



MAKÜ|VET
VETERİNER FAKÜLTESİ



MAKÜ
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ

**VIII. ULUSAL
II. ULUSLARARASI
VETERİNER
GIDA HİJYENİ
KONGRESİ**

**VIII. NATIONAL
II. INTERNATIONAL
VETERINARY
FOOD HYGIENE
CONGRESS**



**TAM METİN BİLDİRİ
KİTABI**

PROCEEDINGS BOOK

24-27 EKİM/OCTOBER 2019 ANTALYA

**VIII. ULUSAL
II. ULUSLARARASI
VETERİNER GIDA HIJYENİ KONGRESİ**

24/27 EKİM 2019 ANTALYA

Kongre Onursal Başkanları/ Congress Honorary Presidents

Rektör/Rectorate

Prof. Dr. Adem KORKMAZ

Veteriner Fakültesi Dekanı/Dean of Veterinary Faculty

Prof. Dr. Hakan ÖNER

Düzenleme Kurulu / Members of Committee

Başkan/President

Prof. Dr. Özen YURDAKUL

Üyeler/Members

Doç. Dr. Fulya TAŞÇI

Doç. Dr. Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU

Doç. Dr. Erhan KEYVAN

Dr. Öğr. Üyesi Halil YALÇIN

Dr. Öğr. Üyesi Hatice Ahu KAHRAMAN

Öğr. Gör. Erdi ŞEN

Kapak/Cover

Doç. Dr. Erhan KEYVAN

Dizgi/Design

Öğr. Gör. Erdi ŞEN

Yayın Tarihi: 26 Aralık 2019

**İletişim Adresi / Correspondence Address: Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı**

Yıl/Year: Aralık 2019

Değerli Bilim İnsanları;

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü olarak 24-27 Ekim 2019 tarihleri arasında Antalya/Kemer’de gerçekleştirdiğimiz 8. Ulusal / 2. Uluslararası Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi’nde sizleri aramızda görmekten büyük onur ve mutluluk duyduk. Kongremizde, gıda hijyeni ve teknolojisine yönelik konularda faaliyet gösteren başta üniversitelerimizin ilgili bölümleri, kamu ve özel sektör çalışanlarını bir araya getirebilmeyi, bilimsel ve teknolojik yenilikleri paylaşmayı ve sektöre ait problemler için çözüm önerilerini ortaya koymayı amaçlamıştık. Bu kapsamda, 5 farklı ülkeden 6 konuşmacının katıldığı uluslararası nitelikteki kongremizde; 45 sözlü, 34 poster olmak üzere toplam 79 bildiri sunulmuştur.

8. Ulusal / 2. Uluslararası Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi’nin düzenlenmesinde önemli katkıları bulunan; MAKÜ Veteriner Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Hakan ÖNER’e, TSE Akdeniz Bölge Koordinatörü Hasan DEMİRTAŞ’a, GLADER’e, Burdur Veteriner Hekimler Odası’na ve Burdur Belediye Başkanlığı’na teşekkür ederiz.

Gıda sektöründe yaşanan değişim ve gelişimleri takip etme ve teknolojiyle daha sürdürülebilir bir gıda geleceği yaratma amacıyla sektörün önemli mensuplarının buluşturan kongremize ait bildirileri içeren tam metin bildiri kitabının ülkemiz bilim varlığına önemli katkıları olacağını düşünmekteyiz.

Kongre Düzenleme Kurulu adına
Prof. Dr. Özen YURDAKUL

VETERİNER GIDA HİJYENİ KONGRELERİ
VETERINARY FOOD HYGIENE CONGRESS

KONGRE ADI	TARİHLER	DÜZENLEYEN ÜNİVERSİTE
8. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi	24-27 Ekim 2019, Antalya	Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü
7. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi	04-08 Ekim 2017, Aydın	Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü
6. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi,	07-11 Ekim 2015, Van	Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü
5. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi	03-07 Nisan 2013, Antalya	Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü
4. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi	13-16 Ekim 2011, Antalya	Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü
3. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi	14-16 Mayıs 2009, Bursa	Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü
2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi	18-20 Eylül 2006, İstanbul	İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü
1. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi	29 Eylül-1 Ekim 2004 Ankara	Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü

Bilim Kurulu / Scientific Committee

Prof.Dr. Afrim HAMIDI/University of Prishtina, Faculty of Agriculture and Veterinary, Republic of Kosovo

Prof. Dr. Ahmet GÜNER/Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Ahmet KOLUMAN/Pamukkale Üniversitesi Teknoloji Fakültesi

Prof. Dr. Ali ARSLAN/Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Ali AYDIN/İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Aydın VURAL/Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Aylin KASIMOĞLU/Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Ayşegül EYİGÖR/Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Bahri PATIR/Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Belgin SARİMEHMETOĞLU/Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Bülent NAZLI/İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi

Prof. Dr. Canan HECER/Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof.Dr. Carmen ESPINOSA-GONGORA/University of Copenhagen, Department of Veterinary and Animal Science

Prof. Dr. Emrullah SAĞUN/Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY/Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Fatma Seda BİLİR ORMANCI/Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Figen ÇETİNKAYA/Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Filiz KÖK/Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Göknur TERZİ GÜLEL/On Dokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Gül Ece SOYUTEMİZ/Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Gülsüm ÖKSÜZTEPE/Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Gürhan Raif ÇİFTÇİOĞLU/İstanbul Kültür Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Prof. Dr. Gürkan UÇAR/Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Harun AKSU/İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Haydar ÖZDEMİR/Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Hilal ÇOLAK/İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof.Dr. Hilmi YAMAN/Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi

Prof. Dr. Hisamettin DURMAZ/Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof.Dr. Iva STEINHAUSEROVA/University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Faculty of Veterinary Medicine, Czech Republic

Doç. Dr. Jani Mavromati/Agricultural University of Tirana, Albania

Prof. Dr. Kemal Kaan TEKİNŞEN/Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Kamil BOSTAN/İstanbul Aydın Üniversitesi Güzel Sanatlar Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü

Prof. Dr. Kamil EKİCİ/Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Leyla VATANSEVER/Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU/Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Mehmet ÇELİK/Çukurova Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Mehmet ELMALI/Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Mehmet Emin ERKAN/Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Mehmet Kurtuluş Cem ŞEN/Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Micheal DOYLE/University of Georgia Center for Food Safety, USA

Prof. Dr. Muammer GÖNCÜOĞLU/Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Mustafa ALIŞARLI/Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Rektörü

Prof. Dr. Mustafa ARDIÇ/Aksaray Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Mustafa ATASEVER/Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Mustafa TAYAR/Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Naim Deniz AYAZ/Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof.Dr. Nebahat BİLGE/Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Ömer ÇETİN /İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Özen KURŞUN YURDAKUL /Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Özer ERGÜN /İstanbul Esenyurt Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi

Prof. Dr. Özge ÖZGEN ARUN /İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Özgür İŞLEYİCİ/Van Yüzüncüyıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Özlem KÜPLÜLÜ /Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Recep ÇIBIK /Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Dr. Roxana STOIKA /National Institute for Chemical Pharmaceutical Research and Development, Romania

Prof. Dr. Sema AĞAOĞLU /Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Semra KAYAARDI/Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. Seran TEMELLİ /Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Suzan YALÇIN /Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof.Dr. Süleyman ALEMDAR /Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Prof. Dr. Şahsene ANAR /Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Tarık Haluk ÇELİK /Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Tolga KAHRAMAN /İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ufuk KAMBER /Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ufuk Tansel ŞİRELİ /Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Uğur GÜNŞEN /Balıkesir Üniversitesi Bandırma MYO
Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ /Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Walid ALALI /Epidemiology Hamad Bin Khalifa University, College of Healthand Life Sciences, Kuwait
Prof. Dr. Yakup Can SANCAK /Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yeliz YILDIRIM /Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yusuf DOĞRUEK /Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yusuf YILMAZ /Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN /Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Zehra HAJRULAI-MUSLIU /Ss. Cyril and Methodius University Faculty of Veterinary Medicine Department of Food Chemistry, Macedonia
Prof. Dr. Ziya Gökalp CEYLAN /Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

*Alfabetik olarak sıralama yapılmıştır.

ONUR KURULU

Prof. Dr. Burhan DİNÇER
Prof. Dr. Bülent MUTLUER
Prof. Dr. Ergün ÖZALP
Prof. Dr. M. Aziz DEMİRER
Prof. Dr. Muammer UĞUR
Prof. Dr. O. Cenap TEKİNŞEN
Prof. Dr. Sadi AKGÜN
Prof. Dr. Şerif KAYMAZ

SÖZLÜ BİLDİRİ DEĞERLENDİRME KURULU

Prof. Dr. Gürhan Raif ÇİFTÇİOĞLU
Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU
Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN
Prof. Dr. Ahmet KOLUMAN
Prof. Dr. Özgür İŞLEYİCİ
Doç. Dr. Şebnem PAMUK
Doç. Dr. Recep KARA

POSTER BİLDİRİ DEĞERLENDİRME KURULU

Prof. Dr. Yakup Can SANCAK
Prof. Dr. Mustafa TAYAR
Prof. Dr. Muammer GÖNCÜOĞLU
Prof. Dr. Mehmet ELMALI
Prof. Dr. Filiz KÖK
Doç. Dr. Abdullah DİKİCİ
Doç. Dr. Ali GÜCÜKOĞLU

İÇİNDEKİLER

Önsöz	ii
Veteriner Gıda Hijyeni Kongreleri	iv
Bilim Kurulu	v
Program	x
Tam Metin Bildiriler	1-136

VIII. ULUSAL / II. ULUSLARARASI VETERİNER GIDA HİJYENİ KONGRESİ

24.10.2019 **1.Gün**

09:00-17:00 Kongre Kayıt
14:30-17:00 Açılış Konuşmaları

25.10.2019 **2.Gün**

09:00-09:15 Dr.Can DEMİR
09:15-09:30 Dr.Nedim ÜZEY

**Panel:"Gıda Güvenliğinde
Bilgi Kirliliği"**

09:30-09:45 Prof. Dr. Mustafa
TAYAR

09:45-10:00 Prof. Dr. Ümit
GÜRBÜZ

10:00-10:15 Prof. Dr. Mehmet
ÇALICIOĞLU

10:15-10:25 Soru cevap

10:25-11:35 **International Session**

10:25-10:35 Prof.Dr.Carmen ESPINOSA-
GONGORA

10:35-10:45 Prof. Dr. Zehra HAJRULA-
MUSLIU

10:45-10:55 Dr. Roxana MADALINA-
STOICA

10:55-11:05 Prof.Dr.Jani MAVROMATI

11:05-11:15 Prof.Dr.Velimir STOJKOVSKI

11:15-11:25 Soru-cevap

11:25-11:40 Kahve Arası

11:40-12:40 **1.OTURUM**

11:40-11:50 Korhan ÖZTURAN, Mustafa
ATASEVER

OTURUM BAŞKANLARI/MODERATORS

GLADER Tanıtımı

"Gıda Güvenliği ve Tek Sağlık"

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve
Teknolojisi AbD. Öğr.Üyesi/GLADER Kurucu Üyesi/ TOB.
III.Tarım Şurası Bilgi Kirliliği Grup Başkanı

Kırgızistan Manas Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dekani/GLADER Kurucu Üyesi

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve
Teknolojisi AbD.Ögr.Üyesi/Glader Kurucu Üyesi

OTURUM BAŞKANLARI/MODERATORS

**Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU/ Prof.Dr. Muammer
GÖNCÜOĞLU**

Training the Next Generation of Veterinary Prescribers in
Responsible Antibiotic Use

Development, Validation and Application of Isotope
Based Chromatographic/Spectrometric Techniques for
Mixed Contaminants Including some veterinary drug
residues in bovine meat

Studies on Isolation and Screening of Microbial Strains for
Antibiotics Production

The chemical contamination of environment, water and the
products of animal origin in Albania and the risk of food
safety.

Determination of Synthetic Colors in Selected Market Foods
in Macedonia by Reversed-phase High Performance Liquid
Chromatography with UV-Visible Diode-Array Detection

OTURUM BAŞKANLARI/MODERATORS

Prof. Dr. Yusuf DOĞRUER / Prof. Dr. Filiz KÖK

Erzurum ve Çevresinde Üretilen Süt ve Süt Ürünlerinin
Mevsimlere Göre Mineral Madde ve Ağır Metal İçeriği

11:50-12:00	Tülay Elal MUŞ, Figen ÇETİNKAYA	Investigation of the Presence of Virulence and Enterotoxin Genes in Buttercream Originated <i>Staphylococcus aureus</i> Strains
12:00-12:10	Ümit GÜRBÜZ, Oğuzhan KAHRAMAN, Hatice Ahu KAHRAMAN, Yusuf BİÇER, Tahir BALEVİ	Serbest Yetiştirilen (Free Range) ve Farklı Bitkiler Tüketen Broilerlerin Et Kalite Niteliklerinin Belirlenmesi
12:20-12:30	Yasemin DEMİRHAN, Özge ÖZGEN ARUN	Farklı Şartlarda Depolanan Anne Sütünde <i>C. Sakazakii</i> 'nin Gelişim Potansiyelinin İncelenmesi
12:30-12:40	Ahmet KOLUMAN, Kadir DEMİRCİ, Özge ORAL, Tolga KAHRAMAN	Et Kalitesine Yönelik Seçilmiş Parametreler İçin Elektrokimyasal Hızlı Tespit Platformu
12:40-12:50	Soru-Cevap	
12:50-14:00	Öğle Yemeği	
14:00-15:00	2.OTURUM	OTURUM BAŞKANLARI/MODERATORS Prof. Dr. Gürhan ÇİFTÇİOĞLU / Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN
14:00-14:10	Bahar ONARAN, Fatma Seda BİLİR ORMANCI, Muammer GÖNCÜOĞLU	Tavuk Eti Örneklerinde Vankomisin Dirençli Enterokoklar (VRE)'in Antibiyotik Direnç Profilleri
14:10-14:20	Serhat AL, Harun HIZLISOY, Nurhan ERTAŞ ONMAZ, Fulden KARADAL, Yeliz YILDIRIM, Zafer GÖNÜLALAN	Mezbaha Atık Sularında Karbapenem Dirençli Enterobacteriaceae Varlığının Araştırılması ve blaKPC, blaNDM ve blaOXA-48 Dirençlilik Genlerinin Moleküler Karakterizasyonu
14:30-14:40	Gökhan Kürşad İNCİLİ, Ahmet KOLUMAN	Loop Mediated İzotermal Amplifikasyon ve İSO Metotlarının <i>Escherichia coli</i> O157:H7 Tespitinde Etkinliklerinin Karşılaştırılması
14:40-15:00	Soru-Cevap	
15:00-16:00	3.OTURUM	OTURUM BAŞKANLAR/MODERATORS Prof. Dr. Ahmet KOLUMAN / Prof.Dr.Özgür İŞLEYİCİ
15:00-15:10	Zafer GÖNÜLALAN, Mehmet ÖZKAN, Harun HIZLISOY, Serhat AL, Yeliz YILDIRIM, Nurhan ERTAŞ ONMAZ	Mersin, Mut Yöresi Tulum Peynirlerinin Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri
15:10-15:20	Fatih Ramazan İSTANBULLUGİL, Ümit GÜRBÜZ	Üniversite Öğrencilerinin Gıda Güvenliği Bilinç Düzeyinin Belirlenmesi; Bişkek Örneği
15:20-15:30	Adem ÖZKİRAZ, Ali GÜCÜKOĞLU	Modifiye Atmosfer Paketli Sığır Kıyma ve Kuşbaşı Örneklerinde <i>Listeria monocytogenes</i> Serotipleri ile İzolatların Antibiyotik Direnç Profilinin Belirlenmesi
15:30-15:40	Tahsin Onur KEVENK, Ahmet KOLUMAN	Gıda Kaynaklı <i>E. coli</i> O157'nin Çinko Oksit Nanopartiküllerle (ZnO-NP) İn vitro Dekontaminasyonu
15:40-15:50	Muammer GÖNCÜOĞLU, Naim Deniz AYAZ, Gizem ÇUFAOĞLU, Görkem CENGİZ, John LUCHANSKY, Anna C. S. PORTO-FETT	<i>L. monocytogenes</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7 İzolatlarının Karakterizasyonu ile Bakteriyofaj Kokteyli Kullanılarak Çiğ Köftede <i>L. monocytogenes</i> 'in Biyokontrolü
15:50-16:00	Soru-Cevap	
16:00-16:15	Kahve Arası	
16:15-17:00	Workshop: Etkin İletişim ve Beden Dili	
26.10.2019	3.Gün	

4.OTURUM		OTURUM BAŞKANLARI /MODERATORS Prof. Dr. Ümit GÜRBÜZ / Prof. Dr. Fatma Seda BİLİR ORMANCI
09:00-10:00	Omar HUSAN, Özgür ÇADIRCI	Pazarlarda Satılan Peynirlerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten <i>Enterobacteriaceae</i> Varlığının Belirlenmesi
09:00-09:10	Abdullah DİKİCİ, Özge Tosuncuk, Sümeyye Betül	Geleneksel Türk Köftelerinde <i>Escherichia coli</i> O157:H7'nin Termal İnaktivasyonu
09:10-09:20	Cemil KÜREKÇİ, Seyda ŞAHİN, Ewelina Iwan	Tavuk Eti Örneklerinden Elde Edilen <i>Salmonella Infantis</i> İzolatlarının Tüm Genom Sekans Analizi
09:20-09:30	RENATA, Kwit Arkadiusz BOMBA, Dariusz WASYL	
09:30-09:40	Fulden KARADAL	Süt Ürünleri ve Süt İşleme Tesislerinde Koliform Kontaminasyonu Üzerine Bir Araştırma
09:40-09:50	A. Ezgi TELLİ, Gonca SÖNMEZ, Nihat TELLİ, Maggie R. WILLIAMS, Syed HASHSHAM	<i>Aeromonas hydrophila</i> 'nın Tespitinde hlyA-Bazlı İlmige Dayalı İzotermal Amplifikasyon Metodu (LAMP)'nun Geliştirilmesi
09:50-10:00	Soru-cevap	
5.OTURUM		OTURUM BAŞKANLARI/MODERATORS Prof. Dr. Mustafa TAYAR / Prof. Dr. Yeliz YILDIRIM
10:00-10:10	Asya ÇETİNKAYA	Peyniraltı Suyundan Yapılan Tereyağlarının Aroma Karakterizasyonu
10:10-10:20	Serhat AL, Aytaç AKÇAY, Elif ÇELİK, Güven GÜNGÖR, Candan GÜNGÖR, Harun HIZLISOY	Türkiye' de Hayvansal Gıdalarda <i>Escherichia coli</i> O157 Prevalansının Meta Analizi
10:20-10:30	Cemil KÜREKÇİ, Sait TAN, Ali ARSLAN, Sara Betül DOLGUN, Fatih SAKİN	Farklı Ekstraksiyon Metotlarının Peynir Numunelerinden Bisfenol A İzolasyonu için Kullanımlarının Karşılaştırılması
10:30-10:40	Recep KARA, Ulaş ACARÖZ, Zeki GÜRLER, Ali SOYLU	Tüketime Sunulan Bazı Et Ürünlerinin Renk ve Tekstür Profillerinin Belirlenmesi
10:40-10:50	Halil YALÇIN, Pelin ERTÜRKMEN, Yahya ÖZTÜRK, Hasan Altan AKKAN	Beyaz Peynirlerden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Fermente Sucuğun Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkileri
10:50-11:00	Soru-Cevap	
11:00-11:15	Kahve Arası	
6.OTURUM		OTURUM BAŞKANLARI/MODERATORS Prof. Dr. Yakup Can SANCAK / Prof. Dr. Mehmet ELMALI
11:15-11:25	Gökhan Kürşad İNCİLİ, Pınar KARATEPE, Osman İrfan İLHAK	Kitosan ve <i>Pediococcus acidilactici</i> 'nin Köftelerde <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella</i> Typhimurium ve <i>Listeria monocytogenes</i> Üzerine Etkisi
11:25-11:35	H. Yeşim CAN, Mehmet ELMALI	Hatay İlindeki Kanatlı Eti, İnek Sütü ve Baharat Örneklerinden <i>Bacillus cereus</i> 'un İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Toksin Gen Profili
11:35-11:45	Naim Deniz AYAZ, Gizem CUFAOĞLU, Yeşim YONSUL, Muammer GÖNCÜOĞLU, İrfan EROL	Sığır ve Koyun <i>E. coli</i> O157: H7 İzolatlarında Kolistin Direnci ve Kolistine Dirençli Sorbitol Fermentatif <i>E. coli</i> O157: H7'nin Tüm Genom Sekans Analizi
11:45-11:55	Yağmur Nil DEMİREL, Şebnem PAMUK, Zeki GÜRLER	Çiftlik Çipura (<i>Sparus aurata</i>) ve Levrek (<i>Dicentrarchus labrax</i>) Balıklarında Kloramfenikol Kalıntısı ile ilgili bir Araştırma

Harun HIZLISOY, Serhat AL,
Nurhan Ertaş ONMAZ, Yeliz
YILDIRIM, Zafer
11:55-12:05 GÖNÜLALAN, Mukaddes
BAREL, Candan GÜNGÖR,
Adalet DIŞHAN, Hüseyin Burak
DiŞLİ
12:05-12:15 Soru-Cevap
12:15-13:30 Öğle Yemeği

13:30-14:30 7.OTURUM

Yeliz YILDIRIM, Alparslan
YILDIRIM,Zafer
13:30-13:40 GÖNÜLALAN, Nurhan ERTAŞ
ONMAZ, Önder DÜZLÜ,
Harun HIZLISOY, Zuhar
ÖNDER, Serhat AL
K. Serdar DİKER, **Muammer
GÖNCÜOĞLU**, Guzin ŞAHİN,
Mehmet AKAN, Sefa
GÜRCAN, Kaan MUSTAK,
Naim Deniz AYAZ, Seyyide
SARIÇAM, Merve ÖZDAL
13:40-13:50 SALAR, Dilsad AÇIKALIN,
Gultekin ÜNAL, Fethiye
ÇÖVEN, Asiye DAKMAN,
Irem GÜLGEÇTİ, Nazan
AKÇELİK, Cumra YILDIRIM,
Kamile KESLER,Seden Arzu
BİRİNCİ, Hulya SÖKMEN,
Metin ÇİFTÇİ
13:50-14:00 Seda Dicle KORKMAZ, **Güzin
İPLİKÇİOĞLU-ÇİL**, Ozlem
KÜPLÜLÜ
Ali GÜCÜKOĞLU, Erdem
14:00-14:10 SAKA, Tolga UYANIK, **Sibel
KANAT**, Özgür ÇADIRCI,
Rahşan AKPINAR
14:10-14:20 **Erhan KEYVAN**, Soner
DÖNMEZ
14:20-14:30 Soru-Cevap

14:30-15:30 8.OTURUM

H. Ahu KAHRAMAN, Ümit
GÜRBÜZ
14:40-14:50
Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU,
Jerina RUGJİ
14:50-15:00 Okan AĞIRDEMİR, Özen
YURDAKUL, Erhan
15:00-15:10 **KEYVAN, Erdi ŞEN**
15:10-15:20 Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU,
Zühal ÇALIŞKAN

Kayseri Bölgesi Kesimhanelerinden İzole Edilen
Campylobacter spp.'lerin Virülens Genlerinin, Antibiyotik
Direnç Profillerinin Ortaya Konması ve İzolatların Moleküler
Tiplendirilmesi

OTURUM BAŞKANLARI/MODERATORS
**Prof. Dr. Mustafa ATASEVER / Doç. Dr. Abdullah
DİKİCİ**

Sığır, Koyun ve Manda Çiğ Sütlerinde Zoonotik Karakterli
Encephalitozoon ve *Enterocytozoon* Türlerinin Moleküler
İdentifikasyonu ve Genotiplendirilmesi

Türkiye'de Kuluçka Çiftlikleri ve Sofralık Yumurtalarda
Ulusal *Salmonella* Kontrol Programının Kurulması
Kapsamında Yapılan Baz Çalışması

Ballarda Neonikotinoid Varlığının LC-MS/Q-TOF ile
Araştırılması

Farklı Coğrafi Bölgelerden Toplanan Polenlerde *Clostridium
botulinum* Varlığının Real-Time PCR ile Belirlenmesi

405 nm LED Uygulamasının *S. Typhimurium* Üzerine
Etkisinin İncelenmesi

OTURUM BAŞKANLARI/MODERATORS
**Prof.Dr.Özge ÖZGEN ARUN / Prof.Dr. Naim Deniz
AYAZ**

Longissimus Thoracis ve *Longissimus Lumborum* Kaslarının
Kuru Dinlendirme İşlemi Sırasında Miyofibriler
Proteinlerinde Meydana Gelen Yapısal Değişimlerin
Belirlenmesi

Fonksiyonel Gıda Olarak Probiyotik Fermente Peyniraltı
Suyu ve Probiyotik Canlılığı Artırmak için Gül Yağı
Kullanımı

Levulinik Asit Kullanımı ile Broiler Karkaslarında
S.Typhimurium'un İnaktivasyonu

Lavanta Esansiyel Yağlarının Köftede *Escherichia coli*
O157:H7 ile Köftenin Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik
Kalitesi Üzerine Olan Etkisi.

15:20-15:30 Soru-cevap

15:30-15:45 Kahve Arası

15:45-16:45 **9.OTURUM**

OTURUM BAŞKANLARI /MODERATORS
Prof. Dr. Özen YURDAKUL

15:45-15:55 **Semra GÜRBÜZ**, Aslı
ÇELİKEL GÜNGÖR

Geleneksel Yöntemle Üretilerek Yerel Marketlerde Satışa
Sunulan Tereyağlarında Farklı Yağların Varlığının
Araştırılması

15:55-16:05 Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU, **Ali**
İLERİ

Tulum Peynirinin Olgunlaşması Esnasında Peynirin Bazı
Kalite Özellikleri Üzerine Kapatının Etkisi

16:05-16:15 **Ali Remzi BAYTAROĞLU**,
Özen YURDAKUL

Donmuş Salyangoz (*Helix aspersa*) Eti Üretiminde Sodyum
Laktat'ın Ürün Kalitesine Etkisi

16:45-16:55 Soru-Cevap

16:55-17:10 Kahve Arası

17:10-17:30 Değerlendirme Toplantısı

Hayvansal Gıdalarda Antibiyotik Kalıntısı ve Halk Sağlığı Açısından Önemi

İsmail Yaman¹, Fulya Taşçı^{2*}

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur, Türkiye.

^{2*}Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.

*fulyatasci@mehmetakif.edu.tr

ÖZET

Tıp tarihindeki önemli gelişmelerden biri şüphesiz antibiyotiklerin keşfidir. Antibiyotikler, insan ve veteriner hekimliğinde hastalıkları tedavi etmek, önlemek ve gıda amaçlı bakılan hayvanlarında büyümeyi artırmak için oral, parenteral, topikal olarak kullanılan antimikrobiyal aktivite gösteren doğal, yarı sentetik ve sentetik bileşiklerdir. Hayvancılıkta ve veteriner tıpta antibiyotiklerin kullanılmasıyla, hem hayvan hem de insan sağlığını ve refahını arttırmak suretiyle daha sağlıklı ve daha verimli çiftlik hayvanları elde edilmesini sağlamaktadır. Ne yazık ki, hayvanlarda antibiyotik kullanımı süt, yumurta ve et gibi gıda maddelerinde antibiyotik kalıntılara neden olabilir. Bu kalıntılar, antibiyotiğe dirençli bakterilerin insanlara transferi, normal bağırsak florasının bozulması, immünopatolojik etkiler, alerji, mutajenlik, nefropati, hepatotoksisite, üreme bozuklukları, kemik iliği toksisitesi ve kanserojenite gibi çeşitli yan etkilere neden olmaktadır. Ayrıca antibiyotik kalıntıları, et ve süt ürünlerinde faydalı mikroorganizmaların gelişmesini önleyerek teknolojik sorunlara da sebep olmaktadır. İstenmeyen bu etkilerden dolayı, hayvanlarında antibiyotik kullanımını düzenlemek önemlidir. Bu derlemenin amacı, hayvancılıkta antibiyotik kullanımı ve bunun insan, hayvan ve çevre sağlığı üzerinde etkileri hakkında bilgi vermektir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik kalıntıları, hayvansal gıdalar, halk sağlığı

Antibiotic Residue in Foods of Animal Origin and Their Importance of Public Health

İsmail Yaman¹, Fulya Taşçı^{2*}

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Health Science Institute, Burdur, Turkey.

^{2*}Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of
Food Hygiene and Technology, Burdur, Turkey.

*fulyatasci@mehmetakif.edu.tr

ABSTRACT

One of the major breakthroughs in the history of medicine is undoubtedly the discovery of antibiotics. Antibiotics-naturally-occurring, semi-synthetic and synthetic compounds with antimicrobial activity that can be administered orally, parenterally or topically-are used in human and veterinary medicine to treat and prevent disease, and for other purposes including growth promotion in food animals. Their use in animal husbandry and veterinary medicine has resulted in healthier and more productive farm animals, ensuring the welfare and health of both animals and humans. Unfortunately, antibiotic usage in animals may result antibiotic residues in foodstuffs such as milk, egg and meat. These residues are caused various side effects such as transfer of antibiotic resistant bacteria to humans, deterioration of normal intestinal flora, immunopathological effects, allergy, mutagenicity, nephropathy, hepatotoxicity, reproductive disorders, bone marrow toxicity, and carcinogenicity. Also, antibiotic residues are caused technological problems by preventing the development of beneficial microorganisms in meat and dairy products. Because of these undesirable effects, it is important to regulate the use of antibiotics in food animals. The aim of this review, antibiotic use in the animal husbandry and their effects on the human, animal and environmental health is to inform.

Keywords: Antibiotic residues, foods of animal origin, public health

GİRİŞ

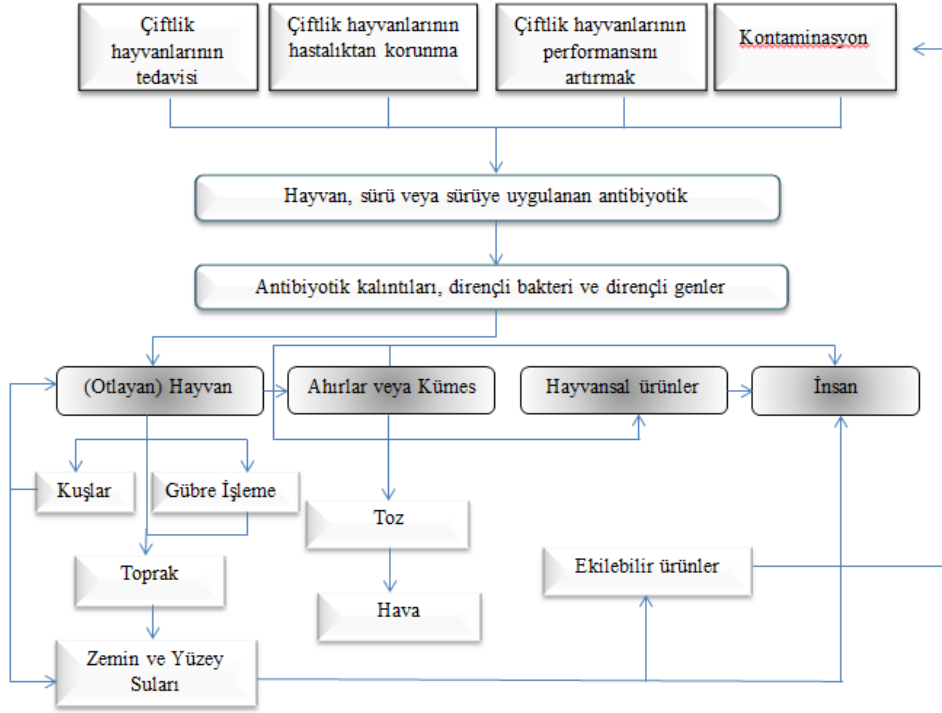
Birçok tehlike gıda güvenliğini tehdit etmekte ve gıdaların sağlığını bozmasına sebep olmaktadır. Ham maddeden sofraya kadar ki tüm aşamalarda gıdalar farklı kaynaklardan çeşitli zararlı unsurlarla kontamine olmaktadır. Gıda güvenliğini tehdit eden başlıca unsurlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelerdir. Gıda ürünleri, gıda üretimi ve işlenmesinin herhangi bir aşamasında kimyasal tehlikelerle kontamine olabilmektedir. Bunlardan antimikrobiyel maddeler özellikle antibiyotikler önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (FDA, 2016). Antibiyotikler çiftlik hayvanlarında; (i) mevcut hastalık koşullarını tedavi etmek için terapötik olarak, (ii) yüksek stres durumlarına maruz kalan canlı hayvanların bakteriyel patojenleri tarafından enfeksiyonu azaltmak için subterapötik dozlarda profilaktik olarak ve (iii) büyümeyi arttırmak amacıyla kullanılır (Chee-Sanford ve ark., 2009). Ancak, antibiyotiklerin kontrolsüz, bilinçsiz kullanılması, yasal atılma sürelerine uyulmaması, kontrol mekanizmasının yetersizliği sonucu antibiyotik kalıntısı içeren hayvansal ürünler vasıtasıyla birçok tehlike ile karşı karşıya kalınmaktadır. Başta hayvanlardan elde edilen gıdalar olmak üzere, insan ve hayvan sağlığı ile çevreye verdiği zararlar yanı sıra ülke ekonomisine ek yük getirmektedir (WHO, 2011). Bu seminer; hayvanlarda antibiyotik kullanımı, hayvansal gıdalarda antibiyotiklerin varlığı ve bu gıdaların tüketilmesi suretiyle antibiyotiklerin insan, hayvan ve çevre sağlığı üzerindeki etkilerini değerlendirilmek amacıyla hazırlanmıştır.

Antibiyotiklerin Kaynakları ve Çevreye Etkileri

Antibiyotikler çeşitli yollarla çevreye bulaşabilmektedir (Kemper, 2008; Topal ve ark., 2012). Antibiyotiklerin çevreye bulaşması; ilaç üretim süreci, üretim tesisleri, proses atık maddeleri, kullanılmayan veya süresi dolmuş bileşiklerin bertaraf edilmesi veya gübre ve atıklar gibi çeşitli şekillerde olabilir (Chee-Sanford ve ark., 2009; Jayalakshmi ve ark., 2017; Sarmah ve ark., 2006). Uygulanan antibiyotiklerin çoğu bağırsaklardan tamamen emilmediğinden, hayvanlar tarafından önemli miktarda antibiyotik (%17-90) doğrudan ana bileşik veya toksik metabolitleri olarak idrar ve dışkı ile çevreye yayılmaktadır (Chee-Sanford ve ark., 2009; Jayalakshmi ve ark., 2017). Çevreye bırakıldıktan sonra, antibiyotikler çözünmüş bir fazda kolloidler veya toprak partikülleri tarafından emilerek, yüzey ve yeraltı sularına karışarak taşınabilirler (Chee-Sanford ve ark., 2009). İdrar ve dışkıyı içeren atıklar, organik madde takviyesi veya gübre olarak sahaya uygulandıklarında değiştirilmemiş antibiyotikleri ve metabolitlerini içerebilir ve

sonuçta bir atık gölüne dönüşürler. Böylece, antibiyotikler ve yan ürünleri doğrudan çevreye maruz kalır ve yağış sırasında topraktan aşağıya doğru süzülebilir veya yakındaki derelere, göllere veya diğer su kaynaklarına taşınabilir (Jayalakshmi ve ark., 2017). Antibiyotiklerin, toprak gibi doğal ortamlarda hem antimikrobiyal direnç gelişimine neden olurlar ve hem de toprağın doğal ekolojik işlevlerini değiştirirler (Radu ve ark., 2017). Hayvansal üretimde antibiyotik kullanmasıyla, dirençli bakterilerin seçimi ve çiftlik hayvanlarında direnç rezervuarlarının geliştirilmesi, antibiyotik kalıntılarının, dirençli bakterilerin ve dirençli genlerin tüketiciler tarafından hayvansal kaynaklı ürünler yoluyla iletilmesi ve antibiyotik kalıntılarının, dirençli genlerin veya dirençli mikroorganizmaların su ve karasal ortamlara taşınmasına neden olmaktadır (Pikkemaat ve ark., 2016). Antibiyotik kalıntılarının çevre içinde kalıcılığı, ilaç kalıntısının fiziko-kimyasal özelliklerine, toprağın özellikleri ve iklim faktörlerine, sıcaklık, yağış ve neme bağlıdır (Kemper, 2008). Antibiyotiklerin topraklarda kalıcılığının adsorpsiyon, su içeriği, sıcaklık ve toprak kompozisyonundan etkilendiği bildirilmiştir (Bansal, 2012).

Gübrede antibiyotik kalıntı konsantrasyonu ile ilgili raporlar büyük farklılıklar göstermektedir. Gübrede en yüksek ve en sık bildirilen antibiyotik kalıntı tetrasiklin grubuna aittir. Gübre içindeki ikinci antibiyotik kalıntı siprofloksasin, enrofloksasin, norfloksasidin ve florokinolon'dur. Penisilinler gübrede zayıf bir kararlılık gösterirler ve ayrıca toprak mikroorganizmaları tarafından bozulmaya uğrarlar. Sülfonamidler nispeten karardır ve biyolojik olarak temin edilebilir formdaki ortamda ortaya çıkar (Jayalakshmi ve ark., 2017). Tetrasiklinler (özellikle tetrasiklin ve klortetrasiklin) topraklarda gübreden daha kalıcı bulmaktadır (Bansal, 2012). Florokinolonlar ve sülfonamidler, organik maddeler açısından zengin olan dışkılarına adsorpsiyon kuvvetlidir (Kemper, 2008). Sulfadimetoksin gibi bazı sülfonamidler yavaş yavaş sığır tarafından absorbe edilir ve emilmeyen kısım (%90'a kadar) dışkılarında değişmeden elimine edilir (Sarmah ve ark., 2006). Sülfadimetoksin konsantrasyonları tedavi edilen buzağuların taze dışkılarında 300 ila 900 mg/kg aralığında tespit edilmiştir (Migliore ve ark., 1997).



Şekil 1. Antibiyotik kalıntılarının yayılmasına ve canlı hayvan üretimi ile ilişkili dirençli bakterilere ilişkin olası yolları (Pikkemaat ve ark., 2016).

Dünya’da ve Türkiye’de Antibiyotik Kullanımı

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) her yıl 700.000 insan ölümünün, antimikrobiyal dirençli enfeksiyonlarla ilişkili olduğunu bildirmektedir (O’Neill, 2016). Önleyici tedbirler alınmadığı takdirde insanlarda antibiyotik kullanımının bu yüzyılda %36 oranında; hayvancılıkta kullanılan antibiyotiklerin ise 2030’a kadar %67 oranında artacağı öngörülmektedir (Van Boeckel ve ark., 2015; UN, 2017). Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotiklerin %75’e kadarı çevreye zarar vermektedir (UN, 2017). Dirençli bakterilerin ortaya çıkması antibiyotiklerin etkinliğini azaltmakta ve ilaç kullanımında arttırmaktadır (Can ve Çelik, 2008; Gustafson ve Bowen, 1997).

Günümüzde birçok ülkede toplam antibiyotik tüketiminin %70-80’i hayvan sektöründe olduğu görülmektedir (İngiltere’de kabaca %50’dir). Avrupa dışında hayvancılık sektöründe kullanılan antibiyotiklerin miktarı hakkında çok az veri bulunmaktadır. Çin’deki hayvanlarda tahmini antibiyotik kullanımının ortalama 318 mg/kg olduğunu ve ülkeyi dünyadaki en yüksek tüketici yaptığı ifade edilmektedir. Hindistan’daki durum belirsizdir. Ancak, önemli antibiyotiklerin kombinasyonlarının kullanılması Hint tavuk endüstrisi hakkında ciddi endişeler

oluşturmaktadır. Ülkedeki hastanelerde artan bir kolistin direnci sorunu olduğu rapor edilmektedir (Burki, 2018). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından hazırlanan raporda, 65 ülkede antimikrobiyal tüketim oranının %0 ile %85 arasında değiştiğini bildirilmektedir. Bu 65 ülkede toplam genel antibiyotik tüketimi günde 1000 kişi başına 4,4 ila 64,4 tanımlanmış günlük doz arasında değişmektedir. Çoğu ülkede amoksisilin ve amoksisilin/klavulanik asit en sık tüketilen antibiyotiklerdir. Toplam mutlak ağırlık (nüfus büyüklüğüne göre ayarlanmamıştır) yılda 1 tondan 2.225 tona kadar değişmektedir. Üçüncü kuşak sefalosporinler, kinolonlar ve karbapenemler gibi geniş spektrumlu antibiyotikler, izleme antibiyotikleri olarak kategorize edilir ve antimikrobiyal direncin gelişmesine ve bunların yan etkilerine neden olma potansiyeli yüksek olduğundan dikkatli kullanılmalıdır (WHO, 2018). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) kullanılan tüm antibiyotiklerin yaklaşık %80'i esas olarak büyüme teşviki için gıda amaçlı yetiştirilen hayvanlara verilmektedir. Hayvanlarda antibiyotik kullanımı, insanlarda kullanılanı yaklaşık üç kat daha fazladır. Gıda amaçlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı 2013-2030 yılları arasında küresel olarak %53 artacağı öngörülmektedir. Bilim insanları, dünya genelinde 2013 yılında hayvanlarda 131.000 tondan fazla antibiyotiğin kullanıldığını, 2030'a kadar, öngörülen tüketim 200.000 tonun üzerine çıkacağını bildirmektedirler (CDDEP, 2017). Gıda üretiminde, antibiyotiklerin mevcut ilk beş kullanıcısı ülkeye göre:

- Çin - 2013 yılında 78.200 ton (2030 yılına kadar %59 artış)
- Amerika Birleşik Devletleri – 9.476 ton (2030 yılına kadar %22 artış)
- Brezilya – 6.448 ton (2030 yılına kadar %41 artış)
- Hindistan – 2.633 ton (2030 yılına kadar %82 artış)
- İspanya – 2.202 ton (2030 yılına kadar %6 artış) olarak bildirilmektedir (CDDEP, 2017).

Türkiye beşeri hekimlikte Dünya'da en yüksek oranda (1000 kişi başına günlük doz 47,86) antibiyotik kullanımına sahip olan ülkedir (Klein ve ark., 2018). Veteriner Hekimliğinde ise veteriner ilaçlarının kullanım miktarına ilişkin sağlıklı veriler bulunmamaktadır. Yarsan (2013) tarafından bu durumun özellikle ilaçlarda karekod uygulaması ve izlenebilirlik planlarının oluşturulması ile düzeltilebileceği bildirilmektedir.

Tüm hayvan türlerinin büyümesini ve performansını artırmak için antibiyotik kullanımı 2006'dan itibaren Avrupa Birliği'nde (AB) resmen yasaklanmıştır (EC, 2005). Bununla birlikte,

hala Kuzey ve Güney Amerika ve Asya'da antibiyotiklerin kullanımına izin verilmektedir (Chardon ve Brugere, 2014). Türkiye'de de büyümeyi hızlandırmak amacıyla kullanılan ilaçlar AB ülkelerinde olduğu gibi 21 Ocak 2006 tarih ve 26056 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan tebliğ ile yasaklanmıştır (Resmi Gazete, 2006). Ancak ilgili mevzuat incelendiğinde kullanılmasına izin verilen pek çok ilacın büyümeyi hızlandırıcı bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Örneğin antikoksidiyal olarak kullanılan iyonofor grubu antibiyotik sınıfına ait ilaçlar endüstriyel tavukçuluk üretiminde kullanılan yemlere bir katkı maddesi olarak katılmasına, yani büyümeyi hızlandırıcı olarak kullanılmasına izin verilmiştir (Resmi Gazete, 2006). Hayvanlarda kullanımı izinli ilaçların, hayvansal ürünlerde bulunmasına izin verilen miktarına Maksimum Kalıntı Limiti (MKL) adı verilir. MRL; kabul edilebilir günlük alım miktarında da belirtildiği gibi insanda herhangi bir sağlık problemine neden olmayan ilaç ve metabolitinin miktarını tanımlar. Hayvanlara uygulanan ilaçlar hayvanın yenilebilir ürünlerinde MKL düzeylerine inene kadar beklendikten sonra bu ürünlerin tüketime sunulmasına izin verilmektedir (Özdemir ve Traş, 2018). Hangi seviyede olursa olsun insan sağlığı açısından tehlikeli olması nedeniyle gıda elde edilen hayvanlarda kullanımı yasaklanan ve gıdalarda hiçbir seviyede bulunmaması gereken antibiyotikler dimetridazol, kloramfenikol, metronidazol, nitrofuranlar (furazolidone dahil), ronidazoldür (Resmi Gazete, 2017).

Antibiyotiklerin Sınıflandırılması ve Etki Mekanizması

Tablo 1. Başlıca veteriner antibiyotiklerinin sınıflandırılması (Chardon ve Brugere, 2014).

Veteriner Hekimliğinde Kullanılan Antibiyotik Aileleri	Antibiyotiklerin Alt Aileleri	Etki Şekilleri	Veteriner Hekimliğinde Kullanılan Aktif Maddelerin Örnekleri
Beta-Laktamlar	Penisillinler Sefalosporinler	Hücre duvarının sentezini, özellikle yapının sertliğini ve bakteri şeklini etkileyen peptidoglikan sentezini inhibe eder. Bu dış zarı önemli ölçüde zayıflatır. Bakteriler, hücrenin lize olmasına sebep dış streslere (ozmotik basınç, sıcaklık, mekanik stres) karşı çok duyarlı hale gelir.	Penisilinler G, M ve A Sefalosporinler (1., 2., 3. ve 4. nesil*)
Polimiksinler	/	Plazma zarının yapısını, bütünlüğünü zayıflatan dış fosfolipitlere girerek bozar. Geçirgenlik artık sağlanmaz. Metabolitler ve iyonlar hücreden çıkar ve bakterileri öldürür.	Kolistin Polimiksin B
Aminoglikozitler	/		Gentamisin Apramisin
Makrolidler ve Benzerleri	Makrolidler Linkozamidler Plöromutilinler	Protein sentezini bloke ederek ve ribozomlar üzerinde hareket ederek protein sentezini inhibe eder. Bu, yeni proteinlerin oluşumunu önler ve böylece bakterilerin üremesi ve hatta, aminoglikozidler durumunda, anormal proteinlerin sentezlenmesine neden olarak yıkımlanmalarını tetikler.	Eritromisin Spiramisin Klindamisin Tiamulin
Siklinler	/		Klortetrasiklin Doksisiklin
Fenikoller	/		Florfenikol Tiyamfenikol

Kinolonlar	Kinolonlar	Ana düzenleyici enzimlere	Flumekin
	Florokinolonlar	(opoizomeraz ve DNA giraz) eklenerek DNA yapısını bozar.	Enrofloksasin Marbofloksasin
Sulfonamidler	/	DNA baz çiftlerinin sentezini rekabetçi olarak inhibe eder.	Sulfadiazin Sulfadimethoksin
		Sülfonamidler sentezinde bir ara madde olan folik asitin yapısal benzeridir. Bunu engelleyerek, bakteriyel büyümei durdurur.	Sülfametoksazol + Trimetoprim

*Bazı antibiyotikler için farklı nesiller, özelliklerine, etkinlik spektrumlarına ve ilk pazarlandıkları tarihe göre tanımlanmaktadır. Nesil ne kadar yeni olursa, antibiyotik o kadar etkili olur.

ANTİBİYOTİK KULLANIMINDAN KAYNAKLANAN HALK SAĞLIĞI SORUNLARI

Antimikrobiyallerin kontrolsüz kullanımı, insanlarda alerjiden şiddetli zehirlenmelere, üremenin bozulmasına, gıdalarda antibiyotik kalıntılara ve dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bakterilerde hücre duvarının sentezini engelleyerek, stoplazmik zarın geçirgenliğini değiştirerek, nükleik asit sentezini önleyerek ve ara metabolizmayı bozarak etkilerini oluştururlar. Memeli lenfositlerinde protein sentezini engelleyerek bağışıklık sistemini baskılanmasına, uzun süre antibiyotik kalıntısı içeren gıdaların tüketimine bağlı olarak insanlarda süper infeksiyon tehlikesine, ince ve kalın bağırsak bakteri florasının değişmesine, teratojenik, karsinojenik ve mutajenik etkilere sebep olmaktadır (Beyene, 2016; Klimek ve ark., 2017; Schenck ve Callery, 1998; Tadesse ve Tadesse, 2017).

Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Antibiyotikler, bireylerin bildirdiği alerji olaylarından en yaygın kullanılan ilaç sınıfıdır. Antibiyotik alerji insidans oranları kadınlarda erkeklere göre daha yüksektir. Antibiyotik alerjisi prevalansı yaş ilerledikçe artmaktadır. Hastaneye yatırılan ve daha fazla antibiyotik kullanan popülasyonlarda daha yaygındır. ABD’de spesifik antibiyotiklere karşı alerji prevalansları penisilin %7,9; sulfonamid %4,3; makrolidler %1,2; sefalosporin %1,1; tetrasiklin %0,70; kinolonlar %0,46; nitrofurantoin %0,24; klindamisin %0,20; metronidazol %0,15 olarak rapor edilmiştir (Macy ve ark., 2017).

Ette bulunan veteriner ilaç kalıntılarının, insanlarda toksik veya alerjik reaksiyonlara neden olduğu nadiren de olsa rapor edilmiştir. En dikkate değer olay, yasadışı büyüme hızlandırıcısı, klenbuterol kalıntıları içeren sığır etinin tüketilmesidir. Aralık 2005'te, Meksika'da en az 225 kişi, bu ilacın kalıntılarını içeren sığır eti veya sığır karaciğeri tükettikten sonra titreme, baş ağrısı ve halsizlik belirtileri gözlenmiştir. Hassas bireylerin etteki antibiyotik kalıntılarına, özellikle de penisilin kalıntılarına alerjik reaksiyonlar gösterdikleri bildirilmektedir (Doyle, 2006). Anafilaktik reaksiyonların, sığır veya domuz eti içeren penisilin tüketiminden kaynaklandığı bildirilmiştir. İlaç duyarlılığı prevalansı değişir, ancak genel popülasyonda yaklaşık %7 olduğu tahmin edilmektedir (Doyle, 2006).

Hastanede yatan hastalarda ilaç alerjisi insidansı üzerine yapılan çalışmalar da vakaların %30-50'sinde antibiyotikler olası neden olarak bildirilmiştir (Gamboa, 2009; Park ve ark., 2008). Penisilinler ile birinci ve ikinci nesil sefalosporinler; nadiren sulfametoksazol ve makrolidler alerjik semptomlara neden olan en yaygın antibiyotiklerdir (Demoly ve ark., 2000). Genel nüfusun %10'una kadar penisiline alerjisi olduğuna inanılmaktadır. Alerjik tanılarda, hastaların %80'inden fazlasına bağışıklık testleri dahil alerjisi olmadığını, penisilinlere ve sefalosporinlere tolerans göstermediğini belirlenmiştir (Solensky ve ark., 2002).

Kanserojen Etki

Kanserojen etki, kanser üreten aktiviteye sahip bir ilacın sebep olduğu etkiye denir. Günümüzde birçok ülkede kullanılmakta olan kanserojen veteriner ilaçları arasında nitrofuranlar, nitromidazoller ve kinoksalin bulunmaktadır. Bu ilaçlar, antimikrobiyal kalıntı olarak hayvansal gıdalardan elde edilmektedir. Kanserojen kalıntının potansiyel tehlikeleri, proteinler, ribonükleik asit, glikojen, fosfolipitler ve glutation gibi çeşitli hücre içi bileşiklerle etkileşimleri veya kovalent bağlanmalarıyla ilgilidir. Bu, DNA gibi hücrel bileşenlerde değişikliğe yol açmaktadır (Beyene, 2016).

Boursi ve ark. (2015), akciğer, meme, cilt, gastrointestinal ve genitoüriner sistem dâhil birçok organda antibiyotik maruziyeti ile kanser riski arasındaki ilişkisini araştırmışlardır. Belirli antibiyotiklere tekrarlayan maruz kalmaların, belirli organ bölgelerinde kanser riski ile ilişkili olabildiği bildirilmektedir. Penisilin, kinolonlar, sülfonamidler ve tetrasiklinlerin kullanımıyla prostat kanseri riski mütevazı bir şekilde artmıştır. Meme kanseri riski,

sülfonamidlere maruz kalma ile mütevazı bir şekilde ilişkili bulunmuşken; Antiviral ve antifungal kullanımı ile kanser riski arasında ilişki olmadığı belirlenmiştir.

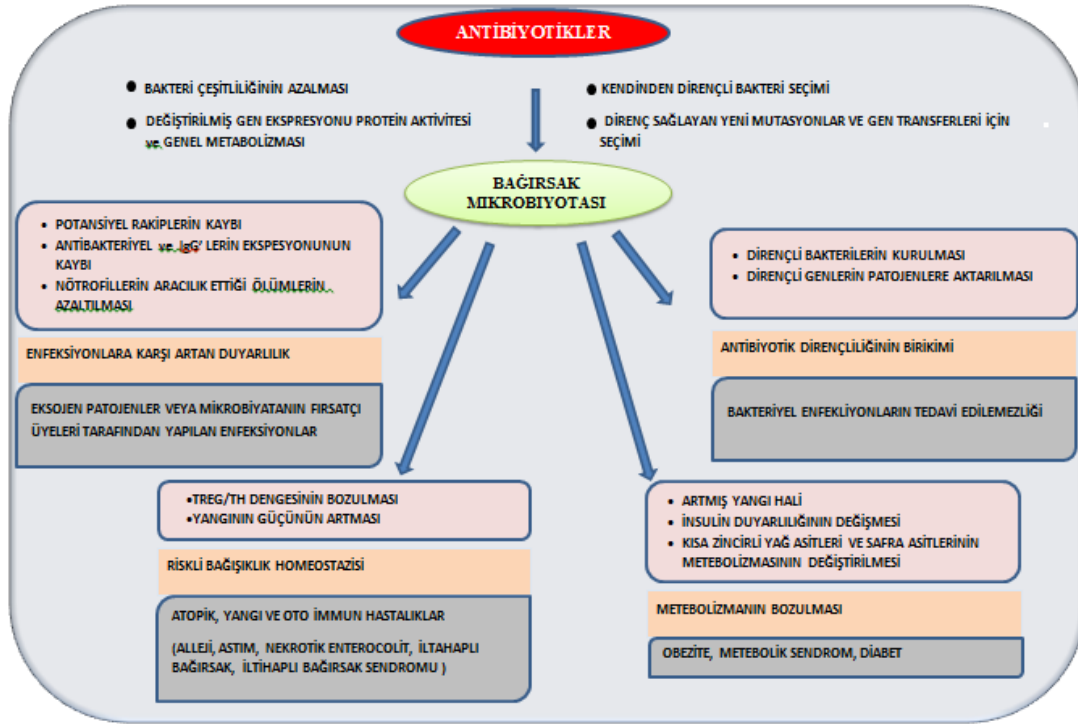
Teratojenik Etki

Teratojen terimi, kritik bir gebelik safhasında embriyo veya fetüs üzerinde toksik etki gösteren bir ilaç veya kimyasal maddeye verilen isimdir. Organizmanın yapısal ve işlevsel bütünlüğünü etkileyerek doğuştan bir malformasyona neden olur (Beyene, 2016). Antibiyotik türü olan tetrasiklin, plasental zarı geçebilir ve embriyoda kemikler ve dişler içinde birikir. Tetrasikline maruz kalma birincil veya süt dişlerinin sarı renklenmesine ve uzun kemiklerin büyümesinde azalmaya neden olabilir (Tadesse ve Tadesse, 2017). Erić ve Sabo (2008), tarafından gebelikte antibakteriyel ilaç kullanımı ile konjenital malformasyonların ortaya çıkışı arasındaki olası ilişkiyi incelemek amacıyla 6.099 gebe arasında 392'si (%6,43) antibakteriyel ilaç kullanmışlardır. En sık kullanılan antibiyotikler sefalekssin (%22,19), amoksisilin (%20,66) ve ampisilindir (%14,29). Uterusta beta-laktamların etkilerine maruz kalan 14 embriyoda malformasyonlar tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, güvenli olduğu düşünülen antibakteriyellerin (amoksillin) bile teratojenik potansiyellere sahip olduğu, ancak bunların küçük malformasyonlar olduğundan genellikle tespit edilmedikleri belirlenmiştir.

Normal Bağırsak Florasının Bozulması

Bağırsak mikrobiyotası, bağırsaklarda kolonize olan tüm mikroorganizma popülasyonunu ifade eder. Çok çeşitli bakteri, mantar, arkea, virüs ve protozoa içermektedir (Dudek-Wicher ve ark., 2018). Gastrointestinal kanalda yaklaşık 800-1.000 farklı bakteri türü ve 7.000'den fazla farklı suş bulunmaktadır (Jernberg ve ark., 2010). Sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotası, ağırlıklı olarak, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* ve bunu takiben *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia*'dan oluşur. Bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen türler: *Gemella* spp., *Megasphaera* spp., *Pseudomonas* spp., *Prevotella* spp., *Streptococcus* spp., *Rothia* spp., *Veillonella* spp., *Clostridium* spp., *Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Ruminococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Fusobacteria* spp., *Lachnospira* spp., *Roseburia* spp., *Butyrivibrio* spp., *Faecalibacterium* spp., *Proteobacteria* spp.'dir (Dudek-Wicher ve ark., 2018). Bu mikroorganizmalar kommensial veya mutualistdirler, ağırlıklı olarak karbonhidratların fermantasyonu yoluyla besin

metabolizmasına yardımcı olmaktadır. Bunun sonucunda kolonositler için önemli bir enerji kaynağı olan butirat (kısa zincirli bir yağ asidi) sentez edilmektedir. Antiinflamatuvar ve antikanser özellikleriyle bilinmektedir. Aynı zamanda lipid metabolizması üzerinde de olumlu bir etkisi bulunmaktadır. Mikrobiyal proteinazlar ve peptidazlar sayesinde proteinlerin metabolizmasında rol alırlar. Ayrıca K, B12 vitamini, biotin ve konjuge linoleik asitlerin (CLA) sentezi için çok önemlidirler. Safra asitlerini dönüştürürler ve çeşitli polifenollerin parçalanmasına katılırlar (Dudek-Wicher ve ark., 2018; Klaassen ve Yue Cui, 2015; Ozdal ve ark., 2016). Genellikle bağırsakta yaşayan bakteriler, patojenlerin hastalıklara neden olmasını engelleyen bir bariyer görevi görmektedir. Ancak, antibiyotikler toplam bakteri sayısını azaltabilir veya seçici olarak bazı önemli türleri öldürebilir (Doyle, 2006; Jakobsson ve ark., 2010). Geniş spektrumlu antimikrobiyaller, çok çeşitli bağırsak florasını olumsuz yönde etkilemekte ve gastrointestinal problemlere neden olmaktadır. Örneğin, hayvanlarda fluniksın, streptomisin ve tylosin gibi ilaçların, insanlarda ise vankomisin, nitroimidazol ve metronidazol kullanımı bu etkiye neden olmaktadır (Cotter ve ark., 2012). Bazı antibiyotikler anaerobik bakterilere karşı insan intestinal mikrobiyotasında önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin; klindamisin anaerobik bakterileri hedef alan nispeten geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Klindamisin, patojenlerin kolonizasyona karşı direncinin azalması gibi bağırsak mikrobiyotası üzerinde büyük bir olumsuz etki göstererek, *Clostridium difficile*'nin aşırı artışından dolayı yüksek psödomembranöz kolit riskine yol açmaktadır. Ayrıca, normal bağırsak fonksiyonlarındaki bozukluklar şişkinlik ve bağırsak ağrısı gibi semptomlara yol açabilmekte, bağırsak florası üzerinde gastrit ve ishale neden olmaktadır (Jernberg ve ark., 2010).



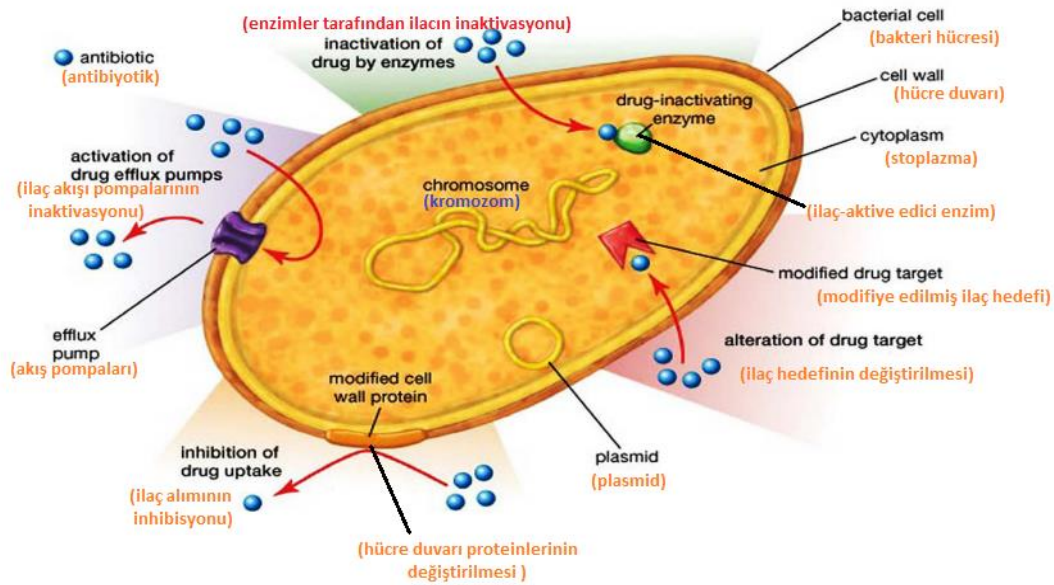
Şekil 2. Bağırsak mikrobiyotasında antibiyotik etkileri ve buna bağlı sağlık sorunları (Francino, 2016).

Antimikrobiyal Direnç Gelişimi

Antimikrobiyal direnç (AMR), bir mikroorganizmanın, duyarlı olduğu bir antimikrobiyal ilaca karşı olan direncidir. Dayanıklı organizmalar (bakteri, mantar, virüs ve bazı parazitler) antibiyotikler, antifungaller, antiviraller ve antimalaryaller gibi antimikrobiyal ilaçların etkileri tarafından yapılan saldırıya direnebilir. Bu nedenle, standart tedaviler etkisiz hale gelir, enfeksiyonlar diğerlerine yayılma riskini artırmaya devam eder. Dirençli suşların evrimi, mikroorganizmaların antimikrobiyal ilaçlara maruz kalması ve bazı bakteri türleri arasında dirençli özelliklerin değişmesiyle ortaya çıkan doğal bir olgudur. Antimikrobiyal ilaçların aşırı kullanımı ve yanlış kullanımı bu doğal olguyu hızlandırmaktadır. Yetersiz enfeksiyon kontrol uygulamaları AMR'nin yayılmasını teşvik eder. İlaça dirençli organizmaların büyük bir çoğunluğu, mikroorganizmaların yaşamı boyunca mutasyon veya genetik materyalin aktarılması yoluyla elde edilen genetik değişikliklerin ve sonraki seçim işlemlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Mutasyonel direnç, belirli bir antimikrobiyale karşı duyarlılığı kontrol eden mikrobiyal kromozomdaki bir lokustaki spontan mutasyonun bir sonucu olarak gelişir. Direnç, genetik materyalin bakteriler arasında aktarılması sonucu da gelişebilir. Direnç transferi yöntemi, spesifik ilaç/bakteri kombinasyonlarına göre değişir (Sahu ve Saxena, 2014).

Hayvanlarda kullanılan antibiyotikler sonucunda, gıda kaynaklı mikroorganizmalar insan hastalıklarını tedavi etmek için kullanılan antibiyotiklere dirençli hale gelebilir. Bir hayvan antimikrobiyal ilaçla tedavi edildiğinde, ilaca maruz kalan tüm bakterilere seçici bir basınç uygulanır. Antimikrobiyallere duyarlı bakteriler öldürülür veya rekabet dezavantajına sokulur, antimikrobiyallere karşı dirençli olan bakteriler bir avantaj sağlar ve daha duyarlı bakterilere göre daha hızlı üreyebilir. Ek olarak, direnç genleri dirençli bir bakteriden duyarlı olana geçtiğinde bakteri dirençli hale gelebilir. Bu nedenle, antimikrobiyal maddeler, hem hedef patojenler hem de normal bakteriyel flora arasında dirençli bakteri prevalansını arttırabilir (Sahu ve Saxena, 2014).

Mikroorganizmaların antimikrobiyallere adapte olabileceği ve direnç gösterebileceği çeşitli mekanizmalar vardır; bunlar arasında enzimlerin üretimi, hedef alanların değiştirilmesi, metabolik yolların değiştirilmesi, dış zar geçirgenliğinin ve dışarı akış pompalarının değiştirilmesi yer alır. Dirençli bakteriler, bu mekanizmaların bir veya daha fazlasına sahip olabilir ve bu nedenle birden fazla antimikrobiyal sınıfa direnç gösterir (Allcock ve ark., 2017).



Şekil 3. Bakterilerde yatay gen aktarma mekanizmaları (HGT) ve çeşitli antibiyotik direnç stratejileri (Bbosa ve ark., 2014).

Gıda amaçlı yetiştirilen hayvanlarda antibiyotik kullanımını kısıtlayan müdahalelerin yapılmasıyla, bu hayvanlarda antibiyotiğe dirençli bakterilerin varlığında bir azalma olduğu belirlenmiştir. Genel olarak antibiyotik kullanımının azaltılmasıyla, hayvanlarda antibiyotiğe dirençli bakterilerin prevalansı %15 ve çoklu ilaca dirençli bakterilerin %24-32 oranında

azaltmıştır. Hayvanlarda antibiyotik kullanımını azaltan müdahaleler ile insanlarda antibiyotiğe dirençli bakterilerin prevalansında %24'lük mutlak bir azalma görülmüştür (Tang ve ark., 2017).

Çiftlik hayvanlarında antibiyotik dirençli bakterilerin görülme sıklığı, kullanılan antibiyotik miktarları, antibiyotiklerin türü, uygulama yolu ve hayvan türleri gibi birçok faktöre bağlıdır (Pikkemaat ve ark., 2016). 1990'lı yıllarda fluorokinolon ile kümes hayvanlarının tedavisinden hemen sonra, fluorokinolona dirençli bakterilerin kümes hayvanlarından hızla arttığı bildirilmiştir (Jacobs-Reitsma ve ark., 1994). ABD'de insanlardaki fluorokinolona dirençli *Campylobacter* prevalansının artması, 2005 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi tarafından kümes hayvanlarında enroflokasin kullanımını yasaklanmıştır (Pikkemaat ve ark., 2016). Danimarka'da büyüme arttırıcı olarak kullanılan tylosin'in yasaklanmasıyla domuzlarda *Campylobacter coli*'de (domuzlarda en yaygın *Campylobacter* türü) makrolid (eritromisin) direnci seviyesinde %66'dan %20'ye düşürülmesinde olağanüstü bir etkisi olmuştur (Hammerum ve ark., 2007).

ANTİBİYOTİKLERİN GIDA TEKNOLOJİSİNDE YARATTIĞI SORUNLAR

Antibiyotik kalıntıları et ürünleri (fermente sucuk, pastırma, salamura et vb.) ve süt ürünlerinde (yoğurt, peynir, tereyağı vb.) yararlı mikroorganizmaların gelişmesini engelleyerek teknolojik sorunlara neden olmaktadır (Arslan, 2013). Sütte az miktarda antibiyotik bulunması dahi süt endüstrisinde problemler yaratmaktadır. Sütün yetersiz biçimde kesilmesi ve üretimi sırasında peynirin olgunlaşmasını engellemekte, kültürlü ürünlerinde lezzette azalma ve randımanda düşmekte, antibiyotiklerin starter kültür ile etkileşimleri sonucu üretim kaybına neden olmaktadır. Antibiyotik kalıntıları, fermantasyonda kullanılan başlangıç kültürlerinin kısmen veya tamamen inhibe edilmesiyle; yoğurt ve peynir gibi fermente ürünlerin üretiminde engellemeye sebep olmaktadır. Bazı kalite kontrol testlerinin onaylanmasındaki zorluklara sebebiyet vermektedir (Singh ve ark., 2014). Kjeldgaard ve ark. (2012), tarafından fermente sucuklarda kalıntı veteriner antibiyotiklerinin fermentasyon sürecini bozabileceği, patojen bakterilere hayatta kalma ve çoğalma şansı verdiği belirlenmiştir. Çalışmada ticari olarak temin edilebilen altı starter kültürün, yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere (oksitetrasiklin, penisilin ve eritromisine) karşı hassas olduklarını belirlemişlerdir. Ette, yasal olarak tolere edilebilir

düzeydeki oksitetrasiklin ve eritromisin, starter kültürleri ve fermentasyon performansını inhibe ettiği saptanmıştır. Bu çalışmada et fermentasyonunun bozulduğu, başarılı fermentasyonlara kıyasla *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*'un hayatta kalmasını arttırdığı saptanmış ve ette veteriner ilaçlarının bulunmasıyla ilgili göz ardı edilmiş bir risk ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır.

GIDALARA UYGULANAN BAZI İŞLEMLERİN ANTİBİYOTİK KALINTILARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Gıdalara uygulanan ısıl işlemler, fermentasyon, soğuk hava deposunda muhafaza ve diğer gıda işleme yöntemleri gıdanın antibiyotik kalıntı yüzdesini etkilemektedir. Alfredsson ve Ohlsson (1998), sülfonamidli sığır ve domuz kas örneklerinin oda sıcaklığında 24 saat ve -20°C'de 1 hafta süresince ilaç seviyelerinin değişmediği, ancak 1 ay dondurulmuş muhafazadan sonra sığır ve domuz kasında seviyeleri önemli ölçüde azaldığı, üç ay sonra ortalama azalmanın sığırlarda %35, domuz kasında ise %55 olduğu belirlenmiştir. Nguyen ve ark. (2013), oksitetrasiklin (OTC), tetrasiklin (TC), klortetrasiklin (CTC) ve doksisisiklin (DC) kalıntılarını içeren domuz kasları kaynatma (100°C'de 3; 6 ve 9 dakika), kızartma (170°C'de 3; 6 ve 9 dakika) ve mikrodalga fırında (800 W; 2450 MHz 93,7°C'de 0,5; 0,75 ve 1 dakika) pişirme uygulanmıştır. Sonuçlar, kaslardaki TC kalıntılarının 9 dakika kaynatıldıktan sonra %45,35 ile %67,05; 9 dakika boyunca kızartıldıktan sonra %38,17 ile %65,74 ve 1 dakika mikrodalga uygulandıktan sonra %38,17 ile %48,47 oranında azaldığını göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları, tetrasiklin kalıntı miktarının pişirmeyle önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir, bu sayede hem pişirme süresi hem de yöntemler önemli bulunmuştur. Kaynatma ve kızartma sırasında TC konsantrasyonunun azalması, TC'nin etin pişirme ortamına (su ve yağ) geçmesinden; mikrodalga işlemi sırasında, domuz etlerinden sızan suyun azalmasından dolayı olduğu ve TC kalıntılarındaki genel kaybın, protein-TC bileşiklerinin denatürasyonuna bağlı olduğu belirtilmektedir. Yumurta ve sütlerde yapılan çalışmalarda sülfonamidlerin bozulma yüzdeleri sıfırdan %99'a kadar değişmekte olduğu belirlenmiştir (Tian ve ark., 2017). Kaynatma ve kavurma işlemlerinde kas örnekleri, diğer dokulardan ısıya karşı daha fazla direnç göstermektedir (Javadi ve ark., 2011). Domuz etindeki penisilin, amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, oksitetrasiklin, doksisisiklin, kolistin, dihidrostreptomisin ve sülfametoksazol kalıntılarının 134°C'de 3 atmosfer basınç altında 20 dakika süre ile sterilizasyon işlemi sonucunda tamamen yıkımlanmadığını ve yaklaşık %10'unun ette kaldığını saptanmıştır (Van

Egmond ve ark., 2000). Franje ve ark. (2010), tarafından florfenikol (FF), tiamfenikol (TAP) ve kloramfenikol (CAP) su, tuzlu su, soya sosu ve tavuk etinde 100°C'de 2 saate kadar ısıtılmış ve amfenikollerin matrisler içindeki ısı kararlılığı, su \geq tuzlu su > soya fasulyesi sosu > et olarak sıralanmıştır. Isının soya fasulyesi sosunda amfenikollerin bozulmanın hızlandığını ve ette korunmadığını göstermektedir. Etlerde yapılan çalışmalarda amfenikollerin bozulma yüzdeleri %0-100 arasında olduğu belirlenmiştir. Liman ve ark. (2015), tarafından yapılan çalışmada broyler göğüs eti ve karaciğer dokularındaki sülfametazin düzeylerinin ızgara ve haşlama işlemleri ile değişik oranlarda azaldığı; dokulardaki kalıntılar üzerinde derin dondurucuda muhafaza işleminin önemli bir değişime yol açmadığı belirlenmiştir. Elbagory ve ark. (2017), tarafından yapılan çalışmada sığır etiğine kaynatma (100°C'de 30 dakika), ızgara (200°C'de 15 dakika) ve mikrodalga fırında (180°C'de 10 dakika) pişirme yöntemlerinin uygulanması ile OTC ve penisilin kalıntılarını olumlu bir şekilde azalttığını belirlemişlerdir. Pişirme süresi ve sıcaklığı etteki antibiyotik kalıntılarını etkileyen iki ana faktördür; pişirme prosedurlerinde, yeterli ısıtma sıcaklığı ve süresi birkaç antibakteriyel ilaç kalıntısını azaltabilir, ancak genel olarak tüketicilere ek bir güvenlik sağlamamaktadır (Heshmati, 2015).

HAYVANSAL KAYNAKLI GIDALARDA ANTİBİYOTİK KALINTISININ KANTİTATİF VE KALİTATİF TESPİTİ

Antibiyotik kalıntılarının saptanması için analitik yöntemler, tarama ve doğrulama olmak üzere iki gruba ayrılır (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010; Ramatla ve ark., 2017). Hayvansal kökenli gıdalarda antibiyotiklerin saptanması için ince tabaka kromatografisi (TLC), enzime bağlı immünosorbent assay (ELISA), Nouws antibiyotik testi (NAT), Ticari ampül testi, Premi Testive diğerleri (Dört Plaka Testi (EU4pt) gibi farklı tarama yöntemleri vardır (Ramatla ve ark., 2017). Bir tarama yönteminin ideal özellikleri örneklerde düşük oranda yanlış pozitiflik sonuç, yüksek verim, kullanım kolaylığı, kısa analiz süresi, iyi seçicilik ve düşük maliyettir (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010). Bununla birlikte, çoğunlukla gelişmiş ülkelerdeki birçok araştırmacı, özgüllük ve sonuçların doğrulanması için doğrulayıcı yöntemler kullanmaktadır. Çoğunlukla sıvı kromatografisi (LC), analit konsantrasyonlarını ölçmek için kütle spektrometresine (MS) bağlanmıştır. UV tespitli LC ve kapiller elektroforez (CE) temelli diğer yöntemler antibiyotikleri tespit etmek için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, tüm bunlar zaman alıcıdır, pahalıdır ve karmaşık laboratuvar ekipmanı ve eğitimli personel gerektirir. Ayrıca, katı faz ekstraksiyonuna (SPE) ve çok aşamalı temizlemeye dayanan numune hazırlama

prosedürleri gerektirirler (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010). LC-MS en çok kullanılan analitik yöntemdir (%38), bunu LC-UV (%18) ve ELISA (%18) izlemektedir. Bununla birlikte, diğer tarama yöntemlerinin (%12) ve biyosensörlerin (%8) kullanılmaktadır (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010).

Ticari Mikrobiyolojik Testler

Son yıllarda, farklı ticari testler, farklı ticari isimler altında birkaç şirket tarafından üretilerek kullanılmaktadır (örneğin, BR testi, Eclipse testi, Copan testi, Delvotest, Lumac ve Arla). Bu tür testler ile genellikle MRL'ye çok yakın eşiklerde çok sayıda antibiyotiği tespit edilebilir. Bunlar kalite testleridir fakat bilinen bir eşik değeri vardır. Mikrobiyolojik testler profesyonel olmayanlar tarafından yapılabilir. Çiftlikte veya laboratuarda sınıflandırılabilirler, ikincisi 96 gözlü mikrotiter plaka sistemine dayanır ve yüksek oranda otomatiktir (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010).

Mikrobiyal İnhibisyon Yöntemi

Hayvansal kaynaklı gıda maddelerinde antibiyotik kalıntılarının saptanması için en yaygın kullanılan yöntemdir. Uygun maliyetli ve aynı zamanda tek bir test çalışmasında çok sayıda farklı antibiyotik analiz edilebilmektedir. Mikrobiyal inhibisyon testlerinin iki test formatı tüp ve plaka olup, burada bir pH veya redoks göstergesi ile birlikte geçerli bir bakteri kültürü ile tüp testi yaygın olarak süt numunelerindeki kalıntıların saptanması için kullanılır. Benzer şekilde, plaka testi özellikle kesim hayvanlarında antibiyotik kalıntısının taranması için ana test formatı olmuştur (Vishnuraj ve ark., 2016).

Enzim Bağlantılı İmmün Sorbent Testi (ELISA)

LISA tabanlı teknikler, yüksek hassasiyet, geniş özgüllük ve kısa sürede çok sayıda küçük hacimli numuneleri analizinin yapılabilmesi avantajına sahiptir. Ancak, en büyük dezavantaj tespitinin gerçek zamanlı olmamasıdır (Vishnuraj ve ark., 2016). Kalitatif metotlardan olan ELISA testi, antijen-antikor reaksiyonunun şekillenmesi, oluşan reaksiyonun enzim-substrat ile

görünür hale getirilmesi ve spektrofotometre ile okunması esasına dayanmaktadır. Sağlanan absorpsiyon, örnek içindeki aranan madde oranı ile ters orantılı olarak gerçekleşmektedir. Kullanımının kolay, sonuca ulaşmak için geçen zamanın kısa (2-2,5 saat) olması, duyarlılık ve belirliliğinin (özgüllüğünün) yüksek ve her kitle fazla sayıda numune ile çalışma olanağı sağlamaktadır. Ancak, ELISA metoduyla elde edilen sonuçların kütle spektrofotometrisi ile doğrulanması gerekmektedir (Tekgül, 2012).

Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS)

LC-MS antibiyotik kalıntısının saptanması için başka etkili ve hassas bir sistemdir. Çeşitli LC-MS yöntemleri arasında elektro sprey iyonizasyon kaynağı, direkt enjeksiyon yöntemleri ve hareketli faz bulunur. Kütle spektrometresi, kütle-şarj oranı prensibine göre çalışır (Vishnuraj ve ark., 2016).

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC)

Kromatografik yöntemler, sabit faz ve hareketli faz arasında olan kütle aktarımını içeren ayırma teknikleri olarak tanımlanabilir. HPLC, sıvı fazda çözünebilen kimyasal madde karışımının kolay ve hızlı bir şekilde bileşenlerine ayrılabilirdiği oldukça duyarlı bir yöntemdir. Başlıca kullanım amaçları kimyasal ayırma, saflaştırma, tanımlama ve derisim tayinidir. Kimyasal ayırma işlemi her maddenin belli bir sabit faz ve mobil faz bileşiminde farklı çıkış süresinin olmasından yararlanılarak yapılmaktadır. Yapılan kimyasal ayırmanın derecesi çoğunlukla sabit faz ve mobil faz seçimine bağlıdır. Saflaştırma ise saflaştırılması istenen bir maddenin diğer maddelerden ya da atıklardan ayrılması işlemidir. Her maddenin belli kromatografik koşullar altında karakteristik bir piki bulunur. Kromatografik saflaştırma işleminde, istenen madde kolon çıkışında toplanarak diğer bileşenlerinden izole edilir. Bu ise ancak doğru bir mobil faz seçimiyle mümkündür. Bir maddenin HPLC ile tanımlaması işlemi ise HPLC analizlerinin önemli bir parçasını oluşturur. HPLC’de madde tanımlaması, bilinmeyene ait olan pik alıkonma süresinin standarda ait alıkonma süresiyle karşılaştırılması ile yapılabilir. Herhangi bir maddenin HPLC ile tanımlanabilmesi için öncelikle dedektörün doğru seçilmesi gerekir. Dedektör seçildikten ve optimum koşullarda ayarlandıktan sonra bir ayırma analizi yapılmalıdır. Tanımlanmaya çalışılan maddenin seçilen dedektör ve analiz koşullarında kabul edilebilir bir çıkış süresi ve belirgin bir piki olmalıdır. Çıkış süresini kısaltmak için bazı ayarlamalar

yapılabilir. Bunlardan ilki kolon seçimi diğeri mobil faz seçimi ve son olarak da akış hızı seçimidir. Kesin bir tanımlama için bilinen bir örneğin kullanılması gerekir. Güvenilir bir tanımlama için birden çok yöntem kullanılmalıdır. Derişim tayini islemi, HPLC’de tanımlı bir maddenin, bir sıvı çözeltilisindeki derişiminin tayin edilmesidir. Bu işlem istenilen maddenin değişik derişimlerde HPLC’ye enjekte edilmesiyle yapılabilir. Bilinen derişimler bir seri pik verir. Böylece kalibrasyon grafiği çizilerek piklerin altında kalan alanlar hesaplanır. Kalibrasyon grafiği aracılığıyla önce bilinmeyen derişime ait pik alanı saptanarak daha sonra bilinmeyen maddenin derişimi bulunur (Akman, 2005; Şen, 2013).

Biyosensörler

Biyosensör, biyolojik tanıma elemanı (enzimler, proteinler, nükleik asitler, hücreler, dokular,vb.) ve bu tanıma elemanına bağlı bir sinyal dönüştürücü elemanından oluşmaktadır. Biyosensörler, kullanılan biyolojik tanıma elemanının izin verdiği ölçüde spesifiktirler. İn-situ çalışmalarda hızlı, sürekli kontrol sağlamaktadırlar. Bu avantajlarına rağmen biyosensör dizaynının iki limitasyonu bulunmaktadır. Bunlar; biyolojik tanıma elemanının kararsızlığı ve biyosensörlerde kullanılan fiziko-kimyasal sinyal dönüştürücülerin boyutlarıdır. Biyolojik tanıma elemanı bulunduğu çevrenin pH’sı, sıcaklığı veya iyonik etkileri nedeniyle aktivitesini zamanla kaybedebilmektedir. Sinyal dönüştürücülerin boyutları ise en küçükleri bile µm - mm aralığında bulunmaktadır (Cháfer-Pericás ve ark., 2010). Biyosensörlerin avantajları kullanımının kolay olması, kısa sürede sonuç alınabilmesi, birden fazla kalıntıyı tek seferde analiz edebilmesi ve yüksek verimlilik (saat ve dizi başına 120 numune) sağlayan bir teknik olmasıdır. Yüksek maliyetli donanım/ekipman gerektirmesi ise dezavantajdır (Özdemir ve Traş, 2018; Toldra ve Reig, 2016).

ANTİBİYOTİK KULLANIMININ OLUMSUZLUKLARINA KARŞI ALINACAK ÖNLEMLER

Hayvanlarda antibakteriyel ilaçların bilinçsizce ve suiistimal derecesinde kullanımı sonucunda teknolojik, ekonomik ve halk sağlığı açısından çok ciddi sorunlar oluşmaktadır. Bu nedenle, bu olumsuzlukların önüne geçebilmek amacıyla gerekli önlemler alınmalıdır (O’Neill, 2016; Official Journal of the European Union, 2015; WHO, 2011).

1. Antibiyotik tedavilerinde uygulamadan sonra gerekli atılma ve bekleme süresine dikkat edilmeli ve tüketime hazır gıdalarda, bulunabilecek en yüksek kalıntı miktarlarının (MRL) aşılmasına izin verilmemesi gerekmektedir.
2. Hayvan yetiştiricilerinin antibiyotik hakkında bilinçlendirilmelidir. Uygun bilgi paylaşımını geliştirerek bireyi ve organizasyonel farkındalık arttırılmalıdır.
3. Hayvan yetiştirme sırasında en iyi hijyen uygulamaları, iyi yönetim uygulamaları ve HACCP prensiplerinin çiftlikten sofraya etkin uygulanmasına dikkat edilmelidir.
4. Biyolojik kontrol önlemleri alınmalı, antibiyotik kullanımına alternatifler yöntemler geliştirilmelidir. Hayvanlarının antibiyotik ihtiyacını azaltması aşılama, prebiyotik ve probiyotik uygulamaları dahil edilerek hayvanların korunması sağlanmalıdır.
5. Antibiyotik kalıntılarını inaktive etmek için uygun işlem tekniklerinin (soğutma, aktif kömür, reçineler ve UV ışınlarının) kullanılmalıdır.
6. Ülkede gıda güvenliğini sağlamak için süt, et ve yumurta gibi yenilebilir hayvansal ürünlerde rutin kalıntı gözetim ve izleme programlarına devam edilmelidir.
7. Antibiyotikler hayvanlara sadece veteriner hekim tarafından reçeteye verildiğinde uygulanmalıdır.
8. Tedavide antibiyotik kullanılması zorunlu olduğunda ilk tercih dar spektrumlu antibiyotikler olmalıdır.
9. Uygun olmayan antibiyotik yazılmış reçetelerini ortadan kaldırmak için ekonomik teşvikler verilmelidir.
10. Antibiyotik içeren atık suların arıtılması ve deşarjı ile ilgili yasal düzenlemelerin yapılması gerekmektedir.
11. İlaç verilen hayvanlarda ilacın vücuttan arınma süresine uyulması ve beraberinde bilimsel bir kalıntı izleme planının geliştirilerek, etkili bir biçimde uygulanması için devletin sıkı kontrol önlemleri alması gerekmektedir. Bu amaçla hazırlanan kalıntı izleme programları sadece hayvansal gıdalarda değil, kesime sevk edilmeden önce hayvanlardan alınan kan ve idrar örneklerinde de uygulanmalıdır.
12. Antibiyotikler sadece terapötik amaçlı olarak kullanılmalıdır. Kullanılması gereken antibiyotikler, direnç sürveyansının (mikrobiyel kültürler ve antibiyotik duyarlılık testleri) yanı sıra klinik deney sonuçlarına dayandırılmalıdır.
13. Mümkün olduğunda, tüm sürüye veya sürüye ilaç verilmesi önlenmelidir. Hasta hayvanlar ayrı ayrı izole edilmeli ve tedavi edilmelidir (ör., Enjektabillerin uygulanmasıyla).

SONUÇ

Hayvansal gıda kaynaklarında; yasal olmayan veya yasal kullanım dozundan daha üst seviyede antibiyotik bulunması gerek teknoloji gerekse halk sağlığı açısından sorunlar oluşturmaktadır. Bununla birlikte antibiyotiklerin beşeri hekimlikte, veteriner hekimlikte ve tarımda kullanımı sonucu dirençli bakterilerin gelişmesine neden olmaktadır. Hayvansal kaynaklı gıdalarda antibiyotiklerin bulunması her zaman bir risk oluşturmaktadır. Bundan dolayı gereğinden fazla antibiyotik kullanımından uzak durulmalı, yasal yaptırımlar ve denetimler sıklaştırılmalıdır. Yasak olan antibiyotik kullanımından kaçınılmalı ve atılma süresine dikkat edilmelidir. Daha modern ve temiz, hijyenik ve sanitasyonaya uygun koşullarda hayvan yetiştiriciliği yapılmalıdır. Hayvanlarda toplu tedaviden kaçınılmalı ve antibiyogram testi sonucu duyarlı bulunan antibiyotikler kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Akman A. 2005. *Polar formda monodispers partiküllerin sentezi ve destek materyali olarak kullanımı*. Yüksek Mühendislik Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Alfredsson G, Ohlsson A (1998). Stability of sulphonamide drugs in meat during storage. *Food Addit. Contam.*, 15, 302-306. DOI: 10.1080/02652039809374645
- Allcock S, Young EH, Holmes M, Gurdasani D, Dougan G, Sandhu MS, Solomon L, Török ME. 2017. Antimicrobial resistance in human populations: challenges and opportunities. *Glob. Health Epidemiol. Genom.*, 2(4), 1-7. DOI: 10.1017/gheg.2017.4
- Arslan A. 2013. *Et muayenesi ve et ürünleri teknolojisi*. 2. Baskı, Malatya: Medipres Matbaacılık Ltd. Şti., Malatya.
- Bansal OP. 2012. A laboratory study on degradation of tetracycline and chlortetracycline in soils of aligarh district as influenced by temperature, water content, concentration of farm yield manure, nitrogen and tetracyclines. *Proc Natl Acad. Sci. India Sect. B Biol. Sci.*, 82(4), 503-509. DOI 10.1007/s40011-012-0062-9
- Bbosa GS, Mwebaza N, Odda J, Kyegombe DB, Ntale M. 2014. Antibiotics/antibacterial drug use, their marketing and promotion during the post-antibiotic golden age and their role in emergence of bacterial resistance. *Health*, 6 (5), 410-425. DOI: 10.4236/health.2014.65059

- Beyene T. 2016. Veterinary drug residues in food-animal products: its risk factors and potential effects on public health. *J. Vet. Sci. Technol.*, 7, 285. DOI:10.4172/2157-7579.1000285
- Boursi B, Mamtani R, Haynes K, Yang YX. 2015. Recurrent antibiotic exposure may promote cancer formation – another step in understanding the role of the human microbiota? *Eur. J. Cancer.*, 51(17), 2655–2664. DOI: 10.1016/j.ejca.2015.08.015
- Burki TK. 2018. Tackling antimicrobial resistance in food-producing animals. *Lancet. Respir. Med.*, 6(2), 93-94. DOI: 10.1016/S2213-2600(18)30017-1
- Can HY, Çelik TH. 2008. Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımını ve kalıntı riski. *Vet. Hekim Der. Derg.*, 79(4), 35-40.
- CDDEP - Center for Disease Dynamics, Economics & Policy. 2017. *New study highlights the impacts of a global strategy to reduce antibiotic consumption in food animal production.* <https://phys.org/news/2017-09-highlights-impacts-global-strategy-antibiotic.html>. (Erişim Tarihi: 10.12.2018).
- Chafer-Pericas C, Maquieira A, Puchades R. 2010. Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *Trends Analyt. Chem.*, 29(9), 1038-1049. DOI: 10.1016/j.trac.2010.06.004
- Chardon H, Brugere H. 2014. *Antibiotic uses in animal husbandry & meat value chains.* Centre d'Information des Viandes, *Tour Mattei207, rue de Bercy 75012 Paris.*
- Chee-Sanford JC, Mackie RI, Koike S, Krapac IG, Lin YF, Yannarell AC, Maxwell S, Aminov RI. 2009. Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste. *J. Environ. Qual.*, 38(3), 1086-108. DOI: 10.2134/jeq2008.0128
- Cotter PD, Stanton C, Ross RP, Hill C. 2012. The impact of antibiotics on the gut microbiota as revealed by high throughput DNA sequencing. *Discov. Med.*, 13(70), 193-199. PMID: 22463795
- Demoly P, Benahmed S, Valembois M, Sahla H, Messaad D, Godard P, Michel FB, Bousquet J. 2000. Allergy to macrolide antibiotics. *Presse Med.*, 29 (6), 321-6. PMID: 10719452
- Doyle ME. 2006. *Veterinary drug residues in processed meats-potential health risk.* Food Research Institute, University of Wisconsin-Madison. http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRIBrief_VetDrgRes.pdf. (Erişim Tarihi: 15.02.2019)
- Dudek-Wicher RK, Junka A, Bartoszewicz M. 2018. The influence of antibiotics and dietary components on gut microbiota. *Prz. Gastroenterol.*, 13(2), 85–92. DOI: 10.5114/pg.2018.76005

- EC. 2005. *Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect.* http://europa.eu/rapid/press-release_IP-05-1687_en.htm (Erişim tarihi:18.03.2019)
- Elbagory AM, Edris AM, Muhammad KM (2017). Studies on residues of antibiotics and growth enhancer-hormone in imported and locally produced beef. *Nutr. Food Technol.*, 3(2), 1-5. DOI:10.16966/2470-6086.140
- Erić M, Sabo A. 2008. Teratogenicity of antibacterial agents. *Coll. Antropol.*, 32(3), 919-25. PMID: 18982771
- FDA. 2016. *Hazard Analysis and Risk-Based Preventive Controls for Human Food: Draft Guidance for Industry. Chapter 3: Potential hazards associated with the manufacturing, processing, packing, and holding of human food.* <http://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/fsma/ucm517396.pdf>. (Erişim Tarihi: 18.04.2019)
- Francino MP. 2016. Antibiotics and the human gut microbiome: Dysbioses and accumulation of resistances. *Front. Microbiol.*, 12(6), 1543. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01543
- Franje CA, Chang SK, Shyu CL, Davis JL, Lee YW, Lee RJ, Chou CC. 2010. Differential heat stability of amphenicols characterized by structural degradation, mass spectrometry and antimicrobial activity. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 53(4), 869-877. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.06.013
- Gamboa PM. 2009. The epidemiology of drug allergy-related consultations in Spanish Allergy services: Alergológica-2005. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 19 (2), 45–50. PMID: 19530418
- Gustafson RH, Bowen RE. 1997. Antibiotic use in animal agriculture. *J. Appl. Microbiol.*, 83, 531-541. DOI:10.1046/j.1365-2672.1997.00280.x
- Hammerum AM, Heuer OE, Lester CH, Agerso Y, Seyfarth AM, Emborg HD, Frimodt-Moller N, Monnet DL. 2007. Comment on: withdrawal of growth-promoting antibiotics in Europe and its effects in relation to human health. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 30(5), 466–468. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2007.07.012
- Heshmati A. 2015. Impact of cooking procedures on antibacterial drug residues in foods: a review. *J. Food Qual. Hazards Control*, 2, 33-37.
- Jacobs-Reitsma WF, Koenraad PM, Bolder NM, Mulder RW. 1994. In vitro susceptibility of *Campylobacter* and *Salmonella* isolates from broilers to quinolones, ampicillin, tetracycline, and erythromycin. *Vet. Q.*;16(4), 206-8. DOI: 10.1080/01652176.1994.9694450

- Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjolund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. 2010. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS One*, 5(3), e9836. DOI: 10.1371/journal.pone.0009836
- Javadi A, Mirzaie H, Khatibi SA. 2011. Effect of roasting, boiling and microwaving cooking method on sulfadiazine + trimethoprim residues in edible tissues of broiler by microbial inhibition method. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 5(1), 16-19. DOI: 10.5897/AJMR10.602
- Jayalakshmi K, Paramasivam M, Sasikala M, Tamilam TV, Sumithra A. 2017. Review on antibiotic residues in animal products and its impact on environments and human health. *J. Entomol. Zool. Stud.*, 5(3), 1446-1451. E-ISSN: 2320-7078
- Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. 2010. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*, 156, 3216-3223. DOI: 10.1099/mic.0.040618-0
- Kemper N. 2008. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol. Indic.*, 8(1), 1-13. DOI: 10.1016/j.ecolind.2007.06.002
- Kjeldgaard J, Cohn MT, Casey PG, Hill C, Ingmer H. 2012. Residual antibiotics disrupt meat fermentation and increase risk of infection. *mBio*, 3(5), e00190-12. DOI: 10.1128/mBio.00190-12
- Klaassen CD, Yue Cui JY 2015. Review: mechanisms of how the intestinal microbiota alters the effects of drugs and bile acids. *Drug Metab. Dispos.*, 43(10), 1505-21. DOI: 10.1124/dmd.115.065698
- Klein E, Van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, Goossens H, Laxminarayan R. 2018. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 115(15), E3463-E3470. DOI: 10.1073/pnas.1717295115
- Klimek L, Aderhold C, Sperl A, Trautmann A. 2017. Allergic reactions to antibiotics – two sides of the same coin: clearly diagnose or reliably rule out. *Allergo J. Int.*, 26, 212 - 218. DOI:10.1007/s40629-017-0025-z
- Liman BC, Kanbur M, Eraslan G, Baydan E, Dinç E, Karabacak M. 2015. Effects of various freezing and cooking processes on the residues of sulfamethazine in broiler tissues. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 62(1), 13 - 16. DOI: 10.1501/Vetfak_0000002651
- Macy E, Romano A, Khan D. 2017. Practical management of antibiotic hypersensitivity in 2017. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 5(3), 577-586. DOI: 10.1016/j.jaip.2017.02.014
- Migliore L, Civitareale C, Brambilla G, Cozzolino S, Casoria P, Gaudio L. 1997. Effects of sulphadimethoxine on cosmopolitan weeds (*Amaranthus retroflexus* L., *Plantago major* L.

- and *Rumex acetosella* L.). *Agric. Ecosyst. Environ.*, 65(2), 163-168. DOI:10.1016/S0167-8809(97)00062-5
- Nguyen VH, Li MQ, Khan MA, Li CB, Zhou GH. 2013. Effect of cooking methods on tetracycline residues in pig meat. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 7 (22), 1448-1454. DOI: 10.5897/AJPP12.454
- O'Neill J. 2016. *Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. The review on antimicrobial resistance.* https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf (Erişim Tarihi: 10.04.2019).
- Official Journal of the European Union. 2015. *Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine* (2015/C299/04) https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/antimicrobial_resistance/docs/2015_prudent_use_guidelines_en.pdf (Erişim Tarihi: 10.04.2019).
- Ozdal T, Sela DA, Xiao J, Boyacioglu D, Chen F, Capanoglu E. 2016. The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. *Nutrients.*, 8(2), 78. DOI: 10.3390/nu8020078
- Özdemir Z, Traş B. 2018. Sütte antibiyotik kalıntılarının belirlenmesinde kullanılan hızlı test kitleri ve güvenilirlikleri. *Dicle Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 11(1), 48-54. e-ISSN:1308-0679
- Park CS, Kim TB, Kim SL, Kim JY, Yang KA, Bae YJ, Cho YS, Moon HB. 2008. The use of an electronic medical record system for mandatory reporting of drug hypersensitivity reactions has been shown to improve the management of patients in the university hospital in Korea. *Pharmacoepidemiol. Drug. Saf.*, 17(9), 919-25. DOI: 10.1002/pds.1612
- Pikkemaat MG, Yassin H, Fels-Klerx HJ van der, Berendsen BJA. 2016. *Antibiotic residues and resistance in the environment.* 2016. Wageningen, RIKILT Wageningen UR (University & Researchcentre), RIKILT report 2016.009. 32 pp.;1 fig.; 0 tab.; 179 ref. <http://edepot.wur.nl/388253>. (Erişim Tarihi: 15.01.2019)
- Radu E, Woegerbauer M, Oismüller M, Kreuzinger N. 2017. *Impact of antibiotics of anthropogenic origin on bacterial soil communities in agricultural ecosystems.* International symposium “the environment and the industry”, SIMI 2017, proceedingsbook. <https://www.researchgate.net/publication/320196557>.(Erişim tarihi: 15.03.2019)
- Ramatla T, Ngoma L, Adetunji M, Mwanza M. 2017. Evaluation of antibiotic residues in raw meat using different analytical methods. *Antibiotics (Basel)*, 6(4), 34. DOI: 10.3390/antibiotics6040034

- Resmi Gazete. 2006. *Yem katkıları ve premikslerin üretimi, ithalatı, ihracatı, satışı ve kullanımı hakkında tebliğde değişiklik yapılmasına dair tebliğ* (Tebliğ No: 2006/1). <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2006/01/20060121-8.htm> (Erişim tarihi: 18.0.2019)
- Resmi Gazete. 2017. *Türk gıda kodeksi hayvansal gıdalarda bulunabilecek farmakolojik aktif maddelerin sınıflandırılması ve maksimum kalıntı limitleri yönetmeliği*, 7 Mart 2017 Salı, Sayı: 30000, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/03/20170307-4.htm>. (Erişim tarihi: 15.04.2019)
- Sahu R, Saxena P. 2014. *Antibiotics in chicken meat. Centre for science and environment*. 41, Tughlakabad Institutional Area, New Delhi-110062. <https://www.researchgate.net/publication/266208046>. (Erişim Tarihi: 10.02.2019)
- Sarmah AK, Meyer MT, Boxall ABA. 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 65(5), 725-759. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.03.026
- Schenck FJ, Callery PS. 1998. Chromatographic methods of analysis of antibiotics in milk. *J. Chromatogr. A*, 812 (1-2), 99-109. PMID: 9691311
- Şen F. 2013. *İnek sütlerinde bazı penisilin kalıntılarının HPLC yöntemiyle belirlenmesi*. Doktora Tezi, T.C. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Singh S, Shukla S, Tandia N, Kumar N, Paliwal R. 2014. Antibiotic residues: A global challenge. *Pharma Sci. Monit.*, 5(3), 184-197.
- Solensky R, Earl HS, Gruchalla RS. 2002. Lack of penicillin resensitization in patients with a history of penicillin allergy after receiving repeated penicillin courses. *Arch. Intern. Med.*, 162(7), 822-6. PMID: 11926858
- Tadesse T, Tadesse T. 2017. Public health impacts of antibiotic residues in foods of animal origin: A review. *Public Policy and Administration Research*, 7(10), 1-11.
- Tang KL, Caffrey NP, Nóbrega DB, Cork SC, Ronksley PE, Barkema HW, Polachek AJ, Ganshorn H, Sharma N, Kellner JD, Ghali WA. 2017. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Planet. Health*, 1(8), e316-e327. DOI: 10.1016/S2542-5196(17)30141-9
- Tekgöl Y. 2012. *Aydın ilinde satışa sunulan broiler etlerinde bazı antibiyotik kalıntılarının varlığının araştırılması*. T.C. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, VBH-YL-2012-0001, Aydın.

- Tian L, Khalil S, Bayen S. 2017. Effect of thermal treatments on the degradation of antibiotic residues in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57(17), 3760-3770. DOI: 10.1080/10408398.2016.1164119
- Toldrá F, Reig M. 2006. Methods for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 17(9), 482-489. DOI: 10.1016/j.tifs.2006.02.002
- Topal M, Uslu GE, TOPAL IA, Öbek E (2012). Antibiyotiklerin kaynakları ve çevresel etkileri. *BEÜ Fen Bil. Derg.*, 1(2), 137-152.
- UN. 2017. *Antimicrobial resistance from environmental pollution among biggest emerging health threats, says UN Environment, United Nations Environment Programme.* <https://www.unenvironment.org/news-and-stories/pressrelease/antimicrobial-resistance-environmental-pollution-among-biggest>. (Erişim Tarihi: 12.02.2019)
- Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R. 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 112 (18), 5649-54. DOI: 10.1073/pnas.1503141112
- Van Egmond HJ, Nouws JFM, Schilt R, Van Lankveld-Driessen WDM, Streut-jens-Van Neer EPM, Simons FGH. 2000. Stability of antibiotics in meat during a simulated high temperature destruction process. *Euro Residue IV* 29, 430–437.
- Vishnuraj MR, Kandeepan G, Rao KH, Chand S, Kumbhar V. 2016. Occurrence, public health hazards and detection methods of antibiotic residues in foods of animal origin: A comprehensive review. *Cogent Food Agric.*, 2(1), 1235458. DOI:10.1080/23311932.2016.1235458
- WHO. 2011. *Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe.* World Health Organization Regional Office for Europe Scherfigsvej 8, DK-2100 Copenhagen, Denmark. http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0005/136454/e94889.pdf (Erişim Tarihi: 03.01.2019)
- WHO. 2018. *WHO Report on Surveillance of Antibiotic Consumption: 2016-2018 early implementation.* ISBN978-92-4-151488-0. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/277359/9789241514880-eng.pdf?ua=1>. (Erişim Tarihi: 02.01.2019)
- Yarsan E. 2013. Veteriner hekimlikte antibiyotikler (pratik bilgiler rehberi). Yarsan E (Ed.), Güneş Tıp Kitabevleri. <https://interactivepdf.uniflip.com/2/34834/312877/pub/document.pdf>. (Erişim Tarihi: 25.11.2016)

Hayvansal Gıdalarda Hormon Kalıntıları

Zeki EROL^{1*}, Fulya TAŞCI²

^{1*}Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Deneysel Araştırma Laboratuvarı, Burdur, Türkiye

²Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

[*zekierol@mehmetakif.edu.tr](mailto:zekierol@mehmetakif.edu.tr)

ÖZET

Bilimsel açıdan hayvanların genetik yapının iyileştirilmesi ile birlikte bakım ve beslenmenin doğru bir şekilde yapılması hayvanların hızlı gelişimini sağlamaktadır. Fakat gelişimin istenilen seviyelere ulaşması zaman almakta ve üretici maliyetlerini arttırmaktadır. Bu da üreticileri daha hızlı verim artışı için hormon ve hormon benzeri maddelerin kullanımını kaçınılmaz kılmaktadır. Doğal ya da sentetik olarak kullanılan bu maddeler yemden yararlanmayı, yem alımını, karkas ağırlığını ve yağsız et oranını artırmak için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, hormon ilaçlarının veya biyolojik olarak aktif metabolitlerinin, yenilebilir dokularda birikebileceği ve potansiyel olarak tüketicilerin maruz kalma riskini artıracığı endişesi vardır. Bu derlemenin amacı, hayvansal üretimde kullanılan bazı hormonlar ve benzeri maddeler, özellikle et ve süt kalitesi, halk sağlığı üzerindeki etkileri, analiz yöntemleri ve yasal düzenlemeler hakkında genel bilgi vermektir.

Anahtar kelimeler: Hayvansal gıdalar, hormonlar, halk sağlığı

Residues of Hormone in Foods of Animal Origin

Zeki EROL^{1*}, Fulya TAŞCI²

^{1*}Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Experimental Animal Production and Experimental Research Laboratory, Burdur, Turkey

² Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Burdur, Turkey.

[*zekierol@mehmetakif.edu.tr](mailto:zekierol@mehmetakif.edu.tr)

ABSTRACT

From the scientific point of view, the improvement of the genetic structure of the animals, as well as the proper maintenance and feeding, ensure rapid development of the animals. However, it takes time for development to reach desired levels and increases producer costs. This makes the use of hormones and hormone-like substances inevitable for manufacturers to increase yield faster. These substances, which are used as natural or synthetic, are used to increase feed utilization, feed intake, carcass weight and lean meat production. However, there is concern that hormone drugs or their biologically active metabolites may accumulate in edible tissues, potentially increasing the risk of exposure for consumers. The aim of this review is to give general information about some hormones and similar substances used in animal production, especially on meat and milk quality, effects on public health, analysis methods and legal regulations.

Keywords: Foods of animal origin, hormones, public health

GİRİŞ

Hayvansal gıda üretiminde kullanılan hormonlar, azotun vücutta tutulmasını sağlayarak protein sentezini arttırmakla birlikte azotun yanında, sodyum, potasyum, kükürt, fosfor ve klorun tutulmasına da sağlarlar. Anabolizanlar hayvanlarda büyümeyi hızlandırmakta ve et/yağ oranını arttırmaktadır. Bu pozitif etkileri ile canlı ağırlık kazancını %10-25 ve yemden yararlanmayı %5-10, yağsız et miktarını da %1-3 arttırmakla birlikte balıkçılık sektöründe de seksüel dimorfizmi için kullanılarak fayda sağlanılırken, bu hormonların bazıları süt verimini arttırmak için de kullanılarak süt verimi %20 oranında arttırabilmektedirler (Doyle, 2000; Hoga ve ark., 2018; Kaya ve Pirinçci, 2013). Gelişmeyi hızlandırıcı olarak hayvanlarda kullanılan anabolizanların başında testosteron, 17 β -östradiol, dietilstilbestrol (DES), zeranol, trenbolon asetat (TBA), klenbuterol ve melengestrol asetat (MGA) gelmektedir (Doyle, 2000). Bu maddelerin bilinçsizce kullanımı hayvanların organ ve dokularında birikmektedir ve bu hayvansal ürünleri tüketen kişilerde çeşitli sağlık sorunları ortaya çıkabilmektedir (Hoga ve ark., 2018; Terzi, 2005). Bu olumsuz etkileri nedeniyle halk sağlığı açısından Türkiye dahil Avrupa Birliği ülkeleri ve bazı diğer ülkelerde kullanımı yasaklanmıştır (Çetinkaya ve Muş, 2010). Bu maddelerin varlığının tespiti için dünyada ve ülkemizde, enzime bağlı immunosorban testi (ELISA) ve radyoimmün testi (RIA) immünolojik testler ve değişik detektör tipleri ile birleştirilmiş kromatografik analiz yöntemleri kullanılmaktadır (Doğan ve Koç, 2018).

HORMONLAR

Hormonlar, hayvanların ve insanların vücudunda doğal olarak üretilen ve yaşamda üreme veya büyüme gibi önemli fonksiyonlara sahip kimyasallardır (Regal ve ark., 2012). Genel olarak etki şekillerine bakıldığında steroid yapılı bileşikler hücre sitoplazmasındaki reseptörleri etkileyerek protein sentezini arttırmakla birlikte bilhassa dişi hormonları hipofiz bezi büyümesine ve dolaylı olarak büyüme hormonu salgılamasına artırmasına yol açmaktadır. Östrojen ayrıca insülin salgılamasını da arttırmaktadır. Anabolik androjenler iskelet kaslarında glukokortikoid bağlanmasını engeller ve yıkımı önleyerek katkıda bulunmaktadırlar. TBA tek başına ya da 17 β -östradiol ile troksin salgılamasını azaltarak enerji kaybını azaltırlar. Vücutta azot tutulmasına ve protein amino asitlerin parçalanmasını azaltmaktadırlar. Beta agonistler yağ doku yüzeyindeki reseptörler aracılığı ile lipogenezise neden olurlar. Açığa çıkan enerji ile kas kitlesinin artmasına yönelik kullanılmaktadır (Kaya ve Pirinçci, 2013).

HORMONLARIN GIDALARDAKİ KALINTILARI

Gıdalarda bulunan steroid hormonlar arasında glukokortikoidler (kortizol ve kortikosteron) ve cinsiyet hormonları (progesteron, 17β -östradiol, östron ve östriol) bulunur (Macrina ve ark., 2012; Rath ve ark., 2018). Süt ayrıca, protein hormonları prolaktin, gonadotropin salgılayan hormon, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve sığır somatotropinini içermektedir (Vicini ve ark., 2008).

Günlük olarak tüketilen hormonların çoğu hayvansal gıda kaynaklıdır. Süt ve süt ürünleri tüketimi, östrojenlerin %60-70'ini, testosteronun %30-40'ını progesteronun ise %80'ninin kaynağını oluşturduğu belirtilmektedir. Et ve balık tüketimi ise östrojenlerin %15-20'si, testosteronun %20-30'si progesteronun ise %5'inin kaynağını oluşturduğu bildirilmiştir. Yumurta ve bitkisel gıdalarla ise geri kalan kısmın kaynağını oluşturmaktadır (Doyle, 2000).

Türkiye'de ve bazı gıdalarda yapılan araştırmalarda bazı araştırmacılar hormon kalıntılarına rastlarken bazıları yaptıkları araştırmalarda herhangi bir kalıntıya rastlamamışlardır. Mor ve ark. (2011), Burdur'da 30'ar adet et, karaciğer ve böbrek örneklerinde zeranol ve trenbolone asetat kalıntı seviyelerini araştırmışlardır. Örneklerin hepsinde trenbolon asetat kalıntısına bulunmuş, sadece 1 adet karaciğer örneğinde zeranol tespit edilmemiştir. Unusan (2008), Konya'da UHT süt örneklerinde klenbuterol varlığını araştırmış ve örneklerin %21,7'sinde Avrupa Birliği tarafından kabul edilen sınırların üzerinde bulmuştur. Akkaya ve ark. (2004), Türkiye'nin etlik piliç yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı bölgelerden topladıkları 300 adet canlı tavuktan elde edilen safra ve kanatlı etlerinde zeranol, DES, östradiol, progesteron, testosteron ve klenbuterol yönünden incelenmişler ve herhangi bir kalıntıya rastlamamışlardır. Dünyada çeşitli hayvansal gıdalarda yapılan araştırmalarda da hormon kalıntılarında rastlanmaktadır. Chen ve ark. (2014), Pekin (Çin) pazarından elde edilen süt ürünlerinden doğal olarak oluşan östrojenlere potansiyel maruziyetin ön risk değerlendirmesini araştırmışlar ve bu amaçla 38 ticari süt örneğinde steroid hormonlar (östron, 17α -östradiol, 17β -östradiol ve östriol) yönünden analizleri gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada sütte bulunabilecek bireysel ve toplam östrojenlerin, küçük çocuklar dahil, yerel halk için sağlık riskine neden olmadığı saptanmıştır. Fan ve ark. (2014), tavuk, domuz, sığır eti ve sosis örneklerini (20'şer örnek) steroid hormonlar yönünden araştırmışlardır. Hidrokortizon domuz eti, sığır eti ve sucuk örneklerinde sırasıyla 3,43 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 3,34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ve 2,42 $\mu\text{g}/\text{kg}$; progesteron ise sadece sosis

örneğinde 2,12 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Tan ve ark. (2016), çiğ süt örnekleri (inek, keçi ve manda) üzerinde 13 çeşit steroid hormonunun (17β-östradiol, östriol, östron, dietilstilbestrol, progesteron, melengestrol asetat, megestrol asetat, klormadinon asetat, 19-nortestosteron, metandienon, boldenon, epitestosteron ve testosteron) analizini yapmışlar ve örneklerde 0,23-1,7 µg/kg miktarları arasında steroid hormonları tespit etmişlerdir. Guedes-Alonso ve ark. (2017), kanarya adalarının kıyılarındaki *Sphoeroides marmoratus* ve *Boops boops* tür balıklarında DES, östron, 17β-östradiol, 17α-etinilöstradiol, östriol, levonorgestrel, noretisteron, megestrol asetat, progesteron, testosteron, boldenon, nandrolon, kortizon, prednison ve prednisolon düzeylerini incelemişlerdir. İki tür balık arasındaki farklara rağmen, üç farklı dokuda tespit edilen yoğunlukların benzer ve karşılaştırılabilir olduğunu, her iki tür için de iç organlarda ve deride daha az yoğunluklarda tespit edilen bileşikler gözlenirken, kas dokusundaki yoğunlukların daha yüksek seyrettiğini bildirmişlerdir. Yang ve ark. (2009), kasta (domuz, sığır ve karides), sütte ve domuz karaciğerinde 50 anabolik hormon kalıntılarının belirlenmesi için hassas ve spesifik bir yöntem geliştirmişlerdir. Kortizol endojen hormonu örneklerin tamamında 0,05-24,80 g/kg arasında değişen miktarda bulunduğu belirtilmiştir. Kortizon yalnızca domuz ve sığır örneklerinde sırasıyla 0,10-0,22 g/kg, 0,10-2,76 g/kg olarak belirlenmiştir. Testosteron ve progesteron ise domuz ile süt ve sığır örneklerinde sırasıyla 0,05-0,52 µg/kg, 0,22-11,28 µg/kg olarak saptanmıştır. 17-hidroksiprogesteron ve 4-androsten-3,17 dion sütte yaklaşık olarak 0,5 µg/kg olarak tespit edilmiştir.

Tablo 1. Bazı hayvansal gıdalarda doğal olarak bulunan doğal hormon miktarları (µg/kg) (Hartmann ve ark., 1998).

	17β-östradiol	Testosteron	Progesteron
Balık (Carp)	<0,03	<0,02	<0,1
Tavuk eti	<0,03	<0,02	0,24
Yumurta	<0,03	0,30	31,2
Süt	<0,02	<0,01	9,81
Yoğurt	<0,02	<0,01	13,3
Kırmızı et	-	0,5	0,3

HORMONLARIN ET VE SÜT KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Araştırmacılar etin kalite özellikleri açısından birçok araştırma yapılmasına rağmen hiçbir zaman kesin cevap bulamamıştır. Her çalışmanın kendine has özelliklerinden dolayı diğer çalışmalarla karşılaştırma zorluğuna ve tartışmalara neden olmuştur. Farklı yaş ve cinsiyetteki hayvanlar, implantın uygulama zamanı, dozlama, implant bileşimi gibi faktörler tutarsızlığa neden olmakla beraber, tutarlı olanlar da bulunmaktadır (Garmyn ve Miller, 2014).

Beta Agonistler

Beta agonistler negatif etki olarak kalpastatin etkisini arttırması kalpain aktivitesinin azalmasıyla sonuçlanır ve buda daha sert bir et üretimine neden olmaktadır (Wheeler ve Koohmaraie, 1997). İntramusküler yağı ve yumuşaklığı azaltmakta, damlama kaybını ve pH'ı arttırlar. Hem ruminantlarda hem de ruminant olmayan hayvanlarda kullanılmaktadır. Beta agonistler arasında sadece raktopamin hidroklorid (RH) ve zilpaterol hidroklorid (ZH) onaylanmış olmasına rağmen hayvancılık endüstrisinde pozitif etkilere sahip birçok beta agonist bulunmaktadır (Dunshea ve ark., 2005). Dunshea ve ark. (2005), domuzlarda farklı dozlarda yapılan verileri toplamışlar ve simeterolün diğer beta agonistlerden daha fazla intramusküler yağı azalttığı, damlama kaybını ve tekstürel özelliğini geliştirdiğini bildirmişlerdir. Düvelerde RH ile yapılan bazı çalışmalarda mermerleşme oranında bir fark gözlemlenmemişken (Quinn ve ark., 2008; Walker ve ark., 2006); Gruber ve ark. (2007), danalarda yaptığı RH araştırmasında ise mermerleşme skorları kontrollerden on derece daha az olduğunu belirtmiştir. ZH, RH'in aksine mermerleşme skorlarını sığır populasyonuna bakılmaksızın azaltmaktadır. Bu azalmada verilme süresi, besleme tipi ve cinsiyet, atılım süresi, ilave besinler ve implanta göre değişebilmektedir. Montgomery ve ark. (2009) göre süreye bakılmaksızın ZH ile beslenen danalarda mermerleşme skoru ve kalite derecesinde azalma olurken; 40 gün takviye yapılanlar ile 20 gün takviye yapılanlar kıyaslandığında, 40 gün takviye yapılanlarda daha düşük mermerleşme skorları gözlenmiştir. Beta agonistler kalpastatin etkisinden dolayı etin tekstürel değerini arttırmaktadır. Quinn ve ark., (2008) kesim sonrası 14 günlük postmortem olgunlaştırmanın tekstürel değerlendirmesi üzerine yaptıkları çalışmada, *Warner Bratzler Shear Force* (WBSF) değerlerinin kontrol ya da 28 gün RH ile beslenen düvelerin biftekleri arasında bir fark bulamamışlardır. Bununla birlikte Gruber ve ark. (2008), RH ile beslenen danaların bifteklerinde tekstürel değeri daha yüksek bulmuştur.

Östrojenik ve Androjenik İmplantlar

Hem östrojenik hemde androjenik implantlar büyüme performansı ve yemden yararlanmayı geliştirmesinin yanısıra et kalitesini de geliştirmektedir (Gebre ve ark., 2012). Genel olarak bakıldığında östrojenik olanlar danalarda, androjenik etkili olanlar düvelerde etkili olmaktadır (Dunshea ve ark., 2005). Anabolik implantlar ruminantların aksine domuzlarda daha az etkili olduğu için kullanılmamaktadır. Anabolik implantların et kalitesi üzerine etkilerinin sınırlı olduğu bildirilmektedir.

2741 dana üzerinde 21 gün süreyle olgunlaştırma yapılmış pirzolalarda, panelist değerlendirmelerinde etlerin yumuşaklıklarında farklar belirlenmesine rağmen WBSF değerlerinde önemli fark bulunmamıştır (Barham ve ark., 2003). Bazı araştırmacılar implantasyon yapılan dana ve düvelerde kontrollere göre mermerleşme skorlarında azalma olmadığını göstermişlerdir (Garmyn ve Miller, 2014). Cleale ve ark. (2013), TBA ve östradiol benzoat kombinasyonu uygulanan sığırları kontrol karkasları ile karşılaştırdıklarında mermerleşmede skorlarında bir azalma bulmuşlar, fakat TBA ya da östradiol benzoatın tek olarak kullanımında kontroller ile benzer sonuçlar almışlardır.

Yumuşaklık sığır etinin önemli kalite kriterlerinden biri olduğu bilinmektedir. Çoğu durumda, implante edilen sığırların implante edilmeyenlerle benzer tekstürel özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Fakat bazı durumlarda bir veya daha fazla örnekte implante edilmeyenlere göre WBSF değerlerinde artış görülmüştür (Garmyn ve Miller, 2014). Bir östrojen implantı ve kontrol grubu arasında kıyaslama yapan Foutz ve ark. (1997), östrojen implantının daha büyük bir tekstürel özellik değeri ürettiğini bildirmiştir. Roeber ve ark. (2000), yedi implant uygulamasından sadece bir tanesinde, WBSF değerlerine dayanarak kontrolden daha sert sayılabilecek biftek elde ettiğini bildirmiştir. Fakat Kerth ve ark. (2003), iki kombinasyon implantının kontrol grubu ile kıyaslamasında WBSF değerlerinde azalma olduğu bildirmiştir. Bazı araştırmacılar panelist değerlendirmelerinde, implante edilen genç boğa, düve ve danaların *longissimus* kası bifteğinde yumuşaklık, sululuk ve tat açısından kontroller ile arasında bir fark belirleyememişlerdir (Garmyn ve Miller, 2014). Barham ve ark., (2012), sığır eti lezzetinin sadece implata bağlı olmayarak yaşında önemli bir etken olabileceğini belirtmiştir.

Somatotropin

Cevaplar türler arasında değişebilmesine rağmen, aynı türdeki fizyolojik yaş veya aynı hayvandaki farklı dokular arasında bile, ST uygulanmış hayvanlarda protein birikimindeki artışın, genellikle protein parçalanmasında azalma yerine protein sentezi artışına neden olduğu düşünülmüştür. Domuz somatotropin (pST)'nin et yumuşaklığının, görünümünün ve raf ömrünün nesnel ve subjektif ölçümleri üzerindeki hafif etkisi ya da hiç olmaması bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Dunshea ve ark. (2005) yapmış olduğu bir meta analizde, domuz somatotropin (pST)'nin kas içi yağları %12 azalttığı, kesme kuvvetini %9 arttırdığı ve damla kaybını %6 düşürdüğü görülmüştür. pST'nin nihai pH ve renk özellikleri üzerinde önemli etkileri vardır, ancak burada nispeten az olmuştur. Tüketici tercihleri üzerine sınırlı veriler, lezzet ya da sululuk üzerine etkisi olmamasına rağmen yumuşaklıkta %9'luk bir düşüş olduğunu göstermiştir. Bu veriler bu etkiler üzerinde tam olarak cevap oluşturamamıştır. Ruminantlarda çok daha az sayıda çalışma bulunmaktadır, ancak yapılan araştırmalarda en azından intramusküler yağ ve tekstürel özellik bakımından domuzlara benzer bulgular göstermiştir.

Büyüme hormonu süt ineklerine uygulandığında süt üretimini arttırmaktadır. Eppard ve ark. (1985), sığırlar üzerinde yaptığı bir çalışmada 0, 5, 10, 25 ve 100 IU günlük olarak deri altı sığır büyüme hormonu uygulamasında 100 IU uygulanan grupta süt, protein ve yağ oranı sırayla %32, %27, %46 oranında bir artış olduğunu tespit etmiş, fakat laktoz değerinde değişiklik olmamıştır. Türkiye'de Abaş ve Özpınar (2001)'in yaptığı bir çalışmada sığırlara rbST uygulaması yapılarak yağsız kuru madde, yağ, protein ve laktoz analizleri yapılmıştır. Yapılan çalışma iki grup halinde yapılmış ve daha sonra grupların yeri değiştirilmiştir. Laktasyonun 10 ile 18. haftasındaki ilk dönemde kontrollere göre yağsız kuru madde -%2,48; yağ +%5,40; protein -%2,80; laktoz +%6,70 oranında bir değişim olmuştur. Laktasyonun 20 ile 28. haftalarında yapılan ikinci dönemde ise kontrollere yağsız kuru madde +%1,43; yağ +%1,60; laktoz +%1,80; protein oranı ise -%8,57 değişim olmuştur.

GIDA AMAÇLI YETİŞTİRİLEN HAYVANLARDA KULLANILAN BÜYÜME HORMONLARININ İNSAN SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Gıdalar ile birlikte eksojen hormonların tüketilmesi insanlarda sağlık problemleri oluşturabilir. Bu şekilde hormonların insan vücuduna girmesi sonucu kanser, üreme bozuklukları ve endokrin sistem bozukluklarına yol açabilir (Regal ve ark., 2012). Bu hormonların başında 17 β -östradiol, testosteron, progesteron gibi doğal hormonların yanında sentetik olarak kullanılan zeranol ve trenbolon asetat gelir (Şireli ve ark., 2015).

Hayvansal kaynaklı gıdalar hormon içerikleri göz önünde bulundurulduğunda hepsi steroid hormonları ve onların metabolitlerini farklı konsantrasyonlarda içerir. Et bu açıdan en öne çıkan bir hayvansal üründür (Regal ve ark., 2012). Swan ve ark. (2007), bu konuda annelerin et tüketimi sonucu uterusdaki erkek çocuğun testis kapasitesi ve sperm kalitesi üzerinde etkili olabileceğini ve üreme sorunları oluşturabileceğini bildirmiştir. Süt ve süt ürünlerinin ilişkili olabileceği düşünülen akne, prostat, meme ve corpus uteri gibi kanserler üzerine araştırmalar devam etmektedir. Süt içerdiği hormonlar iyi bilinen bir hayvansal bir gıdadır. Bu ürünü tüketen kızlarda erken ergenliğe yol açabileceği bildirilmiştir (Wiley, 2011).

Tablo 2. Hormon uygulaması yapılan hayvanlardan diyetle alınan ve insan vücudunda günlük üretilen steroid hormonların karşılaştırılması (Jeong SH ve ark., 2010).

Hormonlar	Günlük üretim (µg/gün)	Uygulama yapılmayan hayvanlarda kasındaki kalıntılar (µg/kg)	Uygulama yapılan hayvanların kasındaki kalıntılar (µg/kg)	Uygulama yapılan hayvanların kasları aracılığı ile alınan miktar *(µg/kg)
Östradiol	<14 ergenlik öncesi erkek,			
	10-24 ergenlik öncesi kızlar,	0,003-0,035	0,011-0,28	0,0033-0,084
	27-68 yetişkin erkek,			
Progesteron	30-470 yetişkin kadın			
	150-250 ergenlik öncesi çocuklar,	0-0,9	0,23-0,77	0,069-0,231
	416-750 yetişkinler, menapoz öncesi kadınlar			
Testosteron	30-100 ergenlik öncesi çocuklar,	0,006-0,029	0,031-0,360	0,0093-0,108
	210-480 yetişkin kadın,			
	2100-6900 yetişkin erkek			

*Hergün 300 gram et tüketen bir kişi olarak hesaplanmıştır.

Sığır somatotropin (bST), enjeksiyon yöntemi ile etkisini gösteren bir hormon olup süt kompozisyon ve aromasında olumsuz bir etki oluşturmadığı bildirilmiştir. ABD’de 20000’nin üzerinde bST yapılan ineklerden elde edilen sütlerin herhangi bir yan etki oluşturmadığı belirtilmiştir (Şevik, 2016). Fakat bazen sütle ilişkili alerjilere neden olabileceği belirtilmiştir (Gandhi ve Snedecker, 2000).

Testis, meme ve prostat kanser tiplerindeki artış nedeni tam olarak açıklığa kavuşturulamamasına rağmen cinsiyet hormonların bu konuda rol aldığı düşünülmektedir. 17 β -östradiol tümör başlatan ve tetikleyici özelliği bulunmaktadır. Özellikle östrojenlerin kadınlarda kandaki seviyeleri meme kanseri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Regal ve ark., 2012). Östradiol duyarlı dokularda hücre bölünmesini arttırır. Böylece DNA dublikasyonu sırasında hatalı oluşumların birikmesine neden olabilir. Artmış hücre proliferasyonu mutant hücre büyümesini de uyarır (Doyle, 2000). Diğer östrojenik hormonlara göre zeranolün östrojenik aktivitesi 100-1000 kat daha düşük olduğu bildirilmektedir. DES'e kıyasla genotoksik ve mutajenik etkileri olmadığı, uterotopik etkisinin ise 2500 kat düşük olduğu bildirilmiştir. Genç kızlarda vagina adenomu ve vajina kanserleri görülebileceği bildirilmektedir (Rothenbacher ve ark., 1975; Terzi, 2005). Prostat kanseri 40 yaş üzeri erkeklerde artan testosteron seviyesi ile birlikte insidensi artmaktadır (Doyle, 2000).

Gelişme çağındaki çocuklarda ve fötüsde fizyolojik hormon seviyeleri çok düşük seviyelerdedir ve bu sebepten dolayı hormon ve benzeri maddelere maruz kalmak çocuklarda riski yetişkinlere göre daha da arttırmaktadır (Doyle, 2000). Alves ve ark. (2007), çocukların östrojenli yiyecekleri tüketmesi durumunda yalancı puberta oluşturabileceğini belirtmiştir. Nitekim Porto Riko’da zeranolü et ürünlerini tüketen 3000 çocukta ovaryum kistleri ve prematüre cinsiyet gelişim problemleri ortaya çıkmıştır (Duerta ve ark., 2002).

Hormon kullanımı bilim, kamu ve siyasi topluluklar arasında, muhtemel genotoksik ve karsinojenik etkilerinden dolayı yasaklanması ya da izin verilmesi konusunda hep tartışma konusu olmuştur. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC)'na göre testosteron ve 17 β -östradiolün karsinojenik etki oluşturması yönünde yeterli bulmuştur. Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi (JECFA), eğer bir kişi bildirilen en yüksek kalıntıya sahip 500 g eti günlük olarak tüketirse, her gün fazladan 30-50 ng 17 β -östradiol tüketeceğini bildirmiştir. JECFA'nın 17 β -östradiol için belirtmiş olduğu günlük alım miktarı 50 ng/kg olduğu düşünülürse 60 kg bir

insan için 500 g etten aldığı 17 β -östradiol miktarı 60 kat düşük kalmaktadır (Doyle, 2000). Aynı şartlarda aynı miktar bir eti tüketen bir kadın için günlük olarak salgıladığı 17 β -östradiol miktarının <1/birkaç milyonu, erkek için ise <1/15000 olmaktadır (Kaya ve Pirinçci, 2013). Ayrıca anabolik maddeler kronik olarak seyreden hastalıklarda protein sentezini arttırmak ve anemilerde kan yapımını arttırmak (androjenler) için medikal kullanımı da söz konusudur (Kaya ve Pirinçci, 2013).

Tablo 3. Uluslararası kanser araştırmaları ajansı (IARC)'a göre karsinojenik sınıfına alınmış anabolik etkili maddeler (IARC, 2019).

Ajan	Grup	Yıl
Dietilstilbestrol	1	2012
Androjenik (anabolik) steroidler	2A	1987
Progestinler	2B	1987
Östrojen	1	2012

Grup 1: İnsanlarda karsinojenik etkili

Grup 2A: İnsanlarda olası karsinojenik etkili

Grup 2B: İnsanlarda olası karsinojenik etkili

YASAL MEVZUAT

ABD ve Kanada gibi ülkeler gelişim arttırıcı hormonların kullanımını kabul etmişlerdir. 1960'lı yıllardan itibaren testosteron, progesteron ve 17 β -östradiol gibi doğal hormonların yanı sıra zeranol, trenbolon asetat ve melengestrol asetat gibi sentetik hormonlar Kuzey Amerika'da et üretimini arttırmak için kullanılmıştır. Amerika ve Kanada'nın yanında Avusturalya, Yeni Zellanda, Japonya, Güney Kore, Filipinler, Güney Afrika, Meksika ve Latin Amerika ülkelerinde terapötik ve verim arttırıcı olarak hormon kullanımı onaylanmıştır (Terzi, 2005).

Tablo 4. Statü, endikasyon ve türlere göre FDA ilaç onayları (Nachman ve Smith, 2015).

Hormon	Sığır eti	Koyun eti	Sütçülük	Ağırlık kazancı	Yemden yararlanma	Östrüs	Süt	Statü
ÖB	x			x	x	x		Reçetesiz
MGA	x			x	x	x		Reçetesiz
Progesteron	x	x		x	x	x		Reçetesiz
BST			x				x	Reçete-siz
Testosteron propiyonat	x			x	x			Reçetesiz
TBA	x			x	x			Reçetesiz
Zeranol	x	x		x	x			Reçetesiz

ÖB: Östradiol benzoat, MGA: Melengestrol asetat, BST: Bovine somatotropin, TBA: Trenbolon asetat

Avrupa ülkelerine bakıldığında ise 1981 öncesi ortak bir politika yürütülmemekteydi. 1981'de Avrupa Ekonomik Topluluğu Konseyi 81/602/EEC direktiflerine göre hormonlar ve tirostatik etkiye sahip stilbenler ile bunların türevleri, tuzları ve esterleri hayvanlarda verim arttırmak için kullanılması yasaklanmış ancak bunların yasaklanması ya da serbest bırakılmasını üye devletlere bırakmıştır. 1988'de 85/649/EEC kararıyla 17 β -östradiol, testosteron, progesteron, zeranol, trenbolon asetat ve melengestrol asetat dahil tüm anabolizan etkili maddelerin kullanımı yasaklanmıştır (Serratos ve ark., 2006; Terzi, 2005). Daha sonra 1996'da, 96/22/EC ve 96/23/EC çıkarılan iki direktif ile daha önceki direktifleri kaldırmıştır. Bu iki direktif ile birlikte beta agonistler, bazı hormonal ve tirostatik maddelerin kullanımını yasaklamıştır. Ancak 17 β -östradiol, testosteron, progesteron ve türevlerinin terapötik kullanımını veteriner kontrolünde serbest bırakmıştır.

Türkiye'de hormon ve hormon benzeri maddelerin tedavi dışında kullanılması 1992'de yasaklanmıştır (Şevik ve Ayaz, 2017). Daha sonra 2003 yılında "Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlı Hormon ve Benzeri Maddeler Hakkında Tebliğ" kapsamında düzenlenerek stilbenler, stilben türevleri, tuzları ve esterleri, anti-tiroidal etkili maddeler, anabolizan amaçlı kullanılan steroidler, zeranolü de içeren rezorsilik asit laktonlar ve beta agonist etkili maddeleri kapsayan hayvansal gıdaların insan tüketimi için sunulması yasaklanmıştır. Ayrıca stilbenler, stilben türevleri, tuzları ve esterlerini üretmek, ithal etmek, piyasaya arz etmek ve bulundurmak yasaklanmış, östrojenik, androjenik, gestajenik etkili maddeler, gıda değeri olan hayvanlarda, veteriner hekim kontrolünde kesime

sevk edilenlerde yasal bekleme sürelerine uyulması koşulu ile tedavi ve zooteknikal amaçlı kullanılabileceği belirtilmiştir (Çetinkaya ve Muş, 2010).

Türkiye'de ayrıca AB mevzuatı ile uyum çerçevesinde hayvan türlerine göre belirlenen madde ve ürün grupları ile bu maddelerin kalıntılarının varlığının tespiti için Ulusal Kalıntı Planı oluşturulmuştur. Bu kapsamda ulusal kalıntı kontrolü "Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi İçin Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik" (Resmi Gazete: 17.12.2011, No:28145) ve bu yönetmeliğe bağlı "2013/09 sayılı Canlı Hayvan ve Hayvansal Ürünlerde Kalıntı Genelgesi" ile ulusal kalıntı izleme programı planı çerçevesinde yürütülmektedir (GKGM, 2018).

Tablo 5. FDA hormon tolerans limitleri (Nachman ve Smith, 2015).

Hormon	Kas	Karaciğer	Böbrek	Yağ	GAM
ÖB	0,12	0,48	0,36	0,24	Uygulanmaz
MGA	Uygulanmaz	Uygulanmaz	Uygulanmaz	2.5	Uygulanmaz
Progesteron	5	1,5	30	30	Uygulanmaz
Testosteron propiyonat	0,64	2,6	1,9	1,3	Uygulanmaz
TBA	Tolerans gerekli değil				4
Zeranol	Tolerans gerekli değil				1,25

ÖB: Östadiol benzoat, MGA: Melengestrol asetat, TBA: Trenbolon asetat, GAM: Günlük alım miktarı

ANALİZ YÖNTEMLERİ

Hayvansal kaynaklı gıdalardaki hormon kalıntılarının belirlenmesi, matris karmaşıklığı nedeniyle ve $\mu\text{g}/\text{kg}$ (veya $\mu\text{g}/\text{L}$) ve ng/kg (veya ng/L) göre ölçülebilmesi gereken düşük konsantrasyonlar nedeniyle zor olmaktadır. Asıl analizleri içeren çoğu analizde örnek hazırlama sırasında ekstrakt ya da analit konsantrasyonunun önemli ölçüde temizlenmesi, matristen hedef bileşiklerin ve gerekli limitlerin belirlenmesi ve ölçülmesi için gereklidir (Hoga ve ark., 2018). Çoğunlukla kesimden önce idrar ve dışkı örnekleri yeterli olurken, kesimden sonra karaciğer, böbrek, yağ ve kas gibi dokular analiz için uygun dokular olduğu bildirilmektedir (Noppe ve ark., 2008).

Hormon kalıntılarının analizi için rutin olarak kullanılan yöntemler ELISA ve RIA gibi immunolojik analiz yöntemleridir (Hoga ve ark., 2018). Bunların yanında yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi ve gaz kromatografisi-kütle spektrometri (GC-MS) ayrıca steroid tayini için önemli yöntemlerdendir. Ayrıca çeşitli detektör tipleriyle birleştirilmiş likit kromatografisi (LC) kullanan analitik yöntemler en yaygın teknikler arasında bulunmaktadır. Hormon tayini için, LC'ye bağlanmış en yaygın detektör tipleri elektrokimyasal, ultraviyole diyot dizisi (DAD), floresans, görülebilir ultraviyole (UV-Vis), kütle spektrometri (MS) ve tandem kütle spektrometrisidir (MS/MS) (Reis-Filho ve ark, 2006). GC-MS, ng/kg veya ng/kg tespit limitiyle birçok analitin aynı anda belirlenmesine izin vermektedir, ancak numune hazırlama zahmetli ve zaman alıcı olmaktadır. Molekülleri uçucu hale getirmek için, en çok kullanılan türev tekniği, sililasyon ve asetilasyondur. ELISA basit ve ekonomik olmasının yanında özellikle çok sayıda hormonal olarak aktif maddenin büyük hassasiyetle taranması için uygun bir analiz yöntemidir. Bu yöntemde numunelerin atılmasında ciddi sorunlar meydana gelmez çünkü insan ve çevre sağlığı için tehlikeli olabilecek reaktiflerin kullanımını gerektirmeyen bir yöntemdir (Zhou ve Zhang, 2011). MS/MS tespit sistemi iki aşama kütle spektrometresi kullanır (MS1 ve MS2). Birincisi, ilgilenilen iyonun izole edilmesi için kullanılır ve ikincisi, bu iyonun, üretilebileceği veya ayrışma ile üretilebileceği diğerleriyle ilişkisini yapmak için kullanılır (Ardrey, 2003). Son zamanlarda, LC-MS/MS sistemi daha popüler hale gelmiş ve gıda analizinde yaygın olarak kullanılmaktadır, çünkü karmaşık matrislerde kirletici kalıntılarının seviyelerinin belirlenmesindeki özgüllüğü ve tespit edilebilirliği daha yüksektir. Bununla birlikte, LC-MS/MS sistemlerinin, ekipmanın yüksek maliyeti ve deneyimli bir operatörün gerekliliği nedeniyle rutin analiz için tüm laboratuvarlara erişilememesi dezavantajı vardır (Hoga ve ark., 2018).

Çeşitli matrislerdeki hormon kalıntılarını belirlemek ve yüksek oranda kesinlik ve hassasiyete özelliğe sahip, çok sayıda bileşiğin belirlenmesini sağlamak için LC-MS/MS kullanan birçok çalışma bildirilmiştir (Guedes-Alonso ve ark., 2014; Guedes-Alonso ve ark., 2017). Bu bağlamda, kromatografik ayrılmadan önce bir numune hazırlama aşaması genellikle gereklidir ve bu filtrasyon, özütleme, temizleme, saflaştırma, buharlaştırma, hidroliz ve türevlendirme gibi birkaç adım içerebilir (Reis-Filho ve ark., 2006).

SONUÇ

Hormon veya hormon benzeri maddelerin kullanımı AB ülkeleri ve Türkiye’de büyüme amaçlı kullanımı yasak olmasına rağmen yapılan araştırmalarda yasa dışı kullanımının olduğunu göstermektedir. Bu maddelerin kullanımına bağlı olarak canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanmada yaklaşık %15-20 civarında bir artış meydana getirdiği tartışmasız bir konudur. Ayrıca bazı araştırmalarda et ve süt kalitesi üzerine tutarsızlıklar olmasına rağmen kalite özelliklerini arttıran çalışmalarda mevcuttur. Bu etkilerinin yanında önemli sağlık risklerini de beraberinde getiren hormonların kullanımı üzerinde tartışmalar sürmektedir. Özellikle sentetik anabolizan etkili bu maddelerin bilinçsizce ve yasa dışı kullanımı sonucu hayvansal gıdalarda kalıntı bırakmakta ve bu gıdaları tüketen bireylerde erken cinsel olgunluk, jinekomasti, feminizasyon, endometriyumda hiperplazi ve göğüs kanseri gibi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Bu nedenle hormon ve benzeri maddelerin terapötik ve reproduktif amaç için kullanımında kesim öncesi yasal bekletme sürelerine uygun davranılmalı, veteriner hekimler bilgisi dışında hormon ve benzeri maddelerinin kullanımına izin vermemeli, yetkili merciler denetimleri tam ve uygun yapmalı ve ayrıca üreticilerde bu konu hakkında bilgilendirilmedir.

KAYNAKLAR

- Abaş İ, Özpınar H. 2001. Sığır somatotropin hormonunun (rbst) ineklerde süt verimi ve kompozisyonu ile hayvan sağlığı üzerine etkisinin incelenmesi. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 25, 65-73.
- Akkaya R, Akıllı A, Gürel Y, Çınar S, Koç F, Turhan E, Daş YK, Yiğit Y, Başsatan A. 2004. Türkiye’de yetiştirilen etlik piliçlerin et ve diğer organlarının anabolik hormonlar, beta agonistler ve pestisidler ile kirlenme durumunun incelenmesi. *Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg.*, 15, 37-48.
- Alves C, Flores LC, Cerqueira TS, Toralles MBP. 2007. Environmental exposure to endocrine disruptors with estrogenic activity and the association with pubertal disorders in children. *Cad. Saude Publica.*, 23, 1005–1014. PMID: 17486224
- Ardrey RE. 2003. *Liquid chromatography*. In: Ando DJ (Ed), *Liquid chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction*. Chichester, West Sussex, England, John Wiley & Sons, Ltd., p:7-31. ISBN: 0-471-49799-1

- Barham BL, Brooks JC, Blanton Jr JR, Herring AD, Carr MA, Kerth CR, Miller MF. 2003. Effects of growth implants on consumer perceptions of meat tenderness in beef steers. *J. Anim. Sci.*, 81, 3052–3056. DOI: 10.2527/2003.81123052x; PMID: 14677861
- Barham B, Beck P, Apple J, Whitworth W, Miller M, Gadberry S. 2012. Effect of age entering feedlot and implant regime on beef cattle performance, carcass characteristics, and sensory evaluation. *PAS*, 28, 20–31. DOI: 10.15232/S1080-7446(15)30312-0
- Chen C, Mi X, Yuan Y, Chen G, Ren L, Wang K, Zhu D, Qian Y. 2014. A preliminary risk assessment of potential exposure to naturally occurring estrogens from Beijing (China) market milk products. *Food Chem. Toxicol.*, 71, 74–80. DOI: 10.1016/j.fct.2014.05.028; PMID: 24910459
- Cleale RM, Amodie D, Bechtol DT, Drouillard JS, Edmonds JD, Edmonds M, Hunsaker BD, Kraft LA, Lawrence TE, Rulli RD, Waite AR. 2013. Effects of estradiol benzoate and trenbolone acetate, alone or in combination at dose levels present in Synovex, on performance by feedlot heifers. *J. Anim. Sci.*, 91, 970–977. DOI: 10.2527/jas.2012-5214; PMID: 23307845
- Çetinkaya F, Muş TE. 2010. Hayvansal Gıdalarda Hormon Kalıntıları, Tüketici Sağlığına Yönelik Riskler ve İlgili Yasal Düzenlemeler. *Uludağ Univ. Vet. Fak. Derg.*, 29, 77-82.
- Doğan Y, Koç F. 2018. Gıdalarda Kimyasal Analizler ve Analiz Metotları. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 15, 264-270. DOI: 10.32707/ercivet.477333
- Doyle E. 2000. Human safety of hormone implants used to promote growth in cattle. Wisconsin Madison Üniversitesi, Gıda Araştırma Enstitüsü, https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/hormone.pdf (Erişim Tarihi: 21.05.2019).
- Duarte KMR, da Silva FMSM, Meirelles CF. 2002. Anabolic residues in livestock production: Relevancy and detection methods. *Cienc. Rural*, 32, 731–737. DOI: 10.1590/S0103-84782002000400030
- Dunshea FR, D'Souza DN, Pethick DW, Harper GS, Warner RD. 2005. Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Sci.*, 71, 8-38. DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.05.001; PMID: 22064049
- Eppard PJ, Bauman DE, McCutcheon NS. 1985. Effect of dose of bovine growth hormone on lactation of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 68, 1109-1115. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(85)80936-X; PMID: 3842848
- Fan Y, Yin YM, Jiang WB, Chen YP, Yang JW, Wu J, Xie MX. 2014. Simultaneous determination of ten steroid hormones in animal origin food by matrix solid-phase dispersion

- and liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Food Chem.*, 142, 170–177. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.06.104; PMID: 24001828
- Foutz CP, Dolezal HG, Gardner TL, Gill DR, Hensley JL, Morgan JB. 1997. Anabolic implant effects on steer performance, carcass traits, subprimal yields, and longissimus muscle properties. *J. Anim. Sci.*, 75, 1256–1265. DOI: 10.2527/1997.7551256x; PMID: 9159272
- Gandhi R, Snedeker SM. 2000. Consumer concerns about hormones in food. cornell univercity program on breast cancer and enviromental risk factors in Newyork State (BRCF) Fact Sheet, 37, Cornel Üniversitesi, Veteriner Fakültesi. <https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/14514/fs37.hormones.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Erişim Tarihi: 09.05.2019).
- Garmyn AJ, Miller MF. 2014. Implant and beta agonist impact on beef palatability. *J. Anim. Sci.*, 92, 10-20. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(85)80936-X; PMID: 3842848
- Gebre BA, Gebresadik ZT, Anal AK. 2012. Effect of metabolic modifiers on meat quantity and quality. *AJES*, 6, 294-301. DOI: 10.5897/AJFS12.046
- Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. 2018. Ulusal Kalıntı İzleme Planı-2018 Türkiye. https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_Kont/Ulusal_Kalinti_Izleme_Plani_2018.pdf (Erişim tarihi: 21.04.2019).
- Gruber SL, Tatum JD, Engle TE, Mitchell MA, Laudert SB, AL Schroeder AL, Platter WJ. 2007. Effects of ractopamine supplementation on growth performance and carcass characteristics of feedlot steers differing in biological type. *J. Anim. Sci.*, 85, 1809–1815. DOI: 10.2527/jas.2006-634; PMID: 17431043
- Gruber SL, Tatum JD, Engle TE, Prusa KJ, Laudert SB, Schroeder AL, Platter WJ. 2008. Effects of ractopamine hydrochloride supplementation and postmortem aging on longissimus palatability of beef steers differing in biological type. *J. Anim. Sci.* 86, 205–210. DOI: 10.2527/jas.2007-0201; PMID: 17878276
- Guedes-Alonso R, Montesdeoca-Esponda S, Sosa-Ferrera Z, Santana Rodriguez JJ. 2014. Liquid chromatography methodologies for the determination of steroid hormones in aquatic environmental systems. *Trends Environ. Anal.*, 3-4, 14-27. DOI: 10.1016/j.teac.2014.10.001
- Guedes-Alonso R, Sosa-Ferrera Z, Santana Rodriguez JJ. 2017. Determination of steroid hormones in fish tissues by microwave assisted extraction coupled to ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem.*, 237, 1012-1020. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.06.065
- Hartmann S, Lacorn M, Steinhart H. 1998. Natural occurrence of steroid hormones in food. *Food Chem.*, 62, 7-20. DOI: 10.1016/S0308-8146(97)00150-7

- Hoga CA, Almeida FL, Reyes FGR. 2018. A review on the use of hormones in fish farming: Analytical methods to determine their residues. *CYTA J. Food.*, 16, 679-691. DOI: 10.1080/19476337.2018.1475423
- IARC. 2019. Agents classified by the IARC monographs, volumes 1–123. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/09/ClassificationsCASOrder.pdf> (Erişim Tarihi:19.05.2019).
- Jeong S-H, Kang D, Lim M-W, Kang CS, Sung HJ. 2010. Risk assessment of growth hormones and antimicrobial residues in meat. *Toxicol. Res.*, 26, 301-313. DOI: 10.5487/TR.2010.26.4.301; PMID: 24278538
- Kaya S, Prinçci İ. 2013. *Gelişmeyi hızlandırıcı maddeler*. In: Kaya S (Ed), Veteriner Farmakoloji. 5. Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, s:273-288, ISBN:978-9757774-72-3
- Kerth CR, Montgomery JL, Morrow KJ, Galyean ML, Miller MF (2003). Protein turnover and sensory traits of longissimus muscle from implanted and non implanted heifers. *J. Anim. Sci.*, 81, 728–1735. DOI: 10.2527/2003.8171728x; PMID: 12854809
- Macrina AL, Ott TL, Roberts RF, Kensingers RS. 2012. Estrone and estrone sulfate concentrations in milk and milk fractions. *J. Acad. Nutr. Diet.*, 112, 1088-93. DOI: 10.1016/j.jand.2012.02.005; PMID: 22561023
- Montgomery JL, Krehbiel CR, Cranston JJ, Yates DA, Hutcheson JP, Nichols WT, Streeter MN, Bechtol DT, Johnson E, TerHune T, Montgomery TH. 2009. Dietary zilpaterol hydrochloride. I. Feedlot performance and carcass traits of steers and heifers. *J. Anim. Sci.*, 87, 1374–1383. DOI: 10.2527/jas.2008-1162; PMID: 19098247
- Mor F, şahindokuyucu F, Kav K, K ker A. 2011. Sığırların doku örneklerinde zeranol ve trenbolon kalıntılarının belirlenmesi. *Eurasian J. Vet. Sci.*, 27, 235-239.
- Nachman KE, Smith TJS. 2015. Hormone use in food animal production: Assessing potential dietary exposures and breast cancer risk. *Curr. Envir. Health Rpt.*, 2, 14. DOI: 10.1007/s40572-014-0042-8; PMID: 26231238
- Noppe H, Le Bizec B, Verheyden K, De Brabander HF. 2008. Novel analytical methods for the determination of steroid hormones in edible matrices. *Anal. Chim. Acta*, 611, 1-16. DOI: 10.1016/j.aca.2008.01.066; PMID: 18298962
- Quinn MJ, Reinhardt CD, Loe ER, Depenbusch BE, Corrigan ME, May ML, Drouillard JS. 2008. The effects of ractopamine-hydrogen chloride (Optaflexx) on performance, carcass characteristics, and meat quality of finishing feedlot heifers. *J. Anim. Sci.*, 86, 902–908. DOI: 10.2527/jas.2007-0117; PMID: 18192549

- Rath AP, Panda S, Pandey R, Routray A, Sety K. 2018. Hormone residues in milk and meat products and their public health significance. *Pharma Innovation*,7, 489-494. ISSN (E): 2277- 7695
- Regal P, Cepeda A, Fente CA. 2012. *Natural hormones in food-producing animals: Legal measurements and analytical implications*. In: Aladjadjian A. (Ed), Food Production- Approaches, Challenges and Tasks. Croatia, In Tech, p:205-230. ISBN 978-953-307-887-8
- Reis-Filho RW, de Araújo JC, Vieira EM. 2006. Sexual estrogenic hormones: Bioactive contaminants. *Quím. Nova*, 29, 817–822. DOI: 10.1590/S0100-40422006000400032
- Roeber DL, Cannell RC, Belk KE, Miller RK, Tatum JD, Smith GC. 2000. Implant strategies during feeding: Impact on carcass grades and consumer acceptability. *J. Anim. Sci.*, 78, 1867–1874. DOI: 10.2527/2000.7871867x; PMID: 10907829
- Rothenbacher H, Wiggins JP, Wilson LL. 1975. Pathological changes in endocrine glands and certain other tissues of lambs implanted with ten synthetic growth promoting zeranol. *Am. J. Vet. Res.*, 36, 1313-1317. PMID: 1163868
- Serratos J, Blass A, Rigau B, Mongrell B, Rigau T, Tortades M, Tolaso E, Aguilar C, Ribo O, Balague J. 2006. Residues from veterinary medicinal products, growth promoter and performance enhancers in food-producing animals: a European Union perspective. *Rev. - Off. Int. Epizoot.*, 25, 637-653. PMID: 17094703
- Swan SH, Liu F, Overstreet JW, Brazil C, Skakkebaek NE. 2007. Semen quality of fertile US males in relation to their mothers' beef consumption during pregnancy. *Hum. Reprod.*, 22, 1497-1502. DOI: 10.1093/humrep/dem068; PMID: 17392290
- Şevik SE. 2016. *Sığır etlerinde hormon kalıntısı varlığının araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
- Şevik SE, Ayaz ND. 2017. Sığır etlerinde kalıntı varlığının araştırılması. *Vet. Hek. Dern. Derg.*, 88, 13-20.
- Şireli UT, Filazi A, Onaran B, Artık N, Ülker H. 2015. Etlerdeki kalıntı endişeleri. *Türkiye Klinikleri Food Sci. - Special Topics*, 1, 7-16.
- Tan X, Li Z, Deng L, Zhao S, Wang M. 2016. Analysis of 13 kinds of steroid hormones in raw milk using modified QuEChERS method combined with UPLC-QTOF-MS. *J. Integr. Agric.*, 15, 2163–2174. DOI: 10.1016/S2095-3119(16)61386-2
- Terzi G. 2005. Kasaplık hayvanlarda zeranolün anabolizan olarak kullanımı ve önemi. *Anadolu Üni. Teknol. Derg.*, 1, 27-36.

- Unusan N. 2008. Determination of clenbuterol in UHT milk in Turkey. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 43, 617–619. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2007.01496.x
- Vicini J, Etherton T, Kris-Etherton P, Ballam J, Denham S, Staub R, Goldstein D, Cady R, McGrath M, Lucy M. 2008. Survey of retail milk composition as affected by label claims regarding farm-management practices. *J. Am. Diet. Assoc.*, 108, 1198-203. DOI: 10.1016/j.jada.2008.04.021; PMID: 18589029
- Walker DK, Titgemeyer EC, Drouillard JS, Loe ER, Depenbusch BE, Webb. AS. 2006. Effects of ractopamine and protein source on growth performance and carcass characteristics of feedlot heifers. *J. Anim. Sci.*, 84, 2795–2800. DOI: 10.2527/jas.2005-614; PMID: 16971581
- Wheeler TL, Koohmaraie M. 1997. Effects of the adrenergic agonist 1644,969 on muscle protein turnover, endogenous proteases activities and tenderness in steer. *J. Anim. Sci.*, 70, 3035-3043. DOI: 10.2527/1992.70103035x; PMID: 1358872
- Wiley AS. 2011. Milk intake and total dairy consumption: Associations with early menarche in NHANES 1999-2004. *PLoS ONE*, 6, e14685. DOI: 10.1371/journal.pone.0014685; PMID: 21347271
- Yang Y, Shao B, Zhang J, Wu Y, Duan H. 2009. Determination of the residues of 50 anabolic hormones in muscle, milk and liver by veryhigh-pressure liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 877, 489–496. DOI: 10.1016/j.jchromb.2008.12.054; PMID: 19147414
- Zhou JL, Zhang Z. 2011. *Analysis of hormones in food*. In: Nollet LML (Ed.), *Analysis of endocrine disrupting compounds in food*. Ames, IA: Wiley-Blackwell, p:163-179. ISBN: 978-0-813-81816-0

***Longissimus Thoracis* ve *Longissimus Lumborum* Kaslarının Kuru
Dinlendirme İşlemi Sırasında Miyofibriler Proteinlerinde Meydana Gelen
Yapısal Değişimlerin Belirlenmesi**

Hatice Ahu Kahraman^{1*}, Ümit Gürbüz^{2,3}

^{1*} Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı, Burdur, Türkiye

² Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim
Dalı, Konya, Türkiye

³ Kırgızistan Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Bölümü, Bişkek, Kırgızistan.

*h.ahuerdem@mehmetakif.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada kuru dinlendirme (dry aging) işlemi süresince *Longissimus thoracis* ve *Longissimus lumborum* kaslarının miyofibriler proteinlerinin dansitelerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Materyal olarak 11 aylık 40-45 kg karkas ağırlığına sahip 30 adet Akkaraman ırkı toklunun *longissimus thoracis* (LT) ve *longissimus lumborum* (LL) kas grupları kullanıldı. Toplamda 60 adet et preparatı üç eşit parçaya bölünüp kodlandı. Tüm numuneler 1°C'de, % 85 rutubet ve 0,2-0,5 m/sn hava akımı olan soğutma dolabında 14 gün boyunca dinlenmeye bırakıldı. Dinlendirme işlemlerinin, başlangıç (0), 7. ve 14. günlerinde alınan örneklerin miyofibriler proteinleri ekstrakte edilip sodium-dodesil-sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)'nde yürütüldü. Dinlendirme süresince LL kasındaki 35, 32 ve 22 kDa, LT kasında ise 35, 32 ve 27 kDa ağırlığa sahip miyofibriler proteinlerinin dansitelerinde meydana gelen değişimlerin önemli olduğu belirlendi (p<0.05). LT kasının 35, 32 ve 22 kDa ağırlığındaki miyofibriler proteinlerin dansitelerinin 0 ve 7. günlerde benzer bulunduğu, 14.

günde ise proteinlerin dansitelerinin hızlı bir artış gösterdiği tespit edildi ($p<0.05$). Yirmiyedi kDa ağırlığındaki proteinin dansitesindeki değişimin önem taşımadığı görüldü ($p>0.05$). Benzer şekilde LL kas grubunun 35, 32 ve 27 kDa ağırlığındaki miyofibriller proteinlerin dansitelerinin 7. Gün itibarıyla hızlı bir artış gösterdiği, bu artışın 14. günde de eşit şekilde sürdüğü belirlendi ($p<0.05$). Yirmi iki kDa ağırlığındaki proteinin dansitesindeki değişimin önemsiz olduğu görüldü ($p>0.05$). Proteinlerde meydana gelen bu değişiklikler, hem kasın ete dönüşüm mekanizmasında, hem de kuru dinlendirme ile etin olgunlaştırılması açısından önemli bir yere sahiptir. Kuru dinlendirme işlemi uygulanan etlerde olgunlaşma kontrolü, kas proteinleri bazında gerçekleştirilerek tüketici taleplerine yönelik, daha kaliteli ve üstün nitelikli ürünlerin üretimi sağlanabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Dry aging; Miyofibriller protein; SDS-PAGE; Koyun Eti.

Determination of Structural Changes in Myofibrillar Proteins During Dry

Aging of *L. Lumborum* and *L.Thoracis* Muscles

Hatice Ahu KAHRAMAN^{1*}, Ümit GÜRBÜZ^{2,3}

^{1*} Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Burdur, Türkiye

²SelçukUniversity, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Konya,Türkiye

³Kyrgyz-Turkish Manas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Bishkek/ Kyrgyzstan

*h.ahuerdem@mehmetakif.edu.tr

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the changes in the density of myofibrillary proteins of *Longissimus toracis* and *Longissimus lumborum* muscles during dry aging process. *Longissimus thoracis* (LT) and *Longissimus lumborum* (LL) muscles of 30 Akkaraman breeds were used as material. A total of 120 muscle groups were divided into three equal parts and coded. All samples were allowed to aging for 14 days in 85% humidity and 0.2-0.5 m/s air flow at 1 ° C. Samples were taken at 0th (initial), 7th, 14th days of dry aging process. The obtained myofibrillar proteins were run on sodium-dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). It was determined that the density of myofibrillar proteins have a low dalton weight (35, 32, 27 and 22 kDa) were changed during the dry aging process (p<0.05). The changes in the density of myofibrillar proteins weighing 35, 32 and 22 kDa in LT and 35, 32 and 27 kDa in LL muscle were significant (p<0.05). The densities of LT muscles' 35, 32 and 22 kDa proteins were similar on days 0 and 7, whereas densities increased rapidly on day 14 (p <0.05). The change in the density of the protein weighing 27 kDa was not significant (p>0.05). Similarly, the density of LL muscles' 35, 32 and 27 kDa proteins showed a rapid increase on

day 7. This increase was observed evenly on Day 14 ($p < 0.05$). The changes in the density of 27 kDa weight protein were found insignificant ($p > 0.05$). These changes in proteins have an important role both the mechanism of muscle to meat and in maturing of meat by dry aging. It is believed that the determination of changes in the structure of myofibrillar proteins during the aging period may contribute to the production of meat and meat products with high a quality and desirable characteristics.

Keywords: Dry aging; Myofibrillar protein; SDS-PAGE; Lamb meat.

GİRİŞ

Son yıllarda et ve et ürünlerine artan tüketici talep farklılaşması, yüzyıllardır uygulana gelen dinlendirme işlemlerinin yeniden gündeme gelmesine neden olmuştur. Dinlendirme uygulamaları, etlerin kendi enzimsel aktiviteleri ile olgunlaşmasının sağlanıp, lezzet ve gevrekliğinin artırılması için bilinen en eski metotlardan birisidir. Bu amaçla tüm karkas ya da parçalanmış haldeki etler, hava akımı, rutubeti ve sıcaklığı kontrol edilen soğuk hava depolarında birkaç hafta bekletilmektedir. Etlerin dinlendirme uygulamalarına tabi tutulmasının temel nedeni duyuşal açıdan tercih edilen ürünlerin elde edilebilmesidir. Kuru dinlendirme uygulamaları ile etlerde tüketici tarafından arzu edilen gevreklik ve lezzet gelişiminin meydana geldiği bilinmektedir (Greaser,1986; Feiner, 2006; Huff-Lonergan ve ark. 2010; Kahraman ve Gürbüz, 2019). Kuru dinlendirme, sığır etlerinin herhangi bir koruyucu paketleme işlemi uygulanmaksızın, 1-3°C sıcaklık ve % 70-85 rutubetli ortamda 1-5 hafta süreyle (ortalama 21-28 gün) bekletme prensibine dayanmaktadır. Bu süreçte ette, enzimatik ve biyokimyasal değişikliklerle kendine özgü lezzet gelişimi ve gevrekliğin meydana geldiği bildirilmektedir (Nishimura ve ark. 2015).

Etlerde meydana gelen biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda büyük yapıdaki proteinler proteolize uğrayarak daha küçük yapıdaki proteinlere parçalanmaktadır. Ette gevreklik gelişiminin miyofibriler proteinlerdeki degradasyona bağlı olarak oluştuğu araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Huff-lonergan ve ark., 2010). Bu çalışmada, *M. longissimus thoracis* ve *M. longissimus lumborum* kaslarının kuru dinlendirme işlemi sırasında miyofibriler proteinlerinde meydana gelen yapısal değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL METOD

Materyal olarak 11 aylık 40-45 kg karkas ağırlığına sahip 30 adet Akkaraman ırkı toklunun sırt (*M.longissimus thoracis*) ve bel (*M. longissimus lumborum*) etleri kullanıldı. Toplamda 60 adet et preparatı üç eşit parçaya bölünüp kodlandı. Tüm numuneler 1°C'de, % 85 rutubet ve 0,2-0,5 m/sn hava akımı olan soğutma dolabında 14 gün boyunca dinlenmeye bırakıldı. Dinlendirme işlemlerinin, başlangıç (0), 7. ve 14. günlerinde alınan numuneler sıvı azota daldırılarak donduruldu analiz gününe kadar -80 °C de saklandı.

Miyofibriler Proteinlerin Ekstraksiyonu

Miyofibriler proteinlerin ekstraksiyonu Aksu ve ark (2005) belirttiği yönteme göre gerçekleştirildi. Alınan 2,5 g örnek üzerine 25 ml buffer solüsyonu (3 C, pH 7.6, 0.05 M sukroz, 0.05 M Tris, 1 mM EDTA) ilave edilerek +4  C'de 1000g'de 10 dk santrifüjlendi. Ardından pH 7.6, 3 C, 0.05 M Tris, 1 mM EDTA içeren buffer solüsyonundan 25 ml ilave edilerek +4  C'de 1000g'de 10 dk tekrar santrifüjlendi. 0.15 M 25 ml KCl solusyonu (3 C) ilave edilerek -80 C'de örnekler depolandı. Protein yoğunluğunu artırabilmek için örnekler -114  C'de 24 sa süre ile liyofilize edildi. Ardından 10 mg liyofilize protein üzerine 2 ml örnek solusyonu (Tris, Glycerol, SDS, pH 6.8) eklenerek Bradford metodu ile protein konsantrasyon ölçümü yapıldı. 595 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüm gerçekleştirildi.

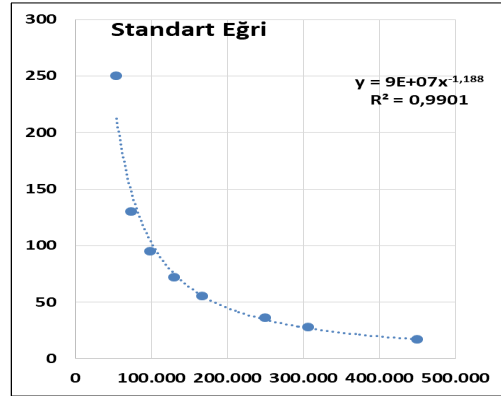
Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Örneklerin total protein kompozisyonları SDS-PAGE ile Aktaş ve ark (2005) belirttiği yönteme göre gerçekleştirildi. Jel konsantrasyonları %12.5 (ayırma) ve 4% (yükleme) olarak hazırlandı. Her  rnek kuyucuklara 10  g protein içerecek şekilde yüklendi. Coomassie brilliant blue R-250 (1g/l) ile oda sıcaklığında 2 sa süreyle boyandı. Metanol ve asetik asit içeren solusyonda bir gece (+4 C) bekletilerek fazla boya uzaklaştırıldı. Ardından jeller görüntülendi (Fusion Fx Vilber Loumat) ve dijital olarak kaydedildi.

Proteinlerin kDa'larının Hesaplanması ve Dansite  l m 

Jel görüntüleri Image J programı (Image Processing and Analysis in Java) ile değerlendirildi. Kullanılan protein standardındaki (PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder, 10 to 250 kDa, Thermo Fisher Scientific) kDa'ı belirli proteinlerin jelde g  mesafeleri hesaplanarak standart eğri hazırlandı. Kilodalton ağırlıkları bilinmeyen proteinlerin jelde g  ettikleri mesafe standart eğriye göre belirlenerek kDa'ları hesaplandı. Jel üzerinde aynı güç mesafesine sahip proteinlerin dansiteleri, oluşan pik alanları hesaplanarak belirlendi (Marino ve ark., 2013).

Tablo.1. Proteinlere jeldeki göç mesafelerine ait standart eğri.



İstatistiksel Analiz

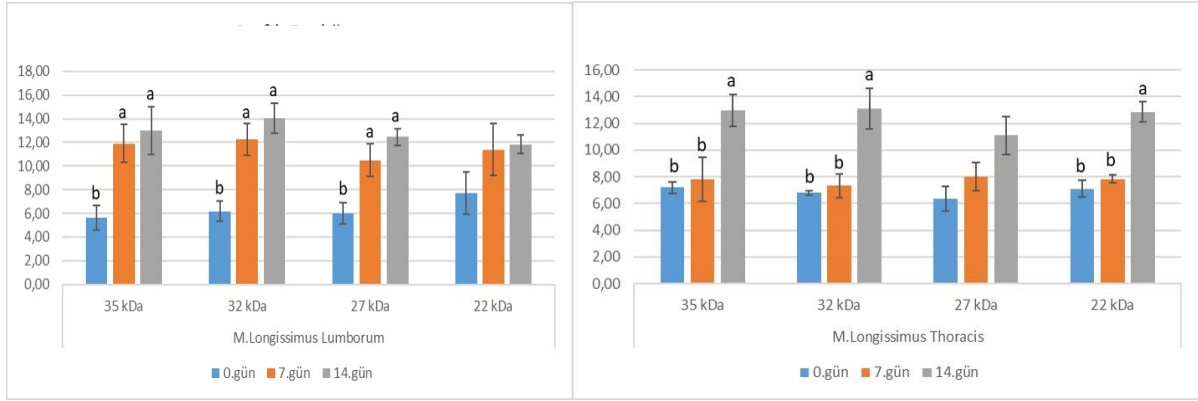
Elde edilen veriler SPSS 21.0' de değerlendirilerek, Tek yönlü varyans analizine tabi tutuldu. Gruplar arası farklılıklar Duncan testi ile belirlendi.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Dinlendirme süresinin artmasına bağlı olarak proteolitik aktivite sonucu miyofibriler proteinlerde bazı değişikliklerin meydana geldiği belirlendi. Özellikle 35-22 kDa'luk miyofibriler proteinleri içeren bölgede bant yoğunluklarında artma tespit edildi. SDS-PAGE sonuçlarına göre, küçük yapıdaki miyofibriler proteinlerin (35, 32, 27 ve 22 kDa) dansitelerinin dinlendirme işlemi süresince değişime uğradığı belirlendi ($p < 0.05$; Tablo.2).

Dinlendirme süresince LL kasındaki 35, 32 ve 22 kDa ağırlığa sahip miyofibriler proteinlerinin dansitelerinde meydana gelen değişimlerin önemli olduğu görüldü ($p < 0.05$; Tablo.2). Longissimus lumborum kasının 35, 32 ve 22 kDa ağırlığındaki miyofibriler proteinlerin dansitelerindeki artış 0 ve 7. günlerde benzer iken, 14. günde hızlı bir artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). 27 kDa ağırlığındaki proteinin dansitesindeki değişimin istatistiksel açıdan önem taşımadığı görüldü ($p > 0.05$).

Tablo.2. Dinlendirme işlemi süresince *Longissimus Thoracis* ve *Longissimus Lumborum* kaslarının miyofibriler proteinleri kDa’nda meydana gelen değişim.



LT: *Longissimus Thoracis*, LL: *Longissimus Lumborum*. Farklı harf ile gösterilen örnekler arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0,05$) kDa=Kilodalton ağırlık

Dinlendirme işlemi süresince LT kasında 35, 32 ve 27 kDa ağırlığa sahip miyofibriler proteinlerin dansitelerinde meydana gelen değişimlerin önemli olduğu belirlendi ($p < 0.05$; Tablo.2). Benzer şekilde LL kas grubunun 35, 32 ve 27 kDa ağırlığındaki miyofibriler proteinlerin dansitelerinin 7. günden itibaren hızlı bir artış gösterdiği bu artışın 14. günde de eşit şekilde sürdüğü belirlendi ($p < 0.05$). 22 kDa sahip proteinin dansitesindeki değişimin istatistiksel açıdan önem taşımadığı tespit edildi.

Etilerde meydana gelen biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda büyük yapıdaki proteinlerin proteolizi ile daha küçük yapıdaki proteinlere parçalanmaktadır. Ette gevreklik gelişiminin miyofibriler proteinlerdeki degradasyona bağlı olarak oluştuğu (Huff-Ionergan ve ark., 2010) ve 32-27 kDa aralığında proteinlerin, etin olgunlaşması ile doğrudan ilişkili olduğu araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Marino ve ark., 2013). Postmortem olgunlaştırma işlemi sonucunda 33.5, 32, 30, 28 ve 27 kDa ağırlığa sahip proteinlerde değişimlerin meydana geldiği (Ouali ve ark 1993), benzer başka bir araştırmada ise, 3 gün süre ile postmortem olgunlaşma sağlanan etlerin 40, 34, 32, 23.3, 21 ve 20 kDa sahip proteinlerinde farklılaşmalar olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda 30 kDa ağırlığa sahip proteindeki artışın dikkate değer olduğu kaydedilmiştir (Negishi ve ark 1996).

SONUÇ

Kuru dinlendirme işlemi uygulanan koyun etlerinde 14 günde 22 ve 27 kDa proteinlerin ortaya çıkışının etlerde olgunlaşmanın tamamlandığının bir göstergesi olabileceği sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda miyofibriler proteinlerin daha küçük yapıları komponentlere parçalanması ve dolayısıyla olgunlaşma için gerekli olan sürenin *M. longissimus lumborum*'dan elde edilen etlerde daha kısa olduğu görülmüştür. Ek olarak, proteinlerde meydana gelen bu değişikliklerin, hem kasın ete dönüşüm mekanizmasında, hem de kuru dinlendirme ile etin olgunlaştırılması açısından önemli olduğu, aynı kas grubuna mensup kasların bile olgunlaşma esnasında proteinler bazında farklılıklar gösterebileceği ve bu farklılaşmanın olgunlaştırma işlemine uygun kas gruplarının belirlenmesinde önem taşıyacağı görülmüştür. Kuru dinlendirme işlemi uygulanan etlerin olgunlaşma kontrolünün, kas proteinleri bazında gerçekleştirilmesinin, tüketici taleplerine yönelik, daha kaliteli ve üstün nitelikli ürünlerin elde edilmesi açısından önem taşıdığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Lonergan EH, Zhang W, Lonergan SM. 2010. Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, 86(1), 184-195.
- Marino R, Albenzio M, Della Malva A, Santillo A, Loizzo P, Sevi A. 2013. Proteolytic pattern of myofibrillar protein and meat tenderness as affected by breed and aging time. *Meat Science*, 95(2), 281-287.
- Ouali A, Talmant A. 1990. Calpains and calpastatin distribution in bovine, porcine and ovine skeletal muscles. *Meat Science*, 28(4), 331-348.
- Negishi H, Yamamoto E, Kuwata T. 1996. The origin of the 30 kDa component appearing during post-mortem ageing of bovine muscle. *Meat Science*, 42(3), 289-303.
- Aksu MI, Aktaş N, Kaya M, Macit M. 2005. Effects of vitamin E supplementation on myofibrillar proteins of fat-tailed awassi male lambs. *Journal of Muscle Foods*, 16(3), 177-183.
- Aktaş N, Aksu MI, Kaya M. 2005. Changes in myofibrillar proteins during processing of pastirma (Turkish dry meat product) produced with commercial starter cultures. *Food Chemistry*, 90(4), 649-654.

- Gürbüz Ü. 2009. Mezbaha Bilgisi ve Pratik Et Muayenesi, Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya, 9-10.
- Ertaş N, Doğruer Y. 2010, Besinlerde tekstür. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 7,1, 35-42.
- Kahraman HA, Gurbuz U. 2019. Effects of three aging methods on the Longissimus lumborum muscle from Holstein-Friesian steers. *Medycyna Weterynaryjna*, 75(03).
- Greaser ML. 1986. Conversion of muscle to meat” in Muscle as food. Bechtel, P.J., Ed. Academic press, Orlando, USA, 37-102.
- Huff-Lonergan E, Zhang W, Lonergan SM. 2010. Biochemistry of postmortem muscle-Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*. 86, 184-195.
- Feiner G. 2006. Meat Products Handbook Practical Science and Technology. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 27-30.
- Nishimura T. 2015. Role of extracellular matrix in development of skeletal muscle and postmortem aging of meat. *Meat Science*. 109, 48-55.

Pastırmada *Escherichia coli* O157:H7'nin Bakteriyofaj Kokteyli ile Biyokontrolü

Gizem ÇUFAOĞLU¹, Aşkın Nur DERİNÖZ^{1*}, Naim Deniz AYAZ¹

¹*Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü 71450

Yahşihan, Kırıkkale, Türkiye

[*askinnurderinoz@gmail.com](mailto:askinnurderinoz@gmail.com)

ÖZET

Yapılan çalışmada, ısıl işlem görmeden üretilen bir et ürünü olan pastırmada *Escherichia coli* O157:H7'nin iki bakteriyofaj kokteyli ile biyokontrolünün araştırılması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, sığır mezbaha atık sularından izole edilen ve *E. coli* O157:H7'ye (ECO) karşı litik etkiye sahip olduğu önceden belirlenmiş iki bakteriyofajdan oluşan 10^9 pob/ml konsantrasyondaki bir faj kokteyli hazırlandı. Kokteyl deneysel olarak $6,9 \times 10^3$ kob/ml düzeyinde nalidiksik aside ($25\mu\text{g/ml}$) dirençli hale getirilen NA-ECO ATCC 43895 ile kontamine edilmiş pastırma dilimlerine uygulandı ve bir hafta süresince oda sıcaklığında ($22-24^\circ\text{C}$) inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresince, belirli saat ve günlerde yapılan *E. coli* sayımlar ile NA-ECO sayısında meydana gelen redüksiyon belirlendi. Buna göre bakteriyofaj uygulanan grupta NA-ECO sayısında en az 2 log kob/g redüksiyon gözlemediği, bu nedenle de faj uygulanan grupta NA-ECO sayısının tespit edilemediği (< 10 kob/g) belirlendi. Çalışma neticesinde, faj kokteylinin pastırmada *E. coli* O157:H7'nin biyokontrolü amacıyla etkin bir şekilde kullanılabilir olduğu ortaya konuldu.

Anahtar Kelimeler: Atık sular, Bakteriyofaj, biyokontrol, *E. coli* O157:H7, Pastırma.

Biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7 by a Bacteriophage Cocktail in Pastırma

Gizem ÇUFAOĞLU, Aşkın Nur DERİNÖZ^{1*}, Naim Deniz AYAZ

^{1*}Kırıkkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and
Technology, 71450 Yahsihan, Kırıkkale, Turkey

[*askinnurderinoz@gmail.com](mailto:askinnurderinoz@gmail.com)

ABSTRACT

In this study, it was aimed to investigate the biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7 (ECO) by bacteriophages in pastırma which produces without heat treatment. A cocktail was prepared from two pre-characterized phages which were isolated from cattle slaughterhouse wastewaters and were found to have lytic activity against ECO. The phage cocktail at a concentration of 10^9 cfu/ml was applied to pastırma slices which experimentally contaminated with $6,9 \times 10^3$ cfu/ml nalidixic acid resistant (25µg/ml) NA-ECO. During the incubation period at room temperature (22-24°C) for one week, reduction of NA-ECO was investigated on certain hours and days. According to the results, at least 2 log cfu/g reduction was occurred in the bacteriophage applied group, therefore NA-ECO did not detected (< 10 cfu/g) during the experiment. In conclusion the bacteriophage cocktail can be used for the biocontrol of *E. coli* O157:H7 in pastırma.

Keywords: Bacteriophage, biocontrol, *E. coli* O157:H7, pastırma, wastewater

GİRİŞ

Escherichia coli O157:H7, hemorajik kolitis (HC) ve hemolitik üremik sendrom (HUS) nedeni olarak dünyanın birçok bölgesinde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir. Virülensi çok yüksek, aside dirençli ve minimal infeksiyon dozu çok düşük olan *E. coli* O157:H7'nin oluşturduğu Shiga-like toksinler olan *stx*₁ ve *stx*₂ asıl virülens faktörleridir. Bu sitotoksinler, başta çocuklar ve yaşlılar olmak üzere infekte insanlarda HC, HUS ve devamında ise ölüme neden olmaktadır (Schmidt ve ark., 1995). Sığırlar başta olmak üzere ruminantların gastro-intestinal kanalı *E. coli* O157:H7'nin en önemli rezervuarıdır. Kesim işlemi sırasında hayvanların deri ve bağırsak içeriği ile kontamine olan et, infeksiyonların oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar *E. coli* O157:H7 infeksiyonlarının önemli bir bölümünün çiğ ya da yetersiz pişirilmiş sığır eti ya da bu etlerle hazırlanmış gıdaların tüketiminden kaynaklandığını ortaya koymuştur (Meng ve ark., 2001). Türkiye'de *E. coli* O157:H7 prevalansını belirlemek için bir izleme programı olmamasına rağmen, bakteri prevalansının %1,4 ile %7,1 arasında olduğunu gösteren çok sayıda yerel çalışma bulunmaktadır (Aksu ve ark., 1999; Ayaz ve ark., 2016; Balpetek ve Gürbüz, 2010; Erol ve ark., 2016).

Bakteriyofajlar ilk kez 1900'lerin başında bakteri yiyen virüsler olarak tanımlanmışlardır. Oldukça fazla sayıda (10^{30} - 10^{32}) ve çeşitlilikte bulunan bakteriyofajlar; deniz suları, tatlı sular, toprak, hayvan ve insanların gastrointestinal ve genito-üriner kanalları, deri, süt gibi birçok kaynaktan izole edilmiştir. Bakteriyofajların antibakteriyel aktivitesini ve bunların faydalı etkilerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır (Anany ve ark., 2011; Guenther ve ark., 2009; Kudva ve ark., 1999; O'Flaherty ve ark., 2009; Rozema ve ark., 2009). FDA 2011 yılında, *E. coli* O157:H7'ye özgü faj preparatı olan EcoShield™'in Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanılmasını onaylamıştır (US Food and Administration, 2011). Çalışmalar, *E. coli* O157:H7'ye özgü bakteriyofajların, sığırlardan yayılan *E. coli* O157:H7'yi azalttığını (Rozema ve ark., 2009), insanlardan izole edilen *E. coli* O157:H7 için litik olduğunu (Viscardi ve ark., 2008), biyokontrol maddesi olarak kullanılabileceğini (Kudva ve ark., 1999), insanlarda tedavi için kullanıldığında yan etki göstermediğini (Brüssow ve Kutter, 2005) ve gıdalarda *E. coli* O157:H7'nin dekontaminasyonu için kullanılabilir olduğunu ortaya koymuştur (Abuladze ve ark., 2008; O'Flynn ve ark., 2004). Bu bakımdan, hedef patojen bakteride yüksek litik etkinliğe sahip bakteriyofajların izolasyonu ve karakterizasyonu halk sağlığı açısından büyük önem

taşımaktadır. Ayrıca, farklı ve daha önce incelenmemiş gıda modellerinde izole edilmiş fajların test edilmesi, etkili kullanım alanlarının belirlenmesi için önem arz etmektedir.

Tipik lezzeti ile Türkiye'nin en çok tüketilen et ürünleri arasında yer alan pastırma, *E. coli* O157:H7 bakımından üretim süreci ve ısıl işlem görmemesi nedeniyle riskli gıda olarak kabul edilebilir. Bu nedenle, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından pastırmada *E. coli* O157:H7'nin dekontaminasyonu ürünün doğal yapısına zarar vermeden sağlayabilmek önem kazanmaktadır. Bu çalışmada pastırma gıda modelinde *E. coli* O157:H7'nin litik bakteriyofajlar uygulanarak redüksiyonunun araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

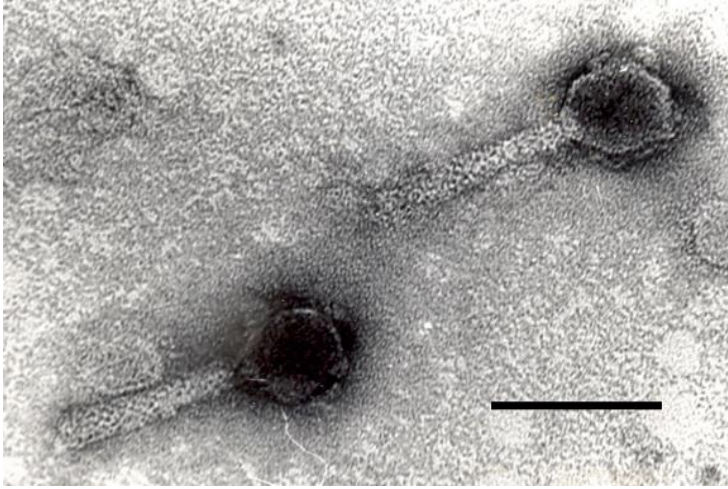
Bakteriyel Kültür

Çalışmada, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895 (EC43895) referans suşu kullanılmıştır. EC43895 suşu, selektif bir özellik kazandırma amacıyla artan konsantrasyonlarda (1, 5, 10, 15, 20 ve 25 µg/ml) nalidiksik asit içeren LB (Tryptone [pancreatic digest of casein] 10 g/l, yeast extract 5 g/l, NaCl 5 g/l, agar 15 g/l) agar üzerinde gerçekleştirilen pasajlarla 25µg/ml nalidiksik asit'e dirençli hale getirildi. Daha sonra, TSB'de 37°C' de bir gece zenginleştirilen nalidiksik aside dirençli hale getirilmiş referans *E. coli* O157:H7 ATCC 43895 (NA-EC43895)'in; hem 25µg/ml NA içeren sefiksim (0.05mg/l) ve tellürit (2.5mg/l) katkılı sorbitol-MacConkey agarda (NA-CT-SMAC, Oxoid CM0813) hem de içermeyen CT-SMAC'da sayımları yapılarak, geliştirilen NA-direnci doğrulandı. Deneyden önce, istenen kob / ml'de bakteriyel inokulumları hazırlamak için NA-EC43895 600 nm optik yoğunlukta (OD₆₀₀) spektrofotometrede (Shimadzu UV 1700, Japonya) TSB içinde ölçüldü ve kob/ml korelasyonları NA-CT-SMAC'a ekimler yapılarak tespit edildi.

Faj Kokteyli

Çalışmada, daha önce Transmisyon Elektron Mikroskobu ile *Myoviridae* familyasında olduğu belirlenmiş (Şekil 1) ve birçok *E. coli* O157:H7 suşuna geniş litik aktivite gösterdiği tespit edilmiş (Gencay ve ark., 2016) olan M8AEC16 ve M12BEC16 fajlarından oluşan faj kokteyli kullanıldı. Faj dilüsyonları, SM tamponu (0,05 M Tris-HCl [pH 7.4-7.5], 0,1 M NaCl, 10 mM

MgSO₄, %1 (w/v) jelatin) ile hazırlandı. Çift katmanlı LB agar üzerine spot ekimler yapıldı ve 24 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda, faj titreleri plaklar sayılarak (temiz lizis alanları) belirlendi. Stok solüsyonları hazırlamak için EC43895, gece boyunca 37°C'de 50 ml TSB'de zenginleştirildi, daha sonra 100 µl saf faj süspansiyonu ile infekte edildi ve yavaşça vortekslendi. Gece boyunca 37°C'de inkübasyonun ardından 100 µl kloroform (CHCl₃, Sigma 288306) eklendi ve 15 dakika boyunca 12 000 ×g'de santrifüjlendi. Süpernatantlar, yeni steril tüplerde + 4°C'de saklandı.



Şekil 1. M8AEC16 fajının elektron mikroskop görüntüsü (bar: 100 nm).

Gıda Modeli

Pastırma, Kırıkkale'de bir şarküteriden bir bütün olarak satın alındı. Aynı gün içerisinde laboratuvarında steril bir bıçakla 10 g porsiyonlara dilimlendi ve her 10 g dilim steril bir petri kabına yerleştirildi. Deneyden önce pastırma örnekleri, *E. coli* O157'nin varlığı açısından immüno manyetik separasyon (IMS) bazlı kültür yöntemi ile analiz edildi.

DeneySEL tasarım: Örnekler iki gruba ayrıldı; bilinen faj süspansiyonunun ilave edildiği faj grubu (P grubu) ve aynı miktarda steril suyun eklendiği kontrol grubu (C grubu). Her pastırma diliminin yüzeyi, bir pipet kullanılarak $6,9 \times 10^3$ kob/ ml düzeyinde 1 ml NA-EC43895 ile kontamine edildi. Bakterilerin yüzeye tutunabilmesi için 10 dakika oda sıcaklığında bekledikten sonra, P grubuna 1 ml 10^9 pfu / ml bakteriyofaj kokteyli uygulandı. Daha sonra örnekler 22–24°C'de (oda sıcaklığı) inkübe edildi. Başlangıç kontaminasyon seviyesini belirlemek için 0. saatte bakteri sayımına ek olarak, NA-EC43895 sayıları 0.5, 1, 3, 6, 12 saatlerde ve 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7. günlerde ekimler yapıldı.

Bakteri Sayımları

İnkübasyon sonunda pastırma numuneleri (10 g) steril bir numune poşetine alınarak, 20 µg/l of novobiosin içeren 90 ml *E. coli* brothda (m-EC suyu, Oxoid CM0853) 1 dakika boyunca stomacherde (Labblender 400 Stomacher, Londra, İngiltere) homojenleştirildi. Uygun dilüsyonlar peptonlu suyla (PS, % 0.1 pepton, 1.07214, Merck) hazırlandı ve NA-CT-SMAC'ta ekimler yapıldı. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra koloni sayımı yapıldı ve sonuçlar C grubu sayılarıyla karşılaştırıldı. P grubunda, faj kokteylinin bakteri sayısını yaklaşık 2 log kob / g azaltabileceği düşünüldüğünde, tespit sınırının altındaki kolonileri (<10 kob / g) tespit etmek için bir zenginleştirme yöntemine ihtiyaç duyuldu. Bu nedenle, koloni sayımına ek olarak, peptonlu su ile süspanse edilmiş numunelere IMS uygulandı (anti-*E. coli* O157 Dynabeads, Norveç) ve daha sonra NA-CT-SMAC'ye ekildi. Na-CT-SMAC'de gözlenen kolonilerden en fazla beş tanesi rastgele seçilerek *E. coli* O157 lateks aglütinasyon testi (Oxoid, DR0620) ile doğrulaması yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Deneyler iki tekrarlı olarak gerçekleştirildi. *E. coli* O157:H7'deki zaman içindeki azalma farklarını araştırmak için tekrarlanan ölçüm tasarımı Genel Lineer Modeller kullanıldı. Zamanın etkisinin istatistiksel öneminin belirlenmesinde bağımsız tek yönlü ANOVA analizleri kullanıldı. İstatistiksel analizler için tespit sınırı 1 log kob / g olarak alındı. Karşılaştırmalar için farklılıklar minimum 0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirildi. İstatistiksel analizler, Windows için SPSS®14.1 kullanılarak yapıldı.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada, *E. coli* O157: H7 sayısı, 24°C'de 7 günlük inkübasyon süresince kontrol grubunda artış göstermedi. Dördüncü günde 0,94 log kob/ ml düşüş, yedinci günde 1,84 log kob/ml'ye ulaştı. Bununla birlikte, faj ilave edilen grupta (P grubu), 24°C'de 30 dakikalık inkübasyondan sonra, NA-CT-SMAC'ta *E. coli* O157:H7 saptanmadı. Faj kokteyli *E.coli* O157:H7 sayısını tespit sınırının altına düşürdü (1 log kob/g). Seçilen tüm koloniler lateks aglütinasyon testi ile pozitif olarak tespit edildi (Tablo 1) ve beklenmedik koloniler gözlenmedi. Bu nedenle, M8AEC16 ve M12BEC16 fajlarından oluşan bakteriyofaj kokteylinin NA-EC43895'i inhibe

ettiği ve tespit limiti altındaki bakteri sayısını azalttığı, ancak tamamen ortadan kaldırılmadığı görüldü. Buna ek olarak, 7 günlük inkübasyon süresince yeniden çoğalma gözlenmedi (Tablo 1).

Tablo 1. Belirli sürelerde yapılan NA-EC43895 sayımları.

Zaman (Time)	Bakteri sayımları (log kob/g) Bacterial count (log cfu/g)		IMS IMS based technique	Lateks Aglütinasyon Latex agglutination
	Kontrol Grubu Control group	Faj Grubu Phage group		
	0. dakika	2,84		
30. dakika	2,84	-	+	+
1. saat	2,84	-	+	+
3. saat	2,84	-	+	+
6. saat	2,47	-	+	+
12. saat	2,30	-	+	+
1. gün	2,36	-	+	+
2. gün	2,36	-	+	+
3. gün	2,17	-	+	+
4. gün	1,90	-	+	+
5. gün	1,90	-	+	+
6. gün	1,90	-	+	+
7. gün	1,00	-	+	+

-: Tespit edilmedi (tespit limiti: 1 log kob / g). Otuz dakikalık depolamanın ardından ortamda bakteri bulunmadığından P grubundaki reduksiyonların anlamlı olup olmadığı istatistiksel olarak tespit edilememiştir.

Bu çalışmada, daha önceki bir çalışmada izole edilen ve birçok Shiga toksijenik ve Shiga olmayan toksijenik *E. coli* O157:H7 suşlarında spesifik litik etkiye sahip olduğu tespit edilen M8AEC16 ve M12BEC16 fajlarından oluşan bir kokteyl kullanıldı. Faj terapi çalışmalarında birden fazla faj kullanımının faj direncini engellediği veya geciktirdiği belirtilmekle birlikte (Chan ve ark., 2013; Gencay ve ark., 2016; Tanji ve ark., 2004), biyokontrol çalışmalarında çoklu faj kullanımını geniş bir konakçı spektrumu sağlamak için özellikle tercih edilmektedir (Kazi ve Annapure 2016).

Pastırma kurutulmuş bir et ürünüdür (Turkish Food Codex Legislation, 2000). Pastırmanın kür işleminde kullanılan tuz, nitrit, nitrat, baharat ve diğer katkı maddeleri ürüne bir lezzet ve aroma vermektedir. Özellikle yüksek tuz konsantrasyonu pastırmanın çok düşük bir su aktivitesine sahip olmasına neden olmakta, bu da mikroorganizmaların üremesini önlemektedir (Arslan, 2013). Çalışmada, kontrol grubundaki bakteri sayısı 24°C'de 7 gün inkübasyon sırasında artmamış, üstelik aynı grupta 4. günde yaklaşık 1 log kob/g düşüş gözlemlenmiştir. Böylece, pastırmanın özelliklerinden ötürü *E. coli* O157:H7 gelişmesini desteklemediği ve mevcut kontaminasyon seviyesinde de bir azalma sağlamadığı görülmektedir. Pastırmanın *E. coli* O157:H7 üremesini desteklemediği Türkiye'de yapılan başka çalışmalarda da bildirilmiştir (Balpetek ve Gürbüz, 2010; Büyükcinal ve ark., 2016). Öte yandan faj uygulanan grupta bakteri sayısı ilk 30 dakikada 2,84 log kob/g'dan saptanamayan seviyeye düşmüştür.

Birçok gıdada çeşitli patojenlerin biyolojik kontrolünde fajlar uygulanmaktadır. *E. coli* O157:H7 biyokontrol için gıda modelleri arasında çiğ et (Hudson ve ark., 2013; O'Flynn ve ark., 2004), domates, ıspanak, brokoli, kıyım (Abuladze ve ark., 2008), marul, kavun (Sharma ve ark., 2009) ve çiğ köfte (Gencay ve ark., 2016) gibi yiyecekler sayılabilir. Ancak pastırmada yapılmış faj çalışmasına rastlanmamıştır. Sığırların *E. coli* O157:H7 (Erol, 2007)'nin rezervuarı olduğu ve pastırmanın herhangi bir ısıl işlem olmadan tüketildiği göz önüne alındığında, fajların kullanımı *E. coli* O157:H7'nin ham maddeden veya pastırma üretimi sırasında kontaminasyonunu önlemek adına kullanılması mümkün gözükmemektedir.

Sığır eti üzerine yapılan çalışmalardan birinde, Hudson ve ark. (Hudson ve ark., 2013) *E. coli* O157:H7 ile kontamine olmuş ince dilimlenmiş ete çeşitli faj konsantrasyonları uygulamış ve en iyi sonucun en yüksek MOI'de elde edildiğini belirtmiştir. 4,5 log pob/kob MOI'de bakteri sayısının tespit limitinin altına 1 saatte düştüğü ve çalışmamıza benzer şekilde tekrar üremediği belirtilmiştir. O'Flynn ve ark. (O'Flynn ve ark., 2004) MOI 10⁶ pob/kob seviyesinde üç faj içeren bir kokteyli 2 x 10³ kob/ml *E. coli* O157:H7 ile kontamine edilmiş çiğ biftek etlerine uygulamışlardır. Bir saat boyunca 37°C'de inkübasyondan sonra, araştırmacılar örnekleri 2 saat boyunca bir sıvı ortam içinde zenginleştirmiş ve 9 örnekten 7'sinde bakteri sayısının tespit limitinin (10 kob/ml) altında kaldığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, faj kokteylinin 2,84 log kob / g *E. coli* O157:H7 içeren pastırma örneklerinde bakteri sayısını azalttığı ve patojeni tespit sınırının altında bıraktığı (<10 kob / g) tespit edildi.

Bu bilgiler ışığında, M8AEC16 ve M12BEC16'dan oluşan bakteriyofaj kokteylinin pastırmada *E. coli* O157:H7'nin biyokontrolü için etkili bir şekilde kullanılabilceği sonucuna varılabilir. Bu bağlamda, gıda endüstrisinde kullanılabilcek bir faj kokteyli elde etmek için, gelecekte farklı MOI seviyelerini kapsayan çalışmalar, in-vivo akut toksisite testleri ve karakterizasyon çalışmalarının yapılmasına ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK), 2209 /A Üniversite Öğrencileri Yurt İçi Araştırma Projeleri Destek Programı (Proje No. 1919B011603089) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abuladze T, Li M, Menetrez MY, Dean T, Senecal A, Sulakvelidze A. 2008. Bacteriophages reduce experimental contamination of hard surfaces, tomato, spinach, broccoli, and ground beef by *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, 74, 6230-6238.
- Aksu H, Özgen Arun Ö, Aydın A, Uğur M. 1999. *Escherichia coli* O157:H7'nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg*, 30, 77-81.
- Anany H, Chen W, Pelton R, Griffiths MW. 2011. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in meat by using phages immobilized on modified cellulose membranes. *Appl Environ Microbiol*, 77, 6379-6387.
- Arslan A. 2013. Et muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi. Medipres, Malatya.
- Ayaz ND, Cufaoglu G, Ormeci E, Oz B. 2016. Presence of *Staphylococcus aureus* and Shiga toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Raw Meat in Ağrı, Turkey. *Int J Enteric Pathog*, 4, e36523.
- Ayaz ND, Gencay YE, Erol I. 2014. Prevalence and molecular characterization of sorbitol fermenting and non-fermenting *Escherichia coli* O157: H7+/H7–isolated from cattle at slaughterhouse and slaughterhouse wastewater. *Int J Food Microbiol*, 174, 31-38.
- Balpetek D, Gürbüz Ü. 2010. Investigations on the presence of *E. coli* O157: H7 in some meat products. *Eurasian J Vet Sci*, 26, 25-31.
- Bruttin A, Brüssow H. 2005. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 49, 2874-2878.

- Brüssow H, Kutter E. 2005. Phage ecology. 129-163. In: E Kutter, A Sulakvelidze (Eds), Bacteriophages: biology and applications. CRC Press, Washington DC.
- Brüssow H, Kutter E (2005): Phage ecology. 129-163. In: E Kutter, A Sulakvelidze (Eds), Bacteriophages: biology and applications. CRC Press, Washington DC.
- Büyükcünal SK, Şakar FŞ, Turhan I, Erginbaş Ç, Sandıkçı Altunatmaz S, Yılmaz Aksu F, Yılmaz Eker F, Kahraman T. 2016. Presence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 and Nitrate-Nitrite Residue Levels in Turkish Traditional Fermented Meat Products (Sucuk and Pastirma). Kafkas Univ Vet Fak Derg, 22, 233-236.
- Chan BK, Abedon ST, Loc-Carrillo C. 2013. Phage cocktails and the future of phage therapy. Future Microbiol, 8, 769-783.
- Erol İ. 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık, Ankara.
- Erol I, Goncuoglu M, Ayaz ND, Ormanci FSB. 2016. Comparison of prevalence and genetic diversity of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle and sheep. J Microbiol Biotechnol Food Sci, 6, 808-812.
- Gencay YE, Ayaz ND, Copuroglu G, Erol I. 2016. Biocontrol of Shiga Toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in Turkish Raw Meatball by Bacteriophage. J Food Saf, 36, 120-131.
- Guenther S, Huwyler D, Richard S, Loessner MJ. 2009. Virulent bacteriophage for efficient biocontrol of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Appl Environ Microbiol, 75, 93-100.
- Hudson JA, Billington C, Cornelius AJ, Wilson T, On SLW, Premaratne A, King NJ. 2013. Use of a bacteriophage to inactivate *Escherichia coli* O157: H7 on beef. Food Microbiol, 36, 14-21.
- Kazi M, Annapure US. 2016. Bacteriophage biocontrol of foodborne pathogens. J Food Sci Technol, 53, 1355-1362.
- Kudva IT, Jelacic S, Tarr PI, Youderian P, Hovde CJ. 1999. Biocontrol of *Escherichia coli* O157 with O157-specific bacteriophages. Appl Environ Microbiol, 65, 3767-3773.
- Leverentz B, Conway WS, Camp MJ, Janisiewicz WJ, Abuladze T, Yang M, Saftner R, Sulakvelidze A. 2003. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. Appl Environ Microbiol, 69, 4519-4526.
- Meng J, Doyle M, Zhao T, et al. 2001. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. 193-213. In: MP Doyle, LR Beuchat, TJ Montville (Eds), Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. ASM press, Washington DC.

- O'Flaherty S, Ross RP, Coffey A. 2009. Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 33, 801-819.
- O'Flynn G, Ross RP, Fitzgerald GF, Coffey A. 2004. Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*, 70, 3417-3424.
- Rozema EA, Stephens TP, Bach SJ, Okine EK, Johnson RP, Stanford KIM, McAllister TA. 2009. Oral and rectal administration of bacteriophages for control of *Escherichia coli* O157:H7 in feedlot cattle. *J Food Prot*, 72, 241-250.
- Schmidt H, Beutin L, Karch H. 1995. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157: H7 strain EDL 933. *Infect immun*, 63, 1055-1061.
- Sharma M, Patel JR, Conway WS, Ferguson S, Sulakvelidze A. 2009. Effectiveness of bacteriophages in reducing *Escherichia coli* O157: H7 on fresh-cut cantaloupes and lettuce. *J Food Prot*, 72, 1481-1485.
- Tanji Y, Shimada T, Yoichi M, Miyanaga K, Hori K, Unno H. 2004. Toward rational control of *Escherichia coli* O157: H7 by a phage cocktail. *Appl Microbiol Tech*, 64, 270-274.
- Turkish Food Codex Legislation. 2000. Et Ürünleri Tebliği. Resmi Gazete, 23960.
- US Food and Administration. 2011. Inventory of effective food contact substance (FCS) notifications. FCN no. 1018. 2011.
- Viazis S, Akhtar M, Feirtag J, Diez-Gonzalez F. 2011. Reduction of *Escherichia coli* O157: H7 viability on leafy green vegetables by treatment with a bacteriophage mixture and trans-cinnamaldehyde. *Food Microbiol*, 28,149-157.
- Viscardi M, Perugini AG, Auriemma C, Capuano F, Morabito S, Kim KP, Loessner MJ, Iovane G. 2008. Isolation and characterisation of two novel coliphages with high potential to control antibiotic-resistant pathogenic *Escherichia coli* (EHEC and EPEC). *Int J Antimicrob Agents*, 31, 152-157.

Investigation of the Presence of Virulence and Enterotoxin Genes in Buttercream Originated *Staphylococcus aureus* Strains

Tülay ELAL MUŞ^{1*}, Figen ÇETİNKAYA²

^{1*}Bursa Uludag University, Vocational School of Keles, Department of Food Processing,
16370, Keles/Bursa, Turkey

²Bursa Uludag University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and
Technology, 16240, Nilüfer/ Bursa, Turkey

*tulay_elal@yahoo.com

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is one of the most prevalent intoxication agents in foods. Therefore the present research focused to determine the incidence of *S. aureus* in buttercream samples and the presence of some enterotoxin and virulence genes in the isolates and also to reveal possible public health risks. For this purpose, unpackaged 75 buttercream (raw and pasteurized) samples were purchased by 250 g portions. *S. aureus* was found in 8% (6 strains) of the samples and five strains were positive for coagulase enzyme activity. Quantity in the samples of *S.aureus* was between 2.30 and 3.00 log cfu/ml. All six isolates were subjected to DNA isolation for further PCR analyses. Four coagulase positive strains were confirmed as *S. aureus* after PCR reaction with specific primers. None of the isolates harboured virulence trait genes staphylococcal toxic shock syndrome toxin (*tss*), Panton-Valentine leukocidin (*pvl*), exfoliative toxins (*eta* and *etb*) and staphylococcal enterotoxin genes A (*sea*), B (*seb*), C (*sec*), D (*sed*), E (*see*). *MecA* gene responsible for methicillin resistance was also investigated in this study and not detected in any of six strains. The results of our study showed coagulase positive *S. aureus* contamination in buttercream samples collected from local bazaar from different times. On the other hand, investigated strains positively have no virulence, methicillin resistance and enterotoxin genes responsible for staphylococcal intoxication. As a result, *S. aureus*

contamination in buttercream is still risk for public health and needs more consideration to hygiene in production, processing line and preservation. Processing of foods is remarkably efficient at killing bacteria when it was done properly so buttercream processing line should be revised to achieve that pathogens are not allowed to survive in contaminated samples by their manufacturers.

Keywords: Buttercream, enterotoxin, pathogenicity, *Staphylococcus aureus*, virulence

Krema Kaynaklı *Staphylococcus aureus* Suşlarında Virulens ve Enterotoksin Genlerinin Varlığının Araştırılması

Tülay ELAL MUŞ^{1*}, Figen ÇETİNKAYA²

^{1*}Bursa Uludağ Üniversitesi, Keles Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, 16370,

Keles/Bursa, Türkiye

²Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, 16240,

Nilüfer/ Bursa, Türkiye

*tulay_elal@yahoo.com

ÖZET

Staphylococcus aureus gıdalarda bulunan en yaygın intoksikasyon etkenlerinden biridir. Bu sebeple mevcut araştırma krema örneklerinde *S. aureus*'un görülme sıklığını ve izolatlarda bazı enterotoksin ve virulens genleri varlığını belirleyerek muhtemel halk sağlığı risklerini ortaya koymaya odaklanmıştır. Bu amaçla açıkta satılan 75 krema (çiğ ve pastörize) örneği 250 g porsiyonlarda satın alındı. Örneklerin %8'inde (6 suş) *S. aureus* bulundu ve suşların beşinde koagülaz enzim aktivitesi pozitif. Örneklerde *S. aureus* düzeyi 2.30 kob/g ile 3.00 kob/g arasındaydı. Altı izolatin tümü ileride yapılacak PZR analizi için DNA izolasyonuna tabi tutuldu. Dört koagülaz pozitif suş *S. aureus*'a özgü primerlerle PZR reaksiyonu sonucu doğrulandı. İzolatların hiçbiri stafilokokal toksik şok sendrom (*tss*), Panton-Valentine leukosidin (*pvl*), eksfoliatif toksin (*eta* ve *etb*) gibi virülens özellik genlerini ve stafilokokal enterotoksin genlerini A (*sea*), B (*seb*), C (*sec*), D (*sed*), E (*see*) taşımamaktaydı. Bu çalışmada aynı zamanda metisilin direncinden sorumlu *mecA* geninin varlığı da araştırıldı ve altı izolatta da bulunmadı. Çalışmamızın sonuçları farklı zamanlarda yerel pazarlardan temin edilen krema örneklerinde, koagülaz pozitif *S. aureus* kontaminasyonunu gösterdi. Diğer taraftan araştırılan suşlarda virulens, metisilin direnç ve stafilokokal intoksikasyondan sorumlu enterotoksin genleri belirlenmedi. Sonuç olarak; kremada *S. aureus* kontaminasyonunun halk sağlığı riski

teşkil ettiği ve üretim, işlem hattı ve muhafazada hijyene daha fazla dikkat edilmesi gerektiği ortaya kondu. Gıdaların işlenmesi, uygun şekilde yapıldığında, bakterilerin öldürülmesinde dikkate değer derecede etkilidir. Bundan dolayı üreticiler tarafından üretim hattının, kontamine örneklerde patojenlerin hayatta kalmasını önleyecek şekilde, gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Enterotoksin, krema, patojenite, *Staphylococcus aureus*, virulens

INTRODUCTION

Staphylococcus aureus is one of the major causative agents of food poisoning in the world. If foods are contaminated with enterotoxin-producing *S. aureus* strains, it can lead foodborne intoxications along with abdominal cramps, nausea, emesis and diarrhea symptoms (Dittmann et al., 2017). Incubation period of the staphylococcal intoxication is 2 to 6 hours after digesting contaminated food and clinical symptoms are self-limiting. For this reason, just 10% of the patients suffering from staphylococcal food poisoning visit a hospital (Johler et al., 2015). Approximately 50% of *S. aureus* strains isolated in foods can produce staphylococcal enterotoxins (SE). SEA, SEB, SEC, SED and SEE are responsible for the 95% of staphylococcal intoxications. Newly described SEG, SEI, SEIJ, SEIQ, SER-SET and SEIU-SEIV are in charge of remaining 5% staphylococcal intoxications. These toxins are thermostable and resistant to gastrointestinal proteases such as pepsin and tripsin (Ahmed et al., 2019). *S. aureus* produce many other toxins related to virulence of the strains. Pyrogenic superantigen family member toxic shock syndrome toxin (tsst) causes toxic shock syndrome. Also staphylococcal scalded skin syndrome is caused by exfoliative toxins (*eta* and *etb*) and it typically effects juveniles and infants. The cytotoxin Pantone-Valentine leukocidin lead to necrotic lesions in the mucosa and/or skin (Puah et al., 2016).

Antibiotic resistance especially methicillin resistance was known in *S. aureus* strains. Last decade methicillin resistant *S.aureus* (MRSA) strains were isolated from foods and food animals. A great deal of food isolates of MRSA carry genes encoding for staphylococcal enterotoxin production (Sergelidis and Angelidis, 2017). World Health Organization (WHO) added MRSA to antibiotic resistant high-priority pathogens lists recently. Humans and animals are regarded as natural reservoirs of MRSA and also MRSA transmission can occur via digestion of contaminated foods. The testing and monitoring of MRSA in foods of animal origin and ready-to-eat foods should be focused (Islam et al., 2019).

The aim of this study was to determine the presence and incidence of *S. aureus* in buttercream samples and to investigate the pathogenic potential of the strains via the detection of some enterotoxin, virulence and methicillin resistance genes. So that we attract attention to buttercream originated possible intoxication and other public health risks.

MATERIALS and METHODS

Sample collection

Totally 75 buttercream (50 raw and 25 pasteurized) samples were collected from May 2016 to May 2019. The samples were purchased by 250 g portions from several markets, delicatessens and open bazaars at Keles, Harmançık, Büyükorhan and Orhanlı districts in Bursa city of Turkey. The samples were immediately transported to the laboratory under refrigerated conditions and *S. aureus* isolation was performed within the same day.

Staphylococcus aureus isolation

Buttercream samples (10 g) were diluted with 90 ml Maximum Recovery Diluent (Scharlau, Spain), homogenized in a stomacher (InterLab, UK) and seeded onto Baird Parker Agar (Becton Dickinson, US) supplemented with egg yolk tellurite emulsion (Merck, US). Following the incubation aerobically at 35°C for 48 hours, black colonies with clear zone were subjected to Gram staining and catalase test. Coagulase test (Merck, US) was performed to all catalase and Gram positive typical shaped isolates. *S. aureus* strains were preserved in Brain Heart Infusion Broth (Merck, US) and kept in -20°C for further analyses.

DNA extraction and PCR detection

DNA extraction from the strains was practised by using Chelex 100 resin (Sigma Aldrich, USA). Reaction mixture volume was 25 µl which consisted of 1 µl of template DNA, 1.25 U Hot Start Taq DNA polymerase (Bioron, Germany), 1.8 mM MgCl₂ (Fermentas, USA), 22 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 8.9, 200 µM dNTPs (Biolabs, UK) and 0.5 mM of each primer (Oligomer, Turkey). PCR reaction was performed in a ThermoCycler (Bio-Rad, T100). *S. aureus* strains were confirmed by the detection of SA gene (Martineau et al., 1998). Primer sets related to enterotoxin and virulence genes used in this study are listed in Table 1. PCR amplification steps for each cycle were carried out according to the related references in the Table 1. Then the PCR products were electrophoresed on a 3% agarose gel and visualised by ethidium bromide staining.

Table 1. Primers used for the confirmation of *S. aureus* and the determination of virulence-associated enterotoxin/methicillin resistance genes.

Primers	Product size (bp)	Oligonucleotid sequence (5'-3')	References
SA	108	AAT CTT TGT CGG TAC ACG ATA TTC TTC ACG CGT AAT GAG ATT TCA GTA GAT AAT ACA ACA	Martineau et al., 1998
<i>pvl</i>	433	ATC ATT AGG TAA AAT GTC TGG ACA TGA TCC A GCA TCA AGT GTA TTG GAT AGC AAA AGC	Lina, et al., 1999
<i>tss</i>	326	ACC CCT GTT CCC TTA TCA TC TTT TCA GTA TTT GTA ACG CC	
<i>eta</i>	93	GCA GGT GTT GAT TTA GCA TT AGA TGT CCC TAT TTT TGC TG	Mehrotra et al., 2000
<i>etb</i>	226	ACA AGC AAA AGA ATA CAG CG GTT TTT GGC TGC TTC TCT TG	
<i>sea</i>	102	GGT TAT CAA TGT GCG GGT GG CGG CAC TTT TTT CTC TTC GG	
<i>seb</i>	164	GTA TGG TGG TGT AAC TGA GC CCA AAT AGT GAC GAG TTA GC	
<i>sec</i>	451	AGA TGA AGT AGT TGA TGT GTA TGG CAC ACT TTT AGA ATC AAC CG	Mehrotra et al., 2000
<i>sed</i>	178	CCA ATA ATA GGA GAA AAT AAA AG ATT GGT ATT TTT TTT CGT TC	
<i>see</i>	209	AGG TTT TTT CAC AGG TCA TCC CTT TTT TTT CTT CGG TCA ATC	
<i>mecA</i>	519	TGT CCG TAA CCT GAA TCA GC GAC AAA CTC CCA CCT ATC GC	Tsuchizaki et al., 2000

RESULTS and DISCUSSION

In the present study, *S. aureus* was isolated in 8% (6 strains) of 75 analysed buttercream samples and five of them were positive for coagulase enzyme activity. Five of the isolated strains were recovered from raw samples and only one was isolated from pasteurized buttercream purchased from local bazaars sold by weigh in 20 kg tin package. Pasteurized milk products can harbour *S. aureus* with various ways such as insufficient pasteurization or recontamination via environments of manufacturing plants and/or food handlers. Thus, the presence of *S. aureus* in

raw and pasteurized milk/dairy products is possible (Mohammadi and Hanifian, 2015). *S. aureus* contamination levels in the samples, with a mean of 2.63 log cfu/ml, were found 3.00 log cfu/ml, 2.85 log cfu/ml, 2.30 log cfu/ml, 2.30 log cfu/ml (pasteurized sample), 3.04 log cfu/ml and 2.30 log cfu/ml. Tomar and Akarca (2018) studied *S. aureus* in Afyon kaymak samples and detected it minimum 1.76 log cfu/g, maximum 6.56 log cfu/g and mean 4.24 log cfu/g in samples from family or small plants. They also determined *S. aureus* in the samples collected from industrial plants at the counts of minimum 0 log cfu/g, maximum 4.35 log cfu/g and mean 2.24 log cfu/g.

S. aureus strains were subjected to PCR confirmation by using specific primers for *S. aureus* (Martineau et al., 1998) and four of coagulase positive strains were confirmed. Pasteurized buttercream isolate was among strains of the PCR confirmed. In the present study none of the isolates harboured virulence trait genes staphylococcal toxic shock syndrome toxin (*tss*), Panton-Valentine leukocidin (*pvl*), exfoliative toxins (*eta* and *etb*) and staphylococcal enterotoxin genes A (*sea*), B (*seb*), C (*sec*), D (*sed*), E (*see*) according to the results of classical PCR. In Tunisia, a recent study showed the presence of *sea*, *seb*, *sec*, *see*, *sel*, *sej* and *tst* (shock syndrome toxin) genes in milk and dairy (including butter) isolates of *S. aureus* (Gharsa et al., 2019). Similar results were also reported in Algeria as the determination of *sea*, *seb*, *see*, *seh* and *sep* genes in milk and dairy products (Titouche et al., 2019). Another study performed by Dan et al. (2019) in milk samples showed the absence of virulence trait genes *eta*, *etb*, *pvl* and the presence of *tst* gene.

Additionally the presence of *mecA* gene responsible for methicillin resistance was studied and none of the strains had *mecA* gene. MRSA is emerging threat to the health of the public involved in hospital, livestock and community acquired infections. MRSA is an important pathogen around the world because of the fact that it may include the human food chain and contaminate milk and dairy products causing foodborne diseases (Basanisi et al., 2017). Contrary to our results the occurrence of *mecA* gene in milk and dairy products was reported in several studies (Jamali et al., 2015; Basanisi et al., 2017; Ektik et al., 2018; Titouche et al., 2019; Dan et al., 2019).

Breeding of dairy cows is prevalent at Harmancık, Büyükorhan and Orhaneli districts in Bursa city. Thus sale and consumption of buttercream is very common and people generally use

buttercream instead of butter or they make their butter from it themselves. The results of our research demonstrated coagulase positive *S. aureus* contamination in buttercream samples collected at different times. Improper or insufficient storage of buttercream may increase the risk of *S. aureus* intoxication for public health. Fortunately, none of the isolated strains harboured a pathogenicity determinant. As a result, use of good quality milk and much attention to hygiene in the production, processing line, preservation and maintenance of the cold chain at the transport is necessary for buttercream industry. Processing of foods is remarkably efficient at killing bacteria when it was done properly, so buttercream processing line should be revised to achieve that pathogens are not allowed to survive in contaminated samples by their manufacturers.

REFERENCES

- Ahmed AAH, Maharik NMS, Valero A, Kamal SM. 2019. Incidence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk and Egyptian artisanal dairy products. Food Control, 104, 20-27. DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.04.017
- Basanisi MG, La Bella G, Nobili G, Franconieri I, La Salandra G. 2017. Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in South Italy. Food Microbiology, 62: 141-146. DOI:10.1016/j.fm.2016.10.020
- Dan M, Yehui W, Qingling M, Jun Q, Xingxing Z, Shuai M, Kuojun C, Jinsheng Z, Zibing C, Zaichao Z, Xuepeng C. 2019. Antimicrobial resistance, virulence gene profile and molecular typing of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows in Xinjiang Province, northwest China. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 16: 98-104. DOI:10.1016/j.jgar.2018.08.024.
- Dittmann KK, Chaul LT, Lee SHI, Corassin CH, Fernandes de Oliveira CA, Pereira De Martinis EC, Alves VF, Gram L, Oxaran V. 2017. *Staphylococcus aureus* in Some Brazilian Dairy Industries: Changes of Contamination and Diversity. Frontiers in Microbiology, 8: 2049. DOI:10.3389/fmicb.2017.02049
- Ektik N, Gökmen M, Çıbık R. 2017. The prevalence and antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in milk and dairy products in Balıkesir, Turkey. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 68 (4): 613-620. DOI:10.12681/jhvms.16062

- Gharsa H, Chairat S, Chaouachi M, Yahia HB, Boudabous A, Slama KB. 2019. High diversity of genetic lineages and virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy products in Tunisia. *Annals of Microbiology*, 69: 73. DOI:10.1007/s13213-018-1417-0
- Islam MA, Parveen S, Rahman M, Huq M, Nabi A, Khan ZUM, Ahmed N, Wagenaar JA. 2019. Occurrence and characterization of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in processed raw foods and ready-to-eat foods in an urban setting of a developing country. *Frontiers in Microbiology*, 10: 503. DOI:10.3389/fmicb.2019.00503
- Jamali H, Paydar M, Radmehr B, Ismail S, Dadrasnia A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. 2015. *Food Control*, 54: 383-388. DOI:10.1016/j.foodcont.2015.02.013.
- Johler S, Weder D, Bridy C, Huguenin MC, Robert L, Hummerjohann J, Stephan R. 2015. Outbreak of staphylococcal food poisoning among children and staff at a Swiss boarding school due to soft cheese made from raw milk. *Journal of Dairy Science*, 98 (5): 2944-2948. DOI: 10.3168/jds.2014-9123.
- Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J. 1999. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clinical Infectious Diseases*, 29: 1128-32. DOI: [10.1086/313461](https://doi.org/10.1086/313461)
- Martineau F, Pickard FJ, Roy PH, Oulette M, Bergeron MG. 1998. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (3): 618-623. PMID:9508283
- Mehrotra M, Wang G, Johnson WM. 2000. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 1032-5. PMID:10698991
- Mohammadi K, Hanifian S. 2015. Growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* in Iranian ultra-filtered white cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 68 (1): 111-117. DOI:[10.1111/1471-0307.12158](https://doi.org/10.1111/1471-0307.12158)
- Puah SM, Chua KH, Tan JAMA. 2016. Virulence factors and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates in ready-to-eat foods: Detection of *S. aureus* contamination and a high prevalence of virulence genes. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13 (2): 199. DOI:[10.3390/ijerph13020199](https://doi.org/10.3390/ijerph13020199)

- Sergelidis D, Angelidis AS. 2017. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Letters in Applied Microbiology*, 64: 409-418. DOI:10.1111/lam.12735
- Tomar O, Akarca G. 2018. Afyonkarahisar’da satıŖa sunulan kaymakların mikrobiyolojik özellikleri. *European Journal of Science and Technology*, 14: 102-109. DOI:10.31590/ejosat.478064
- Titouche Y, Hakem A, Houali K, Meheut T, Vingadassalon N, Ruiz-Ripa L, Salmi D, Chergui A, Chenouf N, Hennekinne JA, Torres C, Auvray F. 2019. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST8 in raw milk and traditional dairy products in the Tizi Ouzou area of Algeria. *Journal of Dairy Science*, 102 (8): 6876-6884. DOI: 10.3168/jds.2018-16208.
- Tsuchizaki N, Ishikawa J, Hotta K. 2000. Colony for PCR for rapid detection of antibiotic resistance genes in MRSA and enterococci. *The Japanese Journal of Antibiotics*, 53 (6): 422-9. PMID:10955238

Farklı Coğrafi Bölgelerden Toplanan Polenlerde *Clostridium botulinum*

Varlığının Real-Time PCR ile Belirlenmesi

Ali GÜCÜKOĞLU¹, Erdem SAKA², Tolga UYANIK¹, Sibel KANAT^{1*}, Özgür ÇADIRCI¹,

Rahşan AKPINAR²

^{1*} Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Abd,

Kurupelit/ Samsun-TURKEY

²Veteriner Kontrol Enstitüsü, Samsun, Turkey

*sibel.kanat@omu.edu.tr

ÖZET

Ülkemizde arıcılık sektörünün gün geçtikçe geliştiği ve buna bağlı olarak arıcılık ürünlerinin çeşitliliğinde artış olduğu gözlenmektedir. Bu çeşitlilik içerisinde ön plana çıkan ürünlerinin başında polen gelmektedir. Polen, arıların büyüüp gelişmelerini tamamlayabilmeleri ve salgı bezlerinin gelişmesi için gerekli olan başlıca protein kaynağıdır. Polen taneleri ortalama %30.8 karbonhidrat, %22.7 protein, %5.1 lipit, %1.6 makroelement, %0.02 iz element içeriği ile değerli bir besin kaynağı olarak ön plana çıkmaktadır. İnsan organizması için gerekli olan tüm temel aminoasitleri içeren polen taneleri aynı zamanda linoleik ve linolenik asit açısından oldukça zengindir. Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilen polen örneklerinde *Clostridium botulinum* varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Karadeniz (n:44), akdeniz (n:28), iç anadolu (n:24), ege (n:14) ve doğu anadolu bölgelerinden (n:10) toplanan toplam 120 adet polen örneği materyal olarak kullanılmıştır. Etken izolasyonunda FDA tarafından belirlenen konvansiyonel yöntem, identifikasyonda ise konvansiyonel yöntem ve Real Time PCR tekniği birlikte kullanılmıştır. Sonuç olarak, analiz edilen örneklerden yalnızca 1'inde (120/1-%0.83) (karadeniz bölgesinden temin edilen) *C. botulinum* etkeni saptanmıştır. Dünyada arıcılık ürünü kaynaklı botulismusa neden olan vaka sayısı ülkeler bazında farklı oranlarda bildirilmektedir ancak ülkemizde böyle bir durum henüz resmi olarak rapor

edilmemiştir. Bununla beraber yapılan bu çalışma ülkemizde polen kaynaklı *C. botulinum* etkeninin araştırıldığı ilk çalışma niteliğindedir.

Anahtar kelimeler: *Clostridium botulinum*, Polen, Real-Time PCR

Determination of *Clostridium botulinum* in Pollens Collected from Different Geographical Regions by Real-Time PCR

Ali GÜCÜKOĞLU¹, Erdem SAKA², Tolga UYANIK¹, Sibel KANAT^{1*}, Özgür ÇADIRCI¹,
Rahşan AKPINAR²

^{1*}Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine Department of Food Hygiene
and Technology, Kurupelit/ Samsun-TURKEY

²Veterinary Control Institute, Samsun, Turkey

[*sibel.kanat@omu.edu.tr](mailto:sibel.kanat@omu.edu.tr)

ABSTRACT

Recently, it has been observed that the beekeeping sector is developing day by day in Turkey and consequently there is an increase in the variety of beekeeping products. Pollen is one of the leading products of this diversity. Pollen is the main source of protein for bees to grow and development of their secretory glands. Pollen grains stand out as a valuable food source with an average content of 30.8% carbohydrate, 22.7% protein, 5.1% lipid, 1.6% macroelement and 0.02% trace element content. Pollen grains contains all the essential amino acids necessary for the human organism and also rich in linoleic and linolenic acid. In this study, it is aimed to determine the presence of *Clostridium botulinum* in pollen samples obtained from different regions of Turkey. A total of 120 pollen samples collected from Black Sea (n:44), Mediterranean (n:28), Central Anatolia (n:24), Aegean (n:14) and Eastern Anatolia regions (n:10) were used as materials. Conventional method determined by FDA was used for the isolation. Conventional method and Real Time PCR technique were used for identification. As a result, it was detected that only 1 sample (obtained from the Black Sea region) was positive for the presence of *C. botulinum* (120/1-0.83%). The number of cases that cause botulism due to beekeeping products is reported at different rates in countries around the world, but such a

situation has not been officially reported in Turkey yet. Furthermore, this study is the first investigation of the pollen-induced *C. botulinum* in our country.

Keywords: *Clostridium botulinum*, Pollen, Real-Time PCR

GİRİŞ

Dünya arıcılık verilerine bakıldığında yaklaşık 91 milyon adet arı kovanı bulunmakta ve üretilen bal miktarı 1.8 milyon ton olup, bal üretiminde 490 bin ton ile Çin ilk sırada, 105 bin tonluk üretimi ile Türkiye ikinci sırada yer almaktadır (Anon, 2019). Türkiye’de 2013 yılında 80 bin civarında olan arıcılık işletme sayısı, 2017 yılına gelindiğinde % 4.1 oranında artış göstererek 83 bine yükselmiştir (Anon, 2018). Dünyada arıcılık ürünleri içerisinde bal, bal mumu, arı sütü, arı zehri, polen ve propolis gibi ürünlerin önemli bir pazar haline gelmesine ve her geçen gün arıcılık sektörü ile ilgili toplumsal farkındalığın artmasına rağmen bu ürünlerle ilgili sağlıklı istatistiksel veriye rastlanılamamıştır.

Bal arılarında, koloninin gelişmesinde kuluçka faaliyeti önemli bir rol oynamaktadır. Larvaların gelişmelerini sağlayabilmesi için proteince çok zengin olan işçi arıların hypopharyngeal ve mandibular bezlerinden salgıladıkları bir salgıyla (royal jelly) beslenmeleri gerekmektedir. Genç işçi arılar bu salgıyı üretebilmek için bolca polen tüketmek zorundadır (Ramanathan ve ark., 2018). Polenler, tohum bitkilerinin anterinde 2,5-250 μm büyüklüğünde granül şeklinde olup, çift katmanlı bir hücre duvarı ile kaplıdır. Polen yüzeyinde arıların abdomenlerine yapışmasını kolaylaştıran çok sayıda gözenek ve balzam tabakası vardır. Arılar vücutlarına bulaşan bu polenleri düzenli hareketlerle bir araya getirir, tükürük bezi veya nektar salgıları ile karıştırırlar ve arka bacaklarının tibialarına yerleştirilmiş özel sepetlere (corbicula) yerleştirirerek kovana taşırlar (Li ve ark., 2018). Donadieu (1983), bir kovanda yılda 30-40 kg polen toplandığını bu polenlerin bir kısmının aynı mevsimde kullanılıp, diğer kısmının ise ertesi yıl kullanılmak üzere yavru büyütülmekte olan gözlerin etrafına depo edildiğini kaydetmiştir.

Botulismus; anaerob, spor oluşturma özelliğindeki *Clostridium botulinum*’un vejetatif formları tarafından oluşturulan neuro paralitik özellikli toksinlerin alınması sonucu oluşan, yüksek mortaliteye sahip bir intoksikasyondur (Oguma ve ark., 1990). *C. botulinum*; Gram (+), sporlu, hareketli, immunolojik yöntemlerle birbirinden ayrılabilen 8 ayrı toksin (A, B, C₁, C₂, D, E, F, G) oluşturma karakterinde olan anaerob bakteridir. İnsanlarda görülen botulismus olgularına A, B, E, F tipleri neden olmaktadır (Hatheway, 1995; Galazka ve Przybylska, 1998; Aureli ve ark., 1999; Brett, 1999; Kuusi ve ark., 1999; Therre, 1999; Varma ve ark., 2004). *C. botulinum* ile kontamine olan gıdalarda alınan toksinler ince bağırsaklarda emilir, kan dolaşımı yoluyla taşınır ve sonunda sinir sistemi tarafından absorbe edilirler. Toksinler başta periferel sinirler olmak

üzere spesifik olarak sinir sistemi üzerine etkili olmaktadır. *C. botulinum* varlığının ballarda bulunması üstünde en fazla durulan konulardan biri olup, literatürlerde infant botulismusuna neden olan temel gıda bal olarak bildirilmektedir (Midura, 1996). İnfant botulismusda etkenin minimal infeksiyon dozunun 10-100 spor arasında olduğu belirtilmiş olup, bal örneklerinde *C. botulinum* prevelansı üzerine yapılan çalışmalarda etkenin balda bulunma oranı % 2-26 arasında saptanmıştır (Austin, 2016). Bununla birlikte polen örneklerinde *C. botulinum* varlığı ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya ulaşılmış olup, Nevas ve ark. (2006), araştırmalarında 61 polen örneğinin 4'ünde (%7) etkeni tespit ettiklerini bildirmişler, araştırmacılar izolatların 1 tanesinin tip E, 3'ünün ise tip B toksin oluşturma kabiliyetinde olduğunu saptamışlardır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilen polen örneklerinde *C. botulinum* varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Karadeniz (n:44), Akdeniz (n:28), İç Anadolu (n:24), ege (n:14) ve Doğu Anadolu bölgelerinden (n:10) toplanan toplam 120 adet polen örneği materyal olarak kullanılmıştır. Analiz edilecek olan polenlerden homojen örnekleme yapılmış olup 10 g polen örneği 90 ml %1'lik tween 80 (Merck, 822187) içerisinde homojenize edildikten sonra 65 °C'lik su banyosunda 30 dk süreyle olası etkenin spor formundan vejetatif forma geçmesi için beklenmiştir. Süre sonunda örnekler 30 dakika süresince 9000 g'de (Nüve NF 800R, Turkey) santrifüj edilmiş ve süpernatant 0.45 µm'lik (47 mm- Sartorius, 11406) filtreden geçirilmiştir. Daha sonra mevcut filtreler 9 ml'lik TPGY mediuma [Tryptose-peptone-glucose-yeast extract (Special Peptone, Oxoid LP72; Peptone Bacteriological Neutralized, Oxoid L34; D(+) Glucose, Anhydrous Merck 346351; Yeast Extract, Oxoid LP21; Sodium Thioglycolate, Merck 106691; pH: 7.2±0.2)] eklenmiştir. TPGY mediumdaki örnekler anaerobik koşullarda 7-10 gün süreyle 26-28 °C'de inkubasyona bırakılmış ve 5. günden itibaren tüpler bulanıklık ve gaz oluşumu yönünden gözden geçirilmiştir. İnkubasyon süresinin sonunda gaz oluşumu ve bulanıklık yönünden şüpheli bulunan tüplerden bir öze dolusu alınarak AEA agar'a [Anaerobic Egg Yolk Agar: (Yeast Extract, Oxoid LP21; Tryptone, Oxoid LP42; Proteose Peptone ,Oxoid LP72; Agar Bacteriological, Oxoid LP11; Sodium Chloride, Merck 567440; Egg Yolk Emulsion Oxoid SR47; pH: 7.0±0.2)-Gas Generating Kit (Oxoid, BR38)] geçilmiş ve 35 °C'de 48 saat sürede anaerobik koşullarda inkubasyona bırakılmıştır. Katı besi yerinde tipik koloni varlığı (proteolitik aktiviteye bağlı koloni etrafındaki zon oluşumu tipik kabul edilmiştir) değerlendirilerek şüpheli kolonilere gram boyama yapılmıştır. Mevcut şüpheli koloniler TPGY mediumda subkültüre edilerek benzer şekilde anaerobik koşullarda 3-5 gün

süreyile 26-28 °C'de inkubasyona bırakılmıştır. Daha sonra şüpheli kolonilerden DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon aşamasında TPGY mediuma alınan izolatlar 35 °C'de 24 saat bekletildikten sonra vortekslenerek steril ependorflara 1.5 ml alınmıştır. Ependorf tüpleri 14.000 g'de 2 dk süreyle santrifüj edildikten sonra süpernatant atılarak bakteri peleti 1.0 ml PBS (pH 7.4) ile yıkayıp tekrar 14.000 g'de 2 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Resüspense edilen pelete 400 µl PBS ve 100 ml volümde lizozim (10 mg /ml) ve TE buffer (10mM Tris + 1 mM EDTA, pH 7.4) eklenerek 37 °C'lik su banyosunda 15 dk bekletilmiştir. İnkubasyon sonunda tüplere 10 µl Proteinase K (10 mg Proteinase K/ml TE buffer) ilave edildikten sonra su banyosunda 60 °C'de 1 saat inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrasında 10-15 dk süreyle su banyosunun dışına alınan tüpler tekrar 10 dk süreyle kaynayan su banyosunda bekletilmiş ve süre sonunda 14.000 g'de 2 dk santrifüjü gerçekleştirilmiştir. Santrifüj aşamasından sonra süpernatant kısmından 50 µl alınarak 1 ml Sodyum asetat (3M) ve 1 ml etanol (% 95) ile karıştırılmıştır. Daha sonra karışım -70 °C'de 30 dakika süreyle bekletilmiş ve süre sonunda ekstraksiyon aşaması tamamlanarak PCR için -20 °C'de saklanmıştır (Austin, 1998; Nevas ve ark., 2002; Anon, 2011).

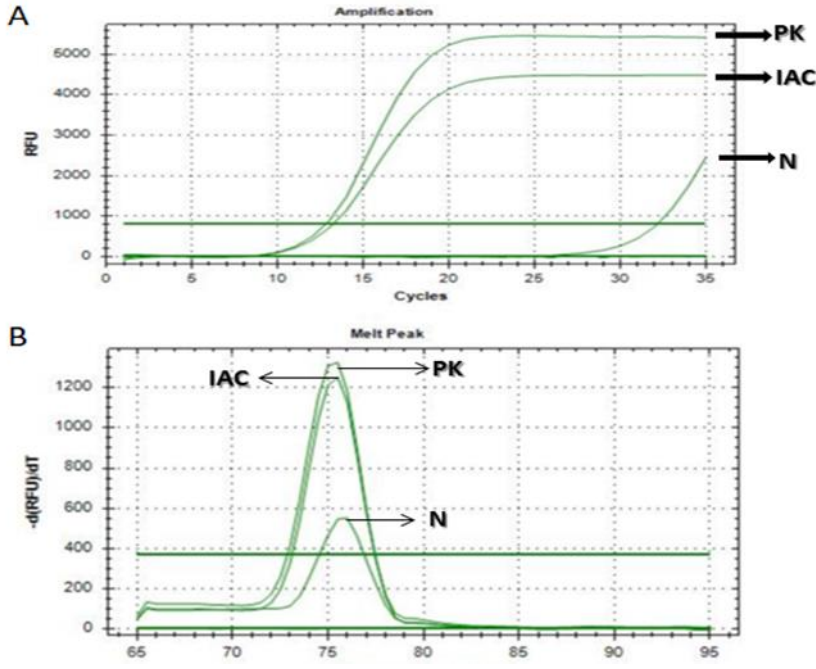
Real-Time PCR analizi CFX96 Touch™ Real_time PCR Detection System (Bio-Rad 785BR14884) ve SsoAdvanced Universal Inhibitor Tolerant SYBR Green Supermix (172-5017) kiti kullanılarak gerçekleştirildi. *C. botulinum*'un tespitinde complement gen bölgesi için spesifik olarak tasarlanan primerler kullanıldı (Tablo 1). Toplam 20 µl reaksiyon hacmi için; 10 µl SsoAdvanced Universal IT SYBR Green Supermix (2x) (Bio-Rad, ABD) 50-100 ng kalıp DNA (2,5 µl), 0,5 µl primer ve nuclease-free H₂O (6,5 µl) kullanıldı. Termal döngü koşulları (Bio-Rad CFX96 Touch™); 98 °C de 3 dk polimeraz aktivasyonu ve DNA denatürasyonu, 98 °C de 10 sn ve 60 °C de 30 sn' de 35 döngü ve 65°C den 95 °C ye her 2 sn de 0,5 °C artışla melt curve analizi şeklinde gerçekleştirildi. Testin güvenilirliğini artırmak ve yanlış negatif sonuçların tanımlanması amacıyla Hoffmann ve ark. (2006), tarafından tasarlanan tablo 1'de belirtilen bir dahili amplifikasyon kontrolü (IC-1F, IC-2R) kullanıldı. Çalışmada kullanılan primerlerin spesifitesinin belirlenmesi amacıyla *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ve *Clostridium perfringens* ATCC 13124 bakteri suşları kullanıldı.

Tablo 1. Real-PCR için kullanılan primerlerin nükleotid bilgileri

Primer	Dizi (5'----- 3')	Amplikon boyutu (bp)	Kaynak
<i>C. botulinum</i>			
F	ACAAAAGGAATTCTTGAAAGTA GGT	249	Gen Bank: CP027778.1
R	AGATGCTGCATGAGCGAATCTA		
Internal			
Control	GACCACTACCAGCAGAACAC	177	(Hoffmann ve ark., 2006)
IC-1F	CTTGTACAGCTCGTCCATGC		
IC-2R			

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden temin edilen polen örneklerinde *Clostridium botulinum* varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Karadeniz (n:44), akdeniz (n:28), iç anadolu (n:24), ege (n:14) ve doğu anadolu bölgelerinden (n:10) toplanan toplam 120 adet polen örneği materyal olarak kullanılmış olup, analiz edilen örneklerden yalnızca 1'inde (120/1-%0.83) (karadeniz bölgesinden temin edilen) *C. botulinum* etkeni saptanmıştır. Bu çalışma ülkemizde polen kaynaklı *C. botulinum* etkeninin araştırıldığı ilk çalışma niteliğindedir.



Şekil 1. *C. botulinum* pozitif saptanan örneğin SYBR Green Real Time PCR’da belirlenen amplifikasyon grafikleri ve erime eğrileri (A-Amplifikasyon eğrileri; Pozitif Kontrol (PK), Internal Amplifikasyon Kontrolü (IAC), Numune (N) B- Erime eğrileri)

Bal örneklerinin analizi ile birlikte *C. botulinum* prevalansı üzerine yapılan çalışmalarda etkenin balda bulunma sıklığı % 2-26 arasında saptanmıştır (Austin, 2016). Bununla birlikte bazı araştırmacıların Kanada, Fransa, Almanya ve Norveç’te bal örneklerinde yaptıkları çalışmalarda etken tespit edilmemiştir (Flemming ve ark., 1980; Hartgen, 1980; Hetland, 1986; Hauschild ve ark., 1988; Nakano ve ark., 1990; Delmas ve ark., 1994). Bununla birlikte Sugiyama ve ark. (1978), Amerika Birleşik Devletleri’nde yaptıkları çalışmada 241 bal örneğinin 18’inde *C. botulinum* etkenini saptamış olup bunlardan 11’inin A tipi, 7’sinin ise B tipi toksin oluşturma yeteneğinde olduğunu tespit etmiştir. Schocken-Iturrino ve ark. (1999) Brezilya’da yaptıkları çalışmada 85 bal örneğinin 6’sında *C. botulinum* etkenini saptadıklarını bildirmişlerdir. Nakano ve ark. (1990), Japonya’da yaptıkları çalışmada 270 bal örneğinin 23’ünde etkeni tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Nakano ve Sakaguchi (1991), Japonya’da yaptıkları çalışmada 36 bal örneğinin 1’inde F tipi toksin meydana getiren *C. botulinum* etkenini belirlemişlerdir. Monetto ve ark. (1999), Arjantin’de yaptıkları çalışmada 44 bal örneğinin 2’sinde etkeni saptayarak bunların A ve F tipi toksin oluşturma kabiliyetinde olduklarını belirlemişlerdir. Huhtanen ve ark. (1981), Amerika Birleşik Devletleri’nde yaptıkları çalışmada analiz ettikleri 80 bal örneğinin 10’unda A ve B tipi toksin özelliğinde olan izolatların varlığına dikkat çekmişlerdir. Du ve ark. (1991), Tayvan’daki çalışmalarında 152 bal örneğinin 2’sinde etkenin B tipi toksin oluşturma kabiliyetinde olduğunu tespit etmişlerdir. Criseo ve ark. (1993),

İtalya’da yaptıkları çalışmada 39 bal örneğinin 2’sinde B tipi toksin varlığının bulunduğu etkeni tanımlamışlardır. Yapılan literatür taramalarında ülkemize ballarda *C. botulinum* varlığına yönelik çalışmalardan Küplülü ve ark. (2006), yapmış olduğu bu çalışmada 48 bal numunesinin 6’sında etken tespit etmişlerdir. Gücükoğlu ve ark. (2014), 150 bal örneğinin 4’ünde (% 2.6) *C. botulinum* etkeni saptamışlar etkenin toksin tipinin multipleks PCR ile yapılan moleküler değerlendirmesinde ise, toplam 4 izolatın 3’ünde (%75) *C. botulinum* tip A, 1’inde ise (% 25) *C. botulinum* tip B toksin geni tespit etmişlerdir. Mustafina ve ark. (2015), Kazakistanda yaptıkları çalışmada 110 bal örneğinin 43’ünün (%39) *Clostridium* spp. ile kontamine olduğunu ancak bunlardan yalnızca 1’inde (110/1-%0.98), *C. botulinum* varlığını tespit ettiklerini, etkenin tip A karakterinde olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan literatür taramalarında polen örneklerinde *C. botulinum* varlığı ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya ulaşılmış olup, Nevas ve ark. (2006), arıcılık ürünlerinde *C. botulinum* varlığı ile ilgili araştırmalarında 61 polen örneğinin 4’ünde (% 7) etkeni tespit ettiklerini bildirmişler, araştırmacılar izolatların 1’inin tip E, 3’ünün ise tip B toksin oluşturma kabiliyetinde olduklarını saptamışlardır.

C. botulinum ile arıcılık ürünlerinin kontaminasyonunun yetiştirme şartları, bakım ve besleme, çevresel faktörler ve işleme tesislerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim baldaki prevalansın, arıların koku ve tuz içeriğinden dolayı kirli bir su kaynağını tercih etme eğiliminde oldukları, bu nedenle, organik artıklarla kirlenmiş suların arıları çektiği, çiftliklerden ve tarım alanlarından gelen kirliliğinin *C. botulinum* riskini oluşturabildiği ifade edilmektedir (Mustafina ve ark., 2015). Nevas ve ark. (2006), bal örneklerinin *C. botulinum* ile kontaminasyonunun olası kaynaklarını araştırmışlar, arı (156/14-%10), bal mumu (176/40-%23), petek bal (180/43-%24), süzme bal (100/10-%10), arı besleme şeker çözeltisi (87/6-%7), polen (234/30-%22) ve toprak (235/73-%31) örneklerinde etkeni saptamışlar, bal örneklerine *C. botulinum*’un temel bulaşma kaynağının toprak olduğunu devamında etkenin kovana kontaminasyonu sonucu arıların iç organlarında ve balmumu ve petek gözlerinde bulunduğunu saptamışlar ve çevresel kontaminasyonla beraber kovan hijyenine dikkat çekmişlerdir.

Analiz edilen polen örneklerinde *C. botulinum*’un varlığının potansiyel bir tehlike olabileceğini ortaya konmuştur. Ancak bu konunun yeterince değerlendirilmesi adına sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. Bu nedenle, ülke bazında daha detaylı epidemiyolojik çalışmaların yapılması gerektiğini, halk sağlığı konseptine uygun olarak insan orijinli etkenler ile gıdalardan izole

edilen etkenlerin karşılaştırmalı olarak yakınlık derecesine bakılmasının ve etkenin atıbiyotik direnç profilinin ortaya konmasının gerektiğini öneririz.

KAYNAKLAR

- Anon. 2019 World honey production rate. <https://www.tridge.com/intelligences/honey>. Erişim 05.09.2019
- Anon. 2018. Tagem arıcılık verileri. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/>. Erişim 05.09.2019
- Anon. 2011. FDA, BAM, Bacteriological Analytical Manual Online: *Clostridium botulinum*, Chapter 17. Available at: <http://www.fda.gov/>.2011.
- Austin JW. 1998. Detection of *Clostridium botulinum* spores in honey and syrups. Laboratory Procedure. MFLP 50. Government of Canada
- Aureli P, Fenicia L, Franciosa G. 1999. Classic and emergent forms of botulism: The current status in Italy. Euro Surveill; 4: 7-9.
- Austin JW. 2016. Clostridium: Occurrence and Detection of *Clostridium botulinum* and Botulinum Neurotoxin. Encyclopedia of Food and Health; p:155-159.
- Brett M. 1999. Botulism in the United Kingdom. Euro Surveill; 4: 9-11.
- Criseo G, Bolignano MS, De Leo F. 1993. Isolation of *Clostridium botulinum* type B from Sicilian honey samples. La Rivista di Scienza dell'Alimentazione; 22: 175-181.
- Delmas C, Vidon DJM, Sebald M. 1994. Survey of honey for *Clostridium botulinum* spores in eastern France. Food Microbiol; 11: 515-518.
- Donadieu Y. 1983. Pollen in natural therapeutics. La Faculte de Medecine de Paris. Edited by Librairie Maloine S.A. P: 27-56.
- Du SJ, Cheng CM, Lai HY, Chen LH. 1991. Combined methods of dialysis, cooked meat medium enrichment and laboratory animal toxicity for screening *Clostridium botulinum* spores in honey and infant foods. Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi; 24: 240-247.
- Flemming R, Stojanowic V. 1980. Untersuchungen von Bienhonig auf *Clostridium botulinum*-Sporen. Arch Lebensmittelhyg; 31: 179-180.
- Galazka A, Przybylska A. 1999. Surveillance of foodborne botulism in Poland: 1960 1998. Euro Surveill; 4: 69-72.
- Gücüköğlü A, Terzi G, Çadirci Ö, Alişarlı M, Kevenk O, Uyanık T. 2014. Detection of *C. botulinum* types in honey by mPCR. J Food Sci; 79: 600-603.

- Hartgen H. 1980. Untersuchungen von Honigproben auf Botulinustoxin. Arch Lebensmittelhyg; 31: 177-178.
- Hatheway CL. 1995. Botulism: The present status of the disease. Curr Top Microbiol; 195: 55-75.
- Hauschild AHW, Hilsheimer R, Weiss KF, Burke RB. 1988. *Clostridium botulinum* in honey, syrups and dry infant cereals. J Food Protect; 51: 892-894.
- Hetland A. 1986. *Clostridium botulinum* sporer I norskprodusert honning? Norsk Veterinærtidsskrift 98: 725- 727.
- Hoekstra M, Sobel J. 2004. Signs and symptoms predictive of death in patients with foodborne botulism—Republic of Georgia, 1980-2002. Clin Infect Dis; 39: 357-362.
- Hoffmann B, Depner K, Schirrmeier H, Beer M. 2006. A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses. J Virol Methods; 136:200-209.
- Huhtanen CN, Knox D, Shimanuki H. 1981. Incidence and origin of *Clostridium botulinum* spores in honey. J Food Protect; 44: 812-814.
- Kuusi M, Hasseltvedt V, Aavitsland P. 1999. Botulism in Norway. Euro Surveill; 4: 11-12.
- Küplülü Ö, Göncüoğlu M, Özdemir H, Koluman A. 2006. Incidence of *Clostridium botulinum* spores in honey in Turkey. Food Control; 17: 222–224.
- Li QQ, Wang K, Marcucci MC, Sawaya ACHF, Hu L, Xue XF, Wu LM. 2018. Nutrient-rich bee pollen: A treasure trove of active natural metabolites. J Funct Food; 49: 472-484.
- Midura TF. 1996. Update: Infant botulism. Clin Microbiol Rev; 9: 119-125.
- Monetto AM, Francavilla A, Rondini A, Manca L, Siravegna M, Fernandez R. 1999. A study of botulinum spores in honey. Anaerobe; 5: 185-186.
- Mustafina R, Maikanov B, Wiśniewski J, Tracz M, Anusz K, Grenda T, Kukier E, Goldsztejn M, Kwiatek K. 2015. Contamination of honey produced in the Republic of Kazakhstan with *Clostridium botulinum*. Bull Vet Inst Pulawy; 59: 241-246.
- Nakano H, Okabe T, Hashimoto H, Sakaguchi G. 1990. Incidence of *Clostridium botulinum* in honey of various origins. Jpn J Med Sci Biol; 43: 183-195.
- Nakano H, Sakaguchi G. 1991. An unusually heavy contamination of honey products by *Clostridium botulinum* type F and *Bacillus alvei*. FEMS Microbiol Lett; 79: 171-178.
- Nevas M, Hielm S, Lindström M, Hom H, Koivulehto K, Korkeala H. 2002. High prevalence of *Clostridium botulinum* types A and B in honey samples detected by polymerase chain reaction. Int J Food Microbiol; 72, 45–52.

- Nevas M, Lindström M, Hörman A, Keto-Timonen R, Hannu Korkeala H. 2006. Contamination routes of *Clostridium botulinum* in the honey production environment. *Environ Microbiol*; 8: 1085–1094.
- Ramanathan ANKG, Nair AJ, Sugunan VS. 2018. A review on Royal Jelly proteins and peptides. *J Funct Food*; 44: 255-264.
- Therre H. 1999. Botulism in the European Union. *Euro Surveill*; 4: 2-7.
- Schocken-Iturrino RP, Carneiro MC, Kato E, Sorbara J, Rossi OD, Gerbasi LER. 1999. Study of the presence of the spores of *Clostridium botulinum* in honey in Brazil. *FEMS Immunol Med Mic*. 24: 379- 382.
- Sugiyama H, Mills DC, Kuo LJC. 1978. Number of *Clostridium botulinum* spores in honey. *J Food Protect*; 41: 848-850.
- Oguma K, Yokota K, Hayashi S, Takeshi K, Kumagai M, Itoh N, Tachi N, Chiba S. 1990. Infant botulism due to *Clostridium botulinum* type C toxin. *Lancet*; 336: 1449-1450.
- Varma JK, Katsitadze G, Moiscrafishvili M, Zardiashvili T, Chokheli M, Tarkhashvili N, Jhorjholiani E, Chubinidze M, Kukhalashvili T, Khmaladze I, Chakvetadze N, Imnadze P, Hoekstra M, Sobel J. 2004. Signs and symptoms predictive of death in patients with foodborne botulism-Republic of Georgia, 1980-2002. *Clin Infect Dis*; 39: 357-362.

Geleneksel Türk Köftelerinde *Escherichia coli* O157:H7'nin Termal İnaktivasyonu

Abdullah Dikici^{1*}, Özge Tosuncuk¹, S.Betül Bozatlı²

^{1*} Uşak Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Uşak, Türkiye

² Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,

Manisa, Türkiye

*a.dikici@usak.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada ızgarada pişirmenin geleneksel Türk köftelerinde *E.coli* O157:H7'yi inaktive etmekteki etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, ülkemizde sıkça tüketilen köfteler olan İnegöl ve kasap köfteler çalışma materyali olarak seçildi. Köfteler $7\pm 1 \log_{10}$ kob/g civarında *E.coli* O157:H7 inoküle edilen kıymadan hazırlandı. Pişirme deneyleri için 170°C ve 180°C olmak üzere iki farklı ızgara sıcaklığı kullanıldı. Köfteler, merkez sıcaklıkları temel alınarak örneklendi ve 50°C-90°C arasında merkez sıcaklığındaki her 5°C'lik artışta örnekler alındı. Pişirmede canlı kalan patojen sayımları seçici besiyeri kullanılarak yapıldı. Sonuçlar, $\geq 5 \log_{10}$ kob/g inaktivasyonun sağlanabilmesi için 170°C'de pişirilen İnegöl ve kasap köfteleri ile 180°C'de pişirilen İnegöl köftelerinin merkez sıcaklıklarının 85°C'ye ulaşması gerektiğini göstermiştir. Patojen sayısında gerekli düşüşün sağlanabilmesi için, 180°C'de pişirilen kasap köftelerinde ise merkez sıcaklığın 80°C'ye ulaşması gerektiği tespit edildi. Çalışma sonuçlarının gıda güvenliğinin sağlanması için bu köftelerin satışını yapan gıda işletmelerine fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *E.coli* O157:H7, ızgara, inaktivasyon, köfte, pişirme

Thermal Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in Traditional Turkish Meatballs

Abdullah Dikici^{1*}, Özge Tosuncuk¹, S.Betül Bozatlı²

^{1*} Uşak University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Uşak, Turkey

² Manisa Celal Bayar University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering,
Manisa, Turkey

*a.dikici@usak.edu.tr

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of grilled cooking process on thermal inactivation of *E.coli* O157:H7 in traditional Turkish meatballs. For this purpose, the most frequently consumed traditional meatballs in our country, which are Inegöl and kasap meatballs, were chosen. Ground meat was inoculated around $7 \pm 1 \log_{10}$ cfu/g with *E.coli* O157:H7 and the meatballs were prepared from inoculated ground meat. Two different cooking temperatures, 170°C and 180°C, were used for the cooking experiments. Sampling was made based on the internal temperature of the meatballs and the meatballs were sampled at every 5°C raise in the internal temperature between 50°C-90°C. Survivors of the pathogen were enumerated by using selective media. The results show that, to achieve $\geq 5 \log_{10}$ cfu/g decrease in the pathogen count, the internal temperature of the Inegöl and kasap meatballs cooked at 170°C and the Inegöl meatballs cooked at 180°C, should reach to 85°C. The required decrease was achieved in the kasap meatball cooked at 180°C when the internal temperature reached to 80°C. The results of this study would provide assistance to food establishments, which serve these meatballs to consumers, in order to provide safety of these products.

Keywords: cooking, *E.coli* O157:H7, grill, inactivation, meatball

GİRİŞ

Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Escherichia coli* O157:H7 shigatoksijenik *E.coli* serogruplarının en yaygınıdır. Dondurma, soğutma ve asidik ortamlar gibi çeşitli stres koşullarına karşı dayanıklı olması dolayısıyla çeşitli gıda ortamlarında ve doğada canlılığını uzun süre koruyabilmektedir. Süt, et, su ve toprağa bulaşmasıyla tüm çevreye yayılmaktadır (Semenov ve ark., 2010). Başlıca kaynağı sığır eti ve ürünleri olmakla beraber, geviş getiren hayvanlar ile gıda zincirine geçişleri söz konusu olabilmektedir (USDA, 2010). ABD’de her yıl meydana gelen 265.000 STEC enfeksiyonunun %36’sını *E. coli* O157:H7 oluşturmaktadır. Özellikle çocuklar ve yaşlıların daha çok etkilendiği *E. coli* O157:H7 enfeksiyonları, insanlarda hemolitik üremik sendroma (HUS) neden olabilmektedir (CDC, 2014). *Escherichia coli* O157:H7, ilk olarak 1982 yılında az pişmiş hamburger köfteleri kanalıyla neden olduğu salgınla dikkatleri üzerine çekmiştir (Park ve ark., 2010). Son yıllarda et ürünleri dışında çeşitli gıdalarla da neden olduğu salgınlar raporlanmış olsa da (CDC, 2019; CDC 2018; CDC 2017a; CDC 2017b), enfeksiyonların büyük kısmı yetersiz pişirilen ya da çiğ tüketilen, kıyma içerikli gıdaların tüketilmesinden kaynaklı olmaktadır (Erol, 2007). Et ve ürünleri kesimhanelerde derinin yüzülmesi ve iç organların çıkartılması sırasında kontamine olmaktadır. Etin işlenmesi sırasında yüzeyden iç kısımlara geçen patojenler, yeterli ısı işlemi uygulanmadığı takdirde canlı kalabilmekte ve hastalığa neden olabilmektedir (Ertaş ve ark., 2013).

Ülkemizde köfte oldukça yaygın tüketilen bir et ürünüdür. Kasap ve İnegöl köfteler sıkça tercih edilen köftelerin başında gelmektedir. Köftelerde gıda güvenliği açısından en önemli bariyer pişirme işlemi olmaktadır. Termal inaktivasyon çalışmaları genellikle kontrollü koşullar altında gerçekleştirilmektedir. Ancak, ev tipi veya restoran tipi pişirme metotları kullanılarak pişirme etkinliğinin belirlenmesinin uygulama sahasına önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu amaçla çalışmada en sık tüketilen köfteler olan kasap ve İnegöl köftelerdeki *E. coli* O157:H7’nin termal inaktivasyonunun ızgarada pişirme yöntemi ile gerçekleştirilerek uygun merkez sıcaklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bakteri Kültürünün Hazırlanması ve Kasap ve İnegöl Köftelere İnokülasyonu

Çalışmalarda kullanılan *E. coli* O157:H7 suşları (ATCC 35150, ATCC 43894, ATCC 43895, RSKK 232, *E. coli* O157:H7) Uşak Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edildi. Buzdolabında (+4°C) saklanan stok kültürden alınan *E. coli* O157:H7 suşları Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerine inoküle edilerek 37°C'de 18-24 saat gelişime bırakıldı. İnkübasyon sonunda kültürler 4000 devirde 4dk santrifüj edildi ve dibe çöken pelletler %0,9'luk NaCl ile kırıldı. Ardından yeniden santrifüj edilen tüplerden süpernatant uzaklaştırılarak pellet elde edildi. Yukarıda bahsedilen 5 *E. coli* O157:H7 suşunun pelletleri kırıldıktan sonra eşit miktarda karıştırılarak kokteyl elde edildi. Elde edilen bu kokteyl köfte hamuruna inoküle edildi. İnokülasyon ile köfteler 7 ± 1 log kob/g *E.coli* O157:H7 ile bulaştırıldı.

Kasap ve İnegöl Köftelerinin Pişirilmesi

Kasap ve İnegöl köfteler 170°C ve 180°C'ye ısıtılmış elektrikli ızgarada pişirildi. Pişirme işlemi esnasında köfte merkez sıcaklıkları 50°C-90°C arasında her 5°C'lik artışlarda örnekleme yapılarak mikrobiyolojik analizler gerçekleştirildi (İlhak ve ark., 2013).

Mikrobiyolojik Analizler

Örnekleme amacıyla ızgara üzerinden alınan köfteler derhal soğutularak (buzlu su) sıcaklık artışının devam etmesi önlemleri. Daha sonra mikrobiyolojik ekimi yapılan köftelerde *E. coli* O157:H7, 35°C'de 24-48 saat inkübasyondan sonra Sorbitol MacConkey (SMAC, Merck) agar üzerinde sayıldı (Dikici, 2015).

İstatistiksel Analizler

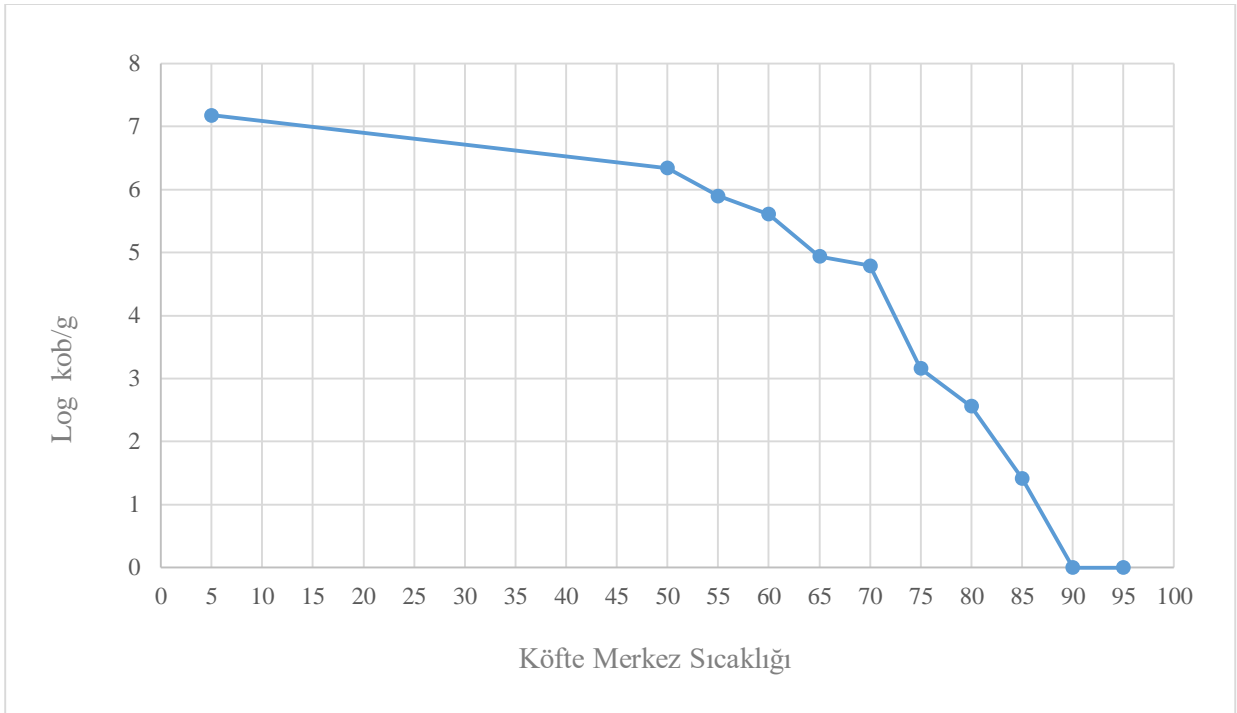
Log kob/g'a dönüştürülen koloni sayıları, köfte çeşidi x merkez sıcaklık x tekerrür modeline göre varyans analizine (ANOVA) tabi tutuldu. GLM prosedürüne göre, Fisher's Least

Significant Difference testi ile ortalama değerleri ayrıştırıldı. Analizler için Statistical Analysis System (SAS) programı kullanıldı (SAS, 1999).

BULGULAR ve TARTIŞMA

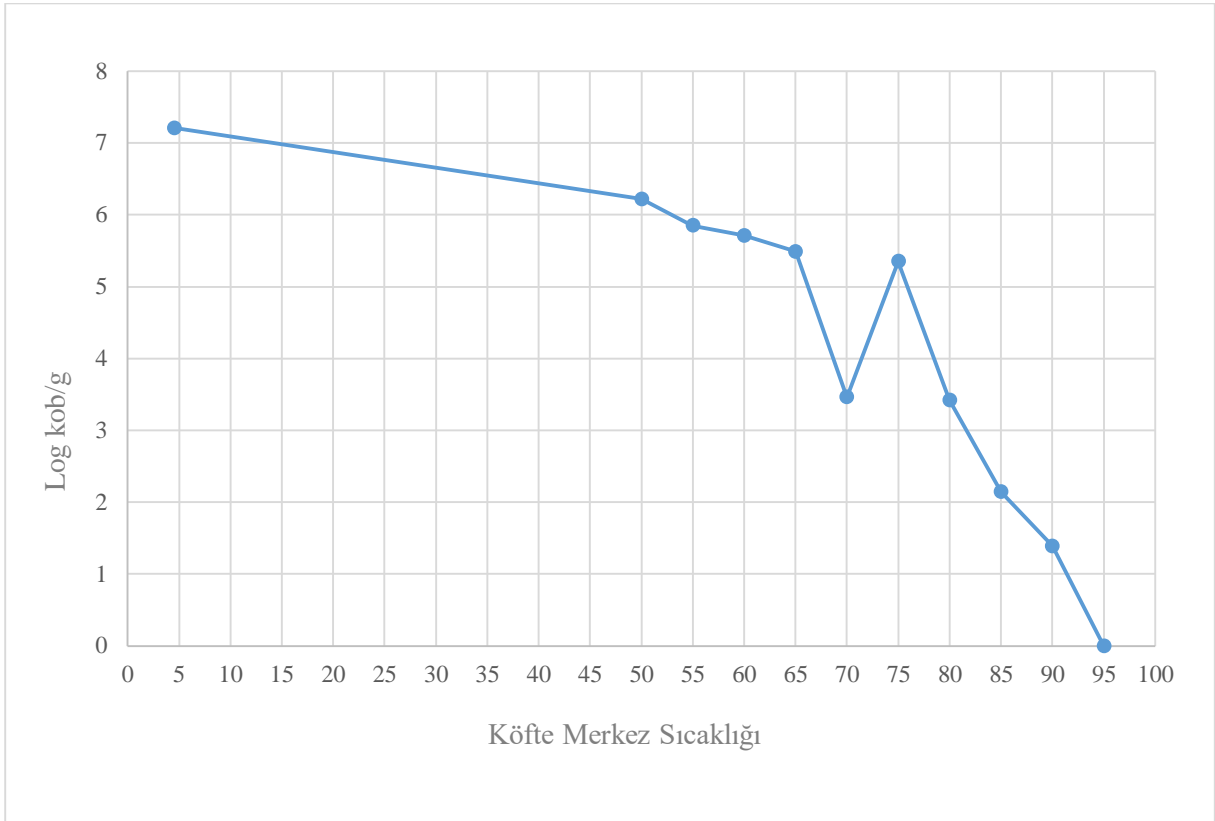
USDA-FSIS'a göre gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından, pişirme sırasında merkez sıcaklığın 71,1°C olmasına ve 5D'lik patojen inaktivasyonuna dikkat edilmesi gerekmektedir (USDA-FSIS, 2019). Elde ettiğimiz sonuçlara göre, 5 log kob/g *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu 170°C'de pişirilen kasap ve İnegöl köftelerinde merkez sıcaklığı 85°C'ye ulaştığında sağlanmışır (Grafik 1 ve Grafik 2). 180°C'de pişirilen köftelerde ise, kasap köfte için merkez sıcaklığı 80°C'ye (Grafik 3) İnegöl köfte için de 85°C'ye ulaştığında tespit edilmiştir (Grafik 4).

Literatürde pişirme işlemleri ile sağlanan termal inaktivasyon çalışmaları çok fazla bulunmamaktadır. Genellikle termal inaktivasyon çalışmaları kontrollü koşullarda D değerinin hesaplandığı çalışmalardan oluşmaktadır. Ancak pişirme sırasında birçok değişken patojenlerin inaktivasyonuna tesir edebilmektedir.



Grafik 1. 170°C Izgara Sıcaklığında Pişirilen Kasap Köfte Örneklerindeki *Escherichia coli* O157:H7'nin Termal İnaktivasyonu.

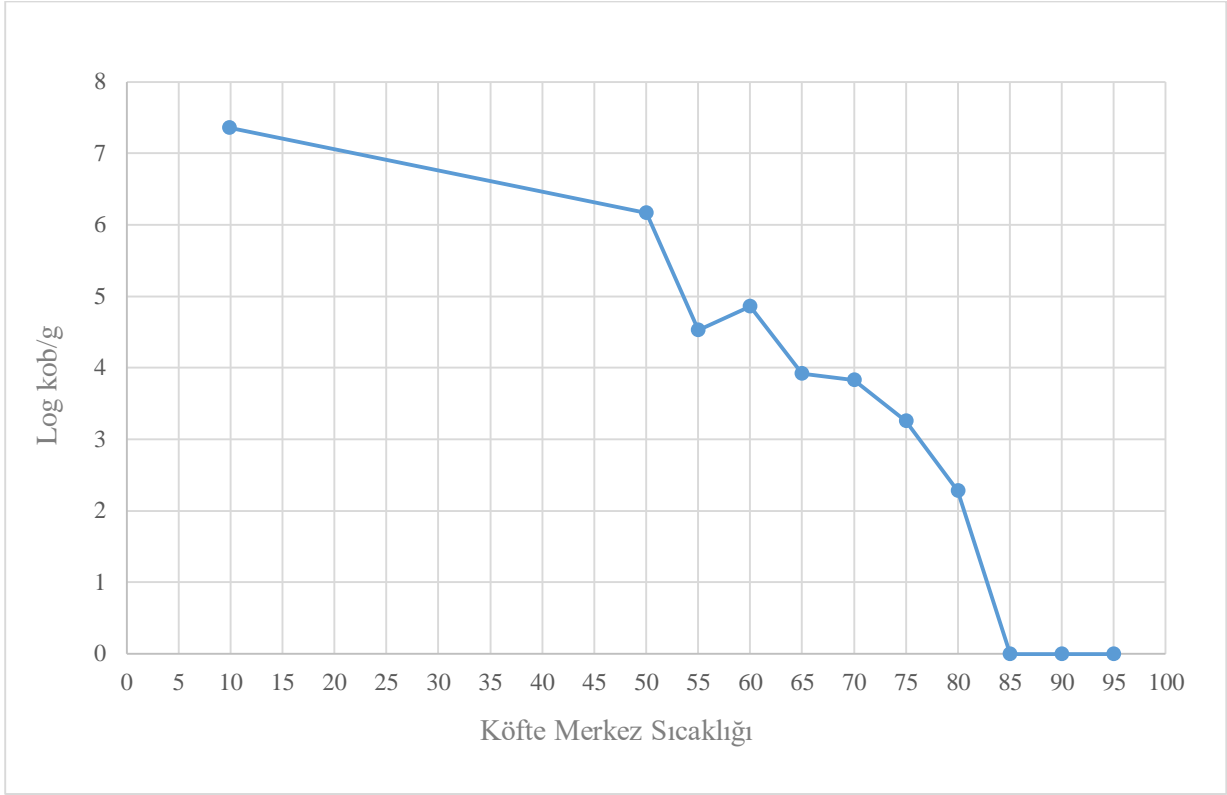
Shen ve arkadaşları (2010), dana kıymasına 6,4 log kob/g *E. coli* O157:H7 inoküle etmişlerdir. 205°C fırın sıcaklığında, merkez sıcaklık 65°C’de iken 3,1 log kob/g *E. coli* O157:H7 varlığını tespit etmişlerdir. Pişirme yöntemi farklı olsa da benzer sonuç bu çalışmada 180°C’de pişirilen kasap köftelerde elde edilmiştir (Grafik 3). Ancak aynı sıcaklıkta İnegöl köftelerde merkez sıcaklığı 65°C’ye ulaştığında yaklaşık 2 log kob/g inaktivasyon gerçekleştirilmiştir. Aynı sıcaklıkta İnegöl köftelerde inaktivasyonun kasap köftelere göre daha güç gerçekleştiği tespit edilmiştir.



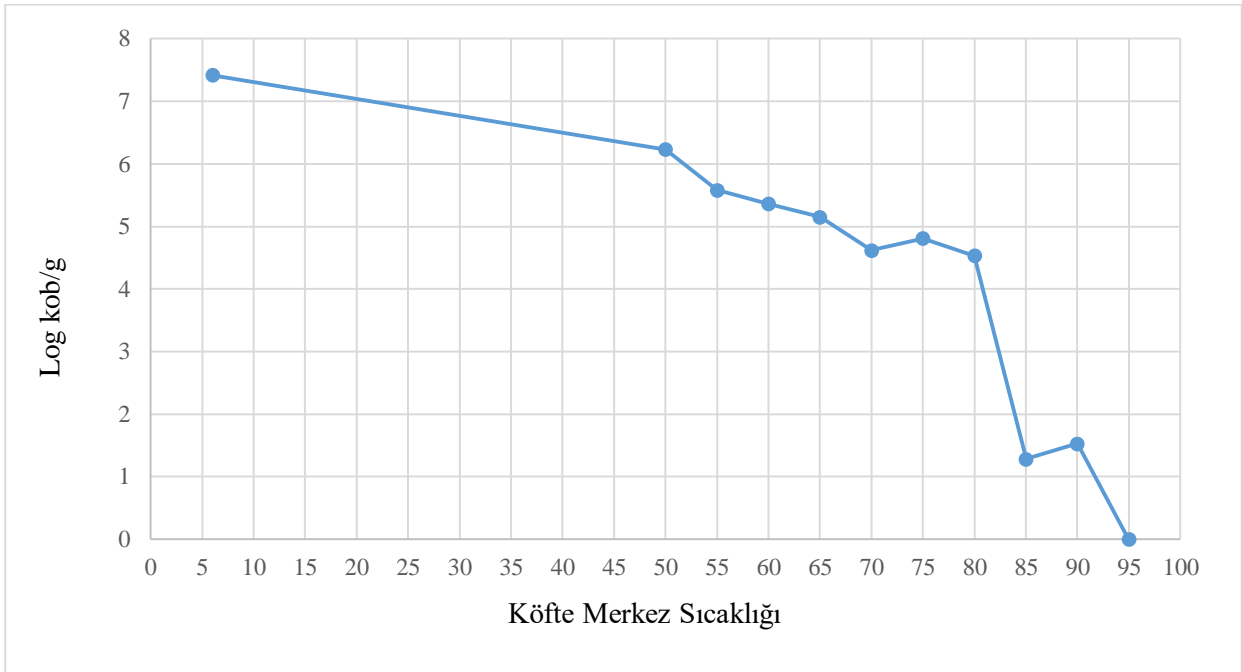
Grafik 2. 170°C Izgara Sıcaklığında Pişirilmiş İnegöl Köfte Örneklerindeki *Escherichia coli* O157:H7'nin Termal İnaktivasyonu.

Termal inaktivasyonun belirlendiği çalışmalar genellikle kontrollü su banyolarında ince film haline getirilmiş kıymada veya besiyeri ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Gıdalarla termal inaktivasyonun gerçekleştirildiği çalışmalar ise literatürde oldukça az bulunmaktadır. İlhak ve arkadaşları (2013), kıymalı pidelerde sıcaklık-zaman ilişkisi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Çalışmada 5 log kob/g'lık patojen inaktivasyonunun sağlandığı değerleri fırın sıcaklığının min. 180°C ve min. 330 saniye (5,5 dakika) ısıl işlem uygulaması olduğunu belirtmişlerdir. Luchansky ve arkadaşları (2014), dış yüzeyi yumurta ve pane ile kaplanmış pizola etlerinde *E. coli* O157:H7'nin termal inaktivasyonu üzerine çalışma yapmışlardır. Pişirme işlemi kanola

yağı ile yağlanmış olup 191,5°C'ye ısıtılmıştır. Araştırmacılar, gıdaların kaplanması, karbonhidratlar ve tuzların ilave edilmesi ile gıda kaynaklı patojenlerin termal direncini arttırdığını bildirmişlerdir.



Grafik 3. 180°C Izgara Sıcaklığında Pişirilmiş Kasap Kofte Örneklerindeki *Escherichia coli* O157:H7'nin Termal İnaktivasyonu.



Grafik 4. 180°C Izgara Sıcaklığında Pişirilmiş İnegöl Kofte Örneklerindeki *Escherichia coli* O157:H7'nin Termal İnaktivasyonu.

Sonuç olarak, bu çalışma ile İnegöl ve Kasap köftelerde 5log kob/g inaktivasyonun 170°C'deki ızgarada pişirme işlemi yapılırken sağlanabilmesi için köfte merkez sıcaklıklarının 85°C'ye ulaşması gerektiği tespit edilmiştir. Bu ızgara sıcaklığında iki köfte tipi arasında ulaşılması gereken merkez sıcaklığı açısından fark görülmezken ızgara sıcaklığı arttırıldığında (180°C) Kasap köftelerde gerekli inaktivasyonun İnegöl köftele göre daha düşük merkez sıcaklığında gerçekleşebildiği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2014. Questions and answers. <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2016. Multistate Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 Infections Linked to Alfalfa Sprouts Produced by Jack & The Green Sprouts (Final Update) <https://www.cdc.gov/ecoli/2016/o157-02-16/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017a. Multistate Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 Infections Linked to Leafy Greens (Final Update) <https://www.cdc.gov/ecoli/2017/o157h7-12-17/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017b. Multistate Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 Infections Linked to I.M. Healthy Brand SoyNut Butter (Final Update) <https://www.cdc.gov/ecoli/2017/o157h7-03-17/index.html>.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2018. Outbreak of *E. coli* Infections Linked to Romaine Lettuce. <https://www.cdc.gov/ecoli/2018/o157h7-11-18/index.html>.
- İlhak Oİ, Dikici A, Can ÖP, Şeker P, Öksüztepe G, Çalıcıoğlu M. 2013. Effect of cooking procedures of kiymalı pide, a traditional Turkish fast-food, on destruction of *Escherichia coli* O157: H7. Meat science. 94(2):159-163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.02.003>.
- Dikici A, Koluman A, Çalıcıoğlu M. 2015. Comparison of effects of mild heat combined with lactic acid on Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H7, O103, O111, O145 and O26 inoculated to spinach and soybean sprout. Food Control. 50:184-189.
- Erol İ. 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilimdalı, Ankara, 78-92.
- Ertaş N, Yıldırım Y, Karadal F, Al S. 2013. Hayvansal gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7'nin önemi. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 10(1): 45-52.

- Luchansky, Port-Fett, Shoyer, Thippareddi, Amaya, Lemler. 2014. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 shiga toxin-producing *Escherichia coli* cells in mechanically tenderized veal. *Journal of Food Protection*. 77(7): 1201-1206. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-13-414
- Park S, Worobo R, Durst R. 2010. *Escherichia coli* O157:H7 as an emerging foodborne pathogen: A Literature Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(6): 481-502.
- Semenov AV, Franz E, van Bruggen AH. 2010. COLIWAVE a simulation model for survival of *E. coli* O157: H7 in dairy manure and manure-amended soil. *Ecological Modelling*, 221(4), 599-609.
- Shen C, Geornaras I, Belk KE, Smith GC, Sofos JN. 2011. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in moisture-enhanced nonintact beef by pan-broiling or roasting with various cooking appliances set at different temperatures. *Journal of food science*, 76(1), M64-M71. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01882.x.
- Statistical Analyses System Inst. Inc. Cary. 8. Version. 1999.
- USDA, Food Safety and Inspection Service (FSIS). 2010. Detection and isolation of non-O157 Shiga-toxin producing *Escherichia coli* strains (STEC) from meat products. *Microbiological Laboratory Guidebook*, version 5B.00. USDA, Food Safety Inspection Service, Washington, DC.
- USDA-United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service. 2019. Safe minimum internal temperature chart. https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/safe-food-handling/safe-minimum-internal-temperature-chart/ct_index

Sığır ve Koyun *E. coli* O157: H7 İzolatlarında Kolistin Direnci ve Kolistine Dirençli Sorbitol Fermentatif *E. coli* O157: H7'nin Tüm Genom Sekans

Analizi

Naim Deniz AYZAZ¹, Gizem CUFAOĞLU¹, Yeşim YONSUL^{1*}, Muammer GÖNCÜOĞLU²,
Irfan EROL³

¹ Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
Yahşihan, Kırıkkale, Türkiye

² Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,
Dışkapı, Ankara, Türkiye

³ Doğu Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Gazimağusa, KKTC

*naimdenizayaz@kku.edu.tr

ÖZET

Kolistin, *Enterobacteriaceae* başta olmak üzere Gram negatif bakterilere karşı etkili, polimiksin E grubunda yer alan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Artan antibiyotik direnci nedeniyle kolistin, son yıllarda insan hekimliğinde son çare olarak kullanılan antibiyotik haline gelmiştir. Ancak sığır, koyun ve kanatlı hayvanlarının gastrointestinal sistem infeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmada, sığır ve koyun kaynaklı *Escherichia coli* O157'lerin fenotipik olarak kolistin direncinin belirlenmesi, plazmid aracılı kolistin direnç genlerinin (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5*) varlığının araştırılması ve ilk olarak bir kolistin dirençli sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7'nin tüm genom sekans analizinin yapılması amaçlanmıştır. İzolatların minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) brot mikrodilüsyon yöntemiyle, izolatlardaki *mcr* 1-5 genlerinin varlığı PCR ile ve tüm genom sekansı Illumina yeni nesil sekans analizi ile tespit edilmiştir. Çalışmada 49 *E. coli* O157:H7 izolatından sığır kökenli beşinin *mcr-2* veya *mcr-3* genlerinden en az birine sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada sorbitol pozitif izolatlardan hiçbirinde *mcr* geni tespit edilmemiş

olmakla beraber, bir sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7 ile birlikte toplam üç izolat 128 µg/ml'lik MİK değeri ile kolistine fenotipik olarak direçli bulunmuştur. Sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7'nin tüm genom analizinde, izolatın gen bankasındaki diğer genom dizileriyle %100 benzerlik göstermediği ve yeni bir izolat olduğu ayrıca 62 farklı antimikrobiyal direç geni taşıdığı saptanmıştır. Bu çalışma sığır kökenli *E. coli* O157:H7 izolatlarında plazmid aracılı *mcr-2* ve *mcr-3* genlerinin varlığı ve bir kolistin direçli sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7'nin bütün genom sekansı ile ilgili ilk rapordur. Bulgular, sığırın önemli bir kolistin direçli *E. coli* O157:H7 kaynağı olabileceğini ve kesimhane atık sularının plazmid aracılı kolistin direç genlerinin yayılması için bir yol olduğunu göstermiştir. Ayrıca direç gelişiminin azaltılması için veteriner hekimlikte kolistin kullanımının yasaklanması konusu dikkate alınmalıdır. Ayrıca, epidemiyolojik çalışmalarda sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7'lerin gözden kaçmaması için sorbitol fermentasyon bazlı izolasyon protokolünün gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik direçlilik, Kolistin, *mcr*, Sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7, Tüm genom sekans analizi

Colistin Resistance in Cattle and Sheep *E. coli* O157: H7 Isolates and Whole Genome Sequence Analyse of Colistin Resistant Sorbitol Fermentative *E.*

coli O157: H7

Naim Deniz AYZAZ¹, Gizem CUFAOGLU¹, Yesim YONSUL^{1*}, Muammer GONCUOGLU²,
Irfan EROL³

¹ Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Kirikkale University, Kirikkale, Turkey

² Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, Ankara, Turkey

³ Faculty of Health Sciences, Eastern Mediterranean University, Gazimagusa, Turkish Republic of Northern Cyprus

*naimdenizayaz@kku.edu.tr

ABSTRACT

Colistin is a broad spectrum antibiotic of polymyxin E, effective against Gram negative bacteria, including *Enterobacteriaceae*. Although, colistin has become as a last option in human in the last decade due to the increased antibiotic resistance, it is widely used for the treatment of gastrointestinal tract infections of cattle, sheep and poultry. This study aimed to investigate the presence of plasmid-mediated colistin resistance genes (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*) in *E. coli* O157 cattle and sheep isolates, along with their phenotypic resistance and whole genome sequence analyse of a colistin resistant sorbitol fermentative *E. coli* O157:H7. The MIC of the strains were determined by broth microdilution, the presence of *mcr* 1-5 genes were detected by PCR and whole genome sequence analyse was performed by Illumina Next Generation Sequencing. It was found that five of the 49 isolates harbored at least one of the *mcr-2* or *mcr-3* genes. Although, *mcr* genes were not detected in any of the sorbitol positive isolates, three isolates including a sorbitol fermentative were found resistant to colistin with a

MIC value of 128 µg/ml. The genome of sorbitol fermentative isolate didn't show 100% similarity to any sequences in the genome database. Also this isolate carried 62 different antimicrobial resistance genes. This is the first report of plasmid mediated *mcr-2* and *mcr-3* carrying *E. coli* O157:H7 cattle isolates and whole genome sequence of a colistin resistant sorbitol fermentative *E. coli* O157:H7. Cattle can be an important source of colistin resistance and slaughterhouse wastewater is a significant route for dissemination of the plasmid-mediated colistin genes. The use of colistin in veterinary medicine may be considered to be banned to reduce the development of resistance. Also it may be necessary to review the non-sorbitol fermentation based isolation protocol for not missing the sorbitol fermentative *E. coli* O157:H7 in studies.

Keywords: Antibiotic resistance, Colistin, *mcr*, Sorbitol fermentative *E. coli* O157:H7, Whole genome sequence analyse.

GİRİŞ

Kolistin, polimiksin E sınıfı içerisinde yer alan bir antibiyotiktir (Poirel ve ark., 2017). İnsan hekimliğinde, *Escherichia coli* O157:H7 infeksiyonlarının tedavisinde kolistin kullanımı ciddi böbrek toksisitesine yol açan Shiga benzeri toksin (Stx) salınımı nedeniyle tartışmalı olmakla birlikte, sitotoksinlerin salınımını inhibe ederek vero hücrelerini *E. coli* O157:H7'den koruduğu bildirilmiştir (Percivalle ve ark., 2016). Bu nedenle, *E. coli* O157:H7'den kaynaklanan infeksiyonların tedavisinde bir alternatif olan kolistinin kullanımı önem arz etmektedir.

E. coli O 157:H7; hemorajik kolitis (HC) ve hemolitik üremik sendrom (HUS) nedeni olarak dünyanın bir çok bölgesinde halk sağlığını tehdit eden gıda kaynaklı en önemli patojenlerden biridir (Doyle ve ark., 2006). Bakterilerin artan çoklu antibiyotik direncinden dolayı son on on yılda son çare antibiyotik olarak kullanımı yeniden önem kazanmıştır (Borowiak ve ark., 2017). İlk plazmid aracılı kolistin direnç geni (*mcr-1*) 2015 yılında tanımlanmış ve daha sonra *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5* direnç genleri kısa süre içerisinde rapor edilmeye başlamıştır (Carattoli ve ark., 2017; Garcia ve ark., 2018; Liu ve ark., 2016; Xavier ve ark., 2016; Yin ve ark., 2017). Yapılan bu çalışmalar kolistin direncinin arttığını ve kolistin kullanımının yeniden değerlendirilmesi gerektiğini işaret etmektedir. Bu çalışmada, sığır ve koyundan izole edilen *E. coli* O157:H7⁺/H7⁻ izolatlarında plazmid aracılı kolistin direnç genlerinin (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5*) varlığının araştırılması, fenotipik olarak kolistin direncinin belirlenmesi, ve kolistin dirençli sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7'nin tüm genom sekans analizinin yapılması amaçlanmıştır.

MATERYAL METOT

Daha önceki bir çalışmada 720 sığır, 200 koyun ve 24 mezbaha atık suyuna ait örnekten izole edilen 49 *E. coli* O157 izolat dahil edilmiştir. Bu izolatların 39'unun *E. coli* O157:H7⁺ iken 10'unun *E. coli* O157:H7⁻ olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *E. coli* O157:H7⁺ izolatlardan biri ve *E. coli* O157:H7⁻ izolatlardan üçünün sorbitol fermentatif olduğu tespit edilmiştir (Ayaz ve ark., 2014; Gencay, 2014).

İzolatlardaki *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* ve *mcr-5* genlerinin varlığı PCR ile araştırılmıştır. İzolatların minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) broth mikrodilüsyon metodu kullanılmıştır (Thermo Scientific, Sensititre FRCOL, West Sussex, UK) (Testteki kolistin aralığı; 0,12-128 µg / ml).

Sonuçlar Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi'ne (EUCAST) göre yorumlanmış ve 2 µg / ml'den yüksek MİK değerleri dirençli olarak kabul edilmiştir.

Escherichia coli O157:H7 25KA izolatının tüm genom sekans analizi yapılarak antibiyotik direnç genleri tespit edilmiştir. Elde edilen genom dizisinin gen bankasındaki diğer genom dizileri ile karşılaştırılması “MicrobialGenomeBlast” (www.ncbi.nlm.nih.gov) ile yapılmıştır. PRJNA503568 erişim numarasıyla gen bankasında erişimi mevcut bulunmaktadır.

BULGULAR ve TARTIşMA

Çalışmada, 49 sığır ve koyun kökenli *E. coli* O157 izolatından beşinin *mcr-2* veya *mcr-3* genlerinden en az birine sahip olduğu belirlenmiştir. *E. coli* O157: H7⁻ (210KB) ve *E. coli* O157: H7⁺ (34GA) izolatları sadece *mcr-3* için pozitif iken, *E. coli* O157:H7 44GA, 68GA ve 168KA izolatlarında hem *mcr-2* hem de *mcr-3* genleri tespit edilmiştir (Tablo 1). Çalışmada yer alan sorbitol pozitif izolatlarının hiçbirinde *mcr* geni tespit edilmemiş olmakla beraber, sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7 suşu (25KA) 128 µg/ml'lik MİK değeri ile kolistine fenotipik olarak dirençli bulunmuştur.

Mikrodilüsyon test sonuçlarına göre, üç *E. coli* O157: H7 suşu haricinde bütün izolatların kolistine duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Duyarlı izolatların MİK değerleri ≤1.0 µg / ml olarak belirlenmiştir.. 25KA ve 44KA suşlarında *mcr* genleri bulunmamasına rağmen sırasıyla 128 ug / ml ve > 128 ug / ml MİK değerleri ile kolistine fenotipik olarak dirençli oldukları tespit edilmiştir.. Sadece 168KA hem fenotipik olarak dirençli olduğu hem de *mcr-2* ve *mcr-3* genlerini barındırdığı belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. *E. coli* O157 izolatlarının kolistin direnç profili.

İzolat kodu	<i>mcr-1</i>	<i>mcr-2</i>	<i>mcr-3</i>	<i>mcr-4</i>	<i>mcr-5</i>	MİK (µg/ml)
210KB ^a	-	-	+	-	-	1.0
25KA ^b	-	-	-	-	-	128
34GA ^c	-	-	+	-	-	0.5
44GA ^c	-	+	+	-	-	0.25
44KA ^c	-	-	-	-	-	>128
68GA ^c	-	+	+	-	-	0.5
168KA ^c	-	+	+	-	-	128
Diğer 42 izolat	-	-	-	-	-	≥0.5

^a: *E. coli* O157:H7⁻

^b: sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7⁺

^c: non-sorbitol fermentatif *E. coli* O157:H7⁺

Çalışmada, *E. coli* O157: H7 25KA suşu sorbitol fermentatif karakterinin yanı sıra kolistine fenotipik olarak dirençli olması ancak *mcr* genlerinden herhangi birini bulundurmaması sebebiyle tercih edilerek tüm genom dizisi analizi yapılmıştır. Yapılan tüm genom analizinde, izolatın gen bankasındaki diğer genom dizilerinin hiçbirisiyle %100 benzerlik göstermediği, ve 62 farklı antimikrobiyal direnç geni taşıdığı tespit edilmiştir. Bu çalışma, *E. coli* O157:H7 sığır ve koyun izolatlarında *mcr-2* ve *mcr-3* genlerinin ve bir kolistin dirençli sorbitol fermentatif *E. coli* O157: H7'nin bütün genom sekansını ortaya koyan ilk çalışmadır. *Mcr-1* şu ana kadar yapılan çalışmalarda hayvanlarda en yaygın olarak tespit edilen kolistin direnç geni olmasına rağmen, izolatlarımızdan hiçbirinde bu gen veya *mcr-4* ile *mcr-5* genlerinin varlığı tespit edilmemiştir. Bununla birlikte, birden fazla *mcr* geninin birlikte bulunduğunu bildiren pek çok çalışma mevcuttur (Fukuda ve ark., 2018; Garcia ve ark., 2018; Hernández ve ark., 2017; Liu ve ark., 2017; Rebelo ve ark., 2018). Ancak, yaptığımız taramalara göre *mcr-2* ve *mcr-3* genlerinin aynı anda bulunduğu bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Kromozomal aracılı kolistin direncinde, *pmrAB* ve *phoPQ* sistemleri ile regülatör *mgrB*'ye ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (Cannatelli ve ark., 2013; Gunn, 2008). Tüm gen sekans analizi 25KA izolatının kromozomunda bu genleri barındırdığını göstermiştir. Ayrıca 25KA, yine kolistin direncinde rol oynayan fosfoetanolamin transferazı kodlayan *eptA* genini de taşımaktadır. Bunların sonucu olarak, bakteri kolistin direncini elde edebilir.

Bu çalışmanın bulguları, sığır ve koyunların *E. coli* O157: H7'deki kolistin direnci için önemli bir kaynak olduğunu ve mezbaha atık suyunun plazmid aracılı kolistin genlerinin yayılmasında önemli bir yol olabileceğini göstermektedir. Bu sebeple veteriner hekimlikte kolistin kullanımı, giderek artan antibiyotik dirençliliğinin önüne geçilmesi açısından kısıtlanmalıdır. *Mcr* genini taşımayan fakat fenotipik olarak kolistine direnç gösteren izolatların varlığı göz önüne alındığında buna neden olan mekanizmaların ileriki çalışmalarda ayrıntılı olarak araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ayaz ND, YE Gencay, Erol I. 2014. Prevalence and molecular characterization of sorbitol fermenting and non-fermenting *Escherichia coli* O157:H7+/H7- isolated from cattle at slaughterhouse and slaughterhouse wastewater. *Int. J. Food. Microbiol.* 174:31-38.
- Borowiak M, J Fischer, JA Hammerl, RS Hendriksen, I Szabo, and B Malorny. 2017. Identification of a novel transposon-associated phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-5*, conferring colistin resistance in d-tartrate fermenting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B. *J. Antimicrob. Chemother.* 72:3317-3324.
- Cannatelli A, MM D'Andrea, T Giani, V Di Pilato, F Arena, S Ambretti, P Gaibani, and GM Rossolini. 2013. *In vivo* emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapenemases mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoP *mgrB* regulator. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 57:5521-5526.
- Carattoli A, L Villa, C Feudi, L Curcio, S Orsini, A Luppi, G Pezzotti, and CF Magistrali. 2017. Novel plasmid-mediated colistin resistance *mcr-4* gene in *Salmonella* and *Escherichia coli*, Italy 2013, Spain and Belgium, 2015 to 2016. *Euro Surveill.* 22:30589.
- Doyle ME , J Archer, CW Kaspar, and R Weiss. 2006. FRI briefings: Human illness caused by *E. coli* O157:H7 from food and non-food sources. Available at https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/FRIBrief_EcoliO157H7humanillness.pdf (accessed November 7, 2018).
- Fukuda A, T Sato, M Shinagawa, S Takahashi, T Asai, SI Yokota, M Usui, and Y Tamura. 2018. High prevalence of *mcr-1*, *mcr-3* and *mcr-5* in *Escherichia coli* derived from diseased pigs in Japan. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 51:163-164.
- Garcia V, I Garcia-Menino, A Mora, SC Flament-Simon, D Diaz-Jimenez, JE Blanco, M Pilar Alonso, and J Blanco. 2018. Co-occurrence of *mcr-1*, *mcr-4* and *mcr-5* genes in multidrug-

- resistant ST10 Enterotoxigenic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Spain (2006-2017). *Int. J. Antimicrob. Agents.* 52:104-108.
- Gencay YE. 2014. Sheep as an important source of *E. coli* O157/O157:H7 in Turkey. *Vet. Microbiol.* 172:590-595.
- Gunn JS 2008. The *Salmonella PmrAB* regulon: lipopolysaccharide modifications, antimicrobial peptide resistance and more. *Trends Microbiol.* 16:284-290.
- Hernández M, MR Iglesias, D Rodríguez-Lázaro, A Gallardo, N Quijada, P Miguela-Villoldo, MJ Campos, S Piriz, G Lopez-Orozco, C de Frutos, JL Saez, M Ugarte-Ruiz, L Dominguez, and A Queseda. 2017. Co-occurrence of colistin-resistance genes *mcr-1* and *mcr-3* among multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from cattle, Spain, September 2015. *Euro Surveill.* 22:30586.
- Liu YY, Y Wang, TR Walsh, LX Yi, R Zhang, J Spencer, Y Doi, G Tian, B Dong, X Huang, L-F Yu, D Gu, H Ren, X Chen, L Lv, D He, H Zhou, Z Liang, J-H Liu, and J Shen. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *mcr-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect. Dis.* 16(2):161–168.
- Liu L, Y Feng, X Zhang, A McNally, and Z Zonga. 2017. New Variant of *mcr-3* in an Extensively Drug-Resistant *Escherichia coli* Clinical Isolate Carrying *mcr-1* and *bla_{NDM-5}*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 61:e01757-17.
- Percivalle E, V Monzillo, A Pauletto, P Marone, and R Imberti. 2016. Colistin inhibits *E. coli* O157:H7 Shiga-like toxin release, binds endotoxins and protects Vero cells. *New Microbiol.* 39: 119-123.
- Poirel L, A Jayol, and P Nordmann. 2017. Polymyxins: Antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clin. Microbiol. Rev.* 30: 557-596.
- Rebelo AR, V Bortolaia, JS Kjeldgaard, SK Pedersen, P Leekitcharoenphon, IM Hansen, B Guerra, B Malorny, M Borowiak, JA Hammerl, A Battisti, A Franco, P Alba, A Perrin-Guyomard, SA Granier, C De Frutos Escobar, S Malhotra-Kumar, L Villa, A Carattoli, and RS Hendriksen. 2018. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated colistin resistance determinants, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4* and *mcr-5* for surveillance purposes. *Euro Surveill.* 23:17-00672. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.6.17-00672>.
- Xavier BB, C Lammens, R Ruhel, S Kumar-Singh, P Butaye, H Goossens, and S Malhotra-Kumar. 2016. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Euro Surveill.* 21: 30280.

Yin W, H Li, Y Shen, Z Liu, S Wang, Z Shen, R Zhang, TR Walsh, J Shen, and Y Wang. 2017. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. MBio. 8:e00543-17.

Gıda Endüstrisinde ‘Tragakant Gam’ Kullanım Alanları ve Gıdalardaki Fonksiyonel Etkileri

Sema Özmert Ergin¹, S. Seher Akça^{2*}

¹Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü,
Burdur, Türkiye

^{2*} Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye

*sozmert@mehmetakif.edu.tr

ÖZET

Bitkisel gamlar, bazı bitkilerin kök, gövde veya dallarından sıızan polisakkarit yapıda doğal bileşiklerdir. Daha çok kalınlaştırıcı, doku verici, yapıyı düzeltici özellikleriyle gıda endüstrisinde yer alan bitkisel gamların kullanım alanları gitgide genişlemektedir. Kitre zankı olarak da bilinen Tragakant gam, *Astragalus* türü bitkinin gövdesinden ya da dallarından çıkan özsuyunun kurutulması ile elde edilmektedir. Tragakant gam, güvenilir kabul edilen (GRAS) ürünler arasındadır ve Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği’nde E413 koduyla gıda katkı maddesi olarak yer almaktadır. Tragakant gamın bir kısmı suda çözünürken, bir kısmı su ile şişerek jel oluşturur. Bu özelliğiyle eklendiği gıdada kıvam artırıcı, kalınlaştırıcı, jelleştirici ve stabilize edici rol oynamaktadır. Ayrıca ısıya ve asitliliğe dirençli olması bakımından avantajlıdır. Tragakant gam süt ürünleri, et ürünleri, su ürünleri, fırıncılık ürünleri, içecekler, dondurulmuş gıdalar ve yenilebilir kaplamalarda etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Süt endüstrisinde yağsız yoğurt ve peynirlerde yağ ikame edici olarak, dondurmalarda buz kristali oluşumunun engellenmesinde yararlanılmaktadır. Tragakant gam içeren et ürünlerinde pişme kalitesinin iyileştiği, yağ emilimi ve çap küçülmesinin azaldığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda; kaplama materyali olarak kullanıldığında solunumu yavaşlattığı, enzimatik kararmaları önlediği, gıdaların raf ömrünün uzamasını sağladığı belirtilmektedir. Gıda sektörü

için önemli bir ürün olan tragakant gamın gıdalarda uygulama alanlarının artması beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Astragalus*, bitkisel gamlar, gıda katkı maddeleri, kitre, Tragakant gam

‘Tragacanth Gum’ Usage Areas In Food Industry and Its Functional Effects on Foods

Sema Ozmert Ergin¹, S. Seher Akca^{2*}

¹Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Health Sciences, Nutrition and Dietetics

Department, Burdur, Turkey

^{2*} Mehmet Akif Ersoy University, Institute of Health Sciences, Food Hygiene and Technology

Department, Burdur, Turkey

*sozmert@mehmetakif.edu.tr

ABSTRACT

Plant gums are natural compounds in polysaccharide structure that leak from the roots, stems or branches of some plants. The usage areas of plant gums are gradually expanding that mostly take part in food industry with their thickening, giving texture, structure correcting properties. Tragacanth gum, also known as Kitre gum, is obtained by drying the exudate from the stem or branches of the *Astragalus* species plant. Tragacanth gum is among the generally recognized as safe (GRAS) products and is included as a food additive in the Turkish Food Codex Food Additives Regulation with code E413. While a part of the Tragacanth gum dissolves in water, a part of it swells with water to form a gel. With this feature, it plays role of consistency enhancing, thickening, gelling and stabilizing in the food to which it is added. It is also advantageous in that it is resistant to heat and acidity. Tragacanth gum is used effectively in dairy products, meat products, aquaculture products, bakery products, beverages, frozen foods and edible coatings. In dairy industry it is used as fat replacer in non-fat yogurt and cheese, and to prevent ice crystal formation in ice creams. It has been observed that in meat products containing Tragacanth gum; the cooking quality has improved, fat absorption and diameter reduction have decreased. Studies indicate that when used as coating material, it slows respiration, prevents enzymatic browning and increases the shelf life of foods. The Tragacanth

gum, which is an important product for the food sector, is expected to increase its application areas in foods.

Keywords: *Astragalus*, food additives, kitre, plant gums, Tragacanth gum

GİRİŞ

Gamlar, bitkisel ve hayvansal kaynaklardan, doğal olarak, kimyasal modifikasyon ya da mikrobiyal fermentasyon ile elde edilen polisakkaritlerdir (Philips ve Williams, 2000; Kandil, 2017). Gıda endüstrisinde kullanılan doğal gamlar; anyonik sızıntı polisakkaritleri, çekirdek polisakkaritleri, anyonik deniz yosunu polisakkaritleri olarak gruplandırılmaktadır. Bunlar arasında anyonik sızıntı polisakkaritleri, kıvam artırıcı ve stabilize edici fonksiyonlarıyla gıda alanında uzun zamandır kullanılmaktadır (Kulp ve Loewe, 1990; Kılınççeker ve Küçüköner, 2005). Gamlar, bitkilerin kök, gövde ve dallarından doğal olarak sızabildiği gibi, mekanik yaralama sonucu da oluşabilmektedir (Rana ve ark., 2011; Simas-Tosin ve ark., 2010). Gam arabik, tragakant gam, karaya gam, ghatti gam, kondagogu gam gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan gamlardır (Padil ve ark., 2018). Son zamanlarda bazı meyve ağaçlarından (kiraz, kayısı, şeftali, badem gibi) elde edilen gamlardan da fonksiyonel olarak yararlanılmaktadır. Gamların yenilebilir kaplama yapımında kullanımı ile ilgili çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır (Özmert Ergin ve ark., 2018; Hamdani ve ark., 2018; Qian ve ark., 2011).

Tragakant gam, Leguminosae familyasına ait *Astragalus* türü bitkinin öz suyudur. Bu bitki daha çok Türkiye, İran, Suriye ve Hindistan'da kuru ve dağlık alanlarda yetişmektedir (Verbeken ve ark., 2003; Nasiri ve ark., 2018). Geven otu olarak bilinen bitki, genellikle öbekler halinde, beyaz, sarı, pembe ya da mor çiçekleri olan dikenli yapıda bir bitkidir. Bitkinin yaklaşık 2500 türü bulunmaktadır (Maassoumi, 1998). Mayıs-Haziran aylarında geven bitkisinin gövdesi birkaç yerinden özüne kadar kesilir. Bu yaralama işlemi sonucu çıkan öz suyu katılaştır, 21 gün sonra toplanır. Tragakant gam, kitre zıncı olarak bilinmektedir (Kadıoğlu ve ark., 2008).

Asite direnci yüksek bir hidrokolloid olan tragakant gam, 1961 yılında güvenilir ürün (GRAS) olarak kabul edilmiştir (Anderson ve Bridgeman, 1985). Avrupa Birliği Gıda Bilimsel Komitesi tarafından belirlenen E 413 koduyla gıda katkı maddeleri listesinde yerini almıştır (Ghayempour ve ark., 2015). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde de tragakant/kitre gamının gıda maddelerinde quantum satis (belirlenmemiş miktar) prensibine göre kullanımına izin verilmiştir (TGKY, 2008).

Gamların gıdalardaki önemli fonksiyonlarından bazıları; jelleştirici, kalınlaştırıcı/kıvam artırıcı, su tutma kapasitesini artırıcı, stabilize edici, emülsifiye edici, bağlayıcı özellikleridir

(Altuğ, 2009; Ahmad ve ark., 2019). Tragakant gam; suda çözünürlüğünün ve termal stabilitesinin iyi olması, geniş bir pH aralığında dayanıklı olması gibi özellikleri bakımından avantajlıdır ve gıda endüstrisinde olduğu gibi, kozmetik, eczacılık, tekstil alanlarında da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Mayes, 2011; Singh ve Sharma, 2017). Bu derlemede tragakant gamın farklı gıda ürünlerinde kullanımını ve gıdalardaki etkileri incelenmiştir.

TRAGAKANT GAMIN YAPISAL ÖZELLİKLERİ

Tragakant gamın fizikokimyasal özellikleri, türlere ya da yetiştiği bölgeye göre farklılıklar gösterebilmektedir (Balaghi ve ark., 2010). Anyonik bir polisakkarit olan tragakant gamın iki fraksiyonu bulunmaktadır. Bunlardan biri tragakantin denilen, suda çözünebilen kısımdır ve gamın yaklaşık %30-40'ını oluşturmaktadır. Diğeri ise suda çözünmeyen ancak şişebilen, gamın %60-70'lık kısmı olan bassorindir (Mohebbi ve ark., 2012; BeMiller ve Whistler, 2012). Tragakant gam su tutma kapasitesinin yüksek olması, geniş bir pH aralığında dayanıklılık göstermesi, termal stabilitesinin iyi olması, yenilebilir olması, toksik olmaması gibi özellikleri ile gıda endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahiptir (Singh ve Sharma, 2014; Zohuriaan ve Shokrolahi; 2004; Hemmati ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada tragakant gamın su tutma kapasitesinin guar gamı ve keçiyoynuzu gamına göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Silva ve ark., 2017). Tragakant gamın termal analizlerinin yapıldığı bir çalışmada ise, ağırlık kayıplarının 150 °C civarında başladığı belirtilmektedir (Sadeghi ve ark., 2014). Bu sonuç tragakant gamın yüksek sıcaklıklara dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Moleküler ağırlığı yüksek olan ($8,4 \times 10^5$ Da) tragakant gamın hidrolizi sonucunda; arabinoz, ksiloz, fukoz, galaktoz, ramnoz, galaktronik asit elde edilmektedir (Izydorczyk ve ark., 2005; Kurt ve ark., 2016). Yapısında ayrıca magnezyum, kalsiyum ve potasyum tuzları bulunmaktadır. Farzi ve ark. (2015) üç farklı tragakant gam örneklerinin kimyasal analiziyle karbonhidrat oranının % 84-84,8; protein oranının % 0,3-3,8; nem oranının % 8,8-12,9 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır.

SÜT ÜRÜNLERİNDE TRAGAKANT GAM KULLANIMI

Süt ürünleri içerisine çeşitli gamlar ilave edilerek ortaya çıkan sonuçlar birçok çalışma ile incelenmiştir. Gamların yoğurt, peynir, dondurma gibi süt ürünlerinde kıvam artırıcı,

stabilizatör, prebiyotik etkiyi artırıcı, yağ ikame edici gibi önemli işlevleri bilinmektedir (Ghasempour ve ark., 2012; Tromp ve ark., 2004; Mistry, 2001).

Gavlighi ve ark. (2013) tragakant gamın enzimatik olarak elde edilen düşük molekül ağırlıklı fraksiyonlarının *Bifidobacterium longum subsp. longum* (DGCC 232), *B. longum subsp. infantis* (DGCC 233), *B. longum subsp. infantis* (DGCC 1497), *B. longum subsp. infantis* (DGCC 2238), *B. lactis* (HN019, DGCC 2013), *B. longum subsp. longum* (B1-05, DGCC 9917) gelişmesini desteklediğini saptamışlardır. Bununla birlikte, ksiloz ve fruktoz içeren yüksek molekül ağırlıklı fraksiyonunun *Clostridium perfringens* (ATCC 13124)'in gelişmesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Çalışmada tragakant gamın prebiyotik özellikteki fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesinde yeni bir kaynak olabileceği belirtilmektedir.

Az yağlı İran beyaz peynirlerine beş farklı oranda tragakant gam ilave edilerek, peynirlerin tekstürel ve fonksiyonel özellikleri incelenmiştir. Peynirdeki yağ içeriği azaldıkça enstrümental sertlik parametreleri (kırılma, gerilim, elastik modül, depolama modülü ve karmaşık modül) artmıştır. Bununla birlikte, gam konsantrasyonlarındaki artış peynirin beyaz renk verimini artırmış ve mikroyapı daha koyu bir hale gelmiştir. Az yağlı peynirlere tragakant gam ilavesi ile nem oranı artmıştır. Uygun duyu özelliklerin 0,75g gam/kg süt konsantrasyonunda olduğu tespit edilmiştir. Tragakant gamın su bağlama özelliğinin iyi olması peynir üretiminde reolojik özelliklerini geliştirmesi bakımından önemli bir faktördür. Yalnız çalışmada, sertlik olgunlaşma sırasında zamanla azalmıştır ve olgunlaşmanın 42. günü ve sonrasında tragakant gam ilaveli peynirler üzerinde istenmeyen etkiler meydana gelmiştir (Rahimi ve ark., 2007).

Yağsız yoğurta tragakant gam ve peynir altı suyu proteini konsantrasyonunun, yoğurdun fizikokimyasal ve mikroyapısal özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda tragakant gam kullanılarak yoğurt yapımı gerçekleştirilmiştir. Peynir altı suyu proteini konsantrasyon miktarının artması toplam katı madde, toplam protein, asitlik ve kül oranının artmasına neden olurken, tragakant gam kullanımı kimyasal parametreleri çok fazla etkilememiştir. Yağsız yoğurt olan kontrol grupları ile 0,5 g/L tragakant gam ilaveli yoğurtların karşılaştırılmasında yoğurtların sertliği ve sentezlenmesi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tragakant gam oranı 0,5 g/L'nin üzerine çıktığında, daha yumuşak jeller üretilbildiği görülmüştür. Kontrol grubuna göre tragakant gam ilaveli yoğurtlar daha kalın bir yapıya sahiptirler (Aziznia ve ark., 2008).

Azarikia ve Abbasi (2010)'nin çalışmasında tragakant gamın, İran'a özgü yoğurttan yapılan fermente bir içecek olan Doogh yapımında stabilizatör olarak yararlanılabilirliği incelenmiştir. Tragakant gamın suda çözünmeyen kısmı olan bassorin, içeceğin viskozitesini artırarak stabilizasyonu sağlamıştır.

Dondurma üretiminde ve depolanmasında önemli sorunlardan biri buz kristali oluşumudur (Varela ve ark., 2014). Bu sorunu önlemek için dondurmalara farklı stabilizatörler katılmaktadır. Yapılan bir çalışmada süt, şeker ve salep kullanılarak üretilen Kahramanmaraş dondurmalarına tragakant gam ilavesinin dondurmalarındaki etkileri araştırılmıştır (Kurt ve ark., 2016). Dondurmaların tragakant ilavesi ile yapısal özellikleri iyileşmiştir. Daha elastik ve stabil form kazanmalarında tragakant gam etkili olmuştur.

ET ÜRÜNLERİNDE TRAGAKANT GAM KULLANIMI

Gamlar, tatsız, kokusuz, renksiz ve en önemlisi yüksek su tutma kapasitesine sahip bileşiklerdir. Gamlardan az miktarlarda kullanılsa bile pişmiş veya çiğ ürünlerde dokuyu, tekstürü, viskoziteyi artırmaktadırlar. Özellikle dondurma işlemine karşı dayanıklılık göstermeleri sayesinde önemli bir konumdadırlar (Giese, 1992; Kılınççeker, 2017).

Kılınççeker (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, tavuk köftelerine tragakant, tara ve agar agar gamlarından farklı oranlarda ilave ederek sonuçlar incelenmiştir. Çalışmada, tragakant gam ile hazırlanan kızartılmış tavuk köftesi örneklerinin en iyi parlak kırmızı renge sahip örnekler olduğu belirtilmektedir. Kullanılan gamların tümü köftelerde çap küçülmesi ve yağ emiliminin azalmasını sağlamıştır.

Atashkar ve ark. (2018) az yağlı sosislere k-karragenan, konjak ve tragakant gamlarını ilave ederek sosislerin çiğnenebilirlik, sertlik, yapışkanlık özelliklerindeki değişimleri incelemişlerdir. Az yağlı sosislere %0,5, %1 ve %1,5 oranlarında tragakant gam eklemek sosislerin sertliğini artırmaktadır. Sertlik ve nem oranlarında negatif bir korelasyon belirlenmiştir. 30 günlük depolama süresinde tragakant gam içeren sosislerde çiğnenebilirlik artmış olup, en düşük %1,5 oranında görülmüştür. Bu çalışmada konjak, k-karragenan ve

tragakant gamların ilavesi ile az yağlı sosislerin elde edilmesi için %1,5 oranlarının sertlik, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik özelliklerinin en uygun aralık olduğu belirtilmektedir.

Emülsiyon tipi sosislerde yağ ikame edici olarak tragakant gamdan yararlanılmıştır. *Astragalus gossypinus* ve *Astragalus compactus* türlerinden altı farklı oranda katılarak hazırlanan sosislerde fizikokimyasal özellikler, oksidatif stabilite, tekstürel özellikler incelenmiştir. En yüksek oran olan %1 tragakant gam ilavesinde pişme kayıpları azalmış, stabilite ve tekstürel özellikler gelişme göstermiştir. Yağ ikame edici özelliğin sağlandığı en iyi oran %0,5 *A. gossypinus* ilavesi olmuştur (Abbasi ve ark., 2019).

DİĞER GIDALARDA TRAGAKANT GAM KULLANIMI

Süt ve et ürünleri dışında tragakant gam birçok gıdanın yapısına katılmakta ve önemli fonksiyonel özelliklerinden yararlanılmaktadır. Meyve ve sebzelerde, ekmekte, ketçap, mayonez ve bazı soslarda, içeceklerde, jölelerde, tatlılarda tragakant gam yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Weiping, 2000; Zare ve ark., 2019).

Tragakant gam, ksantan gam ve guar gamları ketçap yapımında kullanılmış ve örneklerin reolojik, tekstürel özellikleri ve stabiliteleri incelenmiştir. Gamlar ketçap örneklerinde kıvam artırıcı etki göstermişlerdir. Stabilite ve tekstür bakımından ksantan gam diğerlerinden daha etkili iken, tragakant gam içeren ketçap örnekleri en yüksek viskoziteye ve bağlayıcılığa sahip örnekler olmuşlardır (Amiri ve ark., 2015).

Düşük yağlı mayonez üretiminde tragakant gamın etkili olduğu yapılan bir çalışma ile ortaya çıkarılmıştır. %20 yağ içeren tragakant gamla hazırlanan mayonez örnekleri, yağ oranı %75 olan kontrol örnekleri ile benzer duyusal özellik göstermişlerdir. Çalışmada, yağ oranı %20 olan tragakant gam içeren örnekler en yüksek beğeni puanlarına sahip olmuşlardır. Ayrıca az yağlı olması bakımından daha sağlıklı bir ürün elde edilmiştir (Amiri Aghdaei ve ark., 2012).

Yağ ikame edici, hacim artırıcı gibi özellikleriyle tragakant gam fırıncılık ürünlerinde de uzun zamandır kullanılmaktadır. Pasta, kek, kurabiye, bisküvi gibi ürünlerde daha az yağ içeren sağlıklı ürünler elde edilebilmektedir (Gervajio ve Shahidi, 2005). Yapılan bir çalışmada

tragakant gamın kurabiye üretiminde alternatif bir yağ ikame edici olabileceği bildirilmiştir (Gharaie ve ark., 2019).

YENİLEBİLİR KAPLAMALARDA TRAGAKANT GAM KULLANIMI

Gıda endüstrisinde tragakant gamın kullanıldığı diğer bir alan da yenilebilir film ve kaplamalardır. Gıdalarda bozulmaların, kalite kayıplarının, mikrobiyel kontaminasyonun önlenmesi, yağ emiliminin azaltılması, bağlayıcılığın sağlanması, gıdaların duyuşal özelliklerinin iyileştirilmesi gibi faktörlere karşı yenilebilir kaplamalardan yararlanılmaktadır (Valdes ve ark., 2017; Kılınççeker ve Küçüköner, 2005).

Yenilebilir kaplama üretiminde gamlar farklı fonksiyonel özellikleriyle öne çıkmaktadırlar. Tragakant gam içeren yenilebilir kaplamalar bazı meyve-sebzeler, süt ürünleri, su ürünleri, et ürünlerinin kaplanması için kullanılmaktadır. Mohebbi ve ark. (2012) mantarların raf ömrünün uzatılması amacıyla aloe vera jeli ve tragakant gam içeren bir yenilebilir kaplama hazırlamışlardır. Kaplanan mantarlarda su kaybı azalmış, sertlik korunarak renk değişikliği (kararma) önlenmiştir.

Tragakant gam kaplama çözeltisi ile kaplanan Cheddar peynirlerinin kalite özelliklerinin iyileştiği bildirilmiştir (Pourmolaie ve ark., 2018). Peyniraltı suyu proteinine tragakant ilavesi ile hazırlanan yenilebilir filmlerin daha esnek ve saydam bir yapı kazandığı, su geçirgenliğinin azaldığı ortaya çıkarılmıştır (Tonyalı ve ark., 2018).

Jafari ve ark. (2018) dilimlenmiş elmaları; soya fasulyesi polisakkariti ve tragakant gam içeren yenilebilir kaplama ile kaplayarak elmaların kalite özelliklerini incelemiştir. 12 gün depolama sonucunda, kaplanan elma dilimlerinde kararmaların ve C vitamini kaybının kontrol örneklerine göre az olduğu bildirilmektedir. Tragakant gam içeren yenilebilir kaplama dilimlenmiş muzlarda da benzer etki göstermiştir (Farahmandandfar ve ark., 2017).

Kızartılarak tüketilen ürünlerde yağ alımını azaltmak amacıyla kaplamalardan yararlanılabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, %2 tragakant gam içeren kaplama materyali ile patates cipsleri kaplanmıştır. Kızartılan patates cipslerinde yağ alımı önemli ölçüde azaldığı

gibi; ürün renk, tat ve tekstür bakımından yüksek beğeni puanlarına sahip olmuştur (Garmakhany ve ark., 2008).

SONUÇ

Tragakant gamın elde edildiği geven bitkisi ülkemizde dağlık alanlarda yoğun olarak yetişebilen bir bitkidir. Bu bitkinin özsuyu olan tragakant gam, gıda endüstrisinde gıda katkı maddesi olarak tanınmaktadır. Gıdalarda etkili bir kıvam artırıcı ve stabilize edici özelliği bulunmakta iken; sağlıklı ürünlerin elde edilmesi amacıyla da tragakant gamdan yararlanıldığı görülmektedir. Beslenmeyle doğrudan ilişkili hastalıkların yaygınlaşmasıyla birlikte; daha sağlıklı, düşük kalorili ürünlerin üretimine yönelik çalışmalar artmaktadır. Tragakant gamın önemli bir fonksiyonu olan yağ ikame ediciliği ile yağsız ya da az yağlı ürünler elde edilebilmektedir. Yenilebilir kaplama olarak kullanıldığında da pişme sırasında yağ emilimini engelleyici rol oynamaktadır. Ayrıca gıdaların su kaybını önleyerek raf ömürlerinin uzamasında etkili olmaktadır. Hem gıdaların yapısal özelliklerinin iyileştirilmesi hem de insan sağlığına yararlı ürünler elde edilmesi konularında tragakant gamın fonksiyonelliği ile ilgili çalışmalar artırılmalı; gıda endüstrisinde doğal katkı maddelerinin kullanımı önem kazanmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abbasi E, Sarteshnizi RA, Gavlighi HA, Nikoo M, Azizi MH, Sadeghinejad N. 2019. Effect of partial replacement of fat with added water and tragacanth gum (*Astragalus gossypinus* and *Astragalus compactus*) on the physicochemical, texture, oxidative stability, and sensory property of reduced fat emulsion type sausage. *Meat Sci.*, 147: 135-143.
- Ahmad S, Ahmad M, Manzoor K, Purwar R, Ikram S. 2019. A review on latest innovations in natural gums based hydrogels: Preparations & applications. *Int J Biol Macromol.*, 136: 870-890.
- Altuğ T. 2009. Gıda katkı maddeleri. 3. baskı, İzmir. Sidas Medya Ltd. Şti. ISBN 978-975-97408-0-1.
- Amiri Aghdaei SS, Aalami M, Garmekhane AD. 2012. Effect of gum tragacanth as a fat replacer on rheological, sensory and texture properties of low fat mayonnaise. *Iranian Food Science and Technology Research*, 8(2): 180-189.

- Amiri EO, Nayebzadeh K, Mohammadifar MA. 2015. Comparative studies of xanthan, guar and tragacanth gums on stability and rheological properties of fresh and stored ketchup. *J Food Sci Technol.*, 52(11): 7123-7132.
- Anderson DMW, Bridgeman MME. 1985. The composition of the proteinaceous polysaccharides exuded by astragalus microcephalus, *A. Gummifer* and *A. Kurdicus*-The sources of Turkish gum tragacanth. *Phytochem.*, 24: 2301-2304.
- Atashakar M, Hojjatoleslami M, Boroujeni LS. 2018. The influence of fat substitution with k-carrageenan, konjac, and tragacanth on the textural properties of low-fat sausage. *Food Sci Nutr.*, 6: 1015-1022.
- Azarikia F, Abbasi S. 2010. On the stabilization mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by gum tragacanth. *Food Hydrocoll.*, 24: 358-363.
- Aziznia S, Khosrowshahi A, Madadlou A, Rahimi J. 2008. Whey protein concentrate and gum tragacanth as fat replacers in nonfat yogurt: chemical, physical, and microstructural properties. *J Dairy Sci.*, 91: 2545-2552.
- Balaghi S, Mohammadifar M, Zargaraan A. 2010. Physicochemical and rheological characterization of gum tragacanth exudates from six species of Iranian Astragalus. *Food Biophys.*, 5(1): 59-71.
- BeMiller JN, Whistler RL. 2012. *Industrial gums: Polysaccharides and their derivatives*. 3rd ed. New York. Academic Press. ISBN: 9780080926544.
- Farahmandfar R, Mohseni M, Asnaashari M. 2017. Effects of quince seed, almond, and tragacanth gum coating on the banana slices properties during the process of hot air drying. *Food Sci Nutr.*, 5(6): 1057-1064.
- Farzi M, Yarmand MS, Safari M, Emam-Djomeh Z, Mohammadifar MA. 2015. Gum tragacanth dispersions: particle size and rheological properties affected by high-shear homogenization. *Int J Biol Macromol.*, 79: 433-439.
- Garmakhany AD, Mirzaei HO, Nejad MK, Maghsudlo Y. 2008. Study of oil uptake and some quality attributes of potato chips affected by hydrocolloids. *Eur J Lipid Sci Technol.*, 110: 1045-1049.
- Gavlighi HA, Meyer AS, Mikkelsen JD. 2013. Tragacanth gum: functionality and prebiotic potential. *Agro Food Industry Hi Technol.*, 24 (2): 46-48.
- Gervajio G. 2005. *Bailey's industrial oil and fat products*. (Shahidi F). 2005. *Bailey's industrial oil and fat products*. 6th ed. New York: Wiley, Interscience. ISBN: 978-0-471-38460-1.

- Gharaie Z, Azizi MH, Barzegar M, Gavlighi HA. 2019. Gum tragacanth oil/gels as an alternative to shortening in cookies: Rheological, chemical and textural properties. *LWT-Food Sci Technol.*, 105: 265-271.
- Ghasempour Z, Alizadeh M, Bari MR. 2012. Optimization of probiotic yoghurt production containing zedo gum. *Int J Dairy Technol.*, 65(1):118-125.
- Ghayempour S, Montazer M, Mahmoudi M. 2015. Tragacanth gum as a natural polymeric wall for producing antimicrobial nanocapsules loaded with plant extract. *Int J Biol Macromol.*, 81: 514-520.
- Giese J. 1992. Developing low-fat meat products. *Food Technol.*, 46: 100-108.
- Hamdani AM, Wani IA, Bhat NA, Masoodi FA. 2018. Chemical composition, total phenolic content, antioxidant and antinutritional characterisation of exudate gums. *Food Biosci.*, 23: 67-74.
- Hemmati K, Masoumi A, Ghaemy M. 2016. Tragacanth gum-based nanogel as a super paramagnetic molecularly imprinted polymer for quercetin recognition and controlled release. *Carbohydr. Polym.*, 136: 630-640.
- Izydorczyk M, Cui SW, Wang Q. 2005. *Polysaccharide Gums: Structures, Functional Properties and Applications*, USA. CRC Press.
- Jafari S, Hojjati M, Noshad M. 2018. Influence of soluble soybean polysaccharide and tragacanth gum based edible coating to improve the quality of fresh-cut apple slices. *J Food Process Preserv.*, e13638.
- Kadioğlu B, Kadioğlu S, Turan Y. 2008. Gevenlerin (*Astragalus* sp.) farklı kullanım alanları ve önemi. *Alinteri*, 14(B): 17-26.
- Kandil M, Yılmaz Ersan L, Özcan T, Akpınar Bayizit A. 2017. Gamların prebiyotik özellikleri. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 18:18-26.
- Kılınççeker O, Küçüköner E. 2005. Gıdalarda gamların yenilebilir film olarak kullanımı. *Gıda*, 30(3): 181-186.
- Kılınççeker O. 2017. Tara, tragakant ve agar agar gamlarının tavuk köftelerde kullanımı. *Gıda*, 3: 219-228.
- Kulp K, Loewe R. 1990. *Batters and breadings in food processing*. USA. American Association of Cereal Chemists. Minnesota, 268 p.
- Kurt A, Cengiz A, Kahyaoğlu T. 2016. The effect of gum tragacanth on the rheological properties of salep based ice cream mix. *Carbohydr Polym.*, 143: 116-123.
- Maassoumi AA. 1998. *Astragalus L. in the World, Check-list*. Tehran: Jahad-e Sazandgi Research Institute of Forest and Rangelands.

- Mayes JM. 2011. Gum tragacanth and karaya. In A. Imeson (Ed.). Food stabilisers, thickeners and gelling agents. Singapore: John Wiley & Sons, First ed., pp. 167-179.
- Mistry VV. 2001. Low fat cheese technology. *Int Dairy J.*, 11: 413-422.
- Mohebbi M, Ansarifard E, Hasanpour N, Amiryousefi MR. 2012. Suitability of aloe vera and gum tragacanth as edible coatings for extending the shelf life of button mushroom. *Food Bioprocess Technol.*, 5: 3193-3202.
- Nasiri M, Barzegar M, Sahari MA, Niakousari M. 2018. Application of Tragacanth gum impregnated with *Satureja khuzistanica* essential oil as a natural coating for enhancement of postharvest quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Int J Biol Macromol.*, 106: 218-226.
- Özmert Ergin S, Yaman H, Dilek M. 2018. The usage of edible films extracted from cherry and apricot tree gums for coating of strawberry (*Fragaria ananassa*) and loquat (*Eriobotrya japonica*) fruits. *Turkish JAF Sci Tech.*, 6(5): 561-569.
- Padil VVT, Waclawek S, Cernik M, Varma RS. 2018. Tree gum-based renewable materials: Sustainable applications in nanotechnology, biomedical and environmental fields. *Biotechnol Adv.*, 36: 1984-2016.
- Phillips GO, Williams PA. 2000. Handbook of Hydrocolloids. CRC Press, Boca Raton, Florida. ISBN-978 1 84569 414 2.
- Pourmolaie H, Asl AK, Ahmadi M, Zomorodi S, Raeisi SN. 2018. The effect of guar and tragacanth gums as edible coatings in cheddar cheese during ripening. *J Food Saf.*, 38:1-9
- Qian HF, Cui SW, Wang Q, Wang C, Zhou HM. 2011. Fractionation and physicochemical characterization of peach gum polysaccharides. *Food Hydrocoll.*, 25: 1285-1290.
- Rahimi J, Khosrowshahi A, Madadlou A, Aziznia S. 2007. Texture of low-fat Iranian white cheese as influenced by gum tragacanth as a fat replacer. *J Dairy Sci.*, 90: 4058-4070.
- Rana V, Rai P, Tiwary RS, Singh RS, Kennedy CJ, Knill CJ. 2011. Modified gums: approaches and applications in drug delivery. *Carbohydr Polym.*, 83: 1031-1047.
- Sadeghi S, Rad FA, Moghaddam AZ. 2014. A highly selective sorbent for removal of Cr(VI) from aqueous solutions based on Fe₃O₄/poly(methyl methacrylate) grafted Tragacanth gum nanocomposite: Optimization by experimental design. *Mater. Sci. Eng., C* 45: 136-145.
- Silva C, Torres MD, Chenlo F, Moreira R. 2017. Rheology of aqueous mixtures of tragacanth and guar gums: Effects of temperature and polymer ratio. *Food Hydrocoll.* 69: 293-300.
- Simas-Tosin FF, Barraza RR, Petkowicz CLO, Silveira JLM, Sasaki GL, Santos EMR, Gorin PAJ, Iacomini M. 2010. Rheological and structural characteristic of peach tree gum exudate. *Food Hydrocoll.*, 24: 486-493.

- Singh B, Sharma V. 2014. Influence of polymer network parameters of tragacanth gum-based pH responsive hydrogels on drug delivery. *Carbohydr Polym.*, 101: 928-940.
- Singh B, Sharma V. 2017. Crosslinking of poly(vinyl pyrrolidone)/acrylic acid with tragacanth gum for hydrogels formation for use in drug delivery applications. *Carbohydr Polym.*, 157: 185-195.
- TGKY. 2008. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Renklendiriciler ve Tatlandırıcılar Dışındaki Gıda Katkı Maddeleri Tebliği. T.C. Resmi Gazete. Erişim adresi: <https://kms.kaysis.gov.tr/Home/Goster/42410?AspxAutoDetectCookieSupport=1>. [Erişim: 12/07/2019].
- Tonyalı B, Çıkrıkcı S, Öztop MH. 2018. Physicochemical and microstructural characterization of gum tragacanth added whey protein based films. *Food Res Int.*, 105: 1-9.
- Tromp RH, de Kruif CG, Van Eijk M, Rolin C. 2004. On the mechanism of stabilisation of acidified milk drinks by pectin. *Food Hydrocoll.*, 18: 565-572.
- Valdes A, Ramos M, Beltran A, Jimenez A, Garrigos MC. 2017. State of the art antimicrobial edible coatings for food packaging applications. *Coatings*, 7(4): 56.
- Varela P, Pintor A, Fiszman S. 2014. How hydrocolloids affect the temporal oral perception of ice cream. *Food Hydrocoll.*, 36: 220-228.
- Verbeke D, Dierckx S, Dewettinck K. 2003. Exudates gums: occurrence, production and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 63: 10-21.
- Weiping W. 2000. Tragacanth and karaya. (Philips and Williams). In: *Handbook of Hydrocolloids*. UK. Woodhead Publishing Ltd., pp. 231-246. ISBN: 1855735016.
- Zare EN, Makvandi P, Tay FR. 2019. Recent progress in the industrial and biomedical applications of tregacanth gum: a review. *Carbohydr Polym.*, 212: 450-467.
- Zohuriaan MJ, Shokrolahi F. 2004. Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer Testing*, 23(5): 575-579.

Geleneksel Yöntemle Üretilerek Yerel Marketlerde Satışa Sunulan Tereyağlarında Farklı Yağların Varlığının Araştırılması

Semra GÜRBÜZ^{1*}, Aslı ÇELİKEL GÜNGÖR¹

^{1*}Mardin Artuklu Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü,
Mardin, Türkiye.

*semragurbuz@gmail.com

ÖZET

Bu çalışma, geleneksel yöntemle üretilmiş ve yerel marketlerde ambalajsız olarak satışa sunulan tereyağlarında Reichert -Meissl değerinin belirlenerek, tereyağlarına farklı yağların katılması ile yapılan hile uygulamalarının varlığının tespiti amacı ile yapıldı. Çalışmada 2019 yılında Mardin'deki marketlerden satın alınan 56 adet tereyağı örneği kullanıldı ve tereyağlarının Reichert-Meissl değeri TS 1331 standardına uygun olarak titrimetrik metot kullanılarak belirlendi. Analizi yapılan tereyağlarının Reichert Meissl değeri 1.1- 29 arasında ve ortalama olarak 16.62 ± 9.58 olarak tespit edildi. Analizi yapılan tereyağı örneklerinin % 62.5 (35)'unun Reichert Meissl değerinin 24'den daha düşük olduğu belirlendi. Çalışmada elde edilen bulgular, tüketici sağlığının korunması, tüketicinin aldatılmasının ve haksız rekabetin önlenmesi açısından resmi kontrollerin etkinliğinin ve bilinçlendirme çalışmalarının artırılmasının önemini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Gıda hileleri, gıda güvenliği, Mardin, Reichert Meissl değeri, tereyağı

Investigation of the Presence of Different Fats in Butter Produced by Traditional Method and Marketed in Local Markets

Semra GÜRBÜZ^{1*}, Aslı ÇELİKEL GÜNGÖR

^{1*} Mardin Artuklu University, Tourism Faculty, Gastronomy ve Culinary Art, Mardin,
Turkey.

[*semragurbuz@gmail.com.tr](mailto:semragurbuz@gmail.com)

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence of adulteration practices with the addition of different fats in butter by determining the Reichert-Meissl value in butter samples produced by traditional method and marketed unpackaged in local markets. In the study, 56 butter samples which purchased from the markets in Mardin in 2019 were used and the Reichert-Meissl values of the butter samples were determined using titrimetric method in accordance with TS 1331 standard. Reichert Meissl value of the analyzed butter was found between 1.1-29 and 16.62 ± 9.58 on average. It was determined that 62.5% (35) of Reichert Meissl values of butter samples were less than 24. The findings of the study showed the importance of increasing the effectiveness of official controls and raising awareness activities in terms of protecting consumer health, preventing consumer deceit and unfair competition.

Keywords: Butter, food adulteration, food safety, Mardin, Reichert Meissl value

GİRİŞ

Yüzyıllardır bilinen bir süt ürünü olan tereyağı, tek başına ya da yiyeceklerin bileşimine katılarak tüketilen, besleyici olması yanında sağlık açısından da çeşitli faydaları bulunan bir gıda maddesidir. Türk Gıda Kodeksi (TGK)'nde tereyağı; ağırlıkça en az % 80, en fazla % 90 oranında süt yağı, en fazla % 2 oranında yağsız süt kuru maddesi ve en fazla % 16 oranında su içeriğine sahip ürün olarak tanımlanmaktadır (TGK, 2005). Protein, kalsiyum ve fosfordan zengin olan tereyağı, yağda çözünen A, D, E, K vitaminleri için önemli bir potansiyel kaynaktır. Yağ asitleri, esansiyel yağ asitleri, laktonlar, metil ketonlar, dimetil ve diasetil sülfür ile vücudu serbest radikal hasarlarından koruyan antioksidanlar, vücutta bağışıklığı destekleyen konjuge linoleik asit de tereyağının bileşiminde yer alan maddeler arasındadır (Fadzlillah ve ark., 2013; Kahyaoğlu ve Çakmakçı, 2016).

Türkiye'de endüstriyel olarak üretilen tereyağının yanında kırsal alandaki küçük hayvancılık işletmelerinde geleneksel yöntemle tereyağı üretimi devam etmekte ve bu işletmelerde üretilen tereyağının bir kısmı yerel marketlerde ambalajsız olarak satışa sunulmaktadır.

Diğer yağlara göre ekonomik değeri daha yüksek olan tereyağına, düşük ekonomik değere sahip palmye yağı, kolza tohumu yağı, ayçiçeği yağı, pamuk yağı veya soya fasulyesi yağı gibi bitkisel kaynaklı yağlar ile koyun yağı gibi hayvansal kaynaklı yağlar karıştırılarak tağışış yapılabilmektedir (Rotar, 2010; Derewiaka ve ark., 2011; Fadzlillah ve ark., 2013; Lohumi ve ark., 2018).

Tereyağlarında süt yağı dışındaki yağların varlığının tespiti için; Kapillar Kolon Gaz Kromatografi (Dıraman, 2006) Diferansiyel Tarama Kalorimetrisi (Aktaş ve Kaya, 2001) Raman Spektroskopisi (Lohumi ve ark., 2018), Erime Noktası, Reichert-Meissl (RM) Değeri, Sabunlaşma Sayısı ve İyot Sayısı gibi yağ sabitlerini (Kahyaoğlu ve Çakmakçı, 2016) belirleyen yöntemler kullanılmaktadır.

Reichert Meissl değerinin analizi, süt yağına çok özel olan bütirik asit ve kaproik asit gibi düşük zincirli yağ asitlerini ölçtüğü için, süt yağının ekonomik değeri düşük yağlarla tağışışını tespit etmek için kullanılan önemli bir yöntemdir (Gandhi ve ark., 2014). Saf tereyağı için, ucucu ve

suda çözünen bütirik ve kaproik asitin RM değerleri 19 ile 34 arasındadır ve sadece nadir durumlarda 24'ün altına düşmektedir (Deelstra ve ark., 2014). Süt yağının RM değeri diğer tüm yağlardan yüksektir ve RM değerinin $\frac{3}{4}$ 'ü bütirik asit, $\frac{1}{4}$ 'ü ise kaproik asit kaynaklıdır (Gandhi ve ark., 2014).

Bu çalışma, geleneksel yöntemle üretilmiş ve yerel marketlerde ambalajsız olarak satışa sunulan tereyağlarında RM değerinin belirlenerek, tereyağlarına farklı yağların katılması ile yapılan tağışış uygulamalarının varlığının tespiti amacı ile yapıldı.

MATERYAL ve METOT

Tereyağı örnekleri

Çalışmada Mardin'deki yerel marketlerden 2019 yılı Mayıs-Ağustos ayları arasında satın alınan 56 adet ambalajsız tereyağı örneği kullanıldı. Yaklaşık 30-50 g arasında alınan tereyağı örnekleri soğuk zincirde laboratuvara getirildi ve analizleri yapılmaya kadar + 4 °C de saklandı. Tereyağlarının RM değeri TS 1331 standardına uygun olarak titrimetrik metot kullanılarak belirlendi.

RM Analizi

Suyundan ve tortusundan ayrılmış 5 g tereyağı örneği, 300 ml'lik dibi düz olan damıtma balonuna konularak üzerine 20 g (16 ml) gliserin ve 2 ml % 44'lük NaOH çözeltisi eklendi. Damıtma balonu içindeki karışım hafif bek alevi üzerinde çalkalanarak sabunlaşması sağlandı. Sıvı tamamen berraklaşıp açık sarı renk alınca ve köpürme bitince ısıtma işlemine son verildi. Balon bir asbest üzerine koyularak ağzı saat camı ile örtüldü ve 80° C'ye kadar soğumaya bırakıldı. Üzerine 20 dakika kaynatılmış sudan 90 ml eklenerek karıştırıldı. Damıtma düzeneğindeki destilat toplama kısmına, 100 ve 110 ml'lik hacim yerleri işaretlenmiş bir balon joje yerleştirildi. Takiben berrak sabun çözeltisine kaynamanın sakin olması için 0.5 g toz sünger taşı ve 50 ml 1 N'lik H₂SO₄ çözeltisi eklendikten sonra balon damıtma cihazına bağlanarak damıtıldı. Damıtma 19-21 dakikada bitecek, destilat sıcaklığı 19-21° C arasında olacak şekilde su akış hızı ayarlandı. Damıtma 110 ml işaretli yere yaklaşıncaya su ve alev

kapatıldı, son damlalarla 110 ml çizgisine geldiğinde balon sistemden ayrıldı. Balonun ağzı mantar ile kapatılarak, 110 ml işaretinin olduğu yere kadar 20° C'deki suya yerleştirildi ve 15 dakika tutuldu. Balon sudan çıkarıldı, kurulandı, seviye düşmüş ise saf su ile 110 ml çizgisine tamamlandı. Destilat çok çalkalanmadan bir iki kez alt üst edildi ve 100 ml'lik bir balon jöjeye 9 cm çaplı bir süzgeç kağıdından süzüldü, süzüntü berrak olana kadar süzme işlemi tekrarlandı. Berrak destilattan 100 ml alınarak üzerine 5 damla fenolfitalein indikatörü eklendi ve açık pembe renk en az 30 saniye süre ile kalıncaya kadar 0.1 N NaOH çözeltisi ile titre edildi ve harcanan hacim kaydedildi. Aynı analiz yağ örneği kullanılmadan da kontrol analizi olarak yapıldı ve harcanan NaOH miktarı kaydedildi. Kontrol analizi için harcanan NaOH miktarı 0.5 ml'yi geçerse tüm analiz tekrarlandı.

Hesaplamalar

RM Sayısı = 1,1. F (V₁-b)

V₁: Tereyağı örneğinin analizinde harcanan NaOH çözeltisi hacmi , ml

b: Kontrol için yapılan analizde harcanan NaOH çözeltisi hacmi , ml

F: Titrasyonda kullanılan 0.1 N NaOH çözeltisinin faktörü (TS 1331, 1995)

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada analizi yapılan 56 tereyağı örneğinin RM değeri 1.1- 29 arası değerlerde ve ortalama olarak 16.62 olarak tespit edilmiştir. Toplam 56 tereyağı örneğinin % 62.5'inin RM değerinin taşış yapılmamış tereyağlarının sahip olması gereken en düşük RM değeri olan 24 değerinden daha düşük olduğu, % 37.5'inin ise 24 ve üzerinde RM değerine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo).

Tablo 1. Analizi yapılan tereyağlarında tespit edilen RM değerlerinin dağılımı

RM değeri	Örnek sayısı (%)	RM değeri	
		En düşük – En yüksek	Ortalama ±Standart sapma
≥24	21 (37.5)	24-29	25.81±1.47
24 >	35 (62.5)	1.1-23.5	11.10±7.98
≥24- 24 >	56	1.1-29	16.62±9.58

Bu çalışmada, tereyağlarının % 62.5'inin RM değeri 1.1-23.5 arasında tespit edilmiştir. Yalçın ve ark. (1993) tarafından Konya piyasasından temin edilen 15 tereyağı örneği ile yapılan bir çalışmada; tereyağlarının RM değerinin 22.65-28.40 arasında tespit edildiği ve analizi yapılan tereyağlarının % 33'ünün 24'den daha düşük RM değerine sahip olduğunun belirlendiği bildirilmektedir. Bu oran bizim çalışmamızda tespit ettiğimiz % 62.5 oranından oldukça düşüktür.

Çelik ve Bakırcı (2000) tarafından Erzurum ilindeki 11 küçük ölçekli hayvancılık işletmesi ve 22 aile işletmesinden alınan toplam 33 yemeklik tereyağı üzerinde yürütülen çalışmada; aile işletmelerinden alınan tereyağlarında, RM değerinin 22.70-29.75 arasında ve küçük ölçekli hayvancılık işletmelerinden alınan tereyağlarında ise 11.62-28.51 arasında tespit edildiği ve beş tereyağı örneğinin RM değerinin 24'den daha düşük olduğunun belirlendiği bildirilmektedir. Bu çalışmada tespit edilen en yüksek RM değerleri bizim çalışmamızdaki bulgular ile benzer olmakla birlikte, en düşük RM değerleri ile 24'ün altında RM değerine sahip örnek oranı oldukça farklılık göstermektedir. Buna karşılık Kılıç Altun ve Paksoy (2018) tarafından yerel marketlerden toplanan 120 tereyağı örneği ile yapılan bir çalışmada; 0.23-31.11 arasında tespit edilen RM değerleri, bizim çalışmamızla oldukça benzerdir.

Kahyaoğlu ve Çakmakçı (2014) tarafından tereyağının margarin ile tağışını tespit amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, saf tereyağı ve margarin örneklerinde RM değerinin ortalama olarak sırası ile 26.18 ve 0.55 olarak belirlendiği, margarin katkı seviyesi arttıkça örneklerin RM değerinin margarine yaklaştığını belirtmektedirler.

Saf tereyağındaki RM değeri Sağdıç ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada keçi, koyun ve sığır tereyağlarında sırası ile 27.27, 27.94 ve 26.88 olarak belirlenirken Gandhi ve ark (2014)

tarafından yapılan çalışmada palmiye yağının RM değerinin 0.44 - 0.99 arasında, koyun vücudu yağının RM değerinin ise 0.33 - 0.55 arasında belirlendiği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular süt yağı ve diğer bitkisel ve hayvansal kökenli yağların RM değerlerinin birbirinden oldukça farklı olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak; bu çalışmada incelenen tereyağı örneklerinden 24'ün altındaki RM değerine sahip örneklerde süt yağı dışında yağların bulunabileceği anlaşılmaktadır. Bu tür tağışış uygulamaları tüketici sağılığı ve güvenini olumsuz yönde etkilemesi yanında, tüketicinin aldatılmasına ve sektörde haksız rekabete de neden olmaktadır. Gıda güvenliğini sağılamak, tüketici haklarını korumak ve haksız rekabeti önlemek için; endüstriyel olarak üretilen tereyağları yanında, tüketicinin doğal ve besleyici olduğı düşüncesi ile aldığı ve yerel marketlerde satılan tereyağlarında da yetkili otoritelerce kontrollerin yapılması ve üretici ve tüketicinin bilinçlendirilmesine yönelik çalışmaların artırılması önemli görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aktaş N, Kaya M. 2001. Detection of beef body fat and margarine in butterfat by differential scanning calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry.*, 66: 795- 801.
- Çelik Ş, Bakirci İ. 2000. A Study on the Physical and Chemical Properties of Cookery- Type Butter. *Pakistan Journal of Biological Sciences.*, 3: 596-598.
- Deelstra H, Burns DT, Walker MJ. 2014. The adulteration of food, lessons from the past, with reference to butter, margarine and fraud. *Eur Food Res Technol.*, 239:725–744.
- Derewiaka D, Sosin'ska E, Obiedzin'ski M, Krogulec A, Czaplicki S. 2011. Determination of the adulteration of butter. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 113: 1005–1011.
- Dıraman H. 2006. Tereyağı ve zeytinyağında muhtemel tağışışlerin kapiler kolon gaz kromatografisi yöntemi kullanılarak Cis– Trans yağ asitleri düzeyi ile belirlenmesi üzerine bir çalışma. *Academic Food Journal.*, 4: 3-10.
- Fadzlillah NA, Rohman A, Ismail A, Mustafa S, Khatib A. 2013. Application of FTIR-ATR spectroscopy coupled with multivariate analysis for rapid estimation of butter adulteration. *J Oleo Sci.*, 62:555–62.
- Gandhi K, Upadhyay N, Aghav AD, Shanna V, Lal D. 2014. Detection of adulteration of ghee (clarified milk fat) with palmolein and sheep body fat using Reichert-Meissl (R.M.) value coupled with solvent fractionation technique. *Indian J. of Dairy Sci.*, 67: 387-393.

- Kahyaoğlu DT, Çakmakçı S. 2016. Determination of the Adulteration of Butter with Margarine by Using Fat Constants. *Tar. Bil. Der.*, 22: 1-8.
- Kılıç Altun S, Paksoy N. 2018. Evaluation of Reichert Meissl Values of Butter Produced in Turkey. *IJSRM.*, 06: 24-27.
- Lohumi S, Lee H, Kim SM, Qin J, Cho BK. 2018. Through-packaging analysis of butter adulteration using line-scan spatially offset Raman spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.*, 410:5663–5673.
- Rotar R. 2010. Study On Identifying Butter Faking By Substitution With Pork Fat Or With Margarine. *Journal Food and Environment Safety of the Suceava University – FOOD ENGINEERING.*, 9:40-45.
- Sağdıç O, Dönmez M, Demirci M. 2004. Comparison of characteristics and fatty acid profiles of traditional Turkish yayık butters produced from goats', ewes' or cows' milk. *Food Control.*, 15: 485-490.
- TGK (Türk Gıda Kodeksi). 2005. Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği. Resmi Gazete tarih ve sayısı: 12.04.2005, 25784 Tebliğ No 2005/19.
- TSE (Türk Standartları Enstitüsü). 1995. Tereyağı. TS 1331, T.S.E. Ankara.
- Yalçın S, Tekinşen OC, Doğruer Y, Gürbüz Ü. 1993. Konya'da Tüketime Sunulan Tereyağlarının Kalitesi. *S. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 9: 20