem enfeksiyonun başlıca nedeni olup, ishale de sebep olabilmeleri tartışılmaktadır. Bir yaşımdan küçük çocuklarda ishale yol açmaktadırlar. Özelleşmiş fimbrialar sayesinde seyrek bir şekilde epitale bağlanırlar ve hücre içi sinyal mekanizmasını etkinleştirirler.

Şekil 1'de bazı patotiplerin hastalık yapma mekanizmaları gösterilmekte olup, Şekil 2'de de ishalleri enfeksiyona neden olan E. coli patotiplerinin aralarındaki yakınlık ilişkisini gösteren "Venn diagram" verilmiştir (13). Şekil 2'den de anlaşılacağı üzere ETEC ve EAggEC birbirinden farklı ayrı gruplardır. DAEC ve EPEC, EPEC ve VTEC, VTEC ve EIEC grupları aralarında da çeşitli derecelerde örtüşmeler vardır.

Şekil 1. Bazı E. coli patotiplerinin hastalık yapma mekanizmaları.



Şekil 2. Venn diagram



2. *Eshcherichia coli* O104 Salgını

Her yıl Avrupa ve Dünyanın farklı bölgelerinde bazen HUS ve sonrasında ölümleri de görülen EHEC salgınları bildirilmektedir. Almanya, 22 Mayıs 2011'de Avrupa Birliği erken uyarı ve yanıt sistemi (EWRS) aracılığı ile ülke çapında Hemolitik Üremik Sendrom (HUS)'a neden olan geçmişte benzeri görülmemiş bir şigatoksin/verotoksin üreten *E. coli* (STEC/VTEC) O104:H4 salgını, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne bildirmiş ve ilerleyen zamanda salgın, Almanya'nın ardından hemen hemen tüm Avrupa'ya yayılmıştır. Hatta Amerika ve Kanada'dan da vakalar bildirilmiştir. Salgının başladığı Mayıs 2011 tarihi ile, en son vakaların doğrulanarak bildirildiği 17 Temmuz 2011 tarihleri arasında, 29'u HUS gelişen STEC, 17'si ise HUS gelişmeyen STEC vakalarından oluşan toplamda 46 kişi hayatını kaybetmiştir. Salgında 782 vaka da HUS gelişmiş, 3128 vakada da gelişmemiştir. Daha önceki STEC/VTEC enfeksiyonları HUS olsun ve ya olmasın EHEC olarak isimlendirilir ve genellikle cinsiyetler arasında eşit dağılımlı olarak okul öncesi çocuklarda görülürken, son salgında vakaların yaklaşık %70'inin bayan ve yaklaşık %90'ının 20 yaş ve üzeri yetişkinler olduğu bildirilmiştir. ECDC'nin 27 Temmuz 2011 tarihli son raporuna göre salgından etkilenen ülkeler, vaka sayıları (HUS'lu ve HUS'suz) ve ölümler Tablo 1'de verilmiştir (4).

Tablo 1. Salgından etkilenen AB üye ülkeleri, vaka sayıları (HUS'lu ve HUS'suz) ve ölümler

AB Üye Ülkeler	HUS Gelişen STEC Vaka Sayısı (Ölüm)	HUS Gelişmeyen STEC Vaka Sayısı (Ölüm)
Avusturya	01 (0)	4 (0)
Çek Cumhuriyeti	0 (0)	1 (0)
Danimarka	10 (0)	16 (0)
Fransa	9 (0)*	2 (0)* 2 (0)**
Almanya	733 (28)	3 052 (17)
Yunanistan	0 (0)	1 (0)
Lüksemburg	1 (0)	1 (0)
Hollanda	4 (0)	7 (0)
Norveç	0 (0)	1 (0)
Polonya	2 (0)	1 (0)
İspanya	1 (0)	1 (0)
İsveç	18 (1)	35 (0)
İngiltere	3 (0)	4 (0)
TOPLAM	782 (29)	3 128 (17)

* Fransa'daki salgın vakaları

** Almanyaya seyahat eden turistlerden oluşan vakalar

Bununla birlikte, Amerika'da HUS gelişen 3 STEC vakası ile HUS gelişmeyen 1 STEC vakası, Kanada da ise HUS gelişmeyen 1 STEC vakası bildirilmiştir (1). Geçmişte meydana gelen bazı enteroaggregative *Escherichia coli* salgınları vaka sayıları ve hastalık belirtileri Tablo 2'de verilmiştir (12).

Tablo 2. Geçmişte meydana gelen bazı Enteroaggregative Escherichia coli salgınları

Ülke-Yer/Tarih	Vaka	Hastalık
Yeni Doğan Ünitesi; Nis, Serbia, 1995	19 Yeni doğan	Sulu diyare
Konferans Merkezi, İngiltere, 1994	51 Yetişkin	3-7 gün sonra sulu diyare
Otel, İngiltere, 1994	53 Yetişkin	Ortalama 68 saat sonra sulu diyare,
Güney Hindistanda bir köy, 1996	20 Çocuk ve yetişkin	Ortalama 11 gün sonra sulu diyare,
Yeni Doğan Ünitesi, Mexico City	-	Ciddi diyare; 5 ölüm

3. E. coli O104:H4 'ün Karakteristik Özellikleri

Salgın vakalarından elde edilen klinik izolatların ilk laboratuvar analizleri Wernigore'deki Salmonella için Alman Ulusal Referans Laboratuvarında ve diğer Bakteriyel Enterik Patojenler için Robert Koch Enstitüsünde yapılmıştır. Yapılan analizlere göre, Almanya'da ki salgın suşunun, bazı STEC virülens faktörlerine sahip Enteroaggregative E. coli (EaggEC) O104:H4 serotipi olduğu tespit edilmiştir (16). Bu kombinasyon oldukça nadir görülüp, yakın zaman öncesinde Fransa'da ki çocukların HUS salgın etkeni olan O111:H2 serotipinin soyları için tanımlanmıştır. EaggEC enfeksiyonu, özellikle gelişmekte olan ülkelere seyahat eden insanlar ve çocuklar arasındaki uzun süreli sulu ishallerin başlıca nedenidir. Salgınla ilişkili tüm klinik izolatlar birden fazla antibiyotiğe dirençli olarak bulunmuştur. Etkenin tanımlanan başlıca karakteristik özellikleri aşağıda belirtilmektedir (2, 5, 6).

- Sorbitol'u fermente eder.
- Serotype: O104:H4
- Shiga toxin 1: Negatif (-)
- Shiga toxin 2 (subtype 2a) : Pozitif (+)
- Intimin (eae): Negatif (-)
- Enterohaemolysin: Negatif (-)
- Enteroaggregative E. coli virulence plasmid:
- aatA: Pozitif (+)(ABC-transporter protein gene)
- aggR: Pozitif (+)(master regulator gene of Vir-plasmid genes)
- aap : Pozitif (+)(secreted protein dispersin gene)
- aggA: Pozitif (+)(AAF/I-fimbral subunit-gene)
- aggC: Pozitif (+)(AAF/I-fimbral operon-gene)
- MLST sequence type: ST678(adk 6, fumC6, gyrB 5, lcd 136, mdh 9, purA 7, recA 7)
- ESBL (CTX-M-15)
- Beta-lactamase üretimi:
- ESBL (CTX-M-15) : Pozitif (+)
- TEM-1: Pozitif (+)
- Direnç profili:

Ampicillin, Amoxicillin/clavulanic acid, Piperacillin/sulbactam, Piperacillin/tazobactam, Cefuroxime, Cefuroxime-Axetil, Cefoxitin, Cefotaxime, Cefazidime, Cefpodoxime, Streptomycin, Nalidixic acid, Tetracycline, Trimethoprim/Sulfamethoxazole.

4. Klinik Seyir

Etkenin Almanya'daki son salgındaki klinik tablosu, önceki (STEC/VTEC) enfeksiyonlarından dikkate değer bir farklılık göstermektedir. Barsakta çoğalan bakteri vücuda girdikten 7-10 gün sonra hastalık belirtileri görülmeye başlamaktadır. Enfeksiyonun şiddeti 3 fazda ifade edilmiştir. % 80 oranında görülen kanlı ya da %20 oranında görülen sulu dışarenin geliştiği safha; 3-5 gün sonrasında kanlı ishal görülen vakaların %25 inde görülen Hemolitik Üremik Sendrom(HUS)'un geliştiği safha ve beklenmedik bir şekilde (çoğu hasta tedaviye yanıt vererek hastaneden taburcu edilmiştir) 3-10 gün sonrasında HUS'lu hastaların yaklaşık %50 sinde görülen baygınlık ya da yaşamı tehdit edecek boyutlara kadar ulaşabilen nöbetler şeklinde gelişen nörolojik semptomların görüldüğü safhalardır.

Toksin kalın bağırsacı çevreleyen kılcal damarları etkileyebildiği için ilk aşamada kalın bağırsakta kanamalar meydana getirir. İkinci aşamada, böbrek kılcal damarlarına ve böbrek endoteline bağlanan toksin orada bir enflamasyon reaksiyona neden olup, akut böbrek yetmezliğine neden olur. Bunun sonucu kan temizlenemez, idrar üretimi azalır veya durur, ödem, yüksek tansiyon ve akciğer ödemi meydana gelir. Kan damarlarının hasara uğraması pıhtılaşma mekanizmasını harekete geçirir. Bunun sonucu kandaki trombosit sayısı azalır. Eğer çok büyük bir azalma olursa başka kanamalar durdurulamaz, deri altında kanamalar (hematom ve purpuralar) görülür, Trombositlerin damar duvarlarında birikmesi duvar yüzeyinin artık düzgün olmamasına neden olur. Kan akışı sırasında geçen alyuvarlar bu çıkıntılara takılarak yırtılırlar veya hasar görürler. Alyuvar sayısındaki bu düşüşe hemolitik anemi meydana getirir. En ağır tablo akut böbrek yetmezliği, kanamalar ve nörolojik belirtilerin görüldüğü tablodur (11).

5. Enfeksiyona Karşı Korunma Yolları ve Tedavi

STEC suşlarının rezervuarı genellikle hayvan kökenli iken, EaggEC'nin rezervuarı insandır. Enterohemorajik E. coli gibi patojen E. coli suşlarının ana kaynağı başta sığırlar olmak üzere ruminantlardır. Bu hayvanların bağırsaklarında başka EHEC türleride bulunabilme-kte ancak bunlar insanlar için her zaman hastalık yapıcı özellikte olmamaktadırlar. Bu hayvanların hijyen kurallarına dikkat edilmeden kesilerek, dışkı ile temas sonrası etler kontamine olabilmektedir. Hayvan dışkısı besin zincirine karışarak, diğer besin türleri (süt, sebzeler vb.) ve suları da kontamine ederek hastalığın yayılmasına neden olabilir. Ayrıca yakın temas ile kişiden kişiye fekal-oral yolla insanlar arasında da bulaşma olabilir. İyi pişmemiş etler, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri, kontamine içme suyu içilmesi ve iyi yıkanmamış veya kontamine su ile yıkanmış sebzelerin çiğ tüketimi, salgınların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Nitekim Almanya'daki son salgında da böyle olmuştur. Organik tarımla üretilen sebzelerde yeterince hijyene dikkat edilmemesi, çiğ tüketilen bu sebzelerin tüketilmeden önce yeterince yıkanmaması ve bu kontamine ürünlerin restoranlara ulaştırılarak tüketilmesi sonucu salgının başladığı düşünülmektedir. Sebzelerdeki kontaminasyon besin zincirinin farklı aşamalarında oluşabilmektedir. Bu sebeple tarladaki üretimden, hasat öncesi ve sonrası elle işleme, market ve perakende satış yerlerinden tüketime hazırlanmasına kadar ki tüm aşamalarda genel hijyen kurallarına dikkat edilmelidir. EHEC dahil, su ve besinler ile bulaşan hastalıklardan korunmak için alınması gereken bazı basit ama çok önemli önlemler bulunmaktadır:

- Yemeklerden önce eller bol su ve sabun ile yıkanmalıdır.
- Süt, et ve ürünleri, yeterince pişirildikten sonra tüketilmelidir.
- Çiğ sebze ve meyveler, tüketilmeden önce iyice yıkanmalıdır.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), güvenilir gıda için 5 anahtar bildirmiştir.

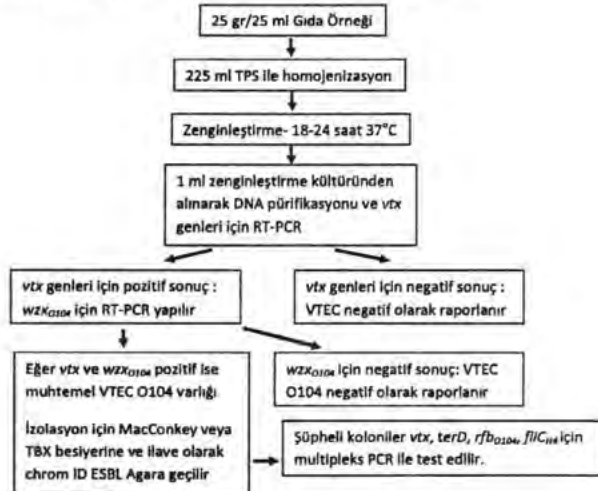
- Temiz saklama,
- Pişirilmiş ve çiğ gıdanın ayrılması,
- Pişirilerek tüketilen gıdaların, özellikle etlerin, 70 °C veya daha yüksek ısıda pişirilmesi,
- Gıdaların güvenli ısıda saklanması,
- Temiz su ve hammaddenin kullanılması.

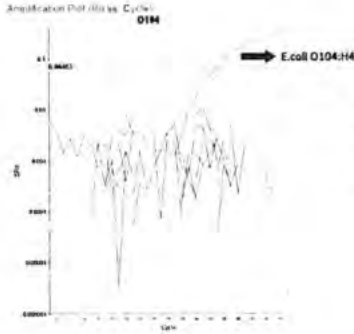
Enfeksiyona maruz kalan çoğu insan 5-10 gün içerisinde herhangi bir spesifik tedavi uygulanmadan iyileşebilmektedirler. WHO, EHEC'le infekte olmuş hastalar hariç antibiyotik ve antidiyaretik kullanımını içeren ve bol sıvı alınmasını destekleyen genel tedavi şeklini önermiştir. EHEC'li hastalarda bu tedavinin uygulanması ise komplikasyonların yüksek oranda artmasına sebep olmaktadır. Bu sebeple WHO, semptomların görülmesi ile hemen sağlık kurumuna gidilmesi gerektiğini, kendi kendine ilaç alımının yapılmaması gerektiğini duyurmuştur. Ciddi HUS vakalarında ise kan nakli ve dializ gerekebilmektedir (18).

6. Gıdalarda Verositotoksijenik *E. coli* O104:H4 serotipinin belirlenmesi

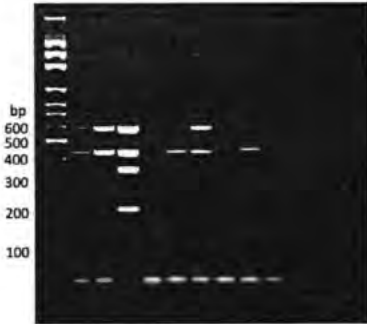
Laboratuvarımızda çeşitli gıda matrislerinde *E. coli* O104:H4 serotipinin belirlenmesi, *E. coli* için Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı (EU-RL VTEC) olan Istituto Superiore di Sanità (ISS) nın önermiş olduğu protokole göre yapılmaktadır (9). Protokolün ana hatları Şekil 3'de gösterilmiştir. Protokolün ana aşamaları zenginleştirme, verositotoksin genlerinin ve O104 serotipine özgün O antijen flippase proteinini kodlayan *wzx*O104 geninin real-time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile belirlenmesi, pozitif numunelerin zenginleştirme kültürlerinden izolasyon için MacConkey veya TBX besiyerlerine ve ilave olarak daha seçici olan antibiyotik içeren bir besiyerine ekilmesi (chromID ESBL Agar-ESBL özelliği bulunduğu) ve tipik kolonilerin multipleks PCR ile doğrulanması şeklindedir. ISS protokolünde kolonilerin doğrulanması için RT-PCR ile H4 flagellar antijenini kodlayan *flhC*H4 geninin belirlenebileceği belirtilmişse de laboratuvarımızda daha ekonomik olan multipleks PCR yöntemi tercih edilmiştir. *vtx*1, *vtx*2 ve *wzx*O104 genleri için yapılan RT-PCR yöntemlerinin detayları Tablo 3'de verilmiştir. RT-PCR da her reaksiyonda inhibisyonun kontrolü için Applied Biosystem firmasının Internal Pozitif Kontrol kiti kullanılmış, her yürütmeye en az 2 adet negatif kontrol (bir tanesi reagent kontrol olarak saf su diğeri hedef bölgeye sahip olmayan bakteri DNA'sı), 1 adet pozitif kontrol (EU-RL VTEC ten sağlanan *E. coli* O104:H4 RKI No.11 2027 nolu Alman salgın izolatının DNA'sı) kullanılmıştır. Kolonilerin doğrulanması için kullanılan multipleks PCR Konsiliarlabor für Hämolytisch – Urämisches Syndrom (HUS) tarafından geliştirilmiş olup *terD* (tellürit direnç geni), *vtx*2 (verositotoksin 2 geni), *rfb*O104 (putative O antijen transpoter geni) ve *flhC*H4 (H4 flagellar antijen geni) hedef bölgelerinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Tablo 4'de ilgili yöntemin detayları verilmiştir (7,8,14,17). Şekil 4'de *E. coli* O104:H4 için yapılan RT-PCR'ın amplifikasyon eğrisi, Şekil 5'de multipleks PCR'ın jel görüntüsü verilmiştir.

Şekil 3. Gıdalarda *E. coli* O104:H4 belirlenmesi için akış şeması





Şekil 4. *E. coli* O104:H4 RT-PCR Amplifikasyon Egrisi
Sadece Referans *E. coli* O104:H4 izolatı eşik değerinin üzerinde ışıma vermiş diğerleri eşik değerinin altında kalmıştır. Test edilen diğer izolatlar : *E. coli* O26 ISS, *E. coli* O103 ISS, *E. coli* O111 ISS, *E. coli* O145 ISS, *E. coli* O157 ISS, *E. coli* ATCC 52922, Negatif Kontrol.



Şekil 5. *E. coli* O104:H4 için Multipleks PCR
1.kuyucuk 100 bp Moleküler Marker,
2.kuyucuk *E. coli* O26 ISS (*vtx1+*,*vtx2+*),
3.kuyucuk *E. coli* O103 ISS (*vtx1+*,*vtx2+*),
4.kuyucuk *E. coli* O104:H4 RKI No.11 2027 (*vtx1+*,*vtx2+*),
5.kuyucuk *E. coli* O111 ISS (*vtx1+*,*vtx2+*),
6.kuyucuk *E. coli* O145 ISS (*vtx1+*,*vtx2+*),
7.kuyucuk *E. coli* O157 ISS (*vtx1+*,*vtx2+*),
8.kuyucuk *E. coli* ATCC 25922 (*vtx1+*,*vtx2+*),
9.kuyucuk generik *E. coli* (*vtx1+*,*vtx2+*),
10.kuyucuk Negatif kontrol

Tablo 3. *vtx1*, *vtx2* ve *E. coli* O104:H4 için yapılan RT-PCR yöntemlerinin detayları

Hedef Bölge	Dizi (5'-----3')	Ürün büyüklüğü	Reaksiyon Şartları	Reaksiyon Karışımı	Kaynak
<i>vtx1/2</i>	Forward primer TTTGTACTGTSACAGCWGAAGCYTTACG ⁽¹⁾ Reverse primer CCCAGTTCARWGTAGRTCMACRTC ⁽¹⁾		95°C de 10 dakika 40 döngü	1X RT-PCR tamponu (4 mM MgCl ₂) 1 µM Forward Primer 1 µM Reverse Primer	(14)
<i>vtx1</i>	Prob FAM-CTGGATGATCTCAGTGGCGTTCTTATGTAA -TAMRA ⁽²⁾	131 bp	95°C de 10 saniye 55°C de 5 saniye	200 nM Prob 2 µl DNA	
<i>vtx2</i>	Prob TET-TCGTCAGGCACTGTCTGAACTGCTCC -TAMRA ⁽²⁾	128 bp	72°C de 15 saniye	Son hacim 20 µl olacak şekilde su ile tamamlanır	
<i>IVX2O104</i>	Forward primer TGTCGCGCAAGAATTCAAC Reverse primer AAAATCCCTTTAACTATACGCC Prob FAM-TTGGTTTTTTGTATTAGCAATAAGTGGTGTC-TAMRA	100 bp	95°C de 10 dakika 35 döngü 95°C de 15 saniye 60°C de 1 dakika	1X RT-PCR tamponu (3 mM MgCl ₂) 500 nM Forward Primer 500 nM Reverse Primer 200 nM Prob 2 µl DNA Son hacim 20 µl olacak şekilde su ile tamamlanır	(7)

(1) *vtx1* ve *vtx2* için değere primer kullanılmıyor. Dizideki Y = [C, T], S = [C, G], W = [A, T], R = [A, G], M = [A, C] olarak kabul edilmelidir.

(2) Orijinal yayında verilen probları işaretlemek için kullanılan floresan boyalar yerine UGRİ Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan Real-Time PCR cihazına uygun floresan boyalar kullanılmaktadır.

Tablo 4. E. coli O104:H4 doğrulanması için kullanılacak multipleks PCR yönteminin detayları

Hedef Bölge	Dizi (5'—3')	Ürün büyüklüğü	Reaksiyon Şartları	Primer Konsantrasyonu	Kaynak
<i>vtx2</i>	LP43 ATCTTATCCCGGAGTTTACG LP44 GCGTCATCGTATACAGGAGC	584 bp	94°C de 5 dakika 30 döngü	150 nM	(8)
<i>terD</i>	TerD1 AGTAAGCAGCTCCGTCAAT TerD2 CCGAACAGCATGGCAGTCT	434 bp	94°C de 30 saniye 55°C de 60 saniye	240 nM	(17)
<i>rfbO₁₀₄</i>	104rfbO- TGAACGTATTTTAGGATGG 104rfbO+ AGAACCCTCACTCAAAATTATG	351 bp	72°C de 60 saniye Final Elongasyon	360 nM	Konsiliariabor für Hämolitisch – Urämisches Syndrom (HUS) ⁽¹⁾
<i>flc_{int}</i>	flcH4-a GGC GAA ACT GAC GGC TGC TG flcH4-b GCA CCA ACA GTT ACC GCC GC	201 bp	72°C de 5 dakika	240 nM	

(1) <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/2011/ehec-oh4-outbreak>

SONUÇ ve ÖNERİLER

Gıdalarda yalnızca E. coli O157:H7 serotipinin aranması son salgından da anlaşılacağı üzere gıda güvenliği açısından yeterli değildir. E. coli O157:H7 dışında ki serotiplerde şigatoksin/verosinotoksin üretebilmekte ve etken bir şekilde gıda zincirine bulaşarak sonu ölümcül olabilen ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu sebeple, gıdalar vasıtasıyla, insanlarda enfeksiyona neden olan E. coli O157:H7 serotipinin kontrolünün yanısıra, şigatoksin/verotoksin üreten belirli serotiplerin (örn., EHEC O26, O103, O111, O118, O121, O145) varlığının kontrolünde birlikte yapılarak izlenmesi gerekmektedir. Salgınlarda bulaşma, gıda kaynaklı, su kaynaklı, hayvan temaslı ve etkenin insandan insana geçmesi yoluyla da olmaktadır. Bu sebeple enfeksiyondan korunmak için genel hijyen kurallarına üreticiden tüketiciye kadar bir çok aşamada dikkatle uyulmalı ve bu yönde toplumda gerekli bilinçlendirilmenin oluşturulması sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Anon. 1, World Health Organization Regional Office for Europe, Public Health Review Of The Enterohaemorrhagic Escherichia coli Outbreak in Germany, 10 June 2011. Erişim Tarihi: 08.09.2011, Erişim Adresi: <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/emergencies/international-health-regulations/outbreaks-of-e.-coli-o104h4-infection>
2. Anon. 2, Urgent advice on the public health risk of Shiga-toxin producing Escherichia coli in fresh vegetables, EFSA Journal 2011;9(6):2274. Erişim tarihi 03.09.2011 Erişim adresi: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2274.pdf>
3. Anon. 3, European Center for Disease Prevention and Control (ECDC), Basic facts on Escherichia coli (E.coli) Erişim Tarihi: 08.09.2011, Erişim adresi: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/escherichia_coli/basic_facts
4. Anon. 4, European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority. Scientific advice Shiga toxin-producing E. coli (STEC): Update on outbreak in the EU(27 July 2011, 11:00) 27 Jul 2011.Erişim tarihi:10.08.2011, Erişim adresi: <http://ecdc.europa.eu/en/activities/sciadvic>
5. Anon. 5, European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority, Rapid Risk Assessment Update, Outbreak of Shiga toxin-producing E. coli (STEC) O104:H4 2011 in the EU 8 July 2011 (updated from 29 June) Stockholm, Erişim tarihi: 08.09.2011, Erişim adresi: http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/escherichia_coli/epidemiological_data
6. Anon. 6, European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority. EU case definition: HUS caused by epidemic strain Shiga toxin 2-producing Escherichia coli Erişim tarihi: 10.08.2011,

7. Erişim adresi: http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/escherichia_coli/epi_demological_data
8. Bugarel M, Beutin L, Martin A, Gill A, Fach P: Micro-array for the identification of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) seropathotypes associated with Hemorrhagic Colitis and Hemolytic Uremic Syndrome in humans. *Int J Food Microbiol* 2010, 142:318-329.
9. Cebula, T.A., W.L. Payne and P. Feng, 1995. Simultaneous identification of strains of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and their Shiga-like toxin type by mismatch amplification mutation assay-multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 33: 248-250
10. EU Reference Laboratory for *E. coli*. (EU-RL VTEC). Detection and identification of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) O104:H4 in food by real Time PCR. Rome: Istituto Superiore di Sanità; 2 Jun 2011. Available from: http://www.iss.it/binary/vtec/cont/Lab_proc_O104_rev2.pdf
11. European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority, EU case definition: HUS caused by epidemic strain Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli*. Erişim tarihi: 08.09.2011, Erişim adresi: http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/escherichia_coli/epidemiological_data
12. Jansen A, Kielstein JT, The new face of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* infections. *Euro Surveill.* 2011;16(25):pii=19898. Erişim tarihi: 08.09.2011 Erişim adresi: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19898>
13. Nataro JP, Steiner T, Guerrant RL, (1998), *Enteroggregative Escherichia coli*, *Emerging Infectious Diseases*, Vol.4, Number.2, Erişim tarihi:08.09.2011, Erişim adresi: <http://www.cdc.gov/ncidod/eld/vol4no2/nataro.htm>
14. O'Sullivan J, Bolton DJ, Duffy G, Baylis C, Tozzoli R, Wasteson Y, Lofdahl S (2007) *Methods for Detection and Molecular Characterisation of Pathogenic Escherichia coli*. ISBN 1 84170 506 3, Erişim adresi: <http://www.antimicrobialresistance.dk/data/images/protocols/e%20coli%20methods.pdf>
15. Perelle S, Dilasser F, Grout J, Fach P. Detection by 5'-nuclease PCR of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O26, O55, O91, O103, O111, O113, O145 and O157:H7, associated with the world's most frequent clinical cases. 2004 *Mol Cell Probes*. 18(3):185-192.
16. Scheutz F, Møller Nielsen E, Frimodt-Møller J, Boisen N, Morabito S, Tozzoli R, Nataro JP, Caprioli A (2011) Characteristics of the enteroggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. *Euro Surveill.* 16(24):pii=19889. Erişim tarihi: 03.09.2011 Erişim adresi: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19889>
17. Struelens MJ, Palm D, Takkinen J (2011) Enteroggregative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak: new microbiological findings boost coordinated investigations by European public health laboratories. *Euro Surveill.* 16(24):pii=19890. Erişim tarihi: 03.09.2011 Erişim adresi: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19890>
18. Taylor, D., Rooker, M., Keelen, M., Ng, L.-K., Martin, I., Perna, N.T., Burland, N.T., Blattner, F.R., 2002. Genome variability of *O* Islands encoding tellurite resistance in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 isolates. *J. Bacteriol.* 184, 4690–4698.
19. World Health Organisation, Public health review of the Enterohaemorrhagic *E.coli* outbreak in Germany, 10 June 2011. Erişim tarihi:08.09.2011, Erişim adresi: www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/emergencies/international-health-regulations/ehc-outbreak-in-germany

Bildiri No: 140

Kategori: Genel

Sunum Tipi: Poster

**Gülsüm ÖKSÜZTEPE, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Fırat Üniversitesi
Hüsnü Şahan GÜRAN, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Dicle Üniversitesi
Gökhan Kürşad İNCİLİ, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Fırat Üniversitesi
Saime Betül GÜL, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Fırat Üniversitesi**

Özet

Bu çalışmada Elazığ'da satışı sunulan 100 adet fermente sucuk örneği mikrobiyolojik ve kimyasal kalite yönünden incelendi. Ortalama olarak toplam mezofilik aerob bakteri sayısı 8.75 log₁₀ kob/g, koliform grubu bakteri sayısı 1.32 log₁₀ kob/g, maya-küf sayısı 3.08 log₁₀ kob/g, Staphylococcus- Micrococcus sayısı 3.99 log₁₀ kob/g, laktik asit bakteri sayısı 8.56 log₁₀ kob/g ve *C. perfringens* sayısı 1.94 log₁₀ kob/g olarak tespit edildi. İncelenen örneklerin % 15'de *E.coli*, % 10'da Staphylococcus aureus, % 3'de Salmonella spp., % 4'de Listeria monocytogenes, % 2' de Listeria welshimeri ve % 3'de Listeria seeligeri bakterisine rastlanıldı. Kimyasal analiz sonucuna göre ise ortalama rutubet miktarı % 38.75, tuz % 4.36, kül % 5.39, protein % 21.92, yağ % 35.22 ve pH: 5.18 olarak bulundu. Sonuç olarak incelenen sucuk örneklerinin TS 1070 standardına göre uygun kalitede olmadıkları ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturduğu saptandı.

Anahtar kelimeler: : Sucuk, mikrobiyolojik, kimyasal, kalite.

Microbiological and Chemical Quality of Sausages Marketed in Elazığ

Abstract:

In this study we investigated microbiological and chemical quality of 100 sausages sold in Elazığ. The mean counts were found 8.75 log cfu/g for total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), 1.32 log cfu/g for total coliform bacteria, 3.08 log cfu/g for mold-yeast, 3.99 log cfu/g for Staphylococcus-Micrococcus, 8.56 log cfu/g for lactic acid bacteria and 1.94 log cfu/g for *C. perfringens* was detected. It was found that 15 % *E. coli*, 10 % Staphylococcus aureus, 3 % Salmonella spp., 4 % Listeria monocytogenes, 2 % Listeria welshimeri and %3 Listeria seeligeri were detected in samples analyzed. The average values of the chemical parameters were 38.75 % for moisture, 4.36 % for salt, 5.39 for ash, 21.92 % for protein, 35.22 % for fat and 5.18 for pH.

As a result, sausage samples investigated had a potential hazard for public health, and did not have the desired quality according to TS (Turkish Standards) 1070.

Key words: : Sausage, microbiological, chemical, quality

Giriş

Beslenme, insanın büyümesi, gelişmesi, sağlıklı ve üretken olarak yaşaması için gerekli olan besin öğelerinin vücuda alınması ve kullanılabilmesidir (2). Sağlığın korunmasında ve hastalıkların önlenmesinde yeterli ve dengeli beslenme esastır. Yeterli ve dengeli bir beslenme için günde her kg vücut ağırlığı için en az 0,8 g ham protein tüketilmesi ve bu protein miktarının 1/3'ünün hayvansal kaynaklı olması önerilmektedir. Et ve et ürünleri; yüksek kalitede ve miktardaki proteini, demir, çinko, fosfor, magnezyum gibi mineral maddeleri, B1, B6 ve B12 vitaminlerini, elzem yağ asitlerini ve ω -3 ve ω -6 yağ asitlerini yeterli miktarda içermesi nedeniyle dengeli ve yeterli beslenme için ideal bir gıda maddesidir (2, 15, 17, 32).

İnsanoğlunun çok eski çağlardan beridir beslenmesinde etin ve et ürünlerinin önemi oldukça büyüktür. Bu ürünler içerisinde önemli bir yere sahip olan ve miktar olarak da en fazla üretileni fermente sucuktur. Dünya çapında 1000 çeşide yakın et ürünü olmakla birlikte damak zevkimize yatkınlığından dolayı ülkemizde üretimi ve tüketimi en fazla olan et mamülünün fermente sucuk olduğu bildirilmiştir (16,37). Et ürünleri üretim teknolojileri nedeniyle taze ete göre daha az su ve daha fazla protein içerdiklerinden ayrıca baharat ve çeşitli katkılarla özel bir çeşni kazandırıldığından, daha uzun raf ömrüne sahip olduklarından dolayı taze ete kıyasla daha fazla tercih edilmektedir.

Fermente sucuklar çiğ ve çekilmiş et ile yağın; tuz, baharat ve az miktarda da katkı maddeleriyle karıştırılıp bağırsaklara doldurulması, belli ısı, hava akımı ve rutubet derecesinde olgunlaştırılarak kurutulmasıyla elde edilen bir et ürünüdür (49). Sucuklar, organoleptik özelliklerinin, bileşimlerinin, yapım teknolojilerinin ve ambalaj şekillerinin çok farklı olması nedeniyle büyük bir çeşitlilik göstermektedir (24). Ülkemizde üretim ve tüketimde ilk sırada yer alan sucuk ve sosisler halen ilkel bir teknolojiyle çoğunlukla hijyenik kalitesi düşük et ve katkı maddeleri kullanılarak denetim ve hijyen koşullarından yoksun olarak hazırlanmakta, olgunlaştırma şartlarına uyulmadan ve olgunlaştırma süresi tamamlanmadan tüketime sunulmakta ya da uygun olmayan şartlarda muhafaza edilmektedir (14,19,30,35,48).

Türk standartları enstitüsü TS 1070 fermente sucuk standardına (46) göre incelenen her beş örnekte toplam mezofilik aerob bakteri sayısının örneklerin üçünde 105 kob/g'ı ikisinde 106 kob/g'ı ; *S. aureus* sayısı için üç örnekte 10 kob/g iki örnekte 102 kob/g'ı; maya ve küf sayısı için örneklerin tümünde 102 kob/g'ı ve koliform grubu bakterilerin 10 kob/g'ı geçmemesi gerektiği ön görülmektedir.

Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği'nde (42) ise; maya ve küf sayısının incelenen beş örnekten üçünde 10 kob/g'ı, ikisinde ise 102 kob/g'ı; *S. aureus*'un her beş örnekten birinde 5x103 kob/g'ı, dördünde 5x102 kob/g'ı geçmemesi gerektiği bildirilmektedir.

Aydın ilinde yapılan bir çalışmada (29); incelenen 100 sucuk örneğinin 16 tanesinde (% 16) *E.coli*, 12 tanesinde (% 12) *S.aureus*, 5 tanesinde (% 5) *Salmonella* spp, 4 tanesinde (% 4) *Listeria monocytogenes*, 7 tanesinde (% 7) *Listeria innocua*, 3 tanesinde ise (% 3) *Listeria welshimeri* izole ve identifiye edilmiştir. Yine Kahramanmaraş ilinde yapılan bir çalışmada (11) incelenen 60 adet sucuk örneğinde nem miktan % 10.3-30.71, tuz oranı % 2.30-5.23, pH değeri 4,76-5,75, protein oranı % 20.6-25.12, toplam mezofilik aerob bakteri sayısı 3.2 x 107 kob/g, küf-maya sayısı 7.0 x 105 kob/g olarak bulunmuştur. Ülkemizin çeşitli bölgelerinde fermente sucukların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerini araştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda, üretimde teknolojik ve hijyenik kurallara uyulmadığı saptanmıştır (5,7,9,11,16,20,31).

Bu araştırma, Elazığ ilinde tüketime sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın materyalini oluşturan fermente sucuk örnekleri 1 Eylül 2010 ile 1 Ocak 2011 tarihleri arasında Elazığ'da kapalı çarşıda, değişik marketlerden ve kasaplardan temin edildi. Bu amaçla 100 adet fermente sucuk örneği incelendi. Örnekler en kısa süre içerisinde laboratuara getirildi ve analizleri yapılınca kadar 4 ± 1 °C'de saklandı. Mikrobiyolojik analizler için, sucuk örnekleri bir parçalayıcının (Stomacher 400) özel torbasında 10g tartıldı ve üzerine steril ¼ pepton water çözeltisinden 90 ml ilave edilerek parçalayıcıda homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10-1 (1/10) lik dilüsyonu hazırlandı. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin 10-6'ya kadar diğer seyreltileri yapıldı. Örneklerin her seyreltisinden 1'er ml kullanılarak çift seri halinde dökme plak metoduyla ekimleri yapıldı ve inkübasyon süresi sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi (1,21).

Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayısı: Plate Count Agar (Oxoid CM 325) besi yeri kullanıldı. Hazırlanan dilusyonlardan plak dökme yöntemiyle ekimler yapıldı. Petri kutuları 30 ± 1 °C'de 3 gün inkübe edildi. Inkübasyon sonunda 30-300 arasında koloni içeren kültürler değerlendirmeye alındı (23).

Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı: Violet Red Bile Agar (Difco B12) besi yeri kullanıldı. 30 ± 1 °C'de 24 saat inkübe edilerek oluşan tipik koloniler sayıldı (23). *Escherichia coli* İzolasyonu : Etkenin izolasyonu için Tryptone Bile X-Glucuronide Medium (TBX) (Oxoid CM 945) besiyeri kullanıldı. Hazırlanan 10-1 seyreltiden ekim yapılarak 30 °C'de 4 saat, daha sonra 44 °C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı (12).

Maya ve Küflerin Sayımı: Potato Dextrose Agar (Difco B 13) besi yeri kullanıldı. Hazırlanan seyreltilerden plak dökme yöntemiyle ekimler yapıldı. Petriler 22 ± 1 °C'de 5 gün inkübe edildi (23).

Staphylococcus-Micrococcus Sayımı: Baird Parker (BP) agar (Oxoid, CM 275) besi yeri kullanıldı. Hazırlanan seyreltilerden petrilere ekim yapılarak, 37 ± 1 °C'de 2 gün inkübe edildikten sonra değerlendirildi (23).

Koagulaz Pozitif *Staphylococcus aureus*'ün Saptanması: Koagulaz stafilkok sayımı için Baird Parker (BP) agar (Oxoid, CM 275) besi yeri kullanılmıştır. Ekim sonrası petri plakları 36 ± 1 °C'de 30 saat inkübasyona bırakıldı. Inkübasyondan sonra petrilere üreyen etrafı açık renkli bir alanla çevrili siyah renkli tipik görüntüye sahip koloniler ile atipik kolonilerden 5 tanesi seçilerek koagulaz testi uygulandı. Koagulaz test sonucu pozitif olan kolonilerin sayısı şüpheli kolonilerin sayısıyla çarpılıp, 5'e bölünerek koagulaz pozitif *Staphylococcus aureus*'ün sayısı belirlendi (23).

Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı: Laktik asit bakterilerinin sayımında de Man Rogosa Sharpe Agar (MRS - Oxoid, CM361) besi yeri kullanıldı. Plaklar 37°C'de 48 saat inkübasyon sonucunda değerlendirildi (1).

Sülfat İndirgeyen Anaerobların Sayımı: Bunun için Sülfat Polymyxin Sulfadiazin (SPS) agar kullanılarak "rol tüp" tekniği ile 37 °C'de 24 saat inkübasyondan sonra oluşan siyah koloniler sayılarak değerlendirildi (Anonim 1). *C. perfringens*'in sayısının tesbiti için bu kolonilerden rastgele seçilen 5 tanesi % 0.3 agarlı nitratlı peptonlu suya inoküle edilerek tüpler anaerobik koşullarda 37 °C'de 24 saat inkübe edildi ve daha sonra pozitif tüpler değerlendirildi. *C. perfringens*'in sayısı; pozitif tüplerin sayısının 5'e bölünmesinden elde edilen sayının, sülfat indirgeyen mikroorganizmaların sayısı ile çarpılarak bulundu (21).

Salmonella spp.'lerin İzolasyonu: Ön zenginleştirme aşamasında, 25 g numune 225 ml tamponlanmış peptonlu suda (TPS) homojenize edilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Selektif zenginleştirme aşamasında ise Rappaport Vassiliadis (RV) broth'a (Oxoid, CM 669) 0.1 ml TPS'den geçilerek 42 °C'de 24-48 saat inkübe edildi. RV broth'dan Brilliant Green Agar (BG agar) (Oxoid, CM 263)'a ekim yapıldı ve 37 °C'de 20-24 saat inkübe edildi. BG agar'da etrafı parlak kırmızı zone ile çevrili pembe-kırmızı renkli koloniler, *Salmonella* şüpheli olarak değerlendirildi. *Salmonella* şüpheli kolonilerden Triple Sugar Iron Agar (TSIA) (Oxoid, CM 277) ve Lysine Iron Agar (LIA) (Oxoid, CM 381) biyokimyasal test besi yerlerine ekimler yapılarak, 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

Kimyasal Analizler

Sucuk örneklerinin yağ miktarı TS 1744' göre (45), pH değeri TS 3136'ya göre (43), protein miktarı TS 1748'e göre (39), tuz tayini TS 1747'e göre (40), kül oranı TS 1746'ya göre (41) ve rutubet oranı ise TS 1743'göre (42) yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen verilere ait tanıttıcı istatistikler ve veriler arasındaki korelasyonlar, SPSS for Windows paket programı (Versiyon 14) kullanılarak yapıldı (13).

BULGULAR VE TARTIŞMA

İncelenen toplam 90 adet sucuk örneklerine ait mikrobiyolojik analiz bulguları Tablo 1-3 arasında, kimyasal analiz bulguları ise Tablo 4-9 arasındaki tablolarda gösterilmiştir.

Ülkemizde modern teknolojiyi kullanan entegre et tesisleri yanında ilkel koşullarda ve bilimsellikten uzak bilgilerle sucuk üretimi yapan çok sayıda işletme bulunmaktadır. Yetersiz teknoloji ve hijyen kurallarına uymadan standart ve kaliteli sucuk üretimi yapmak her zaman mümkün değildir. Ürünlerin, olgunlaşması tamamlanmadan tüketime sunulması da kaliteyi olumsuz yönde etkilemekte ve halk sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, Elazığ'da kapalı çarşıdan, değişik marketlerden ve kasaplardan temin edilen 90 adet fermente sucuk örneği alınarak mikrobiyolojik ve kimyasal kalite yönünden incelendi. Toplam mezofilik aerob bakteri sayısı en az 7.48 log₁₀ kob/g, en çok 9.90 log₁₀ kob/g ve ortalama olarak ise 8.75 log₁₀ kob/g düzeyinde bulundu (Tablo 1). Bu çalışmada elde edilen ortalama değer bazı araştırmacıların (11,18,29,31,33) buldukları değerlerden (4.20 – 8.51 log₁₀kob/g) düşük, ancak araştırmacıların buldukları değerlerle ise uyum içerisindedir. Hijyenik şartlarda elde edilen fermente sucuklarda toplam mezofilik aerob bakteri sayısının 1.0x10⁶ kob/g'in altında olması gerekmektedir (24). Buna göre incelenen 100 adet fermente sucuk örneğinin tamamının (% 100) kriterlere uymadığı görüldü (Tablo 3). Ancak son yıllarda fermente sucuklarda kaliteyi geliştirmek ve standart sucuk elde etmek amacıyla starter kültür kullanılmaya başlanmış dolayısıyla olgunlaşmış fermente sucuklarda starter kültürün belli oranlarda bulunmasının toplam mezofilik aerob bakteri sayısını etkileyeceğini bildirilmiştir (17,31). Örneklerde toplam mezofilik aerob bakteri sayısının geniş sınırlar içerisinde bir dağılım göstermesi standart bir üretim olmamasına, ham maddenin kalitesine ve yetersiz olgunlaşmaya bağlanabilir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre ise toplam mezofilik aerob bakteri sayısı ile pH değeri ve rutubet miktarı arasında orta derecede (r: -0.45 ve r: 0.58) bir korelasyon olduğu tespit edildi.

Hijyen indikatörü mikroorganizmaların özellikle koliform grubu mikroorganizmaların sucuklarda belirli düzeyin üzerinde bulunması, sucukların tam olgunlaşmadığı veya hatalı olgunlaştığı, üretimde kullanılan ham maddenin hijyenik koşullarda temin edilmediği ve üretim sırasında kontaminasyonlar olduğunun göstergesi olarak kabul edilmektedir (33). İncelenen sucuk örneklerindeki koliform bakteri sayısı en az 1.10 log₁₀ kob/g, en çok 2.96 log₁₀ kob/g ve ortalama olarak ise 1.32 log₁₀ kob/g düzeyinde bulundu (Tablo 1). Genel olarak bakıldığında incelenen fermente sucuk örneklerinin % 78'nin TSE 1070 (46) sucuk standardında belirtilen değerlere uygun olduğu görüldü (Tablo 3). Bu değer Kök ve ark.'nın (29) buldukları 1.62 log₁₀ kob/g, Aytekin'in bulduğu (5) 2.9x10³ kob/g ve Gökalp ve ark.'nın (17) buldukları 7.7x10⁶ kob/g değerlerinden oldukça düşüktür.

Fermente sucuk örneklerinin % 15'inde E.coli saptandı (Tablo 2). Bu oranın Erdoğan ve ark.'nın (11) buldukları % 15 oranı ile Kök ve ark.'nın (29) buldukları % 16 oranıyla uyum içerisinde olduğu tespit edildi. Sucuk örneklerinde E. coli bulunması hijyen eksikliğinin önemli bir işaretidir. TSE 1070 (46) sucuk standardına göre E. coli bulunmamalıdır.

Maya ve küf sayısı en az 1.04 log₁₀ kob/g, en çok 5.49 log₁₀ kob/g ve ortalama olarak ise 3.08 log₁₀ kob/g düzeyinde bulundu (Tablo 1). Genel olarak bakıldığı zaman incelenen örneklerin 23 tanesinin (% 23) TSE 1070 (46) sucuk standardına uygun olduğu görüldü (Tablo 3). Elde edilen bu değer bazı araştırmacıların (7,11,33,48) buldukları değerlerden oldukça düşüktür. Fakat Kök ve ark.'nın (29) buldukları 3.00 log₁₀ kob/g sayısı uyum içerisinde. Bu grup mikroorganizmalar daha düşük su aktivite (0.85 ve üzer) ve geniş pH (pH: 2 – 9) değerlerinde ve uygun depolama sıcaklığında (10 – 35oC) çoğalabilmeleri nedeniyle sucuk gibi fermente ve yarı-kuru gıdalarda oldukça önem taşımaktadırlar. Bazı küf türleri bulaştıkları gıda maddelerinde gelişerek salgıladıkları toksik metabolitler, mikotoksinler nedeniyle, gıda maddelerinin tüketilmesi durumunda ölümlü sonuçlanabilen zehirlenmelere yol açmaktadırlar (11,47).

Staphylococcus- Micrococcus sayısı en az 2.78 log₁₀ kob/g, en çok 5.56 log₁₀ kob/g ve ortalama olarak ise 3.99 log₁₀ kob/g düzeyinde bulundu (Tablo 1). Genel olarak dağılımına bakıldığında incelenen 46 (% 46) sucuk örneğinin 1.0x10²-9.9x10² kob/g arasında olduğu, 21 (% 21) tanesinin ise >1.0x10⁵ 'den yüksek sayıda bu grup bakteriyi içerdiği tespit edildi (Tablo 3). Elde edilen bu değerler Kök ve ark.'nın (29) buldukları 3.95 log₁₀ kob/g değeriyle uyum içerisinde. Bu grup mikroorganizmaların sayısının yüksek çıkması bazı türlerin starter kültür olarak işlev yapmasından kaynaklanabilir (19).

S. aureus özellikle pH değeri 4.2'nin üstünde olan fermente et ürünlerinde bulunabilme şansı yüksek olan bir bakteri türüdür (7). İncelenen fermente sucuk örneklerinin 10 (% 10) tanesinde koagülaz pozitif *S. aureus* bakterisine rastlanıldı. Bu değer Kök ve ark.'nın (29) buldukları (100 adet sucuk örneğinden 12'si pozitif) değeriyle uyum içerisinde. Ancak, bu sonuç Sancak ve ark.'nın (33) buldukları değerden (% 16) oldukça düşüktür. Bu bakteri et ve et ürünleri içerisinde gıda zehirlenmelerine neden olan önemli patojen bakterilerden biridir (14).

Laktik asit bakteri sayısı en az 6.48 log₁₀ kob/g, en çok 9.96 log₁₀ kob/g ve ortalama olarak ise 8.56 log₁₀ kob/g düzeyinde bulundu (Tablo 1). Genel olarak değerlendirildiğinde örneklerin tamamında (% 100) bu grup bakteri sayısının >1.0x10⁵ kob/g'ın üzerinde olduğu saptandı (Tablo 3). Elde edilen bu değerler Çon ve Gökalp'in (9) buldukları ortalama 8.66 log₁₀ kob/g değeriyle uyum içerisinde. Bu değer İnal (24) tarafından önerilen laktik asit bakteri sayısının (LAB) toplam mezofilik aerob bakteri sayısını aşması gerektiğini önerdiği sayının (6 log₁₀ kob/g) oldukça üzerindedir. İstatistiksel analiz sonucunda laktik asit bakteri sayısı ile pH değeri arasında negatif yönde zayıf derecede (r:-0.24) bir korelasyonun varlığı tespit edildi.

Gıda kaynaklı *C. perfringens* zehirlenmelerinde proteinli gıdalar özellikle et ve etli yemekler ile soslar önem arz etmektedir (42,46). *C. perfringens* sayısı en az < 1.00 log₁₀ kob/g, en çok 2.70 log₁₀ kob/g ve ortalama olarak ise 1.94 log₁₀ kob/g düzeyinde bulundu (Tablo 1). Genel olarak bakıldığında ise incelenen sucuk örneklerinin 58 (% 58) tanesinin 0.1x10¹-9.9x10¹ kob/g arasında ve 39 (% 39) tanesinde ise sayının tespit edilebilir (<0.1x10¹ kob/g) seviyenin altında olduğu görüldü (Tablo 3). Dolayısıyla incelenen tüm örneklerin (100 adet) 61 (% 61) tanesinde bu grup bakteriye rastlanıldı. *C. perfringens* nedenli gıda zehirlenmeleri için minimum enfeksiyon dozu 1x10⁶ kob/g düzeyinde (42,46) olması gerektiğinden dolayı incelenen pozitif örneklerin gıda zehirlenmesi riski taşımadığı saptandı. Elde edilen bu sonuçların Sancak ve ark.'nın (33) buldukları sonuçlardan (ortalama 1.7x10³ kob/g) oldukça düşük seviye oldukları görüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda *C. perfringens* ile pH değeri arasında negatif yönde orta derecede (r:-0.45) bir korelasyonun varlığı belirlendi.

İncelenen fermente sucuk örneklerinin 3 (% 3) tanesinde *Salmonella* spp.'ne rastlanıldı. Bu durum Kök ve ark.'nın (29) buldukları % 2 değeriyle uyum içerisinde. Ancak inceledikleri sucuk örneklerinin hiç birinde bu grup bakteriyi tespit etmeyen bazı araştırmacıların (18,33) sonuçlarından farklıdır. Bu sonuç işletmede ve etin kendisinde barsak kökenli bir bulaşma olabileceğini dolayısıyla tüm üretim zincirinde hijyenik kalitenin eksik olduğunu göstermektedir.

Listeria türleri çevrede, toprakta, suda, kötü kaliteli silajlarda yaygın olmasından dolayı buradan hayvanlara ve hayvanların dışkıları, kan ve sütleri ile tekrar çevreye bulaşmakta ve sonuçta iyi bir sanitasyonun uygulanmadığı durumlarda gıda maddelerinin üretimi, taşınması ve tüketimi sırasında ürünler kontamine olmaktadır (4,38). Listeria cinsinde *L.monocytogenes* dışında, *L.ivanovii*, *L.innocua*, *L.welchimeri*, *L.seeligeri*, *L.grayi*, *L.denitrifikans* ve *L.murrayi* türleri de bulunmaktadır ve tüm Listeria türlerinin et ve et ürünlerini değişik oranlarda kontamine ettiği bilinmektedir (5,28). İncelenen sucuk örneklerinin 4 (% 4) tanesinde Listeria monocytogenes, 2 (% 2) tanesinde Listeria welchimeri ve 3 (% 3) tanesinde ise Listeria seeligeri bakterisine rastlanıldı. Elde edilen sonuçlar Kök ve ark.'nın (29) buldukları sonuçlarla uyum içerisindedir. Çiftçiöğlu (6) incelediği 100 adet sucuk örneğinin % 2.9'da, Schmidt ve ark. (34) ise % 3'de Listeria seeligeri bakterisine rastlamıştır. Bu sonuç bizim bulgularımızla uyum içerisindedir. Yapılan birçok araştırmada, sucuğun hammaddesini oluşturan kıymanın yaygın olarak *L. monocytogenes* içerdiği bildirilmiştir (6,20,35,36). Çon ve ark. (8); inceledikleri sucuk örneklerinin % 23.3'ünde, Kaya ve Gökalp (25); % 18'inde, Güven (20); % 7.5'inde Listeria spp. rastladığını bildirmişlerdir.

İncelenen fermente sucuk örneklerinde rutubet miktarı en az % 25.97, en çok % 66.61 ve ortalama olarak ise % 38.75 oranında bulundu (Tablo 4). Bu değer Sancak ve ark.'nın (33) buldukları ortalama % 38.57 değeriyle uyum içerisindedir. TS 1070 ve GMT'ye göre fermente sucuk örneklerinde % rutubet miktarı % 40 aşmamalıdır (26,46). Genel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde % 68'nin TS ve GMT'ye uygun olmadığı görüldü (Tablo 5). Bu sonuç Sancak ve ark.'nın (33) bulgularıyla (% 66) uyum içerisinden bazı araştırmacıların bulgularından (% 10 - % 30.76) oldukça yüksektir (9,11,27). Araştırmada elde edilen yüksek su oranları ülkemizde sucukların yeterince olgunlaşmadan piyasaya sürüldüğünü göstermektedir. Bu durum tüketicinin ekonomik kaybına neden olduğu gibi aynı zamanda sucukların raf ömrünün kısa olmasında da en önemli etken olarak gözükmektedir.

Sucukta tat ve aroma üzerine tuzun etkisi çok önemlidir. Lezzetin yanı sıra sucuğun kıvam kazanmasında da tuzun etkisi bulunmaktadır. Ayrıca tuz, sucukta su aktivitesini düşürerek bakterilerin gelişmesini engellemektedir (50). Tuz miktarları en az % 1.63, en çok % 6.41 ve ortalama olarak ise % 4.36 olarak bulundu (Tablo 4). Elde edilen bu değerler Sancak ve ark.'nın (33) buldukları ortalama % 4.12 değeriyle uyum içerisindedir. Ancak, Erdoğan ve Ergün'ün (11) buldukları ortalama % 3.01 değerinden yüksektir. TS 1070'e (46) göre sucuk örneklerinde bulunması gereken en fazla tuz miktarı % 5'dir. Buna göre genel olarak değerlendirildiğinde incelenen örneklerin % 16'sının bu değerleri aştığı saptandı (Tablo 6). Bu değer Sancak ve ark.'nın (33) tespit ettikleri değerle (% 14'ü uymuyor) uyum içerisindedir. Ancak inceledikleri sucuk örneklerinin tuz miktarları bakımından tamamının (% 100) standarda uygun olduğunu söyleyen Erdoğan ve Ergün'ün (11) sonuçlarından farklılık arz etmektedir.

Kül miktarı en az % 1.70, en çok % 8.85 ve ortalama olarak ise % 5.39 olarak tespit edildi (Tablo 4). Genel olarak bakıldığında örneklerin % 45'nin 5.0 > değerinden fazla kül içerdiği görüldü (Tablo 6). Bu sonuç Erdoğan ve Ergün'ün (11) buldukları ortalama % 5.20 değeriyle uyum içerisindedir. Ancak, Sancak ve ark.'nın (33) buldukları ortalama % 3.99 değerinden yüksektir.

Numunelerin protein miktarları en az % 14.00, en çok % 27.90 ve ortalama olarak ise % 21.92 olarak saptandı (Tablo 4). Bu değerler Erdoğan ve Ergün'ün (11) buldukları ortalama % 22.48 değeriyle uyum içerisindedir. Ancak, Sancak ve ark.'nın (33) buldukları ortalama % 16.43 değerinden yüksektir. TS 1070 (46) sucuk standardına göre I.sınıf sucuklardaki protein oranı en az % 22, II. sınıf ve III. sınıf sucuklardaki protein oranları ise en az % 20 olmalıdır. Buna göre bakıldığında incelenen sucuk örneklerinin % 63'ü I.sınıf, % 37'si ise II.sınıf ve III.sınıf sucuk grubuna dahil olmaktadır. Bu sonuç Erdoğan ve Ergün'ün (11) buldukları % 66.6'sı I.sınıf sonucuyla uyum içerisindedir. Ancak, Sancak ve ark.'nın (33) tespit ettikleri % 16.43'ü I.sınıf sonucundan oldukça yüksektir.

İncelenen örneklerdeki yağ miktarları en az % 26.10, en çok % 39.22 ve ortalama olarak ise % 35.22 değerlerinde bulundu (Tablo 4). Bu değerler Sancak ve ark.'nın (33) buldukları ortalama % 36.13 değeriyle uyum içerisinde, Çon ve ark.'nın (9) buldukları % 34.41 değerinden yüksektir. Ayrıca, Erdoğan ve Ergün'ün (11) buldukları ortalama % 39.20 değeriyle ve Kolsancı ve ark.'nın (27) buldukları % 37.15 değerinden düşüktür. TS 1070 (46) sucuk standardına göre I.sınıf sucuklardaki yağ oranı en çok % 35, II.sınıf ve III.sınıf sucuklarda ise en çok % 40 olmalıdır. Genel olarak bakıldığında ise incelenen örneklerin % 63'nün I.sınıf, % 37'sinin ise II.sınıf ve III.sınıf gruba dahil olduğu görülmektedir (Tablo 9).

pH değerleri sucukta renk, yapı, lezzet ve dayanıklılık üzerine etkili faktörlerden biridir. İncelenen sucuk örneklerinde pH değerleri en az 4.75, en çok 6.76 ve ortalama olarak ise 5.18 değerinde bulundu (Tablo 4). Bu değer Çon ve ark.'nın (8) buldukları ortalama 4.95 değerinden yüksektir. Ancak, Sancak ve ark.'nın (33) buldukları ortalama 5.50 değeri ve Erdoğan ve Ergün'ün (11) buldukları 5.40 değerinden düşüktür. TS 1070 standardına göre (46) sucuk örneklerinde olması gereken pH değeri 4.7 – 5.4'dür. Buna göre bakıldığında incelenen örneklerin % 29'nun standartlara uymadığı görüldü (Tablo 7). Elde edilen sonuçlar Sancak ve ark.'nın (33) sonucuya (% 26) uyum içerisinde ancak Erdoğan ve Ergün'ün (11) sonucundan (% 10) ise oldukça yüksektir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak incelenen fermente sucuk örneklerinin % 15'de E.coli, % 10'da Staphylococcus aureus, % 3'de Salmonella spp., % 4'de Listeria monocytogenes, % 2'de Listeria welshimeri ve % 3'de Listeria seeligeri bakterisine rastlanılmasından dolayı halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike arz edebilecekleri saptandı. Bundan dolayı "çiftlikten sofraya gıda güvenliği" konseptine uygunluk sağlanması için üretimden tüketime kadar olan tüm zincirde gerekli olan HACCP ve GMP kurallarının uygulanması ve ilkel yöntemlerle sucuk üreten işletmelerin kontrol altına alınarak modern teknolojiyi kullanan üretim yerlerine dönüştürülmesi sağlanmalıdır.

KAYNAKÇA

1. American Public Health Association (1995). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. - 15th ed.
2. Anonim. (2004). Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı. Erişim tarihi. 13.04.2011.
3. Aytekin, H. (1986). Konya'da üretilen ve Konya piyasasında satılan sucukların bazı mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri üzerinde araştırma. Etlik Vet. Mikrob. Enst. Derg, 5 (10) 10-12.
4. Bracket, R.E.(1988). Presence and Persistence of L. monocytogenes in Food and Water. Food Technol, 4, 162-164.
5. Cengiz, AT. (1999). Listeria ve Erysipelothrix, Bölüm 6, alındı: Ustaçelebi Ş, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1.baskı, Güneş Kitabevi Ltd Şti, Ankara.
6. Çiftçioglu, G. (1992). Kıyma, sucuk ve tavuk etlerinde, Listeria monocytogenes'in mevcudiyeti üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
7. Çon, AH., Doğu, M., and Gökalp, HY. (2002). Periodical determination of some microbiological characteristics of sucuk samples produced at some big meat plants in the city of Afyon. Türk J. Vet. Anim. Sci, 26: 11-16.

8. Çon, A.H., Kaya, M., ve Gökarp, H.Y. (1993). Sucuklardan *Listeria monocytogenes* ve diğer *Listeria* türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu, KÜKEM Derg, 16 (2): 78-80.
9. Çon, A.H. ve Gökarp H.Y. (1998). Türkiye pazarındaki sucukların bazı kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri. Gıda. 23 (5), 347-355.
10. Dever FP, Schaffner DW and Slade PJ. (1993). Methods for the detection of foodborn *Listeria monocytogenes* in the U. S. J. Food Safety, 13, 263-292.
11. Erdoğan Ö. ve Ergün Ö. (2005). Kahramanmaraş piyasasında tüketilen sucukların bazı fiziksel, kimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özellikleri, İstanbul Üniv. Veteriner Fakültesi Dergisi, 31(1), 55-65.
12. FAO. (1992). Manual of Food Quality Control. 4. Rev. 1. "Microbiological Analysis". Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, pp 43-56.
13. Fowler, J. and Cohen L. (1992). Practical Statistics for Field Biology. Chichester: John Wiley and Sons Ltd
14. Frazier, W.C. and Westhoff, D.C. (1988). Food Microbiology. 4th Ed McGraw-Hill, New York.
15. Göğüş, K.A. (1986). Et teknolojisi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fak. Yayınları No: 991 Ankara
16. Gökarp H.Y., Yetim H., Kaya M. and Ockerman H.W. (1988). Saprophytic and pathogenic bacteria levels in Turkish souse manufactured in Erzurum, Turkey. J. Food Protection. 51, 121-125.
17. Gökarp, H.Y., Kaya, M. ve Zorba, Ö. (2002). Et ürünleri işleme mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Yayın No: 786. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi. 561s., Erzurum.
18. Günsen, U., Büyükyörük, İ., Arlı, V. (2001). Bursa İli Askeri Birliklerinde Tüketilen Sucuk, Salam ve Sosislerin Mikrobiyolojik Kaliteleri. Pendik Vet. Mikrobiol. Derg, 32(1-2), 37-41.
19. Gürakan, G.C., Bozoğlu, T.F. and Wiess N. (1995). Identification of *Lactobacillus starins* from Turkish-style dry fermented sausage. Lebensmittel-Wissenschaft Unter-Technology, 28- 139.
20. Güven, A. (1994). Elazığ ilinde tüketime sunulan et ve bazı et ürünlerinde *Listeria* türlerinin araştırılması. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Elazığ.
21. Harrigan W.F. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology, 3rd Edition, London: Academic Press.
22. <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM071400> April 2011

23. ICMSF. (1982). International commission on microbiological specifications for foods. Microorganism in Foods 1. Their Significance and Methods of Enumeration, Univ. to Toronto Press., London.
24. İnal, T. (1992). Besin Hijyeni, Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset, İstanbul, sayfa: 121-314.
25. Kaya, M., ve Gökalp, H.Y. (1991). Bazı et ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in aranması, karakterizasyonu ve kontrolü üzerine araştırmalar. Bursa II. uluslararası gıda sempozyumu, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü, Bursa, 168-178,
26. Keskin, H.(1982). Besin Kimyası Cilt II. Fatih Yayınevi ve Matbaası. İstanbul.4.baskı.s.458.
27. Kolsarıcı, N., Ertaş, A.H., Şahin, M.E. (1986). Afyon, Ankara ve Aydın Yöresi Sucukların Bileşimi Üzerine Araştırma, Gıda, 11 (1) 34-39.
28. Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., and Winn, W.C. (1997). Antimicrobial susceptibility testing, In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic. Microbiology, 5th edition, Lippincott, New York, 1997.
29. Kök, F., Özbey, G., Muz, A. (2007). Aydın İlinde Satışa Sunulan Fermente Sucukların Mikrobiyolojik Kalitelerinin İncelenmesi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 21 (6), 249-252.
30. MacGovan, A.P., Bowker, McLauchlin J., Bennett, P.M. and Reeves, D.S. (1994). The occurrence and seasonal changes in the isolation of *Listeria* spp. in shop bought food stuffs, human faeces, sewage, and soil from urban sources. Inter. J. of Food Microbiol, 21:325-334.
31. Nazlı, B., Uğur, M. ve Akol, N. (1986). İstanbul piyasasında tüketime sunulan sucuk, salam ve sosislerin mikrobiyolojik kaliteleri üzerine araştırmalar. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg, 12 (2), 1-10.
32. Öztan, A. (1993). Et bilimi ve teknolojisi, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayın No: 19, Ankara.
33. Sancak, Y.C., Kayaardı, S., Sagun, E., İşleyici, Ö., Sancak, H. (1996). Van'da tüketime sunulan fermente Türk sucuklarının Fiziksel, Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Organoleptik Niteliklerinin İncelenmesi, Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg, 7(1-2), 67-73.
34. Schmidt, U., Seeliger, H.P.R., Glenn, E., Langer, B. und Leistner, L.(1988). Listerienfunde In Rohen Fleischerzeugnissen. Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kumbach, 101, 8080-8087.
35. Sharif, A. and Tunall, N. (1995). Detection of *Listeria monocytogenes* in foods of animal origin. J. Vet. and Animal Science. 19, 329-334.
36. Sireli, T. ve Erol, İ. (1999). Hazır kıymalarda *Listeria* türlerinin araştırılması, Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi, 23, 373-80.
37. Tekinşen, O.C., Dincer, B., Kaymaz, S. and Yucel, A. (1982). Türk sucuğunun olgunlaşması sırasında mikrobiyel flora ve organoleptik nitelikleri üzerinde değişimler. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg, 29 (1-2), 111-130.

38. Terplan, G.(1989). Listerialar, Gıda Maddelerinde Bulunusu ve Sağlık Yönünden Önemi. Mikroorganizmalar ile Gıda Teknolojisi ve Gıda Hijyeni Arasındaki İlişkiye Bir Örnek. Listeria. Seminer, İstanbul Üniv. Vet. Fak. İstanbul.
39. Türk Standartları Enstitüsü.(1974). TS 1748: Et ve Et Mamulleri Azot Miktarının Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
40. Türk Standartları Enstitüsü. (1974). TS 1747. Et ve Et Mamulleri Klorür Miktarı Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
41. Türk Standartları Enstitüsü. (1974). TS 1746: Et ve Et Mamulleri Kül Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
42. Türk Gıda Kodeksi. (2000). Et Ürünleri Tebliği. Resmi Gazete, 23960, Tebliğ No:2000/4, Başbakanlık Basımevi, Ankara.
43. Türk Standartları Enstitüsü. (1978). TS 3136: Et ve Et Mamullerinde pH Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
44. Türk Standartları Enstitüsü. (1974). TS 1743: Et ve Et Mamulleri Rutubet Miktarı Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
45. Türk Standartları Enstitüsü. (1974). TS 1744: Et ve Et Mamulleri Yağ Miktarı Tayini, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
46. Türk Standartları Enstitüsü. (2002). Türk Sucuğu, TS:1070. Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
47. Ünlütürk, A., Turantas, F. (1999). Gıda Mikrobiyolojisi. 2. Baskı, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı, İzmir.
48. Yaman, A., Gokalp ,H.Y. and Çon, A.H. (1998). Some characteristics of lactic acid bacteria present in commercial sucuk samples. Journal of Meat Science, 49 (4), 387-397.
49. Yıldırım, Y. (1992). Et Endüstrisi, Uludağ Ü.Vet.Fak.Yayınları 3.Baskı Yıldırım basımevi, Ankara. 447-479.
50. Yu, LS. and Fung, DYC. (1991). Evaluation of FDA and USDA procedures for enumerating *Listeria monocytogenes* in ground beef. Food Microbiol, 8, 69-74.

Tablo 1. Fermente Sucuk Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Bulguları (log10 kob/g).

Mikroorganizma	Ortalama ($\bar{x} \pm Sx$)	En az	En çok
Top. Mez.Aerob	8.75 $\pm$ 0.67	7.48	9.90
Koliform	1.32 $\pm$ 1.08	1.10	2.96
Maya-Küf	3.08 $\pm$ 0.91	1.04	5.49
<i>Staphy.- Micrococ.</i>	3.99 $\pm$ 0.41	2.78	5.56
Laktik asit bak.	8.56 $\pm$ 1.16	6.48	9.96
<i>C. perfringens</i>	1.94 $\pm$ 0.29	< 1.00	2.70

Tablo 2. Fermente Sucuk Örneklerinde Patojen Mikroorganizma Analiz Sonuçları (n: 100).

Mikroorganizma	Pozitif örnek sayısı (n)
<i>E.coli</i>	15
<i>Staphy. aureus</i>	10
<i>Salmonella spp.</i>	3
<i>Listeria monocytogenes</i>	4
<i>Listeria welshimeri</i>	2
<i>Listeria seeligeri</i>	3

Tablo 3. Fermente Sucuk Örneklerinde Genel ve Özel Mikroorganizmaların Dağılımı (kob/g)

Mikroorganizma	<0.1x10		0.1x10 ¹ -		1.0x10 ² -		1.0x10 ³ -		1.0x10 ⁴ -		>1.0x10 ⁵	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Top. Mez.Aerob	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100
Koliform	78	78	15	15	7	7	-	-	-	-	-	-
Maya-Küf	-	-	23	23	26	26	20	20	25	25	6	6
<i>Staphy.- Microc.</i>	-	-	-	-	46	46	23	23	10	10	21	21
Laktik asit bak.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100
<i>C. perfringens</i>	39	39	58	58	3	3	-	-	-	-	-	-

Tablo 4. Fermente Sucuk Örneklerinin Kimyasal Analiz Bulguları.

Değer	Ortalama ($\bar{x} \pm S_x$)	En az	En çok
Rutubet (%)	38.75 ± 0.67	25.97	66.61
Tuz (%)	4.36 ± 0.47	1.63	6.41
Kül (%)	5.39 ± 0.79	1.70	8.85
Protein (%)	21.92 ± 3.95	14.00	27.90
Yağ (%)	35.22 ± 5.31	26.10	39.22
pH	5.18 ± 0.20	4.75	6.76

Tablo 5. Fermente Sucuk Örneklerindeki Rutubet Değerlerinin Dağılımı.

	0 – 9.9		10.0–19.9		20.0–29.9		30.0–39.9		40.0–49.9		50.0–59.9	
Değer	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Rutubet (%)	-	-	-	-	29	29	3	3	25	25	43	43

Tablo 6. Fermente Sucuk Örneklerindeki Tuz ve Kül Değerlerinin Dağılımı

	< 2.0		2.0–2.9		3.0–3.9		4.0–4.9		5.0 >	
Değer	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Tuz (%)	26	26	38	38	12	12	8	8	16	16
Kül (%)	13	13	24	24	8	8	10	10	45	45

Tablo 7. Fermente Sucuk Örneklerindeki pH Değerlerinin Dağılımı.

	< 4.7		4.7–5.4		5.4 >	
Değer	n	%	n	%	n	%
pH	-	-	71	71	29	29

Tablo 8. Fermente Sucuk Örneklerindeki Protein Değerlerinin Dağılımı.

Değer	En az		En az	
	% 22 (I.sınıf)		% 20 (II. ve III.sınıf)	
	n	%	n	%
Protein (%)	63	63	37	37

Tablo 9. Fermente Sucuk Örneklerindeki Yağ Değerlerinin Dağılımı.

Değer	En çok		En çok	
	% 35 (I.sınıf)		% 40 (II. ve III.sınıf)	
	n	%	n	%
Yağ (%)	63	63	37	37

AYDIN BÖLGESİNDE SATIŞA SUNULAN ÇİNE KÖFTELERİNDE ELISA METODUYLA FARKLI ET TÜRLERİNİN TESPİTİ

Sunum Tipi: Poster

**Filiz KÖK, Besin Hijyeni ve Teknolojisi, Adnan Menderes Üniversitesi
Yeliz TEKGÜL, Şarap Üretim Teknolojisi, Pamukkale Üniversitesi**

Özet:

Bu çalışmada, monoklonal antibody sandaviç ELISA metodu kullanılarak, Aydın bölgesinde tüketime sunulan ısıtılmış Çine köftelerinin bileşiminde bulunan et türlerinin (at, kanatlı, domuz ve sığır etleri yönünden) tespiti amaçlanmıştır. ELISA tekniği, gıda laboratuvarlarında, ısıtılmış et ürünlerinde, et türlerinin hızlı ve kolay tespitini sağlayan pratik bir metoddur. Bu amaçla, incelenen 37 adet çine köfte örneğinden 22'sinin (% 59.46) sadece sığır eti yönünden pozitif, 4'ünün (% 10.82) sadece tavuk eti bakımından pozitif ve 11'inin (% 29.72) ise sığır ve tavuk eti yönünden pozitif sonuç verdiği gözlenmiştir. Domuz ve at eti yönünden ise tüm örnekler negatif sonuç vermiştir.

Anahtar kelimeler: ELISA, et, türler, köfte.

Summary:

In this study is aimed to detection of different meat species (cattle, poultry, horse and pork meat) in cooked Çine meatballs consumed in Aydın region by monoclonal antibody (Mab) sandwich ELISA technique. This method of detection is quick and it may be routine analyse method for food administration laboratories to carry out meat species identification in processed foods.

Cattle meat was detected in 22 of 37 analysed meatballs samples (59.46 %). Chicken meat and cattle meat were detected in 11 of samples (29.72 %) and chicken meat were in 4 of meatball samples (10.82 %) but pork and horse meat were not detected in all meatball samples.

Key Words: ELISA, meat, species, meatball.

Giriş

Et, hayvansal gıdalar içerisinde üretiminin kolay olması, lezzetli, yüksek biyolojik değeri, doyuruculuğu, içerdiği B kompleks vitaminleri, çeşitli mineral maddeleri, esansiyel amino asitleri gibi besin öğelerini yeterli ve dengeli oranda barındırması nedeniyle insan beslenmesinde temel gıda maddesi olma özelliğini taşımaktadır (Gökalp ve ark, 1994; İnal, 1992; Başkaya ve ark, 2004).

Dünya nüfusu hızla artmasına rağmen özellikle ülkemizde sağlıklı bir şekilde yetiştirilen kesim hayvanlarının azalması hayvansal kökenli protein yetersizliğine neden olmaktadır. Buna bağlı olarak da et ve et ürünleri yüksek fiyatlarla satılmaktadır. Toplum içerisinde bireylerin gelir düzeylerindeki artış veya azalışlar ete olan talepte farklılıkların çıkmasına yol açabilmektedir. İnsanların gelir düzeyleri yükseldikçe, yüksek kaliteli etlere talep artmakta, gelir düzeyleri azaldıkça da, düşük kaliteli etlere yönelmektedirler (Göğüş,1985; Gürsoy, 1991).

Ülkemizde gelir düzeyinin düşük olması, kalitesi düşük ve ucuz etlere olan talebi artırmakta ve bu da halk sağlığı açısından riskleri beraberinde getirmektedir. Bazı kişi veya kuruluşlar bu durumu fırsat bilerek daha geniş bir tüketici yelpazesine sahip olmak ve daha fazla kazanç elde etmek amacıyla insan sağlığını, kültür, etik ve inanç değerlerini hiçe sayarak çok ucuza ve genellikle sağlıksız koşullarda ürettikleri toplumun tüketmediği hayvan etlerini ya doğrudan ya da et ürünlerine karıştırmak suretiyle dolaylı olarak satışa sunmaktadırlar. Kaçak kesimlerde elde edilen at ve eşek etlerinin halk kesimleri tarafından tüketilmesi sağlık açısından sakıncalı durumların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Et tüketimi yoluyla *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Trichinella spiralis* ve sarkosporidi gibi parazitlerin insanlara geçmeleri söz konusu olabilmektedir (Arslan ve Kök, 2000).

Türk Gıda Mevzuatındaki kırmızı et ve et ürünleri üretim tesislerinin kuruluş, açılış, çalışma ve denetleme usul ve esaslarına dair yönetmeliğinin 12. maddesinde, mamul madde üretiminde ürünün bileşimine katılmasına izin verilenler haricinde herhangi bir maddenin ne amaçla olursa olsun kullanılması yasak olduğu belirtilmektedir (Türk Gıda Kodeksi, 2006).

Her ne kadar at ve domuz etleri Gıda Kodeksi (Türk Gıda Kodeksi, 2006) çerçevesinde diğer kasaplık hayvanlar içerisinde mütalaa ediliyor olsa da özel izin çerçevesinde çalışan kasap ve marketlerin dışında at, eşek ve domuz etleri satışı ve et mamülleri içinde kullanılması yasaktır. Avrupa Birliği uyum yasalari çerçevesinde at ve domuz etleri ile ilgili konular henüz netlik kazanmamıştır.

Global dünyada yaşam kalitesinin artması, çalışan kadın sayısının artması, ofis veya büro ortamlarında daha fazla vakit geçirilmesi fast food tarzı beslenme alışkanlığını ve doğal süreçte tüketime hazır et ürünlerine talebi arttırmıştır. Bahsi geçen et ürünlerinin başında ise salam, sosis, sucuk, hazır köfte çeşitleri, kavurma, jambon gibi et kanşimleri ve bu ürünlerin kullanıldığı tüketimi kolay, pratik ve uygun fiyatlı hazır gıda maddeleri gelmektedir.

Kanada, Amerika, Avustralya ve Türkiye gibi farklı ülkelerde, et ve et ürünlerine düşük değerli et kısımlarının ilavesi ya da farklı hayvanlara ait etlerin hileli olarak katılmış olduğunu bildiren çok sayıda araştırma mevcuttur (Silvestre, 1995; Kang'ehte ve ark, 1982; Hsieh ve ark, 1996a; Ayaz ve ark, 2004; Odumeru, 2003). Toplum sağlığı, geleneği, göreneği ve inancı gereği, tüketilecek etin ya da et ürününün hangi hayvan etinden yapıldığının belirlenmesi uzun yıllardan beri gıda bilimcilerinin başlıca araştırma konularından biri olmuştur (Arun ve Uğur 1998). Et ürünlerine (özellikle ısıtılmış ve tüketime hazır salam, sucuk, sosis, hazır köfte vb.) etikette yer almayan farklı hayvan etlerinin ve sakatatların ilavesi, tüketiciyi hem ekonomik hem de ahlaki yönden aldatmakta, uygun şartlarda yapılmayan kaçak kesimler de halk sağlığını ciddi anlamda tehdit etmektedir.

Farklı türlere ait etlerin ayırt edilmesinde kullanılan yöntemlerin basit, ucuz, güvenilir ve hızlı biçimde yapılmasının zorunluluk haline gelmesi tüketici açısından kolaylıklar getirmiştir. Et endüstrisinin gelişmesiyle orantılı olarak dış ticarete hileli et ve et ürünlerinin satışlarının artması, bunların kontrolünü ve türünün belirlenmesini gerekli kılmaktadır. Farklı et ve et ürünlerinin ithal edilmesi değişik enfeksiyonların ülkemize girmesine sebep olmaktadır. Ayrıca kalitesiz, düşük ve ucuz hayvan etlerinin yüksek kaliteli etler olarak satılması nedeniyle tüketiciler aldatılmaktadır. İnsanların, dini ve kültürel kaynaklı düşünce değerleri göz ardı edilerek başka orijinli hayvan etlerini bilmeden yemiş olmaktadır. Çeşitli hayvan etleri de bazı insanlarda allerjik reaksiyonlara neden olmaktadır. Bu belirtilen sorunları önlemek ancak etlerin hangi hayvana ait olduğunun saptanmasıyla gerçekleştirilir. Ülkemizde de boyutları belli olmamakla beraber yabancı hayvan etlerinin et ürünlerine katılması söz konusu olmakta ve yapılan gıda analizlerinde ender de olsa daha çok tek tırnaklı hayvan etlerinin et ürünlerinde kullanıldığı

tespit edilmektedir. Türkiye’de, domuz yetiştiriciliği ve domuz eti tüketimi çok sınırlı olmasına karşın, 2004 yılı Ocak ayında İzmir’de domuz etinden yapılmış çiğköfte tüketimine bağlı olarak 542 kişide trisineloz görülmesi ve bunun dünyada bildirilen en büyük salgınlardan biri olması düşündürücüdür (Erol, 2004).

Bu çalışmada Aydın ili ve ilçelerinde sevilerek tüketilen Çine köftesi örnekleri, ELISA metodu ile analiz edilerek, köfte bileşiminde bulunan et türlerinin (at, kanatlı, domuz ve siğir yönünden) tespiti amaçlanmıştır. Çine köftesi adı altında satışı sunulan köftelerin üretimini ve satışını yapan restoranlardan, farklı periyotlarda örnekler alınarak; ELISA metodu ile tavuk, siğir, domuz ve at eti varlığının tespiti amaçlanmıştır. Çalışmada kullanılan monoklonal sandviç yöntemi hızlı, kolay, güvenilir ve ekonomik olmasının yanı sıra, tüm et türlerine uygulanabilme (çiğ veya pişmiş), karışık etlerde tür tayini sağlama ve tüm sınıflara spesifik olma özelliği taşımaktadır (Hsieh 2004).

Gereç ve Yöntem:

Bu çalışmada materyal olarak, Aydın ve ilçelerinde bulunan restoranlardan, Çine köfte adı altında satışı ve servisi yapılan 37 köfte örneği alındı ve uygun şartlarda soğuk zincirle laboratuara getirilerek aynı gün işleme tabi tutuldu. Örnek toplama işlemi devam etmektedir.

Et ve et ürünlerinde tür tespiti ELISA yöntemi ve türe spesifik kit kullanımı ile belirlenmiştir.

2.1. Numunelerin hazırlanması ve ekstraktın çıkarılması

Satış bölgelerinden toplanan ısıl işlem görmüş et ürünü örnekleri satın alındığı gün laboratuara getirilerek işleme tabi tutuldu. Küçük parçalar haline getirilen ısı işlemi görmüş köfte numunelerinden 20 g alınıp üzerine 60 ml % 0.9 sodyum klorid içeren distile su eklenerek stomacher poşetlerine konuldu ve homojenize edildi. Isıl işlem gördüğünden şüphe edilen örnekler 95 - 100 oC’ lik su banyosunda 15 dakika ısı işlem uygulandı. Daha sonra soğutulan homojenatlar, santrifüj tüplerine transfer edilerek 10 000 devirde santrifüje edildi. Üsteki yağ tabakası uzaklaştırılarak kalan berrak kısım et türü tayininde kullanılmak üzere aynı gün, aynı gün işlenemediği zamanlarda ise - 20 oC’de muhafaza edilerek ELISA-TEKR test kiti prosedüründe belirlendiği üzere analizi yapılarak değerlendirildi.

2.2. % 1 Pozitif Kontrolün hazırlanması:

ELISA-TEKR standardına göre uygulanmıştır. Pozitif kontrol, 1/100 oranında normal salin ile dilue edildi. Kit ve reaktifler kullanım öncesi oda sıcaklığına getirildikten sonra her hayvan türü için stripte kuyucuklardan 2 adet pozitif kontrol (% 1 pozitif ve % 100 pozitif kontrol), 1 adet negatif kontrol kuyucuğu ayrıldı. Pozitif kuyucuklara 100’er µl pozitif kontrol, negatif kuyucuğa da kontrolden 100 µl konuldu. Geri kalan kuyucuklara örnek süzüntülerinden 100 µl konularak plaklar oda sıcaklığında (18 - 23 °C) 60 dakika bekletildi, süre sonunda plaklar döküldü ve dilue edilmiş yıkama çözeltisi ile 3 kez yıkandı. Daha sonra plak kuyucuklarına 25 µl türe ait (at, domuz, siğir ve kanatlı) spesifik antiserum biotinilat pipetlendi ve plak 60 dakika süre ile oda sıcaklığında muhafaza edildi. Plak dökülerek, tekrar dilüe edilmiş yıkama çözeltisi ile 3 kez yıkandı. Bu kez kuyucuklara 25 µl konjugat peroksidadz ilave edilerek hafifçe çalkalandı ve plak tekrar 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda plak ters çevrilerek, yıkama suyu ile 6 kez yıkandı ve vurularak kurutuldu. İşlem sonrası kuyucuklara, hazırlanmış substrat solüsyonundan 50 µl ilave edildi. Daha sonra tüm kuyucuklara stop çözeltiden 50 µl ilave edilerek reaksiyon durdurularak ELISA okuyucusunda ortalama 414 nm (405-420 nm) dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü. Sonuçların değerlendirilmesi ise ELISA-Tek™ prosedüründe

belirtilmiştir gibi; örneklerin ortalama absorbant değeri, % 1 pozitif kontrolün ortalama absorbant değerine eşit veya daha büyük olduğu durumlarda pozitif, örneklerin ortalama absorbant değeri, % 1 pozitif kontrolün ortalama absorbant değerinden düşük olduğu durumlarda negatif olarak kabul edilmiştir. Testlerin kontrolleri, değerlerin geçerli kabul edilebilmesi için pozitif kontrollerin ortalama absorbant değerlerinin negatif kontrollerin ortalama absorbant değerlerinden sekiz kat fazla olması gerekliliği göz önünde bulundurularak doğrulandı.

Bulgular:

Bu çalışma; Aydın ili ve ilçelerinde sevilerek tüketilen Çine köftesi örneklerinin ELISA metodu ile analiz edilerek, köfte bileşiminde bulunan et türlerinin (at, kanatlı, domuz ve sığır yönünden) tesbiti amacıyla yapılmıştır. İncelenen 37 adet çine köfte örneğinden 22'nin (% 59.46) sadece sığır pozitif, 4'ünün (% 10.82) sadece tavuk pozitif ve 11'inin (% 29.72) ise sığır ve tavuk pozitif sonuç verdiği gözlenmiştir. Domuz ve at eti yönünden tüm örnekler negatif sonuç vermiştir.

Sonuç:

Yapılan çalışmada; Aydın ili ve ilçelerinde üretim ve servis yapan lokantalardan farklı zamanlarda satın alınan 37 farklı Çine köfte numunelerinden 4'ünde, sadece et olarak dana eti olduğu söylendiği halde, hiç dana etine rastlanmadığı, yine bileşiminde sadece dana eti kullandıklarını söyledikleri 11 köfte örneğinde ise dana eti pozitif olmakla beraber aynı zamanda tavuk eti pozitif olduğu gözlemlenmiştir.

Bu çalışma ile Aydın bölgesinde Çine köftesi satışı yapan bazı işletmecilerin maliyeti düşürmek amacıyla köftelere dana eti yerine tavuk eti kattığını göstermektedir. Halkın aldatılmasını önlemek ve halk sağlığını korumak amacıyla üretimde kaliteli ham madde ve katkı maddelerinin kullanılması ve uygun şartlarda ve sürelerde depolamasını sağlamak, soğuk zincire dikkat etmek gerekmektedir. Yapılan saha taraması çalışmaları gıda sektöründe oluşabilecek aksaklıkları görmek ve bu aksaklıkları gidermek açısından önemlidir.

Kaynaklar

1. Arslan A, Kök F (2000) Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi, Fırat Üniv. Veteriner Fak. Ders Teksiri No: 46, Elazığ.
2. Arun ÖÖ, Uğur M (1998) Sosislerdeki Etin Orijininin Belirlenmesinde Pseudoperoksizad Boyama Tekniğinin Pollakrilamid Jel İzoelektrik Odaklama (Pagıf) Metodunda Kullanılması, Tr. J. Of Veterinary And Animal Sciences 23 (1999), 599-603.
3. Ayaz Y, Ayaz ND, Erol İ (2004) Elisa Tekniği İle Et Ve Et Ürünlerinde Tür Tayini. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, Ankara Üniversitesi Basımevi; 355-362.
4. Başkaya R, Karaca T, Sevinç İ, Çakmak Ö, Yıldız A, Yörük M (2004) İstanbul'da Satışa Sunulan Hazır Kıymaların Histolojik, Mikrobiyolojik ve Serolojik Kalitesi.
5. Erol İ (2004) Trişinelozis, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.
6. Göğüş AK (1986) Et Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ürünleri Teknolojisi Bölümü, Ziraat Fakültesi Yayınları: 991, Ders Kitabı: 291, Ankara, s:67-69.
7. Gökalp HY, Kaya M, Zorba Ö (1994) Et Ürünleri İşleme Mühendisliği, Atatürk Üniv. Yayın No: 786. Ziraat Fakültesi Yayın No: 320, Ders Kitapları

Serisi No: 70, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum.

8. Gürsoy O. (1991) Et Bilimi, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. Ders Kitabı No:125 Adana. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. Adana, s:145.
9. Hsieh PYH (2004) Monoclonal Antibodies For The Detection Of Prohibited Animal Proteins In Rendered Meat And Feedstuffs, Florida Research Consortium Technology Transfer Conference St. Petersburg, Florida, May 17-18.
10. Hsieh YHP, Johnson MA, Wetzstein CJ, Gren NR (1996a) Detection of species adulteration in pork products using agar-gel Immunodiffusion and enzyme-linked immunosorbent assay, J. Food Quality, 19: 1-13.
11. İnal T (1992) Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, İnal Ofset, İstanbul, s. 12-14.
12. Kang'ehte EK, Jones SJ, Patterson RLS (1982) Identification of the species origin of fresh meat using ELISA procedure, Meat Sci., 7(3): 229-240.
13. Odumeru J (2003) Ef5070: Field Application Of Protein Fingerprinting Technology For Assessment Of Meat Adulteration Incidence In Meat Processing Plants And Retail Stores In Ontario, Ontario Ministry Of Agriculture And Food. Enhanced Food Quality And Safety Research Program.
14. Silvestre MH (1995) La calidad de carnes frescas picadas de bovino, ovino, porcino y similares, Alimentaria, 33: 83-85.
15. Türk Gıda Kodeksi (2006) Çiğ Kırmızı Et Ve Hazırlanmış Kırmızı Et Karışımları Tebliği - Tebliğ No: 2006/31.

Bildiri No: 156

Kategori: Genel

m

Sunum Tipi: Poster

Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU - Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa/TÜRKİYE

Özet

Bovine spongiform encephalopathy (BSE), sığırların merkezi sinir sistemi (MSS) dokularını etkileyerek bulaşabilen, sinirlerde dejenerasyona yol açan, öldürücü bir hastalıktır. BSE-spesifik risk materyalleri olarak beyin ve spinal kord gibi MSS dokuları enfeksiyonun ana kaynağı olarak görülmektedir. Spesifik risk materyalleri (SRM) ile etin kontaminasyonu kesim, karkasın parçalanması ve işleme safhalarında meydana gelebilir. Türkiye’de et ürünlerinin kontrol ve düzeni hükümet veteriner hekimleri tarafından gerçekleştirilir. Bu çalışma, Türkiye’nin güneydoğu bölgesinde özellikle Şanlıurfa şehrinde yaygın olarak tüketilen çiğköfteelerde MSS dokularının varlığını araştırmak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, 145 çiğköfte numunesi test edildi. Belirleyici olarak glial fibriller asidik proteini (GFBA) tespit edebilen enzimle-linked immunosorbent assay (ELISA) kiti (Ridascreen risk material 10/5, R-biofarm GmbH) kullanıldı. Analizler neticesinde, toplam 145 çiğköfte numunesinin 21’inde (%14.48) pozitiflik tespit edildi. Sonuç olarak, etler gerek kesimin gerekse et üretiminin herhangi bir basamağında MSS dokuları ile istenmeyerek de olsa kontamine edilmektedirler. Bu konuda gerekli önlemler alınmalı ve hijyen kuralları uygulanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: MSS dokuları, SRM, BSE, Çiğköfte, ELISA

Presence of Central Nervous System Tissues as Bovine Spongiform Encephalopathy Specified Risk Material in Çiğköfte

Abstract:

Bovine spongiform encephalopathy (BSE) is a transmissible, neurodegenerative and fatal disease of cattle that affects central nervous system (CNS) tissues. Central nervous system tissues such as brain and spinal cord which are classified as specified risk materials (SRMs) are regarded to be main source of infection. Contamination of meat with specific risk materials may occur during slaughtering, carcass splitting and meat production processes. In Turkey, regulation of meat products is applied by government veterinarians. This study was realized to determine the presence of CNS tissues in çiğköfte that is commonly consumed in Southeastern of Turkey, especially in Şanlıurfa city. For this purpose, a total of 145 çiğköfte samples were tested. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (Ridascreen risk material 10/5, R-biofarm GmbH), which detect glial fibrillary acidic protein as marker, were used. As a result, 21 out of 145 çiğköfte samples (14.48%) were positive. In conclusion, meat and meat products are contaminated unwillingly with CNS tissues. Necessary precautions have to be taken and complied with hygiene practices.

Keywords: CNS tissues, SRM, BSE, Çiğköfte, ELISA

Giriş

Hayvanlarda ve insanlarda görülen "bulaşabilen süngerimsi ensefalopatiler" (Transmissible Spongiform Encephalopathies=TSE) merkezi sinir sistemini etkileyen ve beyin süngerimsi bir hal almasına neden olan kronik, dejeneratif ve ölümcül bir hastalıktır. Bu hastalıklara "prion hastalıkları" da denilmekte ve hastada etkene karşı bir bağışıklık oluşmamaktadır (5, 6, 9). İnsan ve hayvanlarda TSE'lere neden olan etkenlerin filtrelerden geçebildiği ve en küçük virüslerden 100 kat daha küçük olduğu belirtilmiştir. Bu etkenler, formaldehit, β -propiyolaktan, proteazlar, nükleazlar ve ısı gibi birçok fizikokimyasal uygulamalara, iyonize ve ultraviyole radyasyona, virus yada bakterileri normalde inaktive edebilen dezenfektanlara oldukça dirençlidirler (6).

Bu hastalıklardan "Bovine Spongiform Encephalopathy" (BSE=Mad Cow Disease=Deli Dana Hastalığı) sığırlarda 1986'dan beri İngiltere'de ciddi salgınlara neden olmuş ve sığırlardan elde edilen et ve et ürünleriyle insanlara bulaşabileceği bildirilmiştir (20). Spesifik risk materyalleri (SRM) olarak kabul edilen beyin ve spinal kord gibi Merkezi Sinir Sistemi (MSS) dokuları enfeksiyonun ana kaynağı olarak kabul edilir ve toplam infektivitenin %95'ini oluştururlar (17). Sığırlar için BSE hastalığının kaynağı olarak süt sığırı yemlerine katılan kontamine et ve kemik unu olduğu bildirilmektedir. Enfeksiyon, sığır ve diğer otçul hayvanların yemlerine et veya et-kemik unu katılması yasaklanarak önlenmiştir (10).

İnsanlara deli dana hastalık etkeninin bulaşmasında, BSE ile enfekte sakatatların (özellikle beyin) yenilmesi ve etin mezbahada veya kasapta parçalanması sırasında veya BSE ile enfekte omurilikle temas eden bıçakların ete bulaşması sonucu geçebileceği vurgulanmıştır. İngiltere'de ve AB ülkelerinde BSE ile enfekte gıda tüketimine bağlı olarak gençlerde new variant-Creutzfeldt Jakob Disease (nvCJD) ve olgun bireylerde Creutzfeldt Jakob Disease (CJD) hastalığından ölümlerin görüldüğü açıklanmıştır (1, 3).

İnsanlar için sağlık riski, BSE ile enfekte sığırlardan hazırlanan gıda ürünleri olduğundan, insan gıda zincirinde; yüksek hastalık yapabilme seviyelerine sahip hasta sığır eti, sakatat ve sütün kullanımı yasaklanmıştır. Bu koşullar dahilinde İngiltere'nin AB ülkelerine et ihraç etmesine izin verilmiştir. AB komisyonunun kararına göre (4), mezbahanelerde kesilen her hayvanın baş bölgesindeki doku ve organlara test yapılması zorunluluk haline getirilmiştir. Türkiye'de, et ürünlerinde MSS dokularının bulunmasına izin vermeyen et ürünleri tebliğinin (19) uygulanması resmi mezbahanelerde devlet veteriner hekimleriyle kontrol edilmektedir.

Et (çiğ yada pişmiş) ve et ürünleri (salam, sosis, sucuk vb) ile bunların işlendiği işletmelerdeki alet ve yüzeylerde MSS dokularının tespitinin yüksek hassasiyetli kitlerle yapıldığı ve özellikle bunun için geliştirilmiş ticari ELISA kitlerinin kullanıldığı bildirilmektedir. Bu kitlerde mikropylet gözleri poliklonal antikorlar ile kaplı olup yalnızca et ve et ürünlerinde, kontamine materyallerde ve kitlerin standart sıvılarında var olan Neuron-Specific Enolase (NSE) yada Gliyal Fibriller Asidik Protein (GFAB) varlığını ortaya koymaktadır (2, 21).

Bu çalışma, Türkiye'de, özellikle doğu ve güneydoğu bölgelerinde, yaygın olarak tüketilen çiğköftelerde MSS dokularının varlığını araştırmak için yapılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması:

Bu çalışmada toplam 145 çiğköfte numunesi MSS dokularının varlığı açısından test edildi. Ülkemizde özellikle Şanlıurfa bölgesinde yaygın olarak tüketilen çiğköfte örnekleri piyasadaki restaurant ve lokantalardan 4 aylık bir zaman diliminde toplandı. Örneklemeler, karışıma sığır eti ilavesi yapıldığı teyit edilerek gerçekleştirildi. Bu şekilde üretim yapan 13 farklı işletmeden farklı zaman dilimlerinde örneklemeler yapıldı. Her örneklemede yaklaşık 200 g kadar çiğköfte numunesi alındı. Test aşamasından önce örnekler mikserde homojenize edildi.

Örneklerin Ekstraksiyonu:

Ekstraksiyon ve test adımları ticari kit üreticisinin tanımladığı gibi yapıldı. İçerisinde 2 g homojenize örnek ihtiva eden kapaklı cam tüpe 10 ml ekstraksiyon buffer ilave edilerek kuvvetlice çalkandı ve 100 °C de 15 dakika süreyle ısıtıldı. Isısı düşürüldükten sonra 10 °C de 15 dakika süreyle 3500 devirde santrifüj edildi. Üstteki yağ tabakası pastör pipetle alınarak atıldı ve geri kalan süpernatant 1/20 oranında buffer ile seyreltildi (50 µl süpernatant + 950 µl dilüsyon buffer). Günlük olarak ekstrakte edilen örnekler test uygulanıncaya kadar -20 °C de depo edildi.

Et Örnekleri İçin ELISA:

Marker olarak GFBA'yı tespit eden ticari olarak uygun ELISA kiti (Ridascreen risk material 10/5, R-blofarm GmbH) kullanıldı. 50 µl ekstrakte örnek ile standart solüsyon kuyucuklara pipetlenerek dağıtıldı. Kontrol olarak dört standart (%0, %0.1, %0.2 ve %0.5) kullanıldı. Her bir kuyucuğa 50 µl konjugat ilavesinden sonra test pleytleri hafifçe çalkalanarak karıştırıldı ve oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. Yıkama tamponuyla üç kez yıkama ve ters çevirip vurarak suyunu akıtmayı 100 µl substrat/kromogen (tetramethylbenzidin) ilavesi takip etti. Pleytler hafifçe çalkalandıktan sonra karanlık ortamda oda ısısında 30 dakika ikinci inkübasyon gerçekleştirildi. Sonrasında her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu (1 N sülfürik asit) ilave edilerek optik dansitelerin 450 nm'de ölçümü yapıldı.

BULGULAR

Test prosedüründe sunulduğu gibi, Ridascreen risk material 10/5 için, analiz edilen örneklerin absorbanşı %0.1'lik standardın absorbanşıyla eşit ya da daha yüksek olduğunda örnekler pozitif olarak değerlendirildi ve 0.100 sonlandırma değeri olarak kabul edildi. Bu değerlendirmeler sonucunda toplam 145 çiğköfte numunesinin 21'i (%14.48) pozitif olarak tespit edildi (Tablo1). Çiğköfte örneklerinde mevcut MSS dokuları için en yüksek pozitiflik derecesinin orta seviye (>0.2) düzeyinde olduğu saptandı (Tablo 2).

Tablo 1. Test Edilen Çiğköfte Örneklerinin Sayısı ve Pozitiflik Oranları

Çiğköfte	
Örnek Sayısı	145
Pozitif Örnek Miktarı	21 (%14.48)

Tablo 2. Merkezi Sinir Sistemi Dokusu Yönünden Pozitif Örneklerin Ridascreen Risk Materyal 10/5 ile Pozitiflik Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Numune	MSS pozitif numunelerin sayı ve oranı (%)	Standartlar (%)	Pozitiflik Düzeyi
	6 (%4.14)	≥0.1	Düşük
Çiğköfte	10 (%6.90)	>0.2	Orta
	5 (%3.45)	<0.5	Yüksek

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

BSE hastalığının teşhisinde; canlı hayvanlarda klinik belirtilerden faydalanırken et muayenesiyle makroskopik olarak herhangi bir bulguya rastlanmaz. Kesin sonuç ölü hayvanlarda beyin ve omurilik dokusundan alınan örneklerde enfektif prion proteinin özel testlerle (Western-Blot, Poliakrilamid Jel Elektroforez, ELISA) tespit edilmesine dayanmaktadır. Ayrıca histopatolojik ve elektron mikroskopisi ile teşhis yapılabilmektedir. Hasta sığırlardan alınan beyin dokusu örneklerinin farelere yedirilmesi yöntemiyle gerçekleştirilen teşhis, en az 300 gün gibi bekleme süresi gerektirdiğinden tercih edilmemektedir (3, 6, 12). Günümüzde çiğ veya pişmiş et ve et ürünlerindeki incelemelerinde yerlerdeki alet ve yüzeylerde MSS'ye ait dokuların tespiti için hassasiyeti yüksek kitler ve özellikle bunun için geliştirilmiş ELISA kitlerinin kullanıldığı bildirilmektedir (2). Avrupa Birliği komisyon kararıyla (4), et ürünlerinden MSS dokularının tamamıyla çıkarılmasına dair bildiri yayınlamıştır. Türk Gıda Yönetmeliği Et Ürünleri Tebliği (19), et ürünleriyle MSS dokularının karışımını yasaklamaktadır.

Gerek sığır etlerinde gerekse bu etlerden imal edilen birçok üründe risk materyali dokularının tespiti için çalışmalar yapılmıştır. Fakat ülkemizin özellikle doğu-güneydoğu bölgesinde yoğun olarak tüketilen ve sığır eti karışımıyla yapılan çiğköftelerde bu yönde bir çalışma gerçekleştirilmemiştir.

Bu çalışmada, çiğköfte örneklerinde %14.48 oranında pozitiflik tespit ettik. Türkiye'de çiğ et materyalleri üzerinde yapılan çalışmaların birinde; Kale ve ark. (11), çiğ kıymalarda %21.51 ile bulgularımızdan daha yüksek oranda risk materyali dokusu saptamışlardır. Bunun yanında bir başka araştırmacı (22), aynı ürünlerdeki incelemelerinde 43 örneğin 1'inde (%2.32) pozitiflik bulmuşlardır. Nazlı ve ark. ise (14), analize aldıkları 75 er kıyma ve kuşbaşı örneğinin sırasıyla 3'ü (%4) ve 9'unda (%12) MSS dokusu tespit ederek bizim sonuçlarımızdan daha düşük değerlerde sonuçlara ulaşmışlardır. Çeşitli ülkelere araştırmaçıların çiğ et ve karkaslarda MSS dokularının varlığı üzerine yaptıkları bazı çalışmalarda (7, 13, 16), daha yüksek veya daha düşük değerlerin ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bu değer farklılıkları, özellikle karkasın mezbahalarda ikiye ayrılması ve spinal kordun çıkarılması aşamasında kullanılan alet ve ekipmanlarla MSS dokularının diğer doku ve organlara bulaşması ve bu bulaşmalardaki yoğunluk farkıyla izah edilebilir. Bunun yanında ürünün hazırlanması aşamasında kullanılan aletlerin meydana getirebileceği çapraz kontaminasyonlarda bu açıdan göz önünde bulundurulmalıdır. Kontamine olmuş ekipmanlar, yüzeyler, çalışanlar ve karkaslar spesifik risk materyallerinin yayılmasında oldukça etkilidir (15). Tersteeg ve ark. (18), eti ürüne dönüştürürken gerçekleştirilen bazı işlemlerin antijenin reaktif noktalarında kimyasal değişimlere yol açabileceğini bildirmiştir. Bu bağlamda çiğköftenin üretimi aşamasında karşıma giren diğer katkılarının GFBA'nın tespiti üzerinde etkisi olabileceği de düşünülebilir. Fakat bu durumun ispatı için ürünün bileşimine giren diğer maddelerin etkisinin incelendiği araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada, etin herhangi bir ısı işleme tabii tutulmadan katıldığı çiğköftelerde MSS dokularının varlığı ortaya koyuldu. Elde edilen veriler, çiğköftelerin tüketiciler için BSE açısından risk taşıyan bir ürün grubu olduğunu gösterdi. Sığırların MSS dokuları BSE etkeninin infekte hayvandan insanlara taşınmasında risk oluşturduğundan dolayı daha etkili kontrol ve ölçümler yapılmalı, bunlar düzenleyici

kurumlar tarafından uygulanarak denetlenmelidir. Bu alanda çalışan şirketler kalite düzeylerini geliştirmek için kendi kontrollerini ciddi bir şekilde yapmalıdırlar. Türkiye'deki bütün özel işleme alanları ve kesimhanelerde uygulanacak BSE testleriyle beraber diğer kontaminasyon araçlarının kontrol altına alınması yoluyla spesifik risk materyallerinin gıdalara bulaşmasının önlenebileceğini bu araştırma neticesinde ileri sürmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Bauer N.E., Garland T. And Edwards J.F. (1996). Brain emboli in slaughtered cattle. *Vet. Pathol.*, 33:660.
2. Blofarm (2001). Instructions manual for Ridascreen® Risk Material test. Germany.
3. Buschman A., Biacabe A.G., Ziegler U., Benschik A., Madec J.Y., Erhardt G., Luhken G., Baron T., Groschup M.H. (2004). Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns in BSE prion tests. *J. Virol. Methods.* 117, 27-36.
4. Commission Decision 2000/418/EC (29 June 2000). Regulation the use of material presenting risk as regards transmissible spongiform encephalopathies and amending Decision 94/747/EC. *Official Journal L* 158/76.
5. Fishbein L. (1998). Transmissible spongiform encephalopathies, hypotheses and food safety. An overview, *Sci Tot Environ.*, 217:71
6. Godon K.A.H. and Honstead J. (1998). Transmissible spongiform encephalopathies in food animals. *Vet Clin North America*, 14:49.
7. 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. (2002). Contamination of beef carcasses by spinal cord tissue during splitting. *Food Control*, 13, 417-423.
8. Hill A.F., Desbruslais M., Joiner S., Sidle K.C., Gowland I., Collinge J., Doey I.J. and Lantos P. (1997). The same prion protein causes vCJD and BSE. *Nature*, 389:448.
9. Kahraman M.M., Ozyigit M.O., Akkoc A., Ediz B., Misirlioğlu D., Sonmez G., Alasonyalilar A. and Yilmaz R. (2007). Targeted surveillance to assess the presence of BSE in age risk population of cattle slaughtered in Bursa, Turkey: preliminary results of an immunohistochemical detection study for the 2004-2005 period. *Journal of Veterinary Science*, 8(2), 193-195.
10. Kale M., Akcan Kale A.S., Kurşun Ö., Atasever M., Başkaya R. (2006). Et ve Et Ürünlerinde BSE-Risk Materyali Var mıdır? Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 1(1-2) 16-19.
11. Kale M., Kurşun Ö. and Pehlivanoğlu F. (2007). Detection of Central Nervous System Tissues as Bovine Spongiform Encephalopathy Specified Risk Material in Processed and Raw Meat Products in Turkey. *Journal of Food Safety*, 27,56-65.
12. Levieux A., Rivera V., Levieux D. (2001). A sensitive ELISA for detection of bovine crude heparin in porcine heparin. *J. Immunoassay Immunochem.*, 22, 323-326.

13. Lucker E., Schlottermuller B. and Martin A. (2002). Studies on contamination of beef with tissues of central nervous system (CNS) as pertaining to slaughtering technology and human BSE-exposure risk. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, 115, 118-121.
14. Nazlı B., Colak H., Hampikyan H. and Bingöl E.B. (2006). The presence of central nervous system tissues in meat products sold in İstanbul. *Revue De Veterinaire*, 157(12).
15. Prendergast D.M., Sheridan J.J., Daly D.J., McDowell D.A. and Blair I.S. (2003). Dissemination of central nervous system tissue from brain and spinal cord of cattle after captive bolt stunning and carcass splitting. *Meat Science*, 65, 1201-1209.
16. Schmidt, G.R., Yemm R.S., Childs K.D., O'collaghan J.P. and Hosner K.L. (2001). The detection of central nervous system tissue on beef carcasses and in comminuted beef. *Journal of Food Protection*, 64, 2047-2052.
17. Scientific Steering Committee. (1999). Opinion on the human exposure risk (HER) via food with respect to BSE. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ssc/out67_en.pdf, (15 Eylül 2011)
18. Tersteeg M.H.G., Koolmes P.A. and Van Knapen F. (2002). Immunohistochemical detection of brain tissue in heated meat products. *Meat Science*, 61, 67-72.
19. TR 2000/4. Türk Gıda Yönetmeliği, Et ürünleri Tebliği. Resmi Gazete Sayı: 23960, 10 Şubat 2000.
20. Wells G.A., Scott A.C., Johnson C.T., Gunning R.F., Hancock R.D., Jeffrey M., Dawson M. and Bradley R. (1987). A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Veterinary Record*, 121, 419-420.
21. Weyandt R.G. (2001). Detection of BSE-risk materials. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 317, 574-575.
22. Yeşilbağ K. and Kalkan A. (2005). Detection of nervous system tissues as BSE specified risk material in meat products in Turkey. *Food Control*, 16, 11-13.

İNDİX

Soyisim, İsim

Sayfa No

ACARGÖZ Ulaş	308
AKAN Mehmet	109
AKÇELİK E. Nazan	206,366
AKKAYA Levent	194,195
AKSOY Aksem	313
ALİŞARLI Mustafa	222,287,288
ATA Zafer	56,272
ATASEVER Meryem Aydemir	87,149
ATASEVER Mustafa	87,149
ATLAN Mustafa	297
AYAZ Naim Deniz	31,95
AYDIN Ali	29,64,174
AYHAN Kamuran	364
BAKIRCI Fatih	66
BALPETEK Duygu	197
BİNGÖL Enver Barış	243
BOSTAN Kamil	29,64
BRÜCKNER Erwin	206
BUĞDAYCI Nihan	109
BUNCIC Sava	69
BURKAN Zeynep T.	206,366
CAN Peline Özlem	104,156,320
CANDOĞAN Kezban	54
CEBİRBAY Muhammet Ali	127
COŞANSU Serap	364
ÇADIRCI Özgür	222,287,288
ÇALICIOĞLU Mehmet	48,29
ÇALIM Hilal Duygu	366
ÇELEBİ Özgür	313
ÇETİN Ömer	341
ÇETİNKAYA Figen	37,216
ÇİFTÇİOĞLU Gürhan	75
ÇOBAN Özlem Emir	114,156
DEPREM Turgay	313
DİKİCİ Abdullah	48,166,206,290
DİNÇOĞLU Ahmet Hulusi	395
DOĞRUER Yusuf	77,127,263
DuPont	62
EKİCİ Kamil	335
ER Buket	297
ERGÜN Özer	243
EROĞLU Buket	341
EROL İrfan	31
EROL İrfan	95
ERTAŞ Nurhan	253,263
EYİĞÖR Ayşegül	56,272

FINDIK Arzu	204
FİDANBOYLU Aynur	66
GÖK Veli	194,195
GÖKÇE Ramazan	311
GÖNCÜOĞLU Muammer	95
GÖNÜLALAN Zafer	253,263
GÜCÜKOĞLU Ali	222,287,288
GÜL Salime Betül	377
GÜLER Zeki	308,31
GÜLŞEN Sema	127
GÜNER Ahmet	77,127,263,327
GÜRAN Hüsnü Şahan	114,233,377
GÜRBÜZ Ümit	183,197
GÜRSER Murad	353
GÜVEN Abamüslüm	313
ISSA Ghassan	224
İNAT Gökhan	204
İNCİLİ Gökhan Kürşad	114,377
İŞLEYİCİ Özgür	255,297
KAHRAMAN Seda Dicle	46
KAHRAMAN Tolga	224
KARA Recep	194,195,220
KARACA Mehmet	216
KAV Kürşat	77
KAVAS Gökhan	242
KAVAS Nazan	242
KENAR Beytullah	340
KEVENK Tahsin Onur	206,222,287
KOLUMAN Ahmet	48,135,166,206,290,366
KÖK Filiz	390
KROMO-GEN Bilyoteknoloji San	62
KUM Erhan	253
KUYUCUOĞLU Yahya	310,34
KÜPLÜLÜ Özlem	46
KÜRŞAT Gökhan	353
MORUL Fatih	255
MURATOĞLU Karlo	29,64
MUTLU Aysegül	68,319
OBUZ Ersel	195
OKUTAN Bülent	216
ORAL Nebahat Bilge	313
ORMANCI Fatma Seda Bilir	95
ÖĞÜN Metin	313
ÖKSÜZTEPE Gülsüm	114,233,377
ÖNER Süleyman	289
ÖZCAN Ali	216
Özen KURŞUN	319
ÖZKÖK Sibel	166,206,366
ÖZLÜ Hayrunnisa	87,149

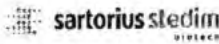
ÖZPINAR Necati	288
ÖZPOLAT Emine	48,156,290
ÖZTÜRK Dilek	203
PAMUK Şebnem	220,308,310
PATIR Bahri	48,104,156,290,353
SANCAK Yakup Can	255
SELÇUK Zehra Toraman	335
SEZER Çiğdem	313
SIRIKEN Belgin	204
SOFOS John N,	11
SOYUTEMİZ Ece	37,216,
SUDAGIDAN Mert	29
SUER Bilgehan	62
ŞAHİNDOKUYUCU Fatma	203
ŞEKER Esra	220
TAŞÇI Fulya	203
TEKGÜL Yeliz	390
TEKİNŞEN Kemal Kaan	77
TELLİ Nihat	77,127,327
TEMELLİ Seran	56,272
TERZİ Göknur	222,287,288
TEZEL Atanur	206,366
TÜRKÖĞLU Mustafa	320
TÜRKÖZ Gözde	66
UÇAR Sevdâ	87,149
ÜNLÜ A, Teoman	166
VATANSEVER Leyla	313
YALÇIN Halil	320
YALÇIN Suzan	127
YAMAN Ahmet	54,194
YENTÜR Gülderen	279
YIBAR Artun	37,216
YILDIRIM Yeliz	220,253
YILDIZ Nihat	353
YILMAZ Arife Ezgi	327
YILMAZ Aysun	147
YILMAZ Funda	29,64

Notlar:

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

///Ponapack

Packaging machines



**SAN ET VE ET
ENDÜSTRİSİ
SAN. TİC.
LTD. ŞTİ**



/// Ponapack *Packaging machines*

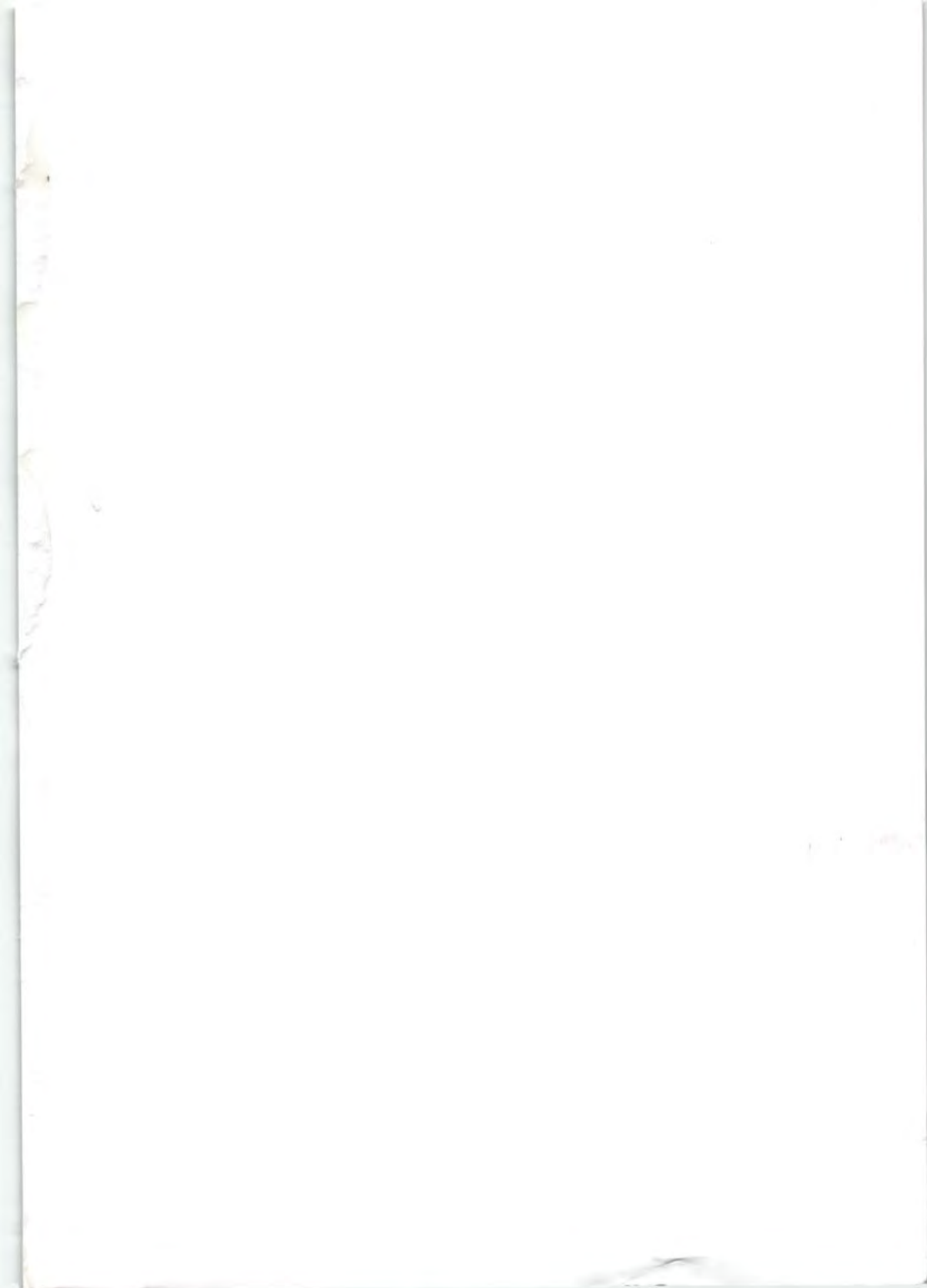
**PONA MAKİNA ELEKTİRİK ELEKTRONİK İMALAT SAN.
PERİYE TABAN**

**Nedim Sok. No:17/A Evren Cad. Y. Dudullu / Ümraniye
İstanbul**

TEL : 090 (216) 540 36 76

FAKS : 090 (216) 540 36 75

E-MAIL : info@ponapack.com



“Hizmet bir sanattır!”

panorama

ORGANİZASYON SEKRETERYASI

Panorama Turizm
Dünya Sağlık Sokak Opera İş Merkezi
No: 41-43 D:36 Taksim / İstanbul
Tel: 0 212 293 31 51 (pbx)
Faks: 0 212 293 31 40
E-posta: info@vetgida2011.org
www.panaromaturizm.net