



Dicle Univ Vet Fak Derg

ISSN 1307-9972

e-ISSN: 1308-0679



YIL/YEAR: 2024

CİLT/VOLUME: 17

ÖZEL SAYI: 1

# DİCLE ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

*Dicle University Journal of Faculty of Veterinary Medicine*

**ÖZEL SAYI**

Uluslararası Katılımlı  
X. VETERİNER GIDA HİJYENİ KONGRESİ  
Veterinary Food Hygiene Congress  
25-27 Nisan 2024



Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Organıdır  
Published by Dicle University Faculty of Veterinary Medicine

<http://dergipark.gov.tr/duvetfd>



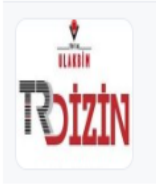
# Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi



## Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına Sahibi

Prof. Dr. Sadık YAYLA

### Atıf Dizinleri



### Diğer Dizinler



### EDİTÖR GRUBU

Prof. Dr. İbrahim KÜÇÜKASLAN  
Prof. Dr. M. Erdem AKBALIK  
Prof. Dr. Duygu Neval SAYIN İPEK  
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Şener YILDIZ  
Dr. Öğr. Üyesi Nurdan KARACAN SEVER  
Araş. Gör. Dr. Nahit SAYLAK

### DANIŞMA KURULU

Prof. Dr. Abuzer ACAR, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Aytaç AKÇAY, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Bilal AKYÜZ, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Naim Deniz AYAZ, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Muhterem AYDIN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Ahmet AYDOĞAN, Çukurova Üniversitesi Ceyhan Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Mehmet CENGİZ, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. İbrahim DEMİRKAN, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Turgay DEPREM, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Emel ERGÜN, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Aynur GÜLANBER, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Alkan KAMILOĞLU, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Hakan SAĞIRKAYA, Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Savaş SARIÖZKAN, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Emrah SUR, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Cem Ecmel ŞAKİ, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Emine ÜNSALDI, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi

*Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi;*

*CABI Full-Text, CAB Abstracts Veri Tabanı, TÜBİTAK-ULAKBİM TR Dizin, Türkiye Atıf Dizini (Türkiye Citation Index), Eurasian Scientific Journal Index, Scientific Indexing Services (SIS), Academic Resource Indexing (ResearchBib), Asian Science Citation Index ve Academindex tarafından dizinlenmektedir.*

# İÇİNDEKİLER/CONTENTS

## ARAŞTIRMA MAKALELERİ /RESEARCH ARTICLES

1	Production of Functional Fermented Sausage from Goat Meat with the Addition of Lactulose, <i>Lactobacillus acidophilus</i> , and <i>Bifidobacterium animalis</i>	Ahmet Hulusi Dinçoğlu, Zühal Çalışkan, Erdi şen, Ozen Yurdakul, Erhan Keyvan, Hatice Ahu Kahraman	1-10
2	Vakum Paketlemenin Örgü Peynirlerinin Raf Ömrü, Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Farklı Muhafaza Koşullarındaki Etkileri	Mehmet Emin Erkan, Mustafa İpek	11-17
3	İstanbul'da Satışa Sunulan Tavuk Dönerlerinde <i>Clostridioides difficile</i> Varlığının ve Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi	Esra Akkaya, Aslıhan Bilgin, Enver Barış Bingöl	18-23
4	Geleneksel Yöntemle Yapılan Tomas Peynirlerinin Bazı Kalite Parametrelerinin Araştırılması	Selçuk Alan, Gülsüm Öksüztepe (Ateş)	24-31
5	The Effect of Keeping Time in Bain-Marie and Cooling Speeds on The Microbiological Quality of Meatballs Inoculated with <i>Escherichia coli</i>	Ahmet Hulusi Dinçoğlu, Zühal Çalışkan, Erkan Erler, Ece Tarım, Yaren Kılınc, Beyza Kurtcu	32-39
6	şırnak'ta Satışa Sunulan Pırtığa Bige ( <i>Ferulago stellata</i> ) Bitkisinin Mikrobiyolojik Kalite Parametreleri	Mehmet Emin Erkan, Uğur Uçar, Berna Duman Aydın	40-44
7	Application of Box-behnken Experimental Design Method in Licorice Extraction	Özlem Turgay, Elif Çelik, Neslihan Güler, şaduman Akgönen	45-50

## DERLEME/REVIEW

8	Quorum Sensing'e Gıda Mikrobiyolojisi Perspektifinden Bakış	Zühal Çalışkan, Ahmet Hulusi Dinçoğlu	51-56
9	Ağır Metal Maruziyetinin Detoksifikasyonunda Tıbbi Aromatik Bitkilerin Terapötik Etkileri	Mustafa Nizamlıoğlu, Hasan Uğur Öncel, Fatma Nizamlıoğlu	57-62
10	Gıda Endüstrisinde Bakteriyel Biyofilm Oluşumu, Kontrolü ve Giderilmesine Yönelik Yeni Uygulamalar	Müğe Uyarcan, Semra Kayaardı, Havva Turan	63-69
11	Gıda Endüstrisinde Küresel Plastik Kirliliği: Mikro-Nanoplastikler ve Çevresel Etkileri	Müğe Uyarcan, Sude Cansın Güngör	70-77
12	Geleneksel Bir Fermente Ürün 'Kişk	Hüsnü şahan Güran, Sara Khedr	78-84



## Production of Functional Fermented Sausage from Goat Meat with the Addition of Lactulose, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacterium animalis*

Zühal ÇALIŞKAN<sup>1,a</sup>, Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU<sup>2,b,✉</sup>, Erdi ŞEN<sup>3,c</sup>, Özen YURDAKUL<sup>3,d</sup>, Erhan KEYVAN<sup>3,e</sup>, H. Ahu KAHRAMAN<sup>3,f</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Hygiene and Technology, Institute of Health Sciences, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, TÜRKİYE

<sup>3</sup>Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0001-8590-0355; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0002-9669-5964; <sup>c</sup>ORCID: 0000-0001-6885-4422; <sup>d</sup>ORCID: 0000-0001-7680-015X;

<sup>e</sup>ORCID: 0000-0002-2981-437X; <sup>f</sup>ORCID: 0000-0001-6600-239X

Geliş Tarihi/Received  
29.05.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
16.09.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Abstract

The main goal of this study is to create safe and functional fermented sausages (Turkish dry-fermented sausage) from goat meat by combining probiotics and lactulose (1%) with traditional starter cultures. Group A was created with sausage dough to which only starter culture and spice mixture were added. *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* cultures were added to group B, and 1% lactulose was added to group C, in addition to the control group's combination. By adding *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* cultures, as well as lactulose, to group D, four distinct sausage samples were formed. Lactic acid bacteria levels increased throughout ripening, ranging from 5.27 to 6.98, and remained steady during storage, from 4.96 to 5.84. During ripening, the quantity of *B. animalis* increased, especially in groups B and D, which included lactulose. Water activity decreased during ripening and further decreased during storage. The latest water activity values fell below 0.79. pH values also decreased during ripening and storage. The final pH values were measured between 5.31 and 5.42. When the physico-chemical properties such as pH, dry matter, and water activity of the sausage samples were evaluated throughout the shelf life, although significant differences were observed in these parameters between the groups, they could not be associated with probiotic and prebiotic contributions. On the last day of storage, the samples with the addition of probiotic cultures and lactulose showed the lowest hardness values. In sensory analyses, it was observed that the groups containing lactulose received the highest scores and were generally accepted. The data obtained showed that adding probiotics and prebiotics to sausage caused positive changes in the quality of the product.

**Anahtar Kelimeler:** *Bifidobacterium animalis*, goat sausage, lactulose, *Lactobacillus acidophilus*

### Laktuloz, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* İlavesiyle Keçi Etinden Fonksiyonel Fermente Sucuk Üretimi

#### Öz

Bu çalışmanın temel amacı, geleneksel starter kültürlerin yanında probiyotik ve laktuloz (%1) eklenmesiyle keçi etinden güvenli ve fonksiyonel niteliklere sahip fermente sucuk elde etmektir. Yalnızca starter kültür ve baharat karışımı eklenerek A grubu sucuk örnekleri oluşturuldu. B grubuna *Bifidobacterium animalis* ve *Lactobacillus acidophilus* kültürleri eklenirken C grubuna kontrol grubunun kombinasyonuna ek olarak %1 laktuloz ilave edildi. Grup D, probiyotik kültürlerinin yanı sıra laktuloz da eklenerek dört farklı sucuk örneği oluşturuldu. Laktik asit bakterilerinin miktarı, olgunlaşma süresince artış göstermiştir. Laktik asit bakterilerinin son seviyeleri 5.27 ile 6.98 arasında değişmiştir. Depolama süresince bu seviyeler 4.96 ile 5.84 arasında sabit kalmıştır. *B. animalis* miktarı, olgunlaşma süresince artmış ve özellikle laktuloz içeren B ve D gruplarında yüksek seviyelere ulaşmıştır. Su aktivitesi olgunlaşma süresince düşmüş ve depolama süresince daha da azalmıştır. Son su aktivitesi değerleri 0.79'un altına inmiştir. pH değerleri, olgunlaşma ve depolama süresince de düşmüştür. Son pH değerleri 5.31 ile 5.42 arasında ölçülmüştür. Raf ömrü boyunca sucuk örneklerinin pH, kurumadde ve su aktivitesi gibi fiziko-kimyasal özellikleri değerlendirildiğinde gruplar arası bu parametrelerde anlamlı farklılıklar gözlemlense de probiyotik ve prebiyotik katkıları ile ilişkilendirilememiştir. Muhafazanın son gününde, probiyotik kültürler ve laktuloz ilave örneklerin en düşük sertlik değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Duyusal analizlerde, özellikle laktuloz içeren grupların en yüksek puanları aldığı ve genel olarak kabul gördüğü gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler, sucuğa probiyotik ve prebiyotik eklenmesi ile ürünün niteliklerinde olumlu değişimler meydana getirdiğini göstermiştir.

**Key Words:** *Bifidobacterium animalis*, keçi sucuğu, laktuloz, *Lactobacillus acidophilus*

### INTRODUCTION

Fermented sausage which has been produced for a long time, is characterized as minced meat combined with salt and curing agents, placed into casings, and exposed to a fermentation process in which microorganisms play a crucial role (1-3). While small-scale manufacturers frequently employ

traditional processes and natural air drying to produce these butcher sausages locally, large-scale manufacturers utilize modern technology to manage the fermentation process (4).

In the recent decade, the increased use of starter cultures has ensured product safety by restricting the proliferation of uncultivated microflora, lowering the danger of

pathogenic and spoilage bacteria, preserving stability and shelf life, and improving sensory qualities. Starter cultures are mostly composed of lactic acid bacteria (LAB), including *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus*, and also coagulase-negative staphylococci such as *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus carnosus*, and Micrococcaceae members (5). With lactic acid fermentation, the pH value of the product decreases; it helps create the color, taste, and texture of the product (6).

In recent years, numerous innovative methods have been developed to improve the nutritional value, flavors, and shelf life of traditional meat and meat products (7). One of these methods is the use of probiotics. Some researchers asserted that meat provides an ideal habitat for the proliferation of probiotic bacteria (8). Because of these considerations, the addition of probiotics to meat products was seen positively, resulting in the commercial production of many LAB-containing products (*L. acidophilus*, *L. casei*, and *Bifidobacterium* spp.) (9). Prebiotics are food components necessary for the growth of probiotic microorganism species (such as *Bifidobacterium/Lactobacillus*), which cannot be digested in the upper gastrointestinal tract but can be fermented in the colon (10). Prebiotic saccharides such as fructooligosaccharides and galactooligosaccharides are highly suggested for use in fermented meat products because they increase the growth of bifidobacterial (11). Numerous *in vivo* studies have demonstrated that the administration of lactulose, an important prebiotic, leads *Bifidobacterium* species to become dominant in the environment and have a positive effect on the gut flora (12,13).

Various research suggests that different meats can be used in the preparation of fermented sausages (1, 14). Although it is an important source of red meat in underdeveloped countries, goat meat consumption is higher globally than the consumption of beef (15). In addition to being an essential source of readily available protein, goat meat has recently drawn consumers from all over the world looking for low-fat, low-calorie, and nutritious meat (16). While there is a common belief that goat meat may be met with prejudice due to its unique aroma and taste, research involving both expert and non-expert taste panels has shown that such biases do not hold (17).

This study aims to obtain functional fermented sausage by using probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*) and prebiotic (lactulose) along with traditional starter cultures in goat sausage production and to examine the quality parameters of the product during ripening.

## MATERIAL AND METHODS

### Probiotic Strains and Culture Conditions

*Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* cultures were purchased from Chr. Hansen (Hørsholm, Denmark). Both probiotics were separately incubated in MRS broth (Merck, Darmstadt, Germany) at 37 °C for 24 h, then centrifuged at 5000× g for 15 min and washed with physiological saline. After this procedure, which was performed twice, they were diluted with physiological saline to obtain a suspension containing 10<sup>10</sup> cfu/mL. At least 7 log cfu/g of

each strain was added to the sausage dough from the solutions.

### Sausage Manufacture

Burdur Mehmet Akif Ersoy University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Meat and Meat Products Research and Development Unit performed experimental sausage manufacture. In experimental sausage samples, a mixture of 50% goat meat and 50% beef from Burdur province was used. The commercially supplied Selay Sucuk Kombi K (Istanbul) spice mix was applied at a rate of 5% by weight to all groups. Added 2% of curing salt containing 6% NaNO<sub>2</sub>. Sausage starter culture (MITFER® 75MFV1-200) was applied to this meat combination for making control group (A) sausage samples. *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* cultures were added to group B, and 1% lactulose was added to group C, in addition to the control group's combination. By adding *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* cultures, as well as lactulose, to group D, four distinct sausage samples were formed.

The sausages produced underwent a 6-day fermentation process in the conditioning cabinet where the temperature was gradually reduced from 22°C to 18°C and the humidity from 95% to 75% before being kept at 4°C for 60 days. The experimental sausages were produced and analyzed in triplicate.

### Microbiological Analyses

The following microbiological analyses were performed on sausages prepared and ripened under appropriate conditions by TS 1070 Sucuk Standard on the 0<sup>th</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 6<sup>th</sup> days of ripening as well as the 30<sup>th</sup>, 45<sup>th</sup>, and 60<sup>th</sup> days of storage. Plates with between 30 and 300 colonies were evaluated after incubation. Samples were studied using 25 g of sample with 225 mL of peptone water that was 0.1% (v/v). In the stomacher (IUL instruments, Barcelona, Spain), the samples were homogenized. Homogenates were then serially diluted 10 times with 0.1% peptone water. These dilutions were collected, and 1 mL was used to inoculate appropriate agar plates.

Dilutions were plated on Plate Count Agar (PCA) (Oxoid CM 325) and incubated at 30±1°C for 48 hours to determine the total amount of mesophilic aerobic bacteria (18). Coliform bacteria, using the pour plate technique, dilutions were plated on Violet Red Bile Agar (Merck 1.01406). Typical colonies were enumerated after 24 hours of incubation at 30±1°C (19). The dilutions were plated on Potato Dextrose Agar (PDA) medium for yeast and mold. Colonies were counted after five days of incubation at 22±1°C (20). Dilutions of *Staphylococcus aureus* were plated on Baird-Parker Agar containing egg yolk tellurite and incubated at 37°C for 30 hours (21). MRS agar (Merck 1.10660) was used for lactic acid bacteria and the plates were incubated under anaerobic conditions at 42°C for 72 hours (22) The pour plate method was used to count *B. animalis* using a selective culture medium MRS-NNLP. It contained MRS Agar (Biolife LOT HC5002) supplemented with filter-sterilized solutions of nalidixic acid (15 mg/L), neomycin (100 mg/L), lithium (3 g/L), paromomycin (200 mg/L), and L-cysteine hydrochloride (0.5 g/L). The incubation period was 72 hours under anaerobic

conditions at 37°C (23). MRS agar (Merck 1.10661) was used to detect *Lactobacillus acidophilus* and anaerobic incubation was performed at 37±1°C for 72 hours (24).

### Physicochemical Analyses

Physicochemical analyses were carried out on samples of sausage on the 0<sup>th</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 6<sup>th</sup> days of ripening, as well as on the 30<sup>th</sup>, 45<sup>th</sup>, and 60<sup>th</sup> days of storage. The pH of sausage samples was tested using ISO 2917:1999 (25). The water activity ( $a_w$ ) of sausage samples was measured using the technique provided in ISO 21527-2:2008 (26).

### Organic Acid Analyses

Organic acid determinations were performed on the first and last days of ripening. For the detection of acetic acid and butyric acid, the instruments used are the Agilent 7697A Headspace and Agilent 7890A GC 5975C MS. The method includes a column temperature program where the temperature is held at 35°C for 5 minutes, then increased by 5°C per minute to reach 150°C and held for another 5 minutes. The detector and injector temperatures are set to 200°C and 180°C, respectively, with a flow rate of 25 psi (He). Other parameters include a needle temperature of 90°C, a transfer line temperature of 120°C, a vial oven temperature of 85°C, a thermostat time of 5 minutes, a pressurize time of 0.5 minutes, an inject time of 0.08 minutes, and a withdraw time of 0.5 minutes (27). Lactic acid detection was conducted using an HPLC method with the following setup: the system was a Shimadzu Prominence HPLC equipped with a CBM-20ACBM control unit, a DAD (SPD-M20A) detector, a CTO-10ASVp column oven, an LC20 AT pump, and a SIL-20AHT autosampler. The analysis was controlled using the LC Solution software. The column used was an ODS 4 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) from GP Sciences, Inertsil ODS-4, Japan. The mobile phase was ultrapure water adjusted to pH 3 with orthophosphoric acid (28). The results were expressed as a percentage relative to the dry matter ratio.

### Texture Analyses

Using a TA.XT2 Texture Analyzer (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY/Stable MicroSystems, Godalming, UK), texture profile analysis (TPA) of sausage samples was performed successfully. The samples' values for hardness, adhesion, springiness, cohesiveness, gumminess, chewiness, and resilience were evaluated in the texture profiles. 5 cm x 4 cm aluminum rectangle probe, 1 mm/s test speed, 2 mm/s pre-test speed, 1 mm/s post-test speed, 25% compression (tensile), and 25 kg load cell were the test parameters. Texture Expert Exceed Version 2V3 (Stable Micro Systems, 1998) was used for data collecting and calculation, while force deformation shape curves were used for calculations (3).

### Sensory Analyses

The sensory evaluations were carried out by ISO 13299:2016, an international standard (29). Panelists were asked not to eat or drink anything at least 1 hour before the analyses. After each sensory test, panelists were allowed to drink water and eat breadcrumbs to cleanse the palate. To

eliminate the risk of interference, panelists participating in the sensory assessment were placed in a white-light environment in an odor-free room. Using a hedonic scale from 1 to 9, ten experienced panelists rated the cooked sausage samples' color, odor, taste, texture, and general acceptability.

### Statistical Analyses

Sausage production and analyses were carried out in triplicate. Results were subjected to one-way ANOVA using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software (Version 25.0; SPSS, Chicago, IL, USA). Tukey's test was utilized as a statistical procedure to determine significant differences between mean values ( $p < 0.05$ ). Results are expressed as Mean ± Standard Deviation (SD) (SPSS, 2010).

## RESULTS

### Microbiological Changes

Microbiological analysis data for groups of sausages prepared by adding probiotic and prebiotic combinations on days 0, 3, and 6 of ripening and days 30, 45, and 60 of storage are presented in Table 1. Based on the microbiological analyses, no *Staphylococcus aureus* was detected in any of the sample groups. As compared to the levels obtained in the analysis on the first day of ripening, TAMB showed an overall decrease on the sixth day of ripening. Each group's values on the last day of storage are similar to those found in the initial analysis. Yeast and mold counts, like TAMB, declined on the sixth day of the study and developed on the following days, reaching statistically similar levels to those of the first day of analysis. Overall, yeast and mold results were less than 5.00 log<sub>10</sub> cfu/g. Coliform the amount decreased throughout ripening, and there was no coliform showed on days 30, 45, and 60 of storage. The number of lactic acid bacteria at the end of ripening ranged from 5.27 to 6.98, with the groups supplemented with *B. animalis* and *L. acidophilus* having the highest levels ( $p < 0.05$ ). Their levels decreased to 4.96-5.84 ( $p < 0.05$ ) at the end of storage. Groups B and D, which were supplemented with *B. animalis* and *L. acidophilus*, had statistically higher levels of lactic acid bacteria at the end of storage ( $p < 0.05$ ). The study showed that the amount of *B. animalis* increased during ripening. At the end of the ripening period, *B. animalis* levels were higher in groups B and D, which were supplemented with *B. animalis* and *L. acidophilus* ( $p < 0.05$ ). When groups C and A were compared, it was found that the *B. animalis* level in group C, which had lactulose added, was higher than in group A at 45 and 60 days of storage ( $p < 0.05$ ). *L. acidophilus* levels were greater than 7 logs in the data obtained from analyses during ripening and storage. While group A had the most *L. acidophilus* on the first day of ripening, group B had the most on the last day ( $p > 0.05$ ). There were no significant changes in *L. acidophilus* levels within groups A, B, and C during storage; however, on the last day of analysis, group B had the highest value ( $p > 0.05$ ).

**Table 1.** Microbiological analysis results of sausage samples (log<sub>10</sub> cfu/g) (Mean ± SD)

	DAYS						*p
	0	3	6	30	45	60	
<b>Total mesophilic aerobic bacteria</b>							
A	7.85±0.20 <sup>a</sup>	7.64±0.04 <sup>Ba</sup>	7.33±0.03 <sup>Ab</sup>	7.70±0.04 <sup>Aa</sup>	7.82±0.02 <sup>Ca</sup>	7.59±0.02 <sup>Ca</sup>	0.01
B	8.09±0.18 <sup>a</sup>	7.62±0.02 <sup>Bbc</sup>	6.97±0.29 <sup>bd</sup>	7.26±0.01 <sup>Bcd</sup>	8.03±0.01 <sup>Aa</sup>	7.78±0.03 <sup>Aab</sup>	0.01
C	7.80±0.01 <sup>b</sup>	7.64±0.04 <sup>Bc</sup>	6.85±0.07 <sup>Be</sup>	7.06±0.03 <sup>Cd</sup>	7.91±0.01 <sup>Ba</sup>	7.69±0.05 <sup>Bc</sup>	0.01
D	7.83±0.02 <sup>a</sup>	7.73±0.01 <sup>Ab</sup>	7.65±0.01 <sup>AcD</sup>	7.65±0.02 <sup>AcD</sup>	7.61±0.01 <sup>Dd</sup>	7.66±0.02 <sup>BcC</sup>	0.01
*p	0.13	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
<b>Coliform</b>							
A	3.02±0.03 <sup>Aa</sup>	2.65±0.14 <sup>b</sup>	2.02±0.11 <sup>Ac</sup>	-	-	-	0.01
B	2.99±0.04 <sup>Aa</sup>	2.73±0.09 <sup>b</sup>	2.08±0.04 <sup>Ac</sup>	-	-	-	0.01
C	2.80±0.05 <sup>Ba</sup>	2.65±0.01 <sup>a</sup>	1.54±0.20 <sup>Bb</sup>	-	-	-	0.01
D	3.00±0.02 <sup>Aa</sup>	2.82±0.02 <sup>a</sup>	1.88±0.22 <sup>ABb</sup>	-	-	-	0.01
*p	0.01	0.01	0.01				
<b>Yeast and mold</b>							
A	4.11±0.01 <sup>b</sup>	4.78±0.15 <sup>Aa</sup>	2.75±0.46 <sup>Bc</sup>	4.28±0.05 <sup>Bab</sup>	4.37±0.05 <sup>Cab</sup>	4.51±0.02 <sup>Bab</sup>	0.01
B	4.57±0.07 <sup>ab</sup>	3.49±0.04 <sup>Bcd</sup>	2.69±0.06 <sup>Bd</sup>	3.53±0.06 <sup>Dbc</sup>	4.59±0.02 <sup>Ba</sup>	4.57±0.12 <sup>Ba</sup>	0.01
C	4.90±0.01 <sup>a</sup>	3.38±0.02 <sup>Bd</sup>	3.10±0.04 <sup>Ae</sup>	3.74±0.07 <sup>Cc</sup>	4.71±0.02 <sup>Ab</sup>	4.79±0.01 <sup>Ab</sup>	0.01
D	4.53±0.45 <sup>a</sup>	3.57±0.09 <sup>Bb</sup>	2.82±0.52 <sup>Bc</sup>	4.47±0.02 <sup>Aa</sup>	4.63±0.04 <sup>ABa</sup>	4.68±0.06 <sup>ABa</sup>	0.01
*p	0.20	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
<b>Lactic acid bacteria</b>							
A	7.50±0.02 <sup>Aa</sup>	4.90±0.03 <sup>Cc</sup>	5.27±0.13 <sup>Cb</sup>	5.30±0.02 <sup>Cb</sup>	5.39±0.03 <sup>Cb</sup>	5.51±0.17 <sup>Bb</sup>	0.01
B	5.64±0.41 <sup>Bc</sup>	7.94±0.06 <sup>Aa</sup>	6.98±0.01 <sup>Ab</sup>	5.78±0.02 <sup>Ac</sup>	5.62±0.05 <sup>Bc</sup>	5.84±0.09 <sup>Ac</sup>	0.01
C	5.54±0.04 <sup>Bb</sup>	6.65±0.31 <sup>Ba</sup>	6.26±0.05 <sup>Ba</sup>	5.78±0.03 <sup>Ab</sup>	5.83±0.03 <sup>Ab</sup>	4.96±0.01 <sup>Cc</sup>	0.01
D	7.65±0.03 <sup>Aa</sup>	7.47±0.85 <sup>ABa</sup>	6.86±0.01 <sup>Aa</sup>	5.71±0.02 <sup>Bb</sup>	5.31±0.07 <sup>Cb</sup>	5.77±0.05 <sup>Ab</sup>	0.01
*p	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
<b>Bifidobacterium animalis</b>							
A	6.93±0.03 <sup>Cd</sup>	7.33±0.25 <sup>c</sup>	7.89±0.05 <sup>ABa</sup>	7.76±0.05 <sup>Bab</sup>	7.52±0.04 <sup>Cbc</sup>	6.89±0.04 <sup>Dd</sup>	0.01
B	6.87±0.02 <sup>Ce</sup>	7.40±0.07 <sup>d</sup>	7.92±0.01 <sup>ABc</sup>	8.21±0.17 <sup>Ab</sup>	8.71±0.03 <sup>Aa</sup>	7.56±0.09 <sup>Ad</sup>	0.01
C	7.15±0.03 <sup>Ab</sup>	7.67±0.27 <sup>a</sup>	7.74±0.16 <sup>Ba</sup>	7.80±0.05 <sup>Ba</sup>	7.86±0.01 <sup>Ba</sup>	7.10±0.02 <sup>Cb</sup>	0.01
D	7.07±0.03 <sup>Bd</sup>	7.37±0.05 <sup>Bc</sup>	8.07±0.01 <sup>Aa</sup>	7.98±0.01 <sup>ABa</sup>	7.40±0.02 <sup>Db</sup>	7.28±0.05 <sup>Bc</sup>	0.01
*p	0.0q	0.24	0.01	0.01	0.01	0.01	
<b>Lactobacillus acidophilus</b>							
A	7.68±0.07 <sup>a</sup>	7.30±0.07 <sup>Bc</sup>	7.86±0.07 <sup>Aa</sup>	7.84±0.05 <sup>Aa</sup>	7.71±0.14 <sup>a</sup>	7.69±0.05 <sup>ABa</sup>	0.01
B	7.30±0.57 <sup>b</sup>	7.67±0.03 <sup>ABab</sup>	7.88±0.01 <sup>Aa</sup>	7.80±0.04 <sup>Aa</sup>	7.71±0.02 <sup>ab</sup>	7.74±0.03 <sup>Aab</sup>	0.02
C	7.03±0.04 <sup>b</sup>	7.09±0.02 <sup>Cb</sup>	7.78±0.06 <sup>Aa</sup>	7.68±0.04 <sup>Aa</sup>	7.63±0.05 <sup>a</sup>	7.62±0.01 <sup>Ba</sup>	0.01
D	7.05±0.12 <sup>c</sup>	7.84±0.02 <sup>Aa</sup>	7.41±0.14 <sup>Bb</sup>	7.43±0.19 <sup>Bb</sup>	7.55±0.08 <sup>ba</sup>	7.69±0.05 <sup>ABba</sup>	0.01
*p	0.08	0.01	0.00	0.01	0.13	0.05	

A: Control; B: Probiotic added; C: 1% Lactulose added; D: Probiotic and 1% Lactulose added. \* Significance levels according to ANOVA test results. capital letters (A,B,C...) show statistical differences between groups, lower case letters (a,b,c...) show statistical differences between days

### Physicochemical Changes

Data from physicochemical analyses carried out on groups of sausages on days 0, 3, and 6 of curing and days 30, 45, and 60 of storage are presented in Table 2. While the water activity was above 0.90 on the first day of ripening, it decreased to between 0.83 and 0.87 on the last day of ripening

( $p < 0.05$ ). On the last day of storage, group B had the lowest value (0.79) ( $p < 0.05$ ). The pH ranged from 6.69-6.82 at the beginning of ripening and decreased to 6.16-6.36 towards the end of ripening ( $p < 0.05$ ). The pH continued to decrease during storage, reaching 5.31-5.42 on the last day of analysis ( $p < 0.05$ ).

**Table 2.** Physicochemical analysis results of sausage samples (Mean ± SD)

	DAYS						*p
	0	3	6	30	45	60	
<b>aw</b>							
A	0.98±0.02 <sup>Aa</sup>	0.92±0.01 <sup>b</sup>	0.85±0.02 <sup>c</sup>	0.86±0.01 <sup>ABd</sup>	0.85±0.02 <sup>Ad</sup>	0.80±0.02 <sup>ABe</sup>	0.01
B	0.92±0.03 <sup>Ba</sup>	0.91±0.01 <sup>ab</sup>	0.87±0.01 <sup>bc</sup>	0.88±0.02 <sup>AcD</sup>	0.83±0.01 <sup>ABde</sup>	0.79±0.03 <sup>Be</sup>	0.01
C	0.96±0.01 <sup>Ba</sup>	0.92±0.01 <sup>a</sup>	0.86±0.01 <sup>b</sup>	0.82±0.03 <sup>Bbc</sup>	0.81±0.02 <sup>Bc</sup>	0.83±0.01 <sup>Ac</sup>	0.01
D	0.94±0.02 <sup>Ba</sup>	0.93±0.02 <sup>a</sup>	0.83±0.03 <sup>b</sup>	0.85±0.01 <sup>ABb</sup>	0.82±0.02 <sup>ABb</sup>	0.83±0.02 <sup>Ab</sup>	0.01
*p	0.00	0.03	0.14	0.03	0.03	0.02	
<b>pH</b>							
A	6.82±0.02 <sup>Aa</sup>	6.77±0.03 <sup>ABa</sup>	6.36±0.02 <sup>Ab</sup>	5.87±0.01 <sup>BCc</sup>	5.69±0.02 <sup>Ad</sup>	5.31±0.02 <sup>Be</sup>	0.01
B	6.70±0.03 <sup>Bca</sup>	6.75±0.01 <sup>Ba</sup>	6.16±0.01 <sup>Cb</sup>	5.94±0.02 <sup>Ac</sup>	5.66±0.01 <sup>Bd</sup>	5.40±0.03 <sup>Ae</sup>	0.01
C	6.69±0.01 <sup>BCa</sup>	6.80±0.02 <sup>Ab</sup>	6.27±0.01 <sup>Bc</sup>	5.90±0.03 <sup>ABd</sup>	5.61±0.02 <sup>Ce</sup>	5.42±0.01 <sup>Af</sup>	0.01
D	6.74±0.02 <sup>Ba</sup>	6.79±0.02 <sup>ABb</sup>	6.16±0.03 <sup>Cc</sup>	5.85±0.01 <sup>Cd</sup>	5.66±0.02 <sup>Be</sup>	5.40±0.02 <sup>Af</sup>	0.01
*p	0.01	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	

A: Control; B: Probiotic added; C: 1% Lactulose added; D: Probiotic and 1% Lactulose added. \* Significance levels according to ANOVA test results. capital letters (A,B,C...) show statistical differences between groups, lower case letters (a,b,c...) show statistical differences between days

### Changes in Organic Acids

Fermented sausages are characterized by increased acidity and unique flavors resulting from fermentation. For example, the breakdown of naturally occurring fats in meat by

bacterial activity produces butyric acid, which gives the product a creamy flavor and aroma. Acetic acid is produced by lipid oxidation and amino acid catabolism, while lactic acid is released as a result of carbohydrate breakdown, both

of which contribute to the flavor profile of the sausage. The percentage increase in acetic, butyric, and lactic acid levels during the ripening period of the sausage samples is shown in Table 3. At the end of the ripening period, only group B, to

which probiotics had been added, showed acetic, butyric, and lactic acid levels of 32.31, 22.39 and 2.25% respectively, whereas in group D, to which prebiotics had been added, these levels were 35.79, 24.23 and 2.48% respectively.

**Table 3.** Results of the analysis of organic acids in sausage samples (%)

	Acetic acid		Butyric acid		Lactic acid	
	Day 1	Day 6	Day 1	Day 6	Day 1	Day 6
A	28.57±0.93	28.61±1.59	18.80±1.09	18.13±1.12	1.68±0.06	2.13±0.08
B	28.57±2.61	32.31±2.03	18.80±1.02	22.39±1.20	1.12±0.20	2.25±0.03
C	28.19±2.91	30.41±1.95	18.14±0.80	20.42±1.08	1.60±0.03	2.21±0.04
D	28.56±0.76	35.79±1.74	18.50±1.42	24.23±1.04	1.69±0.02	2.48±0.04

A: Control; B: Probiotic added; C: 1% Lactulose added; D: Probiotic and 1% Lactulose added

**Textural Changes**

The data obtained from textural analyses conducted on experimental sausage samples on the first day of ripening, as well as on days 30 and 60 of storage, are presented in Table 4. The hardness values of groups A and B did not show any statistically significant differences throughout the analysis (p>0.05). While the hardness of sausages from group C decreased at the end of ripening, it increased again to 341.73 on the last day of storage (p<0.05). In contrast to group C, group D showed its highest hardness value on the 30<sup>th</sup> day of storage (534.56) (p<0.05). When examining the springiness value, Group B had the highest value on the first day of analysis (p>0.05), and no differences were observed between the groups on subsequent days of analysis (p>0.05). On the first day of analysis, Group B had the highest adhesiveness, whereas on the last day of analysis, Group C had greater adhesiveness (p<0.05). The gumminess value ranged from 36.67 to 66.71 on the first day of analysis and showed a decrease in all groups at the end of the storage period. Group C showed the lowest gumminess value on the 30<sup>th</sup> day of analysis, while group D showed the lowest value on the 60<sup>th</sup> day (p<0.05). The resilience analysis showed values ranging from 0.02 to 0.06, with no statistically significant difference between the groups in the 30<sup>th</sup> and 60<sup>th</sup>-day analyses (p>0.05).

**Sensory Analysis Results**

The data obtained from the sensory analysis of the sausage samples are presented in Table 5. As a result of the analyses, group C containing lactulose received the highest scores for all sensory parameters, including color, texture, aroma, flavor, and general acceptability (p>0.05). For the color parameter, group C was preferred more than the control group until the last day of analysis (p<0.05). In terms of texture evaluation, only group C was rated as very good or better on the last day of analysis (p<0.05). There was no significant difference between the analyzed sausage groups for the aroma parameter (p>0.05). For the flavor parameter, all groups except the control group were rated as good or above, with the sausage samples from group C being rated as very good, except on the final day of analysis. The general acceptability of group C samples containing lactulose received scores of 8 and above, making it the most preferred group. The second most preferred group was group D, which contained both lactulose and probiotics.

**Table 4.** Textural analysis results of sausage samples (Mean ± SD)

	DAYS			*p
	0	30	60	
<b>Hardness (N)</b>				
A	422.39±88.49	370.42±3.26 <sup>B</sup>	341.35±0.61 <sup>B</sup>	0.23
B	431.97±34.09	479.13±57.51 <sup>A</sup>	472.46±7.44 <sup>A</sup>	0.34
C	367.54±34.78 <sup>a</sup>	258.90±5.21 <sup>cb</sup>	341.73±48.89 <sup>bab</sup>	0.02
D	382.64±0.97 <sup>b</sup>	534.56±48.46 <sup>aa</sup>	212.90±53.44 <sup>cc</sup>	0.01
*p	0.39	0.01	0.01	
<b>Springiness (mm)</b>				
A	0.13±0.05 <sup>AB</sup>	0.04±0.01	0.07±0.03	0.06
B	0.19±0.01 <sup>Aa</sup>	0.07±0.01 <sup>b</sup>	0.07±0.02 <sup>b</sup>	0.01
C	0.12±0.01 <sup>Ba</sup>	0.07±0.02	0.17±0.12	0.29
D	0.11±0.01 <sup>Ba</sup>	0.07±0.02 <sup>b</sup>	0.03±0.01 <sup>c</sup>	0.01
*p	0.02	0.21	0.12	
<b>Cohesiveness (N)</b>				
A	0.10±0.03 <sup>Ba</sup>	0.06±0.00 <sup>ab</sup>	0.05±0.00 <sup>Ab</sup>	0.03
B	0.16±0.01 <sup>Aa</sup>	0.07±0.01 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>Ab</sup>	0.01
C	0.11±0.01 <sup>Ba</sup>	0.05±0.00 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>Ab</sup>	0.00
D	0.10±0.01 <sup>Ba</sup>	0.06±0.01 <sup>b</sup>	0.04±0.01 <sup>Bc</sup>	0.00
*p	0.01	0.07	0.01	
<b>Adhesiveness (mJ)</b>				
A	-6.81±2.61	-3.05±1.56 <sup>A</sup>	-7.70±5.48	0.32
B	-3.74±0.44 <sup>a</sup>	-6.87±1.42 <sup>Bb</sup>	-3.32±1.40 <sup>a</sup>	0.02
C	-6.23±0.36 <sup>b</sup>	-6.55±0.84 <sup>ABb</sup>	-1.72±0.59 <sup>a</sup>	0.01
D	-7.04±0.04	-7.25±1.48 <sup>B</sup>	-5.13±3.37	0.45
*p	0.06	0.02	0.22	
<b>Gumminess (N)</b>				
A	45.06±22.44	94.53±72.63	17.07±1.15 <sup>B</sup>	0.17
B	66.71±1.58 <sup>a</sup>	32.03±0.67 <sup>b</sup>	26.40±2.62 <sup>ac</sup>	0.01
C	40.58±8.27 <sup>a</sup>	12.50±0.62 <sup>b</sup>	19.84±4.87 <sup>ABb</sup>	0.01
D	36.67±3.64 <sup>a</sup>	32.33±6.72 <sup>a</sup>	8.01±3.23 <sup>cb</sup>	0.01
*p	0.06	0.10	0.01	
<b>Chewiness(N)</b>				
A	6.97±5.14 <sup>AB</sup>	3.17±1.91	1.17±0.59 <sup>A</sup>	0.16
B	12.46±0.44 <sup>Aa</sup>	2.25±0.17 <sup>b</sup>	1.77±0.72 <sup>b</sup>	0.01
C	5.00±1.32 <sup>B</sup>	0.90±1.21	3.87±3.16	0.10
D	4.02±0.42 <sup>Ba</sup>	2.35±1.07 <sup>a</sup>	0.27±0.15 <sup>b</sup>	0.01
*p	0.02	0.17	0.13	
<b>Resilience (N)</b>				
A	0.04±0.01 <sup>ABa</sup>	0.03±0.01	0.02±0.00 <sup>a</sup>	0.15
B	0.06±0.00 <sup>Aa</sup>	0.03±0.00 <sup>b</sup>	0.03±0.00 <sup>b</sup>	0.01
C	0.04±0.01 <sup>ABa</sup>	0.02±0.00 <sup>c</sup>	0.03±0.00 <sup>b</sup>	0.01
D	0.03±0.00 <sup>B</sup>	0.03±0.00	0.02±0.00	0.18
*p	0.02	0.35	0.36	

A: Control; B: Probiotic added; C: 1% Lactulose added; D: Probiotic and 1% Lactulose added . \* Significance levels according to ANOVA test results. capital letters (A,B,C,..) show statistical differences between groups, lower case letters (a,b,c,..) show statistical differences between days



Table 5. Sensory analysis results of sausage samples (Mean ± SD)

	DAYS						* p
	0	3	6	30	45	60	
<b>Appearance</b>							
A	7.00±1.15 <sup>B</sup>	6.80±1.03 <sup>B</sup>	7.09±0.84 <sup>B</sup>	7.10±1.10 <sup>AB</sup>	7.05±1.02 <sup>B</sup>	7.30±1.23 <sup>B</sup>	0.80
B	7.60±0.52 <sup>ABab</sup>	6.80±0.63 <sup>Bb</sup>	7.36±0.48 <sup>ABab</sup>	7.20±1.14 <sup>ABab</sup>	7.20±0.69 <sup>Bab</sup>	7.95±0.64 <sup>Aa</sup>	0.23
C	8.50±0.85 <sup>A</sup>	8.00±1.63 <sup>A</sup>	8.32±0.82 <sup>A</sup>	8.70±0.67 <sup>A</sup>	8.48±0.46 <sup>A</sup>	7.98±0.89 <sup>A</sup>	0.34
D	7.60±0.97 <sup>AB</sup>	7.50±0.97 <sup>AB</sup>	7.68±0.69 <sup>AB</sup>	8.10±0.88 <sup>A</sup>	7.83±0.60 <sup>AB</sup>	7.90±1.04 <sup>A</sup>	0.58
*p	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.54	
<b>Texture</b>							
A	6.90±1.29 <sup>B</sup>	6.40±0.97 <sup>C</sup>	6.68±0.91 <sup>BC</sup>	7.20±0.42 <sup>BC</sup>	6.93±0.49 <sup>BC</sup>	7.08±0.77	0.41
B	6.30±1.16 <sup>B</sup>	7.10±1.20 <sup>B</sup>	6.82±1.54 <sup>C</sup>	6.55±1.54 <sup>C</sup>	6.63±0.89 <sup>C</sup>	6.93±1.12	0.52
C	8.40±0.84 <sup>A</sup>	8.10±0.88 <sup>A</sup>	8.14±0.74 <sup>A</sup>	8.10±0.74 <sup>A</sup>	8.18±0.50 <sup>A</sup>	7.73±0.70	0.27
D	7.40±1.07 <sup>AB</sup>	7.00±0.94 <sup>B</sup>	7.27±0.79 <sup>AB</sup>	7.60±0.70 <sup>AB</sup>	7.40±0.43 <sup>AB</sup>	7.48±0.77	0.42
*p	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.12	
<b>Aroma</b>							
A	7.60±1.07 <sup>Bb</sup>	7.50±0.71 <sup>Bb</sup>	7.68±0.50 <sup>Bb</sup>	7.20±1.14 <sup>B</sup>	7.38±0.76 <sup>Bc</sup>	7.95±0.90 <sup>ABa</sup>	0.34
B	7.70±1.06 <sup>Ba</sup>	7.50±1.08 <sup>Bb</sup>	7.73±0.70 <sup>Ba</sup>	7.35±1.45 <sup>Bc</sup>	7.48±0.70 <sup>Bb</sup>	8.00±0.81 <sup>Aa</sup>	0.57
C	8.50±0.85 <sup>Aa</sup>	8.40±0.84 <sup>Aa</sup>	8.50±0.55 <sup>Aa</sup>	8.45±0.50 <sup>Aa</sup>	8.45±0.37 <sup>Aa</sup>	8.15±0.74 <sup>Ab</sup>	0.91
D	7.70±0.95 <sup>B</sup>	7.70±0.95 <sup>B</sup>	7.73±0.71 <sup>B</sup>	7.75±1.27 <sup>AB</sup>	7.73±0.81 <sup>B</sup>	7.80±0.88 <sup>B</sup>	0.97
*p	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.66	
<b>Taste</b>							
A	7.20±1.03 <sup>AB</sup>	6.50±0.97 <sup>AB</sup>	6.86±0.67 <sup>AB</sup>	6.50±0.71 <sup>AB</sup>	6.68±0.50 <sup>AB</sup>	7.03±0.94	0.17
B	6.90±0.88 <sup>B</sup>	7.10±0.99 <sup>B</sup>	7.09±0.82 <sup>B</sup>	7.00±1.05 <sup>B</sup>	7.00±0.55 <sup>B</sup>	7.40±1.03	0.73
C	8.30±0.95 <sup>A</sup>	8.30±0.82 <sup>A</sup>	8.36±0.59 <sup>A</sup>	8.20±0.42 <sup>A</sup>	8.25±0.39 <sup>A</sup>	7.98±0.63	0.85
D	7.60±1.07 <sup>AB</sup>	7.40±0.97 <sup>AB</sup>	7.64±0.75 <sup>AB</sup>	8.30±0.67 <sup>AB</sup>	7.90±0.44 <sup>AB</sup>	7.80±0.77	0.23
*p	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.06	
<b>General acceptability</b>							
A	7.10±0.99 <sup>B</sup>	6.60±0.70 <sup>B</sup>	6.95±0.71 <sup>B</sup>	7.40±1.07 <sup>B</sup>	7.13±0.77 <sup>B</sup>	7.50±0.83	0.17
B	6.90±0.74 <sup>B</sup>	7.10±0.88 <sup>B</sup>	7.09±0.58 <sup>B</sup>	7.05±0.69 <sup>B</sup>	7.03±0.38 <sup>B</sup>	7.45±0.69	0.60
C	8.30±0.95 <sup>A</sup>	8.30±0.82 <sup>A</sup>	8.36±0.59 <sup>A</sup>	8.20±0.42	8.25±0.39 <sup>A</sup>	7.98±0.63	0.85
D	7.70±0.95 <sup>AB</sup>	7.70±0.82 <sup>AB</sup>	7.64±0.75 <sup>AB</sup>	8.30±0.67 <sup>AB</sup>	7.90±0.44 <sup>AB</sup>	7.80±0.77	0.28
*p	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.24	

A: Control; B: Probiotic added; C: 1% Lactulose added; D: Probiotic and 1% Lactulose added

\* Significance levels according to ANOVA test results

capital letters (A,B,C,..) show statistical differences between groups, lower case letters (a,b,c,..) show statistical differences between days

## DISCUSSION AND CONCLUSION

In this study, goat meat was used to produce fermented sausage with lactulose, *L. acidophilus*, and *B. animalis* and traditional starter cultures. The aim was to obtain a functional product and to use the meat of the goat, which is widely available around Burdur. In this context, four different sausage samples were prepared, and their microbiological, physicochemical, and textural changes were examined during ripening and storage.

The presence of microorganisms forms the foundation of fermented sausage production, and the microflora in the product determines its microbiological quality. In fermented sausages, the development of aroma, color, flavor, and texture occurs as a result of various biochemical reactions carried out by different microorganisms during the ripening process. In our study, *S. aureus* was not found in any sausage samples. In a study, it was observed that the number of *S. aureus* in the control group sausage samples prepared without adding starter culture, which has bioprotective properties, was twice as high as in the groups in which starter culture was added. It has been stated that the addition of LAB to sausages and low pH may prevent the development of *S. aureus* (30). To determine the count of mesophilic aerobic bacteria, data from the samples taken from the prepared sausages and cultured on PCA agar generally showed a decrease in counts on the 6<sup>th</sup> day of ripening, followed by an increase during storage, reaching the initial values by the end of storage. According to the Turkish Standards Institute

(TSE), the TAMB (Total Aerobic Mesophilic Bacteria) count for fermented sausages should not exceed 5 log<sub>10</sub> cfu/g. However, the microbial quality of the ingredients used in sausage production and the addition of starter cultures can affect the TAMB count. In our results, especially on the 45<sup>th</sup> and 60<sup>th</sup> days of storage, the TAMB count was higher compared to the other groups. Similar findings have been reported in other studies (31,32). Wang et al., (33) reported that the highest amount of TAMB was observed on the 5<sup>th</sup> day of fermentation and decreased thereafter. In another study, it was stated that the amount of TAMB was approximately 9 logs on the initial day and decreased at the end of ripening (34).

The yeast and mold count in sausages can originate from the environment during production as well as from raw materials. Additionally, yeast and mold, which can become active under low temperature and high humidity conditions, can develop on the surface of sausages. Research has shown that yeast and mold counts increase under low temperature and high humidity conditions during sausage ripening. The growth of some yeast and mold species can have positive effects on the color, aroma, and odor properties of sausages, while some species can lead to spoilage. In a study by Banjara et al. (35), it was reported that yeast and mold species and their quantities not used as starter cultures can vary between different products, among products produced by different manufacturers, and even among different batches of the same manufacturer. Our data are consistent with other

studies (31,36). In fermented sausages intended for consumption, it is important that the number of coliform microorganisms, which may be due to hygiene and technological errors, is not high (36).

In all sausage groups, including the control group, decreases in coliform microorganism counts were observed. The results of this study are in line with other studies (31,36) but different from the findings of Tekinşen et al (32). This difference may be due to the longer fermentation period in the study by Tekinşen et al (32). In a study reporting that the amount of coliform was below  $10^2 \log_{10}$  cfu/g both at the beginning of ripening (day 0) and on other analysis days, it was stated that this situation may be due to low pH and aw value (37). In another study, it was stated that on the 12<sup>th</sup> day of ripening, the amount of coliform decreased significantly compared to the initial level, reaching approximately 2 log levels (34). In the study reporting that the lowest amount of coliform was observed in the groups to which mixed starter culture was added, it was also stated that the addition of starter culture could positively affect the quality of product safety (33). Kamiloğlu (38), who examined 10 LAB strains isolated from sausages, examined their antimicrobial activities against the foodborne pathogens *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium and *Yersinia enterocolitica* and reported that most LAB strains showed antimicrobial effects. It was stated in the study that these strains would contribute to the technological and functional properties of foods and that they also provide antioxidant properties in addition to their antimicrobial effects (38).

In the experimental sausages prepared in this study, LAB (Lactic Acid Bacteria) counts ranged from 4.90 to 7.94  $\log_{10}$  cfu/g during ripening and storage. The highest levels were observed in the groups with probiotic supplementation. When our results are compared to those from other research, LAB levels generally look similar due to the presence of starter culture (39,40). In a study stating that conditions such as ripening speed and duration have a significant effect on LAB, it was stated that the amount of LAB in slow ripening is higher, especially on the 3<sup>rd</sup> day, and the lower increase in LAB in fast ripening may be due to a rapid decrease in pH (37). In the microbiological analysis conducted in this study, the amount of *B. animalis* was found to be between 6.03 and 7.88  $\log_{10}$  cfu/g, and it increased during ripening. At the end of storage, it was observed to be higher in the groups with probiotic supplementation compared to the others ( $p < 0.05$ ). When compared between groups A and C, the addition of prebiotics was found to contribute to the development of *B. animalis* on the 45<sup>th</sup> and 60<sup>th</sup> days of storage ( $p < 0.05$ ). During ripening and storage, *L. acidophilus* counts remained above 7  $\log_{10}$  cfu/g. Although there was no statistically significant difference in *L. acidophilus* counts between groups A, B, and C during the storage, the highest value was observed in group B on the last day of analysis ( $p > 0.05$ ). In a study in which various sample groups were formed by adding *L. acidophilus* and *B. animalis* in addition to standard starter cultures to sausages made by combining lamb meat and pork fat with various ingredients, it was discovered that *L. acidophilus* was greater than 6  $\log_{10}$  cfu/g and *B. animalis*

was greater than 3  $\log_{10}$  cfu/g. It was reported in the study that *B. animalis* is not suitable for use as an initial culture, but it may be possible in combination with another probiotic bacterial species (41). According to a study, in addition to their probiotic qualities, *B. lactis* and *L. acidophilus* can be used as starter cultures to produce fermented sausage. These cultures have an impact on the number of staphylococci, micrococci, lactic acid bacteria, and total aerobic bacteria in the final product, as well as decreasing lipid oxidation (42). It is thought that the microbiological properties of sausage may be affected by the natural meat microbiota and starter addition (34). A study conducted to evaluate how the addition of *Lactobacillus paracasei* ( $10^8 \log$  cfu/g) and lactulose (2%) to fermented sausages affected the quality parameters of the product found that the added ingredients did not affect lactic acid bacteria count during the ripening process (X3).

Low pH values in products that ferment is one of the most significant factors affecting probiotic bacteria growth and stability (44). *L. acidophilus* grows better at a pH of 5.5-6.0, whereas bifidobacteria need a pH of 6.0-7.0 (45). The pH value was around 6.69-6.82 on the first day of analysis and decreased to levels between 6.16-6.36 by the end of ripening ( $p < 0.05$ ). During storage, the pH value decreased further, reaching levels of 5.31-5.42 on the final day of analysis ( $p < 0.05$ ). Several studies have observed changes in pH in fermented sausages during storage. According to Rebucci et al. (46), during sausage ripening, the pH was 5.29 in 30 days and reached 5.86 in 60 days, which was related to lactobacilli proteolysis and endogenous enzymes in meat (8). LABs in sausage samples create lactic acid, which lowers the pH in the surroundings. This happens particularly fast during fermentation. However, meat and meat products may exhibit a decrease in pH due to the production of alkaline nitrogenous substances such as ammonia and amines as a result of microbial proteolytic activities (47). The decrease in pH in sausages is a result of the fermentation process. During the production of fermented sausages, the pH decreases due to the action of microorganisms that live in acidic conditions, such as lactic acid bacteria. In their study with sausage samples of different brands and serial numbers from the market, Kızılkaya et al. (48) stated that the pH value was  $< 5.36$ , and the use of LAB as a starter culture was common in commercial sausages. In a study investigating the microbiological and physicochemical properties of sausage samples prepared with added sugar beet as a carbohydrate source, it was observed that the pH, which was initially around 6.15 on the first day of the study, decreased to an average of 5.15 by the 5<sup>th</sup> day of ripening. At the end of ripening, the highest pH value was observed in the groups without sugar beet added, and it has been reported that the reason for the LAB addition may be a further pH decrease by fermenting the carbohydrate and producing lactic acid (49). It is thought that the addition of prebiotics may have an important role in the ripening of sausage by contributing to the development of LAB. Additionally, this pH decrease causes the denaturation of muscle proteins, leading to a decrease in their water-holding capacity (50). The inhibition of unwanted microorganisms in food is achieved by decreasing water activity (aw).

A study examining the water activity (aw) values of various commercially available sausage samples reported that even within different batches of the same brands, there were variations in aw values. Generally, the aw values ranged between 0.94 and 0.96. Based on these values, it has been stated that the sausages offered for sale are not dried sufficiently and that an arrangement must be made for this. Another study stated that the aw value, which was >0.95 at the beginning, was <0.75 on the 8<sup>th</sup> day with the addition of starter culture, and that a low aw value could improve the shelf life and food safety of the product (33).

Continuous reduction in water activity causes a significant portion of microorganisms to die. Therefore, water activity is an important factor in food products that affects shelf life and microbiological quality. Water activity in the sausages was determined to be above 0.90 on the first day of ripening, but it decreased during the ripening process to levels between 0.83 and 0.87 on the 6<sup>th</sup> day. While the aw values of the sausage varied between 0.88 and 0.90 on average according to the results of Ünal and Karakaya (51), in our study, they decreased as expected.

The characteristic taste and texture of fermented meats originate from the decomposition products of animal components. Using properly selected species that produce significant flavor components can enhance the quality of the senses. To acquire changed sensory qualities and the optimum amount of acidity during the fermentation process, probiotics must be co-cultured with non-probiotic starters. Probiotics may not have a significant impact on the end product's sensory acceptability, or they may have a beneficial effect when used in conjunction with conventional starter cultures throughout the sausage fermentation process (44).

The texture of sausage is known to be affected by its physicochemical properties, such as fat, salt, and pH values. The hardness of the sausages, as determined experimentally, ranged from 212.90 to 534.56. The stickiness value decreased in all groups as the storage period progressed. On the 30<sup>th</sup> day of storage, the lowest hardness and stickiness values were observed only in group C, which had lactulose added. Sensory evaluation results also showed that group C, which contained lactulose, was the most preferred group. There were no statistically significant differences in the aroma parameter within or between groups ( $p>0.05$ ). The hardness value in the sausage samples examined on the 12<sup>th</sup> day of the texture profile increased as a result of the addition of LAB. It was stated that the situation, which is also associated with a decrease in pH, may also be due to excessive moisture loss. It was reported that the gumminess value was higher in the group without LAB addition (34). The increase in microorganisms affects the hardness of the product by reducing the pH of the product and causing the meat proteins to denature. The decrease in the aw value of the product causes the adhesion values to decrease. Therefore, it increases the cutting ability of sausage (3). The addition of *Lactobacillus plantarum* TN8 to sausages made with beef was found to cause a decrease in textural properties in terms of hardness, elasticity, and chewiness, which can be related to

the decrease in pH (52). Kaban et al (53) reported that adding LAB as a starter affected pH change, especially in the first 3 days of the fermentation process.

In a study examining the effect of starter culture addition on sensory properties, it was stated that there was no significant difference in color, taste, and general acceptability, but sausage samples without starter culture received the lowest score in the texture parameter (53). It has been stated that the use of a starter and the rate of maturing have a significant effect on color and general acceptability, and rapid maturing in particular has a good effect on texture (37).

The addition of lactulose to sausages made with goat meat, which is common around Burdur, improved the textural and sensory properties of the product. The results obtained show that the addition of probiotic bacteria and lactulose to the traditional sausage production process has a positive and significant effect on the microbiological quality, textural characteristics, and sensory attributes of the product. These results offer significant potential for product improvement and diversification within the sausage industry.

#### ACKNOWLEDGMENTS

This study has been supported by the Burdur Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Commission (Project No: 0723-MP-21).

#### CONFLICTS OF INTEREST

There are no conflicts of interest.

#### REFERENCES

1. Saricoban C, Karakaya M, Caner C. (2006). Properties of Turkish-style Sucuk Made with Different Combinations of Beef and Hen Meat. *J Muscle Food*. 17(1):1-8.
2. Soyer A, Ertaş AH, Üzümcüoğlu Ü. (2005). Effect of Processing Conditions on The Quality of Naturally Fermented Turkish Sausages (sucuks). *Meat Sci*. 69(1):135-141.
3. Bozkurt H, Bayram M. (2006). Colour and Textural Attributes of Sucuk During Ripening. *Meat Sci*. 73(2):344-350.
4. Demirgöl F, Sağdıç O. (2017). Laktik Starter Kültür Üretim Teknolojisi. *EJOSAT*. 7(11):27-37.
5. Cocconcelli PS. (2007). Starter Cultures: Bacteria. *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, 137-145.
6. Cenci-Goga BT, Ranucci D, Miraglia D, Cioffi A. (2008). Use of Starter Cultures Of Dairy Origin in The Production of Salame Nostrano, an Italian Dry-Cured Sausage. *Meat Sci*. 78(4):381-390.
7. Bis-Souza CV, Barba FJ, Lorenzo JM, Penna AB, Barretto ACS. (2019). New Strategies for The Development of Innovative Fermented Meat Products: A Review Regarding the Incorporation of Probiotics and Dietary Fibers. *Food Rev Int*. 35(5):467-484.
8. Työppönen S, Petäjä E, Mattila-Sandholm T. (2003). Bioprotectives and Probiotics for Dry Sausages. *Int J Food Microbiol*. 83(3):233-244.
9. Arihara K, Ota H, Itoh M, Kondo Y, Sameshim T, Ymanaka H. (1998). *Lactobacillus Acidophilus* Group Lactic Acid Bacteria Applied to Meat Fermentation. *J Food Sci*. 63:544-547.

10. Gürakan GC, Bozoğlu TF, Weiss N. (2005). Identification of *Lactobacillus* Strains from Turkish-Style Dry Fermented Sausages. *LWT*, 28:139-144.
11. Kołozyn-Krajewska D, Dolatowski ZJ. (2009). Probiotics in Fermented Meat Products. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 8 (2):61-74.
12. Venema K, Vermunt SHF, Brink EJ. (2005). D-tagatose Increases Butyrate Production by the Colonic Microbiota in Healthy Men and Women. *Microb Ecol Health Dis*. 17:47-57.
13. Yılmaz-Ersan L, Özcan T, Akpınar-Bayazit A, Delikanlı B. (2016). Bifidojenik Faktör Olarak Laktoz Türevlerinin Önemi. *Bursa Uludağ Üniv Ziraat Fak Derg*. 30(2):79-90.
14. Ensoy U, Kolsarici N, Candoğan K, Karslıoğlu B. (2010). Changes in Biochemical and Microbiological Characteristics of Turkey Sucuks as Affected by Processing and Starter Culture Utilization. *J Muscle Food*. 21(1):142-165.
15. Madruga MS, Bressan MC. (2011). Goat Meats: Description, Rational Use, Certification, Processing and Technological Developments. *Small Rumin Res*. 98(1-3):39-45.
16. Pophiwa P, Webb EC, Frylinck L. (2020). A Review of Factors Affecting Goat Meat Quality and Mitigating Strategies. *Small Rumin Res*. 183:106035
17. Dawkins NL, McMillian KW, Phelps O, Gebrelul S, Beyer AJ, Howard A. (2000). Palatability Studies as Influenced by Consumer Demographics and Chevon Characteristics. *J Muscle Food*. 11:45-49.
18. International Organization for Standardization (2013). ISO4833-2:2013: Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Colony-count technique at 30° C by the surface plating technique.
19. International Organization for Standardization (2006). ISO 4832:2006: Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff Horizontal Method for the Enumeration of Coliforms Colony-Count Technique.
20. International Organization for Standardization (1995). ISO 13681:1995: Meat and Meat Products Enumeration of Yeasts and Moulds Colony-count Technique.
21. International Organization for Standardization (2021). ISO6888-2:2021: Microbiology of the Food Chain Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium.
22. De Man JC, Rogosa M, Sharpe, ME. (1960). A Medium for the Cultivation of *Lactobacilli*. *J Appl Bacteriol*. 23(1): 130-135.
23. Dave RI, Shah NP. (1996). Evaluation of Media for Selective Enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacteria*. *J Dairy Sci*. 79(9):1529-1536.
24. International Organization for Standardization (2006). ISO20128:2006 IDF 192:2006: Milk products Enumeration of Presumptive *Lactobacillus Acidophilus* on a Selective Medium Colony-count Technique at 37°C.
25. International Organization for Standardization (1999). ISO 2917:1999: Meat and Meat Products Measurement of pH Reference Method.
26. International Organization for Standardization (2008). ISO 21527-2:2008: Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds Part 2: Colony Count Technique in Products with Water Activity less than or equal to 0,95.
27. Yılmaz M, Seçilmiş H. (2006). Gaz Kromatografisi Headspace Sistemi ile Süt Ürünlerinde Bazı Aroma Bileşenlerinin Analizi. *Türkiye*, 9:24-26.
28. Güzel-Seydim ZB, Seydim AC, Greene AK, Bodine AB. (2000). Determination of Organic Acids and Volatile Flavor Substances in Kefir During Fermentation. *J Food Compos Anal*. 13(1):35-43.
29. International Organization for Standardization (2016). ISO 13299:2016: Sensory analysis Methodology General Guidance for Establishing a Sensory Profile.
30. Topcam MMY, Arslan B, Soyer A. (2023). Sucuk, Turkish-Style Fermented Sausage: Evaluation of the Effect of Bioprotective Starter Cultures on Its Microbiological, Physicochemical, and Chemical Properties. *Appl Microbiol*. 4(3):1215-1231.
31. Gönülalan Z, Arslan A, Köse A. (2004). Farklı Starter Kültür Kombinasyonlarının Fermente Sucuklardaki Etkileri. *Turk J Vet Anim Sci*. 28:7-16.
32. Tekinşen OC, Dinçer B, Kaymaz Ş, Yücel A. (1982). Türk Sucuğunun Olgunlaşması Sırasında Mikrobiyel Flora ve Organoleptik Niteliklerindeki Değişimler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. 29:111-130.
33. Wang D, Hu G, Wang H, Wang L. et al. (2021). Effect of Mixed Starters on Proteolysis and Formation of Biogenic Amines in Dry Fermented Mutton Sausages. *Foods*. 10(12):2939.
34. Ozturk I, Sagdic O, Yetim H. (2021). Effects of Autochthonous Yeast Cultures on Some Quality Characteristics of Traditional Turkish Fermented Sausage "Sucuk". *Food Sci Anim Resour*. 41(2):196.
35. Banjara N, Suhr MJ, Hallen-Adams HE. (1998). Diversity of Yeast and Mold Species From a Variety of Cheese Types. *Curr Microbiol*. 70:792-800.
36. Nazlı B. (1998). Researches on the Ripening of Turkish Fermented Sausage Using a Local Starter Culture Combination. *Turk J Vet Anim Sci*. 22(5):393-398.
37. Akköse A, Oğraş ŞŞ, Kaya M, Kaban G. (2023). Microbiological, Physicochemical and Sensorial Changes During the Ripening of Sucuk, a Traditional Turkish Dry-Fermented Sausage: Effects of Autochthonous Strains, Sheep Tail Fat and Ripening Rate. *Ferment*. 9(6):558.
38. Kamiloğlu A. (2022). Functional and Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Turkish Dry-Fermented Sausage (Sucuk). *Braz J Microbiol*. 53(2):959-968.
39. Öksüztepe G, Güran HŞ, İncili GK, Gül SB. (2011). Elazığ'da Tüketime Sunulan Fermente Sucukların Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*. 25(3): 107-117.
40. Erkmen O, Bozkurt H. (2004). Quality Characteristics of Retailed Sucuk (Turkish Dry-Fermented Sausage). *Food Technol Biotechnol*. 42(1):63-69.
41. Holko I, Hrabě J, Šalaková A, Rada V. (2013). The Substitution of a Traditional Starter Culture in Mutton Fermented Sausages by *Lactobacillus Acidophilus* and *Bifidobacterium Animalis*. *Meat Sci*. 94:275-279.
42. Kaya M, Aksu MI. (2005). Effect of Modified Atmosphere and Vacuum Packaging on Same Quality Characteristics of Sliced Sucuk Produced Using Probiotics Culture. *J Sci Food Agric*. 85:2281-2288.
43. Coelho SR, Lima ÍA, Martins ML, Júnior AAB, et al. (2019). Application of *Lactobacillus paracasei* LPC02 and Lactulose as a Potential Symbiotic System in the Manufacture of Dry-Fermented Sausage. *LWT*, 102:254-259.
44. Rouhi M, Sohrabvandi S, Mortazavian AM. (2013). Probiotic Fermented Sausage: Viability of Probiotic Microorganisms and Sensory Characteristics. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 53(4):331-348.

45. De Vuyst L. (2000). Technology Aspects Related to the Application of Functional Starter Cultures. *Food Technol Biotechnol.* 38(2):105-112.
46. Rebucci R, Sangalli L, Fava M, Bersani C, Cantoni C, Baldi A. (2007). Evaluation of Functional Aspects in Lactobacillus Strains Isolated From Dry Fermented Sausages. *J Food Qual.* 30(2):187-201.
47. Zhang H, Wu J, Guo X. (2016). Effects of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Spice Extracts on Raw Chicken Meat Quality., *Food Sci Hum Wellness.* 5(1):39-48.
48. Kızılkaya MF, Oral ZFY, Sallan S, Kaban G, Kaya M. (2023). Volatile Nitrosamines in a Dry Fermented Sausage" Sucuk": Occurrence and Effect of Cooking on their Formation. *J Food Compos Anal.* 119:105284.
49. Dilek NM, Karakaya M. (2022). Natural Alternative Curing Agent in Fermented Sucuk Production: Sugar Beet (*Beta vulgaris* var. *saccharifera* L.) Molasses. *Selcuk J Agric Food Sci.* 36(3):380-386.

50. Kim YHB, Warner RD, Rosenvold K. (2014). Influence of High Pre-Rigor Temperature and Fast Ph Fall on Muscle Proteins and Meat Quality: A Review. *Anim Pro. Sci.* 54(4):375-395.
51. Ünal K, Karakaya M. (2017). The Effect of Clove and Cinnamon on Some Physicochemical Properties of Sucuk Produced by Different Animal Fat Types. *J Tekirdag Agric Fac.* 14(3):55-65.
52. Slima SB, Ktari N, Trabelsi I, Triki M, et al. (2017). Effect of Partial Replacement of Nitrite With a Novel Probiotic Lactobacillus Plantarum TN8 on Color, Physico-Chemical, Texture And Microbiological Properties of Beef Sausages. *LWT.* 86:219-226.
53. Kaban G, Sallan S, Çınar Topçu K, Sayın Börekçi B, Kaya M. (2022). Assessment of Technological Attributes of Autochthonous Starter Cultures in Turkish Dry Fermented Sausage (Sucuk). *Int J Food Sci.* 57(7):4392-4399.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri

Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü,

Burdur / TÜRKİYE

E-posta: adincoglu@mehmetakif.edu.tr



## Vakum Paketlemenin Örgü Peynirlerinin Raf Ömrü, Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Farklı Muhafaza Koşullarındaki Etkileri

Mustafa İPEK<sup>1,a</sup>, Mehmet Emin ERKAN<sup>2, b, ✉</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0009-0003-6634-9491; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0001-5581-3867

Geliş Tarihi/Received  
27.06.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
20.09.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

Diyarbakır örgü peyniri Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından tescillenmiş ve coğrafi işaret almış peynirlerden biridir. Bu çalışmada vakum paketlemenin örgü peynirinin raf ömrü ve organoleptik özelliklerine etkisi incelenmiştir. Vakum paketlenen örgü peynir numuneleri 3 gruba ayrılmıştır. 1. grup 4°C, 2. grup 25°C, 3. grup -18°C'de muhafazaya alınmıştır. Numunelere 1. gün, 7. gün, 15. gün, 30. gün, 60. gün, 90. gün ve 120. günlerde mikrobiyolojik, kimyasal ve organoleptik analizler yapılmıştır. Yapılan analizler sonunda 25°C'de muhafaza edilen vakum paketli peynirde 7. günden sonra paket içinde su salma ve daha sert yapı tespit edilmiştir. 25°C'de muhafaza edilen vakum paketli peynirlerde asitliğin hızlı gelişimine bağlı olarak indikatör ve patojen bakterilerin eliminasyonu da daha hızlı olmuştur. Vakum paketlemeyle peynirlerin nem kaybının önlediği ve tuz oranının sabit kaldığı görülmüştür. Bu da ağırlık kaybını önlediği için üreticiye ekonomik faydayı artırır. Tuz miktarının sabit kalması da tüketici için arzu edilen bir durumdur. Yaptığımız çalışmayla 25°C'deki peynirlerin 30 güne kadar tüketilebileceği tespit edildi. Patojen bakteri içermeyen hijyenik üretilmiş peynirler de 4°C'de muhafaza edilen grubun 120. güne kadar tüketilebileceğini ancak kontamine peynirlerde küf üremelerinin şekillenmesinden dolayı 60. güne kadar tüketilebileceği tespit edilmiştir. -18°C'deki grupta 120. güne kadar organoleptik açıdan tüketilebileceği tespit edildi. Hijyenik şartlarda üretim yapıldığında ve kontaminasyonun önlediği durumlarda, vakum paketlenen örgü peynirlerinin buzdolabında muhafaza süresinin biraz daha uzayabileceği değerlendirilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Muhafaza, örgü peyniri, vakum paketleme

**The Effects of Vacuum Packaging on Shelf Life, Microbiological, Chemical and Sensory Properties of Braided Cheese under Different Storage Conditions**

### Abstract

Diyarbakır braided cheese is one of the cheeses registered by the Turkish Patent and Trademark Office and received a geographical indication. In this study, the effect of vacuum packaging on the shelf life and organoleptic properties of knit cheese was investigated. Vacuum packed knitted cheese samples were divided into 3 groups. Group 1 was stored at 4°C, Group 2 at 25°C and Group 3 at -18°C. Microbiological, chemical and organoleptic analyses were performed on the 1st day, 7th day, 15th day, 30th day, 60th day, 90th day and 120th day. At the end of the analyses, water release and harder structure were detected in the vacuum packaged cheeses stored at 25°C after the 7th day. Elimination of indicator and pathogenic bacteria was also faster due to the rapid development of acidity in vacuum-packed cheeses stored at 25°C. It has been observed that vacuum packaging prevents moisture loss and keeps the salt content constant. This increases the economic benefit to the producer as it prevents weight loss. It is also desirable for the consumer that the salt content remains constant. In our study, it was determined that cheeses at 25°C can be consumed up to 30 days. It was determined that hygienically produced cheeses without pathogenic bacteria can be consumed up to 120 days in the group stored at 4°C, but can be consumed up to 60 days due to the formation of mold growth in contaminated cheeses. In the group at -18°C, it was determined that it could be consumed organoleptically up to 120 days. When production is carried out under hygienic conditions and contamination is prevented, it is evaluated that the storage period of vacuum-packed knitted cheeses in the refrigerator can be extended a little longer.

**Key Words:** Preservation, braided cheese, vacuum packaging

### GİRİŞ

Temel gıdalarımızdan biri olan peynirler, süt ürünleri içerisinde dayanıklılığı, sevilerek tüketilmesi ve diğer gıda maddelerine göre yüksek kalsiyum miktarının fazla olması bakımından önem arz etmektedir (1). Tarihsel olarak sütün sağılma olayı ve sütün işlenmesi ile ilgili en eski bilgiye Mezopotamya topraklarında rastlanmaktadır. M.Ö. 8000'li yıllarda

tapınaklardaki yazıtlarda bulunan resimlerde peynirin üretildiğini gösteren figürler bulunmuştur (2).

Dünya'da farklı form ve tatlara sahip 4000 peynir çeşidinin üretildiği bildirilmiştir (3,4). Türkiye'de ise 200'den fazla çeşit peynirin üretildiği bildirilmektedir. Beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peynirleri en çok tercih edilen peynir çeşitleri olarak

sıralanmaktadır. Kars kaşarı, Edirne beyaz peyniri, Erzincan tulumu, Ezine peyniri, Erzurum civil peyniri ve Diyarbakır örgü peyniri coğrafi işaret almış peynirlerimizdendir (5).

Diyarbakır örgü peyniri yağ oranı yüksek, homojen, plastik telemeli, elastik yapıda yarı sert, kendine özgü karakteristik tat ve aromaya sahip, besin değeri yüksek ve tüketici beğenisini kazanan tipik saç örgüsü şeklinde bir peynir çeşididir (6). Bazı bölgelerde erimiş peynir adı ile de bilinen örgü peyniri, yapım tekniği yönünden kaşar peynirine benzerlik gösterirken, kimyasal bileşimi yönünden beyaz peynire benzerlik göstermektedir (3). Çiğ süttten üretilmesine rağmen teknolojisinde eritme işlemi için uygulanan ısı pastörizasyon ısısının üzerinde olduğu için mikrobiyolojik açıdan güvenilir bir peynir çeşididir. Söz konusu peynir, yüksek yağ oranına sahip, kendine özgü karakteristik tat ve aromasıyla, besin değeri yüksek ve tüketici beğenisini kazanan bir eritme peynir çeşididir (6,7).

Diyarbakır örgü peynirinin muhafazası ve olgunlaştırılması genellikle bidonlarda tuzlu suda salamura olarak ve soğuk hava depolarında yapılmaktadır. Bu işlem sonunda da tuz oranı artmaktadır. Son zamanlarda az tuzlu örgü peynirine olan talep artışından dolayı olgunlaştırılmadan birkaç gün dinlendirilerek satışa sunulmaktadır. Vakum paketlemenin, taze örgü peyniri satışında kontaminasyonu önleyeceği, daha hijyenik ve ekonomik olarak şehirler arasında nakledilebileceği düşünülmektedir.

## MATERYAL VE METOT

Deneysel örgü peyniri üretimi Diyarbakır'da geleneksel yöntemlere göre örgü peyniri üretimi yapan üç farklı firmaya ait tesiste gerçekleştirilmiştir. Üretimi tamamlanan peynir örnekleri firma tarafından vakum paketlenerek soğuk zincir altında Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim dalı laboratuvarlarına getirildi. Her bir üretimden eşit sayıdaki vakum paketli peynir örnekleri 3 alt gruba ayrılarak 1. grup 4°C, 2. grup 25°C'de, 3. grup -18°C'de muhafazaya alındı. Peynir yapılmadan önce çiğ süttten ve telededen numuneler alınıp mikrobiyolojik ve kimyasal analizler yapıldı. Belirlenen muhafaza koşullarında depolanan örneklerin sırasıyla 1. gün, 7. gün, 15. gün, 30. gün, 60. gün, 90. gün ve 120. gün mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuusal analizleri yapıldı. Tüm analizlerde 3 paralelli çalışıldı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Gruplar arasındaki istatistiksel karşılaştırmada Anova (tekyönlü var-

yans analizi) testi kullanıldı. Gruplar arası farkın önem kontrolleri ise Duncan testi ile belirlendi. İstatistiklerin yapılmasında SPSS paket programı kullanıldı (8).

## Mikrobiyolojik ve Kimyasal Analizler

Analizlerde kullanılan mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuusal analiz metotları Tablo 1'de gösterilmektedir (9-21). Mikrobiyolojik analizler için buzdolabında ve oda ısısında saklanan örgü peyniri örneklerinden sırasıyla 1. gün, 7. gün, 15. gün, 30. gün, 60. gün, 90. gün ve 120. gün steril şartlarda 25 gram peynir numunesi alınarak 9 katı fizyolojik tuzlu su ile sulandırılarak homojenize edilmiş seri dilüsyonlar yapılarak ekimler gerçekleştirilmiştir. Toplam Mezofilik Aerob bakteri, Koliform bakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus-Micrococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., Laktik streptococ spp., Sülfite redükte eden anaerob mikroorganizma ve Küf-Maya analizleri için sırası ile PCA, VRB, TBX, BPA, VRBD, MRS, M17, SPS ve DRBC besi yerleri kullanılmıştır.

**Tablo 1.** Mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuusal analizlerde kullanılan metotlar

Analiz	Metot
Toplam Mezofilik Aerobik Mikroorganizmalar	ISO 4833-1:2016
Koliform bakteriler	ISO 4832:2010
<i>Escherichia coli</i>	ISO 16649-2: 2012
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i> spp.	Harrigan WF. (12)
<i>Enterococcus</i> spp.	Microbiology manuel (15)
<i>Lactobacillus</i> spp.	Harrigan WF. (12)
Laktik streptococ spp	Oxoid Manual (13)
Küf sayısı	ISO 7954:1987
Maya sayısı	ISO 7954:1987
Sülfite Redükte Eden Anaerob Mikroorganizma	Speck ML. (17)
Kurumadde	TS 1561: 2022
Tuz	TS 1738: 2015
Asitlik	TS 591: 2013
pH	TS EN ISO 10523: 2013
Duyuusal analizler	TS EN ISO 8589: 2010

Yapılan çalışma sonucunda tüm gruplarda pH'nın 120. gün sonrasında düşüş gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu durum ortamda asiditenin artmasıyla açıklanabilir. 25°C'de muhafaza edilen peynirlerde pH 5.75'ten 4.97'ye kadar düşerken, 4°C'de muhafaza edilen grupta 5.75'ten 5.32'ye kadar düşmüştür. -18°C'de muhafaza edilen grupta ise pH'nın 5.51'den 5.13'e kadar düştüğü tespit edilmiştir. pH ile ilgili veriler Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2.** pH analiz bulguları +SD

Muhafaza Isısı	Zaman (Gün)						
	1.gün	7.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün
4°C	5.75±0.16 <sup>a</sup>	5.53±0.12 <sup>a</sup>	5.23±0.19 <sup>a</sup>	5.27±0.04 <sup>a</sup>	5.19±0.03 <sup>a</sup>	5.02±0.02 <sup>a</sup>	5.32±0.05 <sup>a</sup>
25°C	5.73±0.15 <sup>a</sup>	5.15±0.19 <sup>a</sup>	5.01±0.34 <sup>b</sup>	4.92±0.25 <sup>b</sup>	4.67±0.48 <sup>b</sup>	4.65±0.53 <sup>b</sup>	4.97±0.06 <sup>b</sup>
-18°C	5.51±0.29 <sup>a</sup>	5.44±0.28 <sup>a</sup>	5.36±0.23 <sup>a</sup>	5.28±0.20 <sup>a</sup>	5.16±0.20 <sup>a</sup>	5.23±0.17 <sup>a</sup>	5.13±0.14 <sup>ab</sup>
P	NS	NS	*	*	*	*	*

<sup>a,b,c</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir. P<0.05 (\*), SD: Standart sapma, NS: Gruplar arasındaki fark önemli değil

Tüm gruplarda asitlik, 120. günün sonunda artış göstermiştir. Bunun sebebi olarak starter ve starter olmayan bakterilerin faaliyetleriyle laktik asit miktarının artması gösterilebilir. Asitlik derecesi, peynirin olgunluk derecesi ya da bozulmanın başlangıç süreci hakkında bilgi verir. Çalışmamızda her üç grupta da asitlik derecesinin sürekli arttığı, özellikle 120. gün sonrasında artış gösterdiği saptanmıştır. Sebep olarak starter kültür olarak kullanılan bakteriler ile starter kültür olarak kullanılmayan bakterilerin faaliyetleri sonucunda şekillenen laktik asit miktarındaki artışın neden olduğu değerlendirilmiştir.

Vakum paketlenen ürünlerde paketleme materyalinin geçirgenliğine bağlı olarak rutubet kaybı ya da kuru madde artışında da farklılıklar olmaktadır. Artan ısı derecelerinde rutubet kaybının arttığı görülmektedir. 25°C'de muhafaza edilen grupta tuz miktarının 120. günün sonunda arttığı, 4°C ve -18°C'deki gruplarda ise artışın daha az olduğu tespit edilmiştir. Tüm vakum paketli örgü peynirlerinde tuz oranının istenen düzeyde sabit kaldığı tespit edilmiştir. Tuz oranı ile ilgili tüm veriler Tablo 3'te verilmiştir.

**Tablo 3.** Tuz miktarı analiz bulguları ( %  $\pm$  SD )

Muhafaza Isısı	Zaman (Gün)						
	1.gün	7.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün
4°C	7.15 $\pm$ 0.15	7.43 $\pm$ 0.22	7.37 $\pm$ 0.37	7.21 $\pm$ 0.13	7.36 $\pm$ 0.11	7.21 $\pm$ 0.29	7.58 $\pm$ 0.18
25°C	7.22 $\pm$ 0.19	8.01 $\pm$ 0.25	8.04 $\pm$ 0.10	8.16 $\pm$ 0.15	8.30 $\pm$ 0.27	8.36 $\pm$ 0.28	8.41 $\pm$ 0.28
-18°C	7.07 $\pm$ 0.07	7.09 $\pm$ 0.08	7.09 $\pm$ 0.03	7.20 $\pm$ 0.11	7.23 $\pm$ 0.17	7.22 $\pm$ 0.18	7.19 $\pm$ 0.14
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

SD: Standart sapma, NS: Gruplar arasındaki farklılık önemli değil. (p>0.05)

Tüm grupların dış ve iç görünüşlerinde, tatlarında ve kokularında tüketim açısından önemli bir değişiklik tespit edilmemiştir. Yapısal değişim olarak 4°C'de muhafaza edilen grupta en fazla değişiklik görülürken, diğer gruplarda ise bu değişim daha azdır. Buzdolabında muhafaza edilen peynirlerin ise daha yumuşak ve renk olarak krem beyazı olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı 3 grupta da 120. güne kadar düşüş göstermiştir. Vakum paketlenen peynirlerde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısındaki düşüşün anaerob ortam oluşumuna bağlı olarak şekillendiği anlaşılmaktadır. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı ile ilgili veriler Tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 4.** Toplam mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı analiz bulguları ( log kob / g  $\pm$  SD )

Muhafaza Isısı	Zaman (Gün)						
	1.gün	7.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün
4°C	7.74 $\pm$ 0.76	7.38 $\pm$ 0.49	6.69 $\pm$ 0.85	7.41 $\pm$ 1.03	6.82 $\pm$ 0.68	6.51 $\pm$ 1.13	7.12 $\pm$ 1.31
25°C	8.06 $\pm$ 0.28	7.84 $\pm$ 0.53	7.51 $\pm$ 0.87	7.39 $\pm$ 0.15	7.31 $\pm$ 0.47	7.30 $\pm$ 0.68	6.92 $\pm$ 1.36
-18°C	8.21 $\pm$ 0.05	8.11 $\pm$ 0.35	7.84 $\pm$ 0.49	7.80 $\pm$ 0.74	7.471 $\pm$ 0.27	7.63 $\pm$ 0.13	6.94 $\pm$ 1.35
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

SD: Standart sapma, NS: Gruplar arasındaki farklılık önemli değil. (p>0.05)

Koliform bakteriler asit ve gaz oluşturan bakterilerdir. Koliform grubu bakterilerin gıda maddelerinde yüksek sayılarda bulunması, sanitasyon işlemlerinin ve ürüne uygulanan ısı işlemlerinin yetersiz olduğunun ya da işlem sonrası rekonstrüksiyonun mevcut olduğunun göstergesidir. 4°C'de 120.

güne kadar, -18°C'de 90. güne kadar, 25°C'de 30. güne kadar koliform bakteri olduğu tespit edilmiştir.

*Enterococcus* spp. bakteri sayısı yönünden tüm gruplar değerlendirildiğinde 120. günden sonra düşüş görülmüştür. *Enterococcus* spp. sayısı ile ilgili veriler Tablo 5'te verilmiştir.

**Tablo 5.** *Enterococcus* spp. sayısı analiz bulguları (log kob / g  $\pm$  SD)

Muhafaza Isısı	Zaman (Gün)						
	1.gün	7.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün
4°C	3.74 $\pm$ 1.07	3.45 $\pm$ 0.72	3.45 $\pm$ 0.75	3.08 $\pm$ 0.39	2.17 $\pm$ 1.88	2.02 $\pm$ 1.80	1.64 $\pm$ 1.43
25°C	3.43 $\pm$ 1.39	2.88 $\pm$ 0.78	2.79 $\pm$ 0.82	2.37 $\pm$ 1.18	2.27 $\pm$ 1.98	1.84 $\pm$ 1.61	1.54 $\pm$ 1.34
-18°C	3.43 $\pm$ 0.40	3.61 $\pm$ 0.75	2.48 $\pm$ 0.78	3.05 $\pm$ 0.23	2.99 $\pm$ 0.26	2.54 $\pm$ 0.25	1.90 $\pm$ 0.49
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

SD: Standart sapma, NS: Gruplar arasındaki farklılık önemli değil. (p>0.05)

Araştırmada, maya sayısı bakımından da 4°C'de ve 25°C'deki gruplarda artış olduğu, ancak -18°C'deki gruba maya sayısı bakımından sabit kaldığı tespit edilmiştir. Maya sayısı ile ilgili veriler Tablo 6'da verilmiştir.

*Staphylococ-Micrococ* spp. sayısında 4°C ve -18°C'deki gruplarda 120. güne kadar düşüş gözlenirken 25°C'deki grupta artış gözlemlenmiştir. *Staphylococ-Micrococ* spp. sayısı ile ilgili veriler Tablo 7'de verilmiştir.



**Tablo 6.** Maya sayısı analiz bulguları (log kob / g ± SD)

Muhafaza Isısı	Zaman (Gün)						
	1.gün	7.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün
4°C	3.61±0.78	3.59±0.76	3.91±1.01	3.83±0.94	4.14±1.05	4.24±1.08	4.08±1.03
25°C	3.27±1.11	3.41±1.17	3.67±1.25	3.51±1.28	3.45±1.34	3.49±1.05	2.75±0.67
-18°C	3.41±1.21	3.50±1.23	3.46±1.04	3.51±1.03	3.54±0.97	3.62±0.82	3.61±0.81
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

SD: Standart sapma, NS: Gruplar arasındaki farklılık önemli değil. (p>0.05)

**Tablo 7.** *Staphylococ-Micrococ* spp. sayısı analiz bulguları (log kob / g ± SD)

Muhafaza Isısı	Zaman (Gün)						
	1.gün	7.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün
4°C	2.61±1.85	2.47±1.74	2.37±1.68	2.51±1.78	2.54±1.85	2.76±2.11	2.34±1.67
25°C	2.16±1.97	2.43±1.42	2.45±2.50	2.37±1.30	2.28±2.11	2.46±2.33	2.58±1.71
-18°C	2.28±1.98	2.20±1.99	2.62±2.76	2.28±2.11	2.28±2.11	2.49±2.33	1.79±1.71
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

SD: Standart sapma, NS: Gruplar arasındaki farklılık önemli değil. (p>0,05)

Tüm gruplarda *Lactobacillus* spp. sayısının 120. gün sonunda artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Neden olarak fakültatif anaerob veya mikroaerofilik bakterilerin artışı sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca, peynir asitliğindeki artışların laktik asit bakterilerinin sayısında azalmaya neden olduğu düşünülmektedir.

Laktik streptokoklar starter kültür olarak kullanılan bakterilerdir. Lipoliz, proteoliz ve laktöz fermentasyonunda

görev almaktadırlar. Çalışmada 3 grupta da 120. güne kadar laktik streptokok sayısında bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Küf sayısı analiz bulguları değerlendirildiğinde, 4°C'de ve -18°C'deki gruplarda 120. gün sonunda düşüş görülürken, 25°C'deki grupta 15. güne kadar sürekli düşüş göstermiş, 30. günde ise tespit edilebilir limitlerin altına düştüğü tespit edilmiştir. Muhafaza süresi boyunca Küf sayısındaki değişimler Tablo 8'de verilmiştir.

**Tablo 8.** Küf sayısı analiz bulguları (log kob / g ± SD)

Muhafaza Isısı	Zaman(Gün)						
	1.gün	7.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün
4°C	2.59±0.80 <sup>a</sup>	2.47±0.89 <sup>a</sup>	1.41±1.24 <sup>a</sup>	1.30±1.12 <sup>a</sup>	1.40±1.21 <sup>a</sup>	1.94±1.69 <sup>a</sup>	2.73±2.54 <sup>a</sup>
25°C	2.84±0.77 <sup>a</sup>	2.38±0.34 <sup>a</sup>	0.89±0.85 <sup>b</sup>	0	0	0	0
-18°C	2.71±0.78 <sup>a</sup>	2.37±0.51 <sup>a</sup>	1.58±1.42 <sup>a</sup>	1.53±1.36 <sup>a</sup>	1.50±1.37 <sup>a</sup>	1.33±1.15 <sup>a</sup>	1.17±1.27 <sup>a</sup>
P	NS	NS	*	*	*	*	*

<sup>a,b,c</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir. P<0,05 (\*), SD: Standart sapma, NS: Gruplar arasındaki fark önemli değil.

Araştırmamızda *E.coli* sayısı 25°C'deki grupta 7. gün, -18°C'deki grupta 60. günde tespit edilebilir limitlerin altına inerken, 4°C'deki grupta 120. güne kadar sürekli düşüş göstermiştir. Oda ısısında muhafaza da asiditenin daha hızlı artması ve pH'ın daha düşük seviyelere düşmesi sonucu *E.coli*

sayısı tespit edilebilir limitlerin altına düştüğü düşünülmektedir. Muhafaza süresi boyunca *E.coli* sayısındaki değişimler Tablo 9'da verilmiştir.

**Tablo 9.** *Esherichia coli* sayısı analiz bulguları (log kob / g ± SD)

Muhafaza Isısı	Zaman(Gün)						
	1.gün	7.gün	15.gün	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün
4°C	2.48±2.24 <sup>a</sup>	2.42±2.15 <sup>a</sup>	2.01±2.14 <sup>a</sup>	1.73±1.60 <sup>a</sup>	1.05±1.81 <sup>a</sup>	0.91±1.58 <sup>a</sup>	0.64±1.12 <sup>a</sup>
25°C	2.45±2.17 <sup>a</sup>	1.98±1.72 <sup>b</sup>	0	0	0	0	0
-18°C	2.50±2.23	2.17±1.89 <sup>a</sup>	2.10±1.82 <sup>a</sup>	1.81±1.57 <sup>a</sup>	0	0	0
P	NS	*	*	*	*	*	*

<sup>a,b,c</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir. P<0,05 (\*), SD: Standart sapma, NS: Gruplar arasındaki fark önemli değil.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsanoğlu antik çağlardan beri gıdalarını muhafaza etme ve daha uzun süre kullanmak için çaba göstermiştir. Besinlerin saklanması, korunması, taşınması ve daha iyi görünmesini sağlamak amacıyla kullanılan paketleme yöntemlerinden biri de vakum paketleme tekniğidir. Bu teknikte, ürünün bulunduğu paketin içerisindeki hava herhangi bir gaz ya da gaz ka-

rışımları ile yer değiştirilmeden vakumla boşaltılmakta, hemen ardından paketin ağzı hava geçirmeyecek şekilde kapatılmaktadır (23). Günümüzde vakum paketleme cihazları küçük ev aletleri şeklinde mutfaklarda bile kullanılmaktadır. Vakum paketleme tekniği, oksijenle temasın kesilerek gerek aerobik bakteri üremesinin engellenmesi gerekse raf ömrünün uzatılması amacıyla yoğun olarak kullanılmaktadır.

Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı raf ömrünü etkileyen, genel mikrobiyal yük hakkında fikir veren önemli bir parametredir. Yapılan bu çalışmada toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının 3 grupta da 120. güne kadar azaldığı tespit edilmiştir. Fuentes L ve ark. (25), Akarca ve ark. (24) ve Çelebi M. (27) yaptıkları çalışmada depolama süresince toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının azaldığını bildirmişlerdir (24,25,27). Çelebi M. (27) ve Akarca ve ark. (24) bulguları bizim bulgularımızla paralellik göstermektedir. Frau ve ark. (29), Erkan ME (23), Casti D. ve ark. (26), Çetinkaya ve Atasever (28), vakum paketlenen peynirlerde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının muhafaza süresince arttığını bildirmişlerdir (23,24,26-29). Vakumla paketlenen peynirlerde toplam mezofilik aerobik mikroorganizmaların sayısındaki düşüşün, anaerobik bir ortamın oluşmasıyla aerobik bakteri sayısının azalmasına bağlı olarak gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

Koliform bakteriler, laktozu parçalayarak asit gaz oluşturan bakterilerdir. Yetersiz pastörizasyon ya da ısı işleminin sonra görülmeleri bir kontaminasyon göstergesidir. 4°C'de muhafaza edilen grupta 120. güne kadar koliformlar tespit edilirken, -18°C'de muhafaza edilen grupta 90. güne kadar tespit edilmiştir. 25°C muhafaza edilen grupta 60. gün koliform bakterisi tespit edilememiştir. 25°C'de muhafaza edilen peynir örneklerinin koliform bakteri sayısındaki bu azalma peynirin olgunlaşması ve asitlik miktarının artışına bağlı olabileceği düşünülmektedir. -18°C'de muhafaza edilen gruptaki azalma ise dondurulma ve analiz için çözündürme işlemlerinin koliform bakteri popülasyonunu düşürebileceği ile açıklanabilmektedir. Çelebi M. (27) yaptığı çalışmada buzdolabında muhafaza edilen vakum paketlenmiş kaşar peynirlerinde koliform bakterilerin sayısının 2.88 log kob/g'dan 1.65 log kob/g'a düştüğünü bildirmiştir. Çelebi M'nin bulguları çalışma bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Laktik streptokoklar, starter kültür olarak kullanılan bakterilerdir. Lipoliz, proteoliz ve laktoz fermentasyonunda görev almaktadırlar. Erkan ME. (23) yapmış olduğu doktora tezinde muhafaza sırasında vakum paketlenmiş kaşar peynirlerde toplam bakteri sayısının 120. güne kadar yükseldiğini bildirmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada üç grupta da 120. güne kadar Laktik streptokok sayısında bir artış olduğu tespit edilmiştir. Fuentes L. ve ark. (25) vakum paketlenmiş Meksika peynirinde, Çetinkaya ve Atasever (28) vakum paketlenmiş kaşar peyniri numunelerinde muhafaza sırasında laktik streptokok sayısında artış tespit edildiğini bildirmiştir. Bu verilerin bizim verilerimiz ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Laktik asit bakterileri laktozu parçalayarak pH düşüşüne neden olan aynı zaman da ürettikleri metabolitlerle antimikrobiyel etkili starter kültür bakterilerindendir. Özsunar A. (30), Akarca ve ark. (24) yapmış oldukları çalışmada vakum paketlenmiş muhafaza edilen peynirlerde laktik asit bakteri sayısının düştüğünü, Eliot ve ark. (31) laktik asit bakteri sayısının sabit kaldığını bildirmişlerdir. Araştırmamızda 3 grupta da 120. güne kadar laktik asit bakteri sayısında bir artış olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlarımız Erkan ME. (23), Fuentes L. ve arkadaşlarının (25) yaptığı çalışmayla kıyaslandığında laktik asit bakteri sayısında bir artış görülmesi sebebiyle uyumlu iken Özsunar A. (30), Akarca ve arkadaşlarının (24) bulgularından laktik asit bakteri sayısında azalma olması sebebiyle farklılık göstermektedir. Bu farklılığın nedeni olarak oksijenin

ortamdan uzaklaştırılmasıyla fakültatif anaerob ya da mikro aerofilik bakterilerin sayısındaki artış gösterilebilir. Ayrıca, peynir asitliğindeki artış laktik asit bakterilerinin sayısında azalmaya yol açabilmektedir.

*Enterococcus* spp. sayısında muhafaza sırasında üç grupta da düşüş görülmüştür. Casti D. (26) yaptığı vakum paketlenme altında buzdolabında saklama sırasında ricotta peynirlerinde *Enterococcus* spp. sayısının sürekli artış eğiliminde olduğunu bildirmiştir. Fuentes L. ve ark. (25) yaptığı çalışmada vakumlu Meksika peynirinde buzdolabında muhafaza sırasında *Enterococcus* spp. sayısında düşüş olduğunu bildirmiştir. Bulgularımız Fuentes L. ve ark.(25) bulguları ile paralellik gösterirken, Casti D.'nin (26) bulduğu verilerden farklılık göstermektedir.

*Staphylococcus – Micrococcus* spp. grubu bakteriler doğada, insan ve hayvan derisinde bulunabilmektedir. Genellikle gıdalara insan tarafından ya da sağım sırasında süte mededen bulaşabilmektedir. Hijyenin iyi olmadığı tesislerdeki üretimlerde problem oluşturmaktadır (23). 4°C ve -18°C'de muhafaza edilen gruplarda *Staphylococcus– Micrococcus* spp. bakterilerin sayısında 120. güne kadar düşüş olmuş ancak 25°C'de muhafaza edilen peynirlerde *Staphylococcus – Micrococcus* spp. sayısında artış gözlemlenmiştir. Çetinkaya ve Atasever (28) yapmış olduğu çalışmada buzdolabında muhafaza edilen vakum ambalajlı peynirlerde bulduğu veriler 4°C ve -18°C'de muhafaza edilen grupların verileri ile uyumlu olduğu görülmektedir (28).

Mayalar, bazıları ticari açıdan öneme sahip olmakla birlikte, sağlık açısından çeşitli problemlere ve gıda bozulmalarına neden oldukları için istenmeyen fungal etkenlerdir. Pek çok gıda maddesi için hazırlanan yasal düzenlemeler, maya sayısını sınırlandırmaktadır. Yüksek sayılarda buldukları takdirde önemli organoleptik değişikliklere neden olarak gıdanın tüketimini engellerler (32). Mayaların büyük kısmı gaz oluşturmadan laktozu parçalayarak asiditenin oluşumuna sebebiyet verirken lipolitik ve proteolitik enzimleriyle hem olgunlaşmaya hem de bozulmaya neden olurlar. Yapılan analizler sonucunda, 4°C ve 25°C'de muhafaza edilen vakumlu peynirlerde maya ve küf sayısında en fazla azalma gözlemlenirken, vakum ambalajlı örgü peynirlerde maya sayısında artış olduğu, sadece -18°C'de muhafaza edilen grupta sabit kaldığı tespit edilmiştir. Casti D. (26) yaptığı çalışmada, vakum paketlenen ricotta peynirlerinde buzdolabında muhafaza sırasında maya ve küf sayısının deney süresi sonunda arttığını belirtmiştir. Buna karşılık, Akarca ve ark. (24) yaptıkları çalışmada, vakum paketlenen peynirlerde maya ve küf sayısında azalma gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Çalışma verileri Casti D. (26) ile uyumlu iken Akarca ve ark. (24) ile farklılık arz etmektedir. Benzer şekilde Şengül ve ark. (34) ile Karaman AD. (33), Fuentes L. ve ark. (25) yaptıkları çalışma örneklerinde maya/küf sayısında azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışma verileri, pH yönünden incelendiğinde her üç muhafaza koşulunda da pH'ın azaldığı, ancak 25°C'de muhafaza edilen peynir grubunda daha hızlı bir azalma olduğu görülmektedir. 25°C'de muhafaza edilen peynirlerde pH 5.75'ten 4.97'ye kadar düşerken 4°C'de muhafaza edilen grupta 5.75'ten 5.32'ye kadar azalmıştır. -18°C'de muhafaza edilen grupta pH'ın 5.51 den 5.13 e kadar azaldığı tespit edilmiştir. 25°C de muhafaza edilen gruptaki azalmanın istatistiksel

olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Frau F. ve ark. (29) vakum paketlenen keçi peynirlerinde yaptıkları çalışmada buzdolabında peynirin pH'sının çalışma boyunca 5.89 ile 5.98 arasında değişen şekilde sabit kaldığını ve buzdolabında depolama süresinden etkilenmediğini bildirmiştir. Çetinkaya ve Atasever (28), Fuentes L. ve ark. (25) muhafaza sırasında pH'ın azaldığını bildirmektedirler.

Asitlik derecesi, peynirin olgunluk derecesi ya da bozulma başlangıç süreci hakkında bilgi verir. Her üç grupta da asitlik derecesi sürekli artmıştır. Ancak 25°C'de muhafaza edilen ürünlerde asitlik daha hızlı oluşmuştur. İstatistiki olarak fark önemli bulunmuştur. Diğer çalışmalarda da muhafaza sırasında 120. güne kadar pH'ın düştüğü, asitliğin de arttığı bildirilmektedir (23,25,28,34). Depolama süresi boyunca tüm numunelerde asitlik artışının ve pH düşüşünün peynirde bulunan ve laktozu fermente etme yeteneğine sahip olan starter ve starter olmayan bakterilerin faaliyetleri sonucu oluşan laktik asit içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kuru madde miktarı incelendiğinde 25°C 'de muhafaza edilen grupta ilk günlerde vakum içinde su saldıgı gözlemlenmiştir. Bu grupta kuru madde miktarında bariz bir artış tespit edilmiştir. Fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Diğer gruplar arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Oda ısı bakterilerin üreyip peyniri olgunlaştırırken oluşan genleşme nedeni ile peynir içerisinde bulunan su sızmaktadır. Frau F. ve ark. (29) vakum paketlenen keçi peynirlerinde yaptıkları çalışmada buzdolabında rutubet oranının %9,2 azaldığını, yani kuru maddenin arttığını bildirmişlerdir (29). Çalışmada 25°C'de muhafaza edilen grupta %3.16 artış olduğu, 4°C'de muhafaza edilen grupta %0.81 artış olduğu ve -18°C'de muhafaza edilen grupta %0.50 lik bir artış olduğu tespit edilmiştir. Vakum paketlenen ürünlerde paketleme materyalinin geçirgenliğine bağlı olarak rutubet kaybı ya da kuru madde artışında da farklılıklar olmaktadır. Artan ısı derecelerinde rutubet kaybının arttığı görülmektedir. Casti D. (26) yapmış olduğu çalışmada vakum paketlenen ve buzdolabında muhafaza edilen ricotta peynirlerinde %1.20'lik kuru madde artışı olduğunu bildirmiştir. Bu verilerin 4°C'de muhafaza edilen gruptakilerle uyumlu olduğu görülmektedir (26).

Duyusal olarak 25°C'de muhafaza edilen peynirlerin organoleptik muayenesinde 30 güne kadar tüketilmesinde bir problem olmayacağı tespit edilmiştir. Buzdolabı ısısında muhafaza edilen peynirlerin daha yumuşak ve renk olarak krem beyazı renginde olduğu tespit edilmiştir. Farklı işletmelerde yapılan üretimlerin farklı mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerde olması hijyenik kalitenin ve üretim teknolojisinin farklılıklarının sonucudur.

Sonuç olarak, vakum paketleme tekniği örgü peynirlerde sıkça kullanılan bir uygulamadır. Vakum paketlenen peynirler soğuk zincir korunarak kargoya şehirlerarası nakliye edilebilir. Oda ısısında, buzdolabında ve derin dondurucuda muhafaza edildiğinde oluşan değişimleri gözlemlenmek amacıyla tez çalışması yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, örgü peynirler vakum paketlenildiğinde tuz oranının sabit kaldığı görülmüştür. Salamura şeklinde bidonda muhafaza edilen peynirlerde tuz oranı muhafaza süresi boyunca salamura solüsyonuna yaklaştığı gözlemlenmiştir. %10'un altında tuzlu salamura solüsyonlarında ise örgü peyniri yumuşamaktadır.

Vakum paketlenen örgü peynirlerinde tuz oranı sabit düzeyde tutulması ile beraber hacimsel ölçülerde yer kaplama sorununun ortadan kaldırılması da bir avantaj olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, küçük parçalar halinde nakliye imkânı sağlayarak taşımayı kolaylaştırır. Vakum paketleme nem kaybını önler, bu da peynirin ağırlık kaybını önlediği için ekonomik fayda sağlar. Yapılan bu çalışmada 25°C'de muhafaza edilen peynirlerin 30 güne kadar mikrobiyolojik olarak bozulmadan organoleptik açıdan tüketilebileceği tespit edilmiştir. Ancak vakum paketlemenin 7. gün itibarı ile vakum paket içinde bir miktar su salma gözlemlenmiş olup, bu durum ürünün görsel çekiciliğini etkileyebilir. 4°C muhafaza edilen örgü peynirlerinde patojen bakteri ve fekal kontaminasyon indikatörü içermeyen peynir gruplarının 120. güne kadar tüketilebileceğini ancak kontaminasyonun fazla olduğu durumlarda küf üremelerinin şekillenmesinden dolayı 60. güne kadar tüketilebileceği tespit edilmiştir. -18°C muhafaza edilen partide 120. gün sonunda organoleptik ve fiziko-kimyasal açıdan herhangi bir olumsuzluk tespit edilmemiştir. Hijyenik kurallar çerçevesinde üretimi gerçekleştirilen örgü peynirinin vakum paketlenen formlarının muhafaza süresinin buzdolabı ısısında biraz daha artması beklenmektedir. Vakum paketleme tekniğinin ucuz olması, ürünün nem kaybını önlemesi, tuz oranını sabit kalması gibi faydaları göz önünde bulundurulursa bu yöntemin gelecekte daha çok kullanılacağı aşikârdır. Aynı zamanda ev tipi vakum paketleme cihazlarının artması ile vakum paketleme kolaylaşıp yaygınlaşacağı da beklenmektedir. Ancak anaerob mikroorganizmaların üremesi ile ilgili risklerin oluşabileceği de göz önünde bulundurulması gereken diğer önemli bir konudur. Örgü peynirinin vakum paketlenmesi ile ilgili olarak, anaerobik mikroorganizmaların da değerlendirilebileceği ileri çalışmaların yapılması da gerekmektedir.

Yapılan organoleptik muayeneler de, üretimde patojen bakteri içeren partilerde tat muayenesi yapılamamıştır. Oda ısısında muhafaza edilen vakum paketlenen peynir numunelerinin renginin daha beyaz olduğu tespit edilmiştir. Buzdolabında +4°C'de ve -18°C'de muhafaza edilen peynirlerde krem rengi bir beyazlık görünürken, +25°C'de muhafaza edilen peynirlerden daha yumuşak bir yapıda oldukları gözlemlenmiştir. +25°C'de muhafaza edilen vakum paketlenen peynirlerde 7. günden sonra vakum içinde su salma gözlemlenmiştir. Bu grup peynirlerde su salma durumu olduğu için diğer guruplara göre daha sert bir yapıda oldukları gözlemlenmiştir. +25°C'de muhafaza edilen vakum paketlenen örgü peynirlerde olgunlaşma daha hızlı olduğu için tat ve aromasının daha hissedilebilir olduğu algılanmıştır. -18°C'de muhafaza edilen vakum paketlenen örgü peynirlerin ise daha yumuşak bir yapıda olduğu tespit edilmiştir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmiştir.

**KAYNAKLAR**

- Saygılı D, Demirci H, Samav U. (2020). Coğrafi İşaretli Türkiye Peynirleri. *Aydın Gastronomy*, 4(1): 11-21.
- Durlu Özkaya F, Gün İ. (2007). Anadolu'da Peynir Kültürü, ICANAS, Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi, 28 - 30 Eylül 2007, Türkiye.
- Anar Ş, Soyutemiz GE, Çetinkaya F. (2000). Örgü Peynirin Üretim Aşamalarında Görülen Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Değişimler. *J Res Vet Med*. 19(1-2): 81-85.
- Demirci M, Şimşek O. (1997). Süt İşleme Teknolojisi. Hasat Yayınları. İstanbul.
- Yesil OF, Hatipoğlu A, Vural A, Erkan ME, Yıldız A. (2019). Diyarbakır'da Geleneksel Yöntemlerle Üretilen Örgü Peynirlerinde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Elisa Metodu ile Belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2), 15-19.
- Erkan ME, Vural A, Güran HŞ. (2009). Diyarbakır Örgü Peynirinde Aflatoksin M1 ile Verotoksin 1 ve 2 Varlığının Araştırılması. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*. (1): 19-25.
- Aksu H, Çolak H, Vural A, Erkan ME. (1999). Diyarbakır Bölgesinde Üretilen Örgü Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. *Yüzüncü Yıl Univ Vet Fak Derg*. 10(1-2): 8-11.
- Akgül, A. (2005). Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri: SPSS Uygulamaları. Yükseköğretim Kurulu Matbaası.
- International Organization for Standardization. (2022). Microbiology of the Food Chain: Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms--Part 1: Colony Count at 30° C by the Pour Plate Technique. International Organization for Standardization.
- International Organization for Standardization. (2006). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs: Horizontal Method for the Enumeration of Coliforms: Colony-count Technique. ISO.
- Tozzoli, R., Maugliani, A., Michelacci, V., Minelli, F., Caprioli, A., & Morabito, S. (2019). Validation on Milk and Sprouts of EN ISO 16654: 2001-Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for The Detection of Escherichia coli O157. *International journal of food microbiology*, 288, 53-57.
- Harrigan, W. F. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*. Gulf Professional Publishing.
- Anonim (1990). *The Oxoid Manual*. 6th ed. Unipath Ltd. Basgstoke.
- Mooijman, K. A. (2018). The new ISO 6579-1: A real horizontal standard for detection of Salmonella, at last!. *Food microbiology*, 71, 2-7.
- Anonim (1994). *Microbiology Manual*. E. Merck, Darmstadt.
- ISO. (1987). *ISO standard 7954: Microbiology—General guidance for enumeration of yeasts and moulds—Colony count technique at 25 degrees C*. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Speck, M. L. (1976). *Compendium of methods for Microbiological Examination of foods*. Amerikan Public Health Association. Inc., Washington, 89-90.
- Anonim (2022). Ögütülmüş Numunenin Hazırlanması ve Kuru Madde Tayini, TS 1561, Türk standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim (2015). Tuz Muhtevası Tayini, TS 1738, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim (2013). Beyaz Peynir, TS 591, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim (2013). pH Tayini, TS EN ISO 10523, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim (1997). *Deney Odalarının Tanzimi için Genel Kurallar*, TS EN ISO 8589, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Erkan ME. (2004). Modifiye Atmosfer Paketlemenin Farklı Formlarındaki Kaşar Peynirlerinin Duyusal, Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul.
- Akarca G, Tomar O, Gök V. (2015). Effect of Different Packaging Methods on The Quality of Stuffed and Sliced Mozzarella Cheese During Storage. *J Food Process Technol*. 39(6): 2912-2918.
- Fuentes L, Mateo J, Quinto EJ, Caro I. (2015). Changes in Quality of Nonaged Pasta Filata Mexican Cheese During Refrigerated Vacuum Storage. *J Dairy Sci*. 98(5): 2833-2842.
- Casti D, Scarano C, Pala C et al. (2016). Evolution of The Microbiological Profile of Vacuum-Packed Ricotta Salata Cheese During Shelf-Life. *Ital J Food Saf*. 5(2): 2239-7132.
- Çelebi M. (2020). Kaşar Peyniri Üretiminde Haşlama İşleminin Optimizasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Isparta.
- Cetinkaya A, Atasever M. (2015). The Effects of Different Salting and Preservation Techniques of Kaşar Cheese on Cheese Quality. *Turk J Vet Anim Sci*. 39(5):621-628.
- Frau F, Carate JNL, Salinas F, Pece N. (2020). Effect of Vacuum Packaging Onartisanal Goat Cheeses During Refrigerated Storage. *Food Sci. Technol*. 41: 295-303.
- Ozsunar A. (2010). Manda ile Karışımın Etkisi ve İnek Sütünden Mozzarella Peyniri Benzeri Peynirlere Kadar Fizikokimyasal Özellikler ve Aroma Profili. Namık Kemal Üniversitesi, Doğa Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tekirdağ.
- Eliot SC, Vuilleumard JC, Emond JP. (1998). Stability of Shredded Mozzarella Cheese Under Modified Atmospheres. *J Food Sci*. 63(2), 1075-1080.
- Esen E. (2008). Farklı Gıda Maddelerinde Maya Kontaminasyonu Üzerine Bir Çalışma. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Karaman AD. (2006). Kaşar peynirinin raf ömrünün arttırılması üzerine bir araştırma. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
- Şengül M, Erkaya T, Fırat N. (2010). Çiğ ve Pastörize Sütten Üretilen Kaşar Peynirlerinin Olgunlaşma Süresince Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(2), 149-156.

**✉ Sorumlu Yazar:**

Mehmet Emin ERKAN  
Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE  
E-posta: eminerkan@dicle.edu.tr



## İstanbul'da Satışa Sunulan Tavuk Dönerlerinde *Clostridioides difficile* Varlığının ve Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Aslıhan BİLGİN<sup>1,a</sup>, Esra AKKAYA<sup>2,b,✉</sup>, Enver Barış BİNGÖL<sup>2,c</sup>

<sup>1</sup>T.C. Beyoğlu Belediye Başkanlığı, Veteriner İşleri Müdürlüğü, Sütlüce, Beyoğlu, İstanbul, TÜRKİYE

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, İstanbul, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0002-4110-6261; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0002-2665-4788; <sup>c</sup>ORCID: 0000-0002-6452-4706

Geliş Tarihi/Received  
31.05.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
27.09.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

*Clostridioides difficile*, gram (+), anaerob, sporlu, çomak şeklinde bakteri olup özellikle uzun süreli antibiyotik kullanımı sonucunda psödomembranoz kolit, toksik megakolon, intestinal perforasyon ve diareye sebep olmaktadır. Hastane kaynaklı olan etken toprakta, suda, su ürünlerinde, kasaplık hayvanlarda ve kanatlılarda tespit edilmiş olup, bu durum gıdaların *C. difficile* için potansiyel yeni rezervuarlar olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle son yıllarda insanlardan izole edilen *C. difficile* suşlarının kasaplık ve kanatlı hayvanlarda da saptanması bu etkenin halk sağlığı yönünden ciddi bir risk oluşturabileceği kaygısını doğurmuştur. Bu doğrultuda, İstanbul'da satışa sunulan 128 tavuk döner örneği *C. difficile* varlığı yönünden analiz edilmiş ve bunlardan 12'si *C. difficile* şüpheli olarak tespit edilmiştir. Şüpheli 12 örnekten sadece 2'si (%1.56) *C. difficile* olarak doğrulanırken, her iki izolatin da vankomisin ve sefotaksime dirençli olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, tavuk döner örneklerinden izole edilen *C. difficile* suşları, etkenin kanatlı hayvan karkaslarının yanı sıra bunlardan elde edilen hayvansal kökenli gıdalarda da bulunabildiğini ve pişirme sıcaklıklarına da dirençli olabildiğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal duyarlılık, *Clostridioides difficile*, halk sağlığı, kanatlı eti, tavuk döner

### Determination of the Presence of *Clostridioides difficile* and Antimicrobial Susceptibility Profiles of the isolates in Chicken Doner Kebabs Sold in Istanbul

#### Abstract

*Clostridioides difficile* is a gram (+), anaerobic, spore-forming, rod-shaped bacterium that causes pseudomembranous colitis, toxic megacolon, intestinal perforation and diarrhea, especially due to long-term usage of antibiotics. The hospital-acquired agent has been detected in soil, water, seafood, slaughtered animals and poultry, and these foods are thought to be potential new reservoirs for *C. difficile*. Especially in recent years, the detection of *C. difficile* strains isolated from humans in butchery and poultry animals has raised concerns that this agent may pose a serious risk to public health. Accordingly, 128 chicken doner kebab samples offered for sale in Istanbul were analyzed for the presence of *C. difficile* and 12 of them were identified as *C. difficile* suspects. Only 2 (1.56%) out of the 12 suspected colonies were confirmed as *C. difficile*, and both isolates were resistant to vancomycin and cefotaxime. In conclusion, *C. difficile* strains isolated from chicken doner samples showed that the agent can be found in poultry carcasses as well as in animal-originated foods obtained from these carcasses and can also be resistant to cooking temperatures.

**Key Words:** Antimicrobial susceptibility, chicken doner kebab, *Clostridioides difficile*, poultry, public health

### GİRİŞ

*Clostridioides (Clostridium) difficile*, Gram (+), zorunlu anaerob özellikte, sporlu bir basil olup, insanların ve çeşitli hayvan türlerinin bağırsak kanalında kolonize olabilmektedir (1,2). Etkenin halk sağlığı açısından en önemli özellikleri çevresel faktörlere karşı dayanıklılık gösteren spor formlarının bulunması ve belli şartlar (yaşlılık, hastanede uzun süre antibiyotik kullanımı, mide asitliğini düşüren ilaçlar, kemoterapik ajanlar, sigara kullanımı) altında hastalık tablosunun şekillenmesine yol açan toksin üretimidir. Etkenin neden olduğu *Clostridioides difficile* enfeksiyonu (CDI), uzun süreli antibiyotik kullanımına bağlı olarak bağırsak mikrobiyotası tahrip olmuş

ve özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde şekillenmektedir. Bakteri kolonize olduğu bağırsaklarda çoğalarak, hafif ishal olgularından ciddi bağırsak enfeksiyonlarına kadar ilerleyebilen tablolara yol açmaktadır. Kritik durumlarda ölüm vakaları bile görülebilmektedir (3-5).

*C. difficile* enfeksiyonunun şiddeti, suşların virülansı ve antibiyotiklere karşı gösterdiği direnç ile doğrudan ilişkilendirilmektedir. Bakterinin virülansı sahip olduğu A (enterotoksin) ve B (sitotoksin) toksinlerinin varlığı ile ilgili olup, bu toksinler, patojenik lokusun genomik bölgesindeki *tcdA* ve *tcdB* genleri tarafından sentezlenmektedir. Bu toksinlere ek olarak, bazı suşlar patojenik lokusun dışında *cdtA* ve *cdtB* genleri

tarafından kodlanan ikili toksine sahiptir. Bazı *C. difficile* ribotipleri, onları hipervirüent yapan artmış toksin üretimi ve etkin sporülasyon özelliklerine sahiptir. Bu bağlamda, RT027 ve RT078 insanlarda patojen özellik gösteren hipervirüent ribotipler olarak nitelendirilmekte ve *C. difficile* enfeksiyonunun nedeni olarak bilinmektedir (6-10).

*C. difficile* hastane kaynaklı bir bakteri olmakla birlikte, toprak ve su gibi çevresel kaynaklarda, kasaplık hayvanlarda, kümes hayvanlarında, su ürünlerinde, hayvansal kökenli gıdalar başta olmak üzere sebze gibi birçok gıda matrisinde bulunabilmektedir (2,3,9,11-13).

Son yıllarda, kümes hayvanlarında *C. difficile*'nin tespit edilmesi ve tavuk karkaslarından izole edilen *C. difficile* ribotipleri ile insanlardaki hipervirüent ribotiplerin benzerliği, kanatlıların *C. difficile*'nin insanlara bulaşmasında potansiyel bir kontaminasyon kaynağı olabileceğine dikkat çekmektedir (6,7,14-18).

Bu çalışmada, İstanbul'da satışa sunulan tavuk dönerlerinde *C. difficile* varlığının tespit edilmesi ve izolatların antimikrobiyal duyarlılık profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Tavuk Döner Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada 128 tavuk döner örneği İstanbul'da farklı semtlerde bulunan çeşitli büfe ve restoranlardan temin edilmiştir. Tüm örnekler ısı kaynaklarından yaklaşık 12±2 cm uzakta ve 3-5 dakika süreyle iyi pişirilmiş (yanmamış/aşırı ızgara edilmemiş) dönerlerden seçilmiştir. Toplanan döner örnekleri (yaklaşık 250 g) steril numune torbalarına yerleştirilerek soğuk zincir altında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarlarına ulaştırılmış ve 24 saat içerisinde analize alınmıştır.

### *C. difficile* İzolasyonu

Her bir tavuk döner örneğinden 25 g alınarak, 225 ml *C. difficile* zenginleştirme broth'u (Cycloserine Cefoxitin Fructose Taurocholate Broth) ile karıştırılmış ve anaeroben kit (AN0025A, Oxoid) ile anaerobik indikatör (BR 0055B, Oxoid) içeren anaerobik jar (HP0011A, Oxoid) içerisinde 10 gün süreyle 37°C'de inkübe edilmiştir. Alkol şoklama aşamasının ardından, sediment *C. difficile* Selektif Agar (CM0601+CDMN supplement SR 0173+%5 defibrine at kanı, Oxoid)'a yayılmış ve anaerobik koşullar altında 37°C'de 48-72 saat inkübasyona tabi tutulmuştur (19). Grimsi buzlu cam görünümüne ve at gübresi kokusuna sahip koloniler şüpheli koloni olarak değerlendirilmiş ve Gram boyama ile lateks aglütinasyon testleri yapılmıştır (DR1107A *C. difficile* test kiti, Oxoid). Moleküler doğrulama aşamasının öncesinde kolonilerin saflaştırılması amacıyla, %5 defibrine at kanı içeren Tryptic Soy Agara (CM0131, Oxoid) geçiş yapılarak, suşlar 37°C'de 48-72 saat süreyle anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir.

### İzolatların Moleküler Doğrulaması ve Toksin Üreten Genlerin Tespiti

DNA ekstraksiyonu için, kanlı agarda saflaştırılan kolonilerden 1 öze dolusu örnek alınarak 1 ml steril tuz çözeltisi

(%0.85) içinde seyreltilmiş ve 10 dakika kaynatılmıştır. Ardından, ekstrakte edilen DNA doğrulama aşamasına kadar -20°C'de saklanmıştır.

Şüpheli izolatların moleküler doğrulaması için *C. difficile*'ye özgü trioz fosfat izomeraz (*tpi*) geni araştırılmıştır. Bu amaçla, Lemee ve ark. (20) tarafından önerilen primer ve protokoller kullanılarak simplex PCR CG Palm-Cycler (CG 1-96 Genetix Biotech, Avustralya & Asya) ile analizler gerçekleştirilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Kullanılan primer dizisi listesi

Gen	Primer	Amplikon büyüklüğü	Kaynak
<i>tpi</i>	F: 5'-AAAGAAGCTACTAAGGG-TACAAA-3' R: 5'-CATAATATTGGGTCTATTCTAC-3'	230 bp	Lemee ve ark. (20)
<i>tcdA</i>	F: 5'-AGATTCCTATATTTACATGCAATAT-3' R: 5'-GTATCAGGCATAAAGTAA-TATACTTT-3'	369 bp	Lemee ve ark. (20)
<i>tcdB</i>	F: 5'-GGAAAAGA-GAATGGTTTTATTAA-3' R: 5'-ATCTTTAGTTATAACTTT-GACATCTTT-3'	160 bp	Lemee ve ark. (20)
<i>cdtA</i>	F: 5'-TGAACCTGGAAAAGGTGATG-3' R: 5'-AGGATTATTACTGGAC-CATTTG-3'	353 bp	Stubbs ve ark. (21)
<i>cdtB</i>	F: 5'-CTTATTGCAAGTAAACTGA-GAGTACTATATC-3' R: 5'-ACCGGATCTCTTGCTCAGTC-3'	490 bp	Stubbs ve ark. (21)

Doğrulamanın akabinde, *tpi* geni pozitif belirlenen örnekler toksin üreten *tcdA* ve *tcdB* genlerinin varlığı yönünden değerlendirilmiş ve ikili toksin genleri (*cdtA* ve *cdtB*) Stubbs ve ark. (21) tarafından açıklanan protokolle multipleks PCR kullanılarak belirlenmiştir. Elektroforez işlemi için %1.5 agaroz jel kullanılmış ve jel incelemesi için Dolphin-Doc analiz sistemi (Wealtec, Sparks, NV, ABD) ile görüntüleme sağlayan bir UV transillüminatör kullanılmıştır.

ATCC 9689 ve BAA 1870 suşları sırasıyla *tpi*, *tcdA*, *tcdB* ve *tpi*, *cdtA*, *cdtB* genleri için pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Merck, Darmstadt, Almanya).

### Antibiyotik Duyarlılık Testi

*C. difficile* izolatlarının antibiyotik duyarlılık profilleri, Minimum İnhibitor Konsantrasyon (MIC) testi ile belirlenmiş olup, bu kapsamda Ampisilin (AMP), Amoksisilin-klavulanik asit (AMC), Klindamisin (DA), İmipenem (IMP), Metronidazol (MTZ), Tetrasiklin (TE), Vankomisin (VA) ve Sefotaksim (CTX) antibiyotikleri değerlendirilmiştir.

Bu amaçla, koloniler %5 defibrine at kanı içeren triptik soya agara (CM0131, Oxoid) pasajlanmış ve anaerobik koşullar altında 12 saat boyunca inkübe edilmiştir. PCR ile doğrulanan koloniler 5 µg/ml Hemin, 1 µg/ml vitamin K1 ve koyun kanı (%5) içeren Brucella agara (CM0169, Oxoid) yayılmış ve agar üzerine iki adet minimum inhibitör konsantrasyon değerlendirme şeriti yerleştirilerek, anaerobik koşullar altında 37°C'de 48-72 saat süre ile inkübasyonun ardından değerlendirilmiştir. Test edilen antibiyotiklerin kırılma noktaları değerleri, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) (22) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesinden (EUCAST) (23) referans alınmıştır (Tablo 2).

**Tablo 2.** Antibiyotik duyarlılık testi

Antibiyotik	MIC (µg/mL)			Referans Standart
	S	I	R	
Ampisilin (AMP)	≤ 0.5	1	≥ 2	*CLSI (22)
Amoksisilin-klavulanik asit (AMC)	≤ 4/2	8/4	≥ 16/8	*CLSI (22)
Sefotaksim (CTX)	≤ 16	32	≥ 64	*CLSI (22)
İmipenem (IPM)	≤ 4	8	≥ 16	*CLSI (22)
Tetrasiklin (TE)	≤ 4	8	≥ 16	*CLSI (22)
Klindamisin (DA)	≤ 2	4	≥ 8	*CLSI (22)
Metronidazol (MTZ)	≤ 8	16	≥ 32	*CLSI (22)
Vankomisin (VA)	≤ 2	-	> 2	**EUCAST (23)

S: duyarlı; I: orta duyarlı; R: dirençli

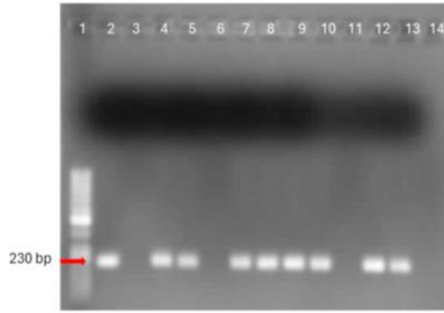
**BULGULAR**

İstanbul'da satışa sunulan tavuk dönerlerinde *C. difficile* varlığının araştırıldığı bu çalışmada, 128 tavuk döner örneği kültürel ekim yöntemleriyle analiz edilmiş ve bunlardan 12'si *C.*

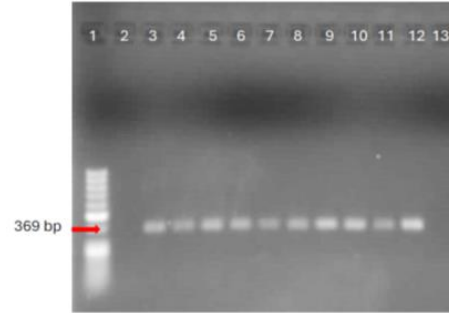
*difficile* şüpheli olarak tespit edilmiştir. Şüpheli 12 örneğin 2 (%1.56)'si etken yönünden pozitif bulunurken, her bir örneğe ait 1 izolat olmak üzere 2 izolat *C. difficile* olarak doğrulanmıştır. Ayrıca, bu iki izolat *tcdA* ve *tcdB* pozitif olarak belirlenirken, *cdtA* ve *cdtB* genleri negatif olarak tespit edilmiştir (Tablo 3; Şekil 1). İzolatlar antibiyotik duyarlılık profilleri bakımından değerlendirildiğinde, her iki izolatın da vankomisin ve sefotaksime dirençli olduğu belirlenmiştir (Tablo 4).

**Tablo 3.** İzole edilen toksin genleri

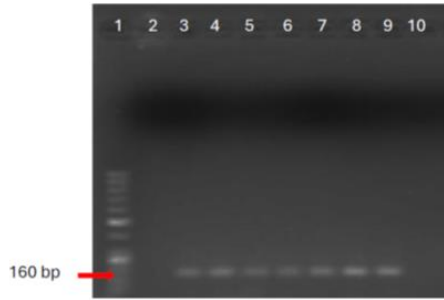
Örnek	Toksın genleri				Pozitif izolat sayısı (%)
	<i>tcdA</i>	<i>tcdB</i>	<i>cdtA</i>	<i>cdtB</i>	
Örnek no.1	+	+	-	-	2/128 (%1.56)
Örnek no.2	+	+	-	-	

***tpi* 230 bp PCR jel görüntüsü**

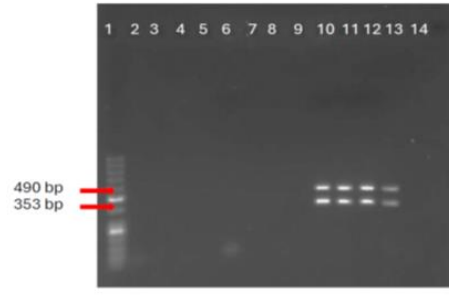
1. 50 bp DNA ladder; 2,4,5,7,8,9,10: pozitif örnekler; 3,6,11: negatif örnekler; 12: pozitif kontrol (ATCC 9689); 13: pozitif kontrol (BAA1870); 14: negatif kontrol

***tcdA* 369 bp PCR jel görüntüsü**

1. 50 bp DNA ladder; 3-11: pozitif örnekler; 2: negatif örnek; 12: pozitif kontrol (ATCC 9689); 13: negatif kontrol

***tcdB* 160 bp PCR jel görüntüsü**

1. 50 bp DNA ladder; 2: negatif örnek; 3-8: pozitif örnekler; 9: pozitif kontrol (ATCC 9689); 10: negatif kontrol

***cdtA* 353 bp *cdtB* 490 bp multiplex PCR jel görüntüsü**

1. 50 bp DNA ladder; 2-9: negatif örnekler; 10-13: pozitif kontrol (BAA1870); 14: negatif kontrol

**Şekil 1.** *tpi*, *tcdA*, *tcdB*, *cdtA* ve *cdtB* genlerine ait agar jel elektroforez görüntüleri**Tablo 4.** İzolatların duyarlılık profili

Örnek	Duyarlılık profili (µg/mL)							
	AMP	AMC	DA	IMP	MTZ	TE	VA	CTX
	≤ 0.5	≤ 4/2	≤ 2	≤ 4	≤ 8	≤ 4	≤ 2	≤ 14
	1	8/4	4	8	16	8	≤ 2	32
	≥ 2	≥ 16/8	≥ 8	≥ 16	≥ 32	≥ 16	> 2	≥ 64
Örnek no.1	0.5	0.5	0.25	0.03	0.03	0.015	2	256
Örnek no.2	0.12	0.12	0.12	0.06	0.06	0.015	2	256
S/R	S	S	S	S	S	S	R	R

S: duyarlı; I: orta duyarlı; R: dirençli; AMP: Ampicillin; AMC: Amoxicillin-clavulanic acid; DA: Clindamycin; IMP: imipenem; MTZ: Metronidazole; TE: Tetracycline; VA: Vancomycin; CTX: Cefotaxime

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmanın sonuçları, kanatlı hayvan karkaslarından izole edilen *C. difficile* suşlarının, bunlardan elde edilen hayvansal kökenli gıdalarda da primer ya da sekonder kontaminasyona bağlı olarak bulunabildiği ve etkenin pişirme sıcaklıklarına da dirençli olabildiğini göstermektedir.

Etkenin kanatlı hayvanlardan ve ürünlerinden tespit edildiğini doğrulayan farklı ülkelerde son on beş yıl içinde gerçekleştirilmiş çalışmalar bulunmaktadır. De Boer ve ark. (3) tarafından yapılan bir çalışmada, 257 tavuk karkas örneğinin 7'sinde (%2.7) *C. difficile* izole edilmiştir. Kanada'da yapılan bir başka çalışmada, Weese ve ark. (7) tavuk karkaslarının (but, kanat ve bacak) %12.8'inde (26/203) etkeni tespit etmişlerdir. Guran ve İlhak (15), Türkiye'nin doğu bölgelerinden topladıkları 310 tavuk örneğinin 25'inde (%8.1) bakteriyi saptamışlardır. Indra ve ark. (24) Avusturya'da yaptıkları çalışmada 59 broyler tavuk örneğinden 3'ünde (%5.1) *C. difficile* tespit etmişlerdir. Bingol ve ark. (18), Marmara Bölgesindeki 9 farklı şehirde hizmet veren farklı satış noktalarından temin ettikleri 185 tavuk karkas örneğinin 69'undan (%37.3) etkeni izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Avrupa'da yapılan araştırmalar, tavuk etinde *C. difficile* varlığının %2.7 ile %37.3 arasında değişen oranlarda görüldüğünü ortaya koymaktadır. Almanya (25), Hollanda (3), Slovenya (26) ve Türkiye'de (18) yapılan araştırmalarda tespit edilen RT 001, 014, 027 ve 078 ribotipleri, insanlarda *C. difficile* enfeksiyonu ile ilişkilendirilen ribotiplerdir.

*C. difficile*, Amerika ve Kanada'da ısı işlemi görmemiş hindi kıyması ile tavuk but, kanat ve bacak dahil olmak üzere çeşitli kanatlı eti ve ürünlerinden izole edilmiştir. Bu ürünlerdeki *C. difficile* prevalansı %7.3 ile %44.4 arasında değişmektedir. Aynı zamanda, kanatlı etleri ve ürünlerinden izole edilen bazı *C. difficile* suşlarının toksijenik olduğu ve bu suşların *C. difficile* enfeksiyonuna neden olan toksinlerin üretiminden sorumlu genleri taşıdığı bildirilmiştir (7,27,28).

Asya kıtasında yürütülen çalışmalarda ise kanatlı etindeki *C. difficile* prevalansı %1 ile %24.4 arasında saptanmıştır. Özellikle İran'da yapılan çalışmalarda tavuk, hindi, bıldırcın, ördek ve keklik gibi kanatlı etlerinde %1 ile %15.8 arasında değişen oranlarda *C. difficile* varlığı ortaya konmuştur (29).

Bu çalışmaların aksine, Amerika Birleşik Devletleri (30, 31) ve bazı Avrupa ülkelerinde yürütülen araştırmalarda (17,24,32) *C. difficile*'nin kanatlı etlerinde tespit edilemediği rapor edilmiştir. Limbago ve ark. (33), 614 adet hindi kıyma ve 259 tavuk göğüs örneğinde bakteriyi izole etmezken, benzer şekilde Mooyottu ve ark. (31) 100 tavuk kanadı örneğinde herhangi bir *C. difficile* suşu tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Ersöz ve Coşansu (17) tarafından Türkiye'de gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise, 27 tavuk göğüs örneğinde etken saptanmamıştır. Benzer olarak, Rahimi ve Khaksar (34) tarafından Asya kıtasında gerçekleştirilen bir çalışmada ısı işlemi görmüş tavuk nuggetlarında da bakteri izole edilememiştir. Bunlara ek olarak, Abdel-Gil ve ark. (16) Mısır'da topladıkları 150 kanatlı eti örneğinde etkeni tespit etmediklerini bildirmişlerdir.

Bakterinin tavuk karkaslarının yanı sıra tavuk dışkılarındaki varlığı da bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (6,14,35). *C. difficile* ve sporlarının toprak ve su gibi çevresel

kaynaklardaki kalıcılığı, yetiştirme alanlarında etkin bir hijyen uygulamasının olmaması, hijyenik olmayan kesimhane koşulları (yetersiz temizlik, alt yapısal eksiklikler vb.), tüy yolma, iç organ çıkarma gibi kritik aşamalarda karkasın kontaminasyonu, uygun olmayan soğutma işlemleri ve depolama koşulları, personel ve ekipman hijyeninde yetersizlik, hayvan kalıntılarının ve yabancı maddelerin dikkatsizce ve uygunsuz bir şekilde bertaraf edilmesi gibi yanlış üretim uygulamaları kanatlı karkaslarında *C. difficile* varlığını belirleyen önemli faktörlerdir (4,10,18,28).

Bazı çalışmalarda, kanatlı karkaslarından izole edilen *C. difficile* suşları farklı prevalanslarla rapor edilmiştir. Etkenin prevalansı, mevsimler ve coğrafi konum gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Guran ve İlhak (15) ile Rodriguez-Palacios ve ark. (11), *C. difficile* prevalansının genellikle kış aylarında diğer mevsimlere göre daha yüksek olduğunu bildirirken; Lund ve Peck (36) *C. difficile* izolasyon oranlarının Avrupa'da nispeten düşük (%4.3), Kuzey Amerika'da ise çok daha yüksek (%44) olduğunu vurgulamıştır. Bu farklılığın nedenleri olarak öne sürülen görüş, araştırmacıların yararlandığı zenginleştirme, izolasyon ve tanımlama yöntemlerinin birbirlerinden farklılık göstermesidir. Bu durumu destekler nitelikte Blanco ve ark. (37) *C. difficile*'yi izole etmek için kullanılan prosedürün bu organizmanın prevalans verileri üzerinde önemli bir etkisi olabileceğini belirtmiştir. Bunların yanı sıra, hayvanların yaşı, ırkı gibi özelliklerinin de etkenin bulunma oranı üzerinde etkili olduğu ortaya konmuştur (10,17,28). Knight ve ark. (38), *C. difficile* prevalansının tüketim amacıyla yetiştirilen hayvanların yaşının artmasıyla birlikte azaldığını, dolayısıyla yaşlı hayvanlardan elde edilen etlerin çok daha az risk oluşturduğunu ifade etmiştir. Zidaric ve ark. (14) tavuklarda *C. difficile* kolonizasyonunun ağırlıklı olarak yumurtadan çıktıktan sonraki ilk iki hafta içinde oluştuğunu ve daha sonra yaşla birlikte azaldığını vurgulamıştır.

*C. difficile*'nin gıdalardaki varlığının insanlarda CDI'na neden olduğuna dair veri yetersizliği, etkenin gıda kaynaklı bir patojen olarak kabul edilememesine neden olmaktadır. Etkenin en belirgin özelliği, ısı ve kimyasallar da dahil olmak üzere birçok fiziksel koşula karşı direnç göstermesini sağlayan spor formudur. Sporların midenin asidik ortamına ve pişirme işlemleri sırasında karşılaşılan yüksek sıcaklıklara dayanma kapasitesi göz önüne alındığında, bu bakterinin pişirildikten sonra bile gıdalarda kalabileceği düşüncesi oluşmaktadır (13,39). Ayrıca, bu dayanıklı spor formu gıdaların hazırlık aşamasında kullanılan alet-ekipman ve yüzeylerin dezenfeksiyonunda da engel teşkil etmektedir (40).

Rodriguez-Palacios ve ark. (39), *C. difficile*'nin vejetatif formlarının Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından sığır etleri için önerilen pişirme sıcaklığı olan 71°C'ye 2 saat boyunca dayanabildiği ortaya konmuştur. Bununla birlikte, gıdanın 85°C'de yeniden ısıtılmasının, 10 dakikalık bir süre içinde *C. difficile* sporlarının %90'ının yıkımına yol açtığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde, *C. difficile* sporlarının 60°C ile 75°C arasında sıcaklıklara uzun süre dayanabildiği ve spor sayısında önemli azalmanın yalnızca 85°C'yi aşan sıcaklıklarda meydana geldiği gözlemlenmiştir (41). Etkenin 30 saniye süreyle 100°C'de ısıtma işlemine tabi tutulması, *C. difficile* sayısında 3.75 log düzeyinde azalma



meydana getirirken, aynı sürede uygulanan 105°C'lik bir sıcaklık ise 4.29 log düzeyinde azalma sağlamıştır (42). Bunların yanı sıra, bazı *C. difficile* sporlarının yüksek sıcaklıklara maruz kaldıktan sonra bile rejenerasyon yeteneği gösterebildiği ifade edilmiştir (43). Sporların genellikle pişirme için önerilen sıcaklıklarda hayatta kalması, hastalığın bulaşmasında gıdaların potansiyel rolüne işaret etmektedir (43,44).

Vankomisin, amoksisilin-klavulanikasit, metronidazol gibi bazı antibiyotiklerin tüketim amacıyla yetiştirilen hayvanların çeşitli enfeksiyonlarında ve insanlarda CDI'nin tedavisinde kullanılması, *C. difficile*'de antibiyotik direncinin gelişmesine ilişkin endişeleri destekler niteliktedir. Bunun yanı sıra, konak duyarlılığı, antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı, kasaplık ve kanatlı hayvanlarda koruyucu ve üretici olarak çeşitli antibiyotiklerin sık kullanımı, tüm dünyada antibiyotik ilişkili ishal ve psödo-membranöz kolit vakalarının %15-30'undan sorumlu olan *C. difficile*'nin önemini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, çeşitli gıdalardan izole edilen *C. difficile* suşlarının çoğunun imipenem ve sefotaksime dirençli olduğu ancak amoksisilin, ampicilin, tetrasiklin, metronidazol ve vankomisine duyarlı olduğu yapılan araştırmalar ile ortaya konmuştur (2,5,9,45,46).

Bu çalışmada, tavuk döner örneklerinden izole edilen *C. difficile* suşları vankomisin ve sefotaksime dirençli bulunurken, ampicilin, amoksisilin-klavulanik asit, klindamisin, imipenem, metronidazol ve tetrasikline karşı duyarlı olarak belirlenmiştir. Simango ve Mwakurudza (6) tavuk örneklerinden izole edilen tüm *C. difficile* suşlarının sefotaksime dirençli olduğunu bildirmesine rağmen vankomisin, metronidazol ve tetrasikline duyarlı olduğunu ifade etmiştir. Bingol ve ark. (18), kanatlı karkaslarından izole edilen suşların amoksisilin, tetrasiklin, vankomisin ve metronidazole sırasıyla %100, %95.7, %97.1 ve %88.4 oranlarında duyarlı olduğunu; sefotaksim ve imipeneme ise sırasıyla %97.1 ve %89.9 oranlarında dirençlilik gösterdiğini vurgulamışlardır.

Sonuç olarak, kanatlı hayvan karkaslarından izole edilen *C. difficile* suşlarının, bunlardan elde edilen hayvansal kökenli gıdalarda da bulunabildiği ve etkenin pişirme sıcaklıklarına da dirençli olabildiği görülmektedir. Sporların genellikle pişirme için önerilen sıcaklıklarda hayatta kalması, hastalığın bulaşmasında gıdaların potansiyel rolüne işaret etmektedir. Kanatlı eti ve ürünlerinin *C. difficile* için potansiyel bir rezervuar olabileceği ve halk sağlığı yönünden risk oluşturabileceği hususu dikkate alınmalı ve kanatlı etlerine bağlı *C. difficile* vakalarının önlenmesi için etkili kontrol stratejilerinin geliştirilmesi ve uygulanması sağlanmalıdır. Bu bağlamda, mevcut pişirme önerileri *C. difficile*'yi de kapsayacak şekilde gözden geçirilmeli ve gıda ürünlerindeki spor kontaminasyonunu azaltmayı amaçlayan daha etkili müdahale önlemleri benimsenmelidir. Bununla birlikte, etkenin kanatlı ürünleri dahil tüm gıda matrislerindeki olası varlığı rutin tetkiklerle denetlenmeli ve çevresel bulaşmanın önüne geçilmelidir.

## KAYNAKLAR

- Pelaez T, Alcalá L, Blanco JL. et al. (2013). Characterization of Swine Isolates of *Clostridium difficile* in Spain: A Potential Source of Epidemic Multidrug Resistant Strains? *Anaerobe*. 22: 45-49.
- Troiano T, Harmanus C, Sanders IMJG. et al. (2015). Toxigenic *Clostridium difficile* PCR Ribotypes in Edible Marine Bivalve Molluscs in Italy. *Int J Food Microbiol*. 208: 30-34.
- De Boer E, Zwartkuis-Nahuis A, Heuvelink AE, Hurmanus C, Kuisjper EJ. (2011). Prevalence of *Clostridium difficile* in Retail Meat in the Netherlands. *Int J Food Microbiol*. 144: 561-564.
- Rodriguez C, Taminiau B, Van Broeck J, Avesani V, Delmée M, Daube G. (2012). *Clostridium difficile* in Young Farm Animals and Slaughter Animals in Belgium. *Anaerobe*. 18: 621-625.
- Thitaram SN, Frank JF, Siragusa GR. et al. (2016). Antimicrobial Susceptibility of *Clostridium difficile* Isolated from Food Animals on Farms. *Int J Food Microbiol*. 227: 1-5.
- Simango C, Mwakurudza S. (2008). *Clostridium difficile* in Broiler Chickens Sold at Market Places in Zimbabwe and their Antimicrobial Susceptibility. *Int J Food Microbiol*. 124: 268-270.
- Weese JS, Reid-Smith RJ, Avery BP, Rousseau J. (2010). Detection and Characterization of *Clostridium difficile* in Retail Chicken. *Lett Appl Microbiol*. 50: 362-365.
- Romano V, Albanese F, Dumontet S, Krovacek K, Petrini O, Pasquale V. (2012). Prevalence and Genotypic Characterization of *Clostridium difficile* from Ruminants in Switzerland. *Zoonoses Public Health*. 59: 545-548.
- Rahimi E, Afzali ZS, Baghbadorani ZT. (2015). *Clostridium difficile* in Ready-to-eat Foods in Isfahan and Shahrekord, Iran. *Asian Pac J Trop Biomed*. 5: 128-131.
- Hampikyan H, Bingol EB, Muratoglu K., Akkaya E, Cetin O, Colak H. (2018). The Prevalence of *Clostridium difficile* in Cattle and Sheep Carcasses and the Antibiotic Susceptibility of Isolates. *Meat Sci*. 139: 120-124.
- Rodriguez-Palacios A, Reid-Smith RJ, Staempfli HR. et al. (2009). Possible Seasonality of *Clostridium difficile* in Retail Meat, Canada. *Emerg Infect Dis*. 15: 802-805.
- Metcalfe DS, Costa MC, Dew WMV, Weese J.S. (2010). *Clostridium difficile* in Vegetables. *Canada Lett Appl Microbiol*. 51: 600-602.
- Rodriguez C, Avesani V, Van Broeck J, Taminiau B, Delmée M, Daube G. (2013). Presence of *Clostridium difficile* in Pigs and Cattle Intestinal Contents and Carcass Contamination at the Slaughterhouse in Belgium. *Int J Food Microbiol*. 166: 256-262.
- Zidaric V, Zemljic M, Janezic S, Kocuvan A, Rupnik M. (2008). High Diversity of *Clostridium difficile* Genotypes Isolated from a Single Poultry Farm Producing Replacement Laying Hens. *Anaerobe*. 14: 325-327.
- Guran HS, Ilhak OI. (2015). *Clostridium difficile* in Retail Chicken Meat Parts and Liver in the Eastern Region of Turkey. *J Verbr Lebensm*. 10: 359-364.
- Abdel-Ghli MY, Thomas P, Schmoock G. et al. (2018). Presence of *Clostridium difficile* in Poultry and Poultry meat in Egypt. *Anaerobe*. 51: 21-25.
- Ersöz ŞŞ, Coşansu S. (2018). Prevalence of *Clostridium difficile* Isolated from Beef and Chicken meat products in Turkey. *Korean J Food Sci Anim Resour*. 38: 759-767.
- Bingol EB, Hampikyan H, Muratoglu K, Akkaya E, Cetin O, Colak H. (2020). Characterisation and Antibiotic Susceptibility Profile of *Clostridioidea (Clostridium) difficile* Isolated from Chicken Carcasses. *J Vet Res*. 64: 407-412.
- Muratoglu K, Akkaya E, Hampikyan H, Bingol EB, Cetin O, Colak H. (2020). Detection, Characterization and Antibiotic Susceptibility of *Clostridioidea (Clostridium) difficile* in Meat Products. *Food Sci Anim Resour*. 40(4): 578-587.
- Lemee L, Dhaliun A, Testelin S. et al. (2004). Multiplex PCR Targeting *tpi* (triose phosphate isomerase), *tcdA* (Toxin A), and

- tcdB* (Toxin B) Genes for Toxigenic Culture of *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol. 42(12): 5710-5714.
21. Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, Brazier J, Duerden B, Popoff M. (2000). Production of Actin-Specific ADP-Ribosyltransferase (Binary Toxin) by Strains of *Clostridium difficile*. FEMS Microbiol Lett. 186: 307-312.
  22. CLSI. (2024). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34<sup>th</sup> ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute.
  23. EUCAST. (2023). European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST clinical breakpoint table v. 2.0. 62.
  24. Indra A, Lassnig H, Baliko N. et al. (2009). *C. difficile*: A New Zoonotic Agent? Wien Klin Wochenschr. 121: 91-95.
  25. Heise J, Witt P, Maneck C, Wichmann-Schauer H, Maurischat S. (2021). Prevalence and Phylogenetic Relationship of *Clostridioides difficile* Strains in Fresh Poultry Meat Samples Processed in Different Cutting Plants. Int J Food Microbiol. 339.
  26. Tkalec V, Jamnikar-Ciglenecki U, Rupnik M, Vadnjal S, Zelenik K, Biasizzo M. (2020). *Clostridioides difficile* in National Food Surveillance, Slovenia, 2015 to 2017. Eurosurveill. 25.
  27. Songer, JG, Trinh HT, Killgore GE, Thompson AD, McDonald LC, Limbago BM. (2009). *Clostridium difficile* in Retail Meat Products, USA, 2007. Emerg Infect Dis. 15: 819-821.
  28. Varshney JB, Very KJ, Williams JL. et al. (2014). Characterization of *Clostridium difficile* Isolates from Human Fecal Samples and Retail Meat from Pennsylvania. Foodborne Pathog Dis. 11: 822-829.
  29. Barezi AA, Shakerian A, Rahimi E, Esfandiari Z. (2023). Examining the Extent of Contamination, Antibiotic Resistance, and Genetic Diversity of *Clostridioides (Clostridium) difficile* Strains in Meat and Feces of Some Native Birds of Iran. Biomed Res Int. 3524091.
  30. Limbago B, Thompson AD, Greene SA. et al. (2012). Development of a Consensus Method for Culture of *Clostridium difficile* from Meat and its Use in a Survey of U.S. Retail Meats. Food Microbiol. 32: 448-451.
  31. Mooyottu S, Flock G, Kollanoor-Johny A, Upadhyaya I, Jayarao B, Venkitanarayanan K. (2015). Characterization of a Multidrug Resistant *C. difficile* Meat Isolate. Int J Food Microbiol. 192: 111-116.
  32. Von Abercron SMM, Karlsson F, Wigh GT, Wierup M, Krovacek K. (2009). Low Occurrence of *Clostridium difficile* in Retail Ground Meat in Sweden. J Food Prot. 72: 1732-1734.
  33. Limbago B, Thompson AD, Greene SA. et al. (2012). Development of a Consensus Method for Culture of *Clostridium difficile* from Meat and its Use in a Survey of U.S. Retail Meats. Food Microbiol. 32: 448-451.
  34. Rahimi E, Khaksar F. (2015). Detection of Toxigenic *Clostridium difficile* Strains Isolated from Meat and Meat Products in Iran. Bulg J Vet Med. 18: 277-281.
  35. Simango C. (2006). Prevalence of *Clostridium difficile* in the Environment in a Rural Community in Zimbabwe. Trans R Soc Trop Med Hyg. 100: 1146-1150.
  36. Lund BM, Peck MW. (2015). A Possible Route for Foodborne Transmission of *Clostridium difficile*? Foodborne Pathog Dis. 12: 177-182.
  37. Blanco JL, Álvarez-Pérez S, García ME. (2013). Is the Prevalence of *Clostridium difficile* in Animals Underestimated? Vet J. 197: 694-698.
  38. Knight DR, Thean S, Putsathit P, Fenwick S, Riley TV. (2013). Cross-Sectional Study Reveals High Prevalence of *Clostridium difficile* Non-PCR Ribotype 078 Strains in Australian Veal Calves at Slaughter. Appl Environ Microbiol. 79, 2630-2635.
  39. Rodriguez-Palacios A, Reid-Smith RJ, Staempfli HR, Weese JS. (2010). *Clostridium difficile* Survives Minimal Temperature Recommended for Cooking Ground Meats. Anaerobe. 16: 540-542.
  40. Kouassi KA, Dadie AT, N'Guessan KF, Dje KM, Loukou YG. (2014). *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* in Cooked Beef Sold in Côte d'Ivoire and Their Antimicrobial Susceptibility. Anaerobe. 28: 90-94.
  41. Lawley TD, Croucher NJ, Yu L. et al. (2009). Proteomic and Genomic Characterization of Highly Infectious *Clostridium difficile* Spores. J Bacteriol. 191: 5377-5386.
  42. Saad J, Lendormi T, Le Marechal C, Pourcher A-M, Druilhe C, Lanoiselle J-L. (2023). Kinetic Study of Thermal Inactivation of Enterococci and Clostridial Spores. MATEC Web of Conferences. 379: 05004.
  43. Rodriguez-Palacios A, LeJeune JT. (2011). Moist-heat Resistance, Spore Aging, and Superdormancy in *Clostridium difficile*. Appl Environ Microbiol. 77: 3085-3091.
  44. Deng K, Plaza-Garrido A, Torres JA, Paredes-Sabja D. (2015). Survival of *Clostridium difficile* Spores at Low Temperatures. Food Microbiol. 46: 218-221.
  45. Bakri M. (2018). Prevalence of *Clostridium difficile* in Raw Cow, Sheep, and Goat Meat in Jazan, Saudi Arabia. Saudi J Biol Sci. 25: 783-785.
  46. Harvey RB, Norman KN, Andrews K. et al. (2011). *Clostridium difficile* in Retail Meat and Processing Plants in Texas. J Vet Diagn Invest. 23: 807-811.

## ✉ Sorumlu Yazar:

Esra AKKAYA

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, İstanbul, TÜRKİYE

E-posta: esra.akkaya@iuc.edu.tr



## Geleneksel Yöntemle Yapılan Tomas Peynirlerinin Bazı Kalite Parametrelerinin Araştırılması

Selçuk ALAN<sup>1,a,✉</sup> Gülsüm ÖKSÜZTEPE<sup>2,b</sup>

<sup>1</sup>Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Üretimi Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Elâzığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0002-4473-7835; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0003-3267-6841

Geliş Tarihi/Received  
24.06.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
31.10.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

Bu çalışma Elazığ ilinde kendi ihtiyaçlarını karşılamak için geleneksel yöntemle tomas peynirini üreten üreticilerden temin edilen tomas peynirlerinin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal kalite parametrelerini araştırmak için planlandı. Bunun için 60 adet tomas peyniri kullanıldı. Ortalama  $\log_{10}$ kob/g olarak toplam mezofilik aerob 8.27, toplam psikotrof 4.33, *Enterobacteriaceae* 3.67, koliform 2.03, *Staphylococcus-Micrococcus* 3.86, maya-küf 4.74, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* 7.27, laktik streptokok 7.31, lipolitik 6.51, proteolitik 6.88, *E.coli* 1.54 ve *S. aureus* ise 1.32 düzeyinde bulundu. İncelenen 14 (%23) örnekte *E.coli* ve 12 (%20) örnekte ise *S. aureus* bakterisine rastlanıldı. Ancak koagülaz (+) *S. aureus* bakterisi identifiye edilmedi. Kimyasal olarak ortalama pH 4.57, asitlik (%g laktik asit) 2.18, kuru madde %45.03, kül %4.39, yağ %16.37, kuru maddede yağ %28.57 ve tuz miktarı ise %2.56 seviyesinde tespit edildi. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiği zaman özellikle besin zehirlenmelerinde önem arz eden bakterilere (*E.coli* ve *S. aureus*) rastlanması bu ürünlerin gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğini ortaya çıkarmaktadır. Bu nedenle tomas peynirinin mikrobiyel kalitesini arttırmak için hijyen ve sanitasyon kuralları çerçevesinde HACCP sistemine uygun endüstriyel ortamlarda üretimin yapılması gerekliliği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Kalite, kimyasal, mikrobiyolojik, tomas peyniri

### Investigation of Some Quality Parameters of Tomas Cheese Made by Traditional Method

#### Abstract

This study was planned to investigate some microbiological and chemical quality parameters of tomas cheese obtained from producers who produce tomas cheese with the traditional method to meet their own needs in Elazığ province. 60 pieces of tomas cheese were used for this. Average  $\log_{10}$  cfu/g total mesophilic aerob 8.27, total psychotroph 4.33, *Enterobacteriaceae* 3.67, coliform 2.03, *Staphylococcus-Micrococcus* 3.86, yeast-mold 4.74, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* 7.27, lactic streptococcus 7.31, lipolytic 6.51, proteolytic 6.88, *E.coli* it was found to be 1.54 and *S. aureus* was found to be 1.32. *E.coli* was found in 14 (23%) samples and *S. aureus* bacteria was found in 12 (20%) samples. However, coagulase (+) *S. aureus* bacteria was not identified. Chemically, the average pH was 4.57, acidity (%g lactic acid) was 2.18, dry matter was 45.03%, ash was 4.39%, fat was 16.37%, fat in dry matter was 28.57% and the amount of salt was 2.56%. When the results obtained are evaluated, the presence of bacteria (*E.coli* and *S. aureus*), which are especially important in food poisoning, reveals that these products may pose a risk in terms of food safety and public health. For this reason, it was concluded that in order to increase the microbial quality of tomas cheese, it is necessary to produce it in industrial environments suitable for the HACCP system, within the framework of hygiene and sanitation rules.

**Key Words:** Chemical, microbiological, quality, tomas cheese

### GİRİŞ

Süt ve süt ürünlerinin insan beslenmesindeki önemi tartışılmazdır. Çiğ sütün hem dayanma süresi kısa olduğu için hem de tonaj olarak fazla miktarlarda üretimi yapıldığı için en kısa süre içerisinde işlenmesi ya da ürünlerine dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu ürünler içerisinde en fazla çeşitliliğe sahip olan ürün peynirdir. Peynir insanlar tarafından sürekli tercih edilen, zevkle tüketilen ve besleyici değeri üstün olan bir süt ürünüdür (1). Peynirler hem geleneksel yöntemlerle çiğ sütün üretilmekte hem de endüstriyel formatta ısıtılarak da yapılmaktadır. 2023 Ulusal Süt Konseyinin verilerine göre inek sütünden yapılan peynir üretimi Türkiye'de bir önceki yıla (642319 ton) göre %9.78 oranında artarak

705160 tona ulaşmıştır. Buna ilave olarak kaşar, tulum, gravyer ve mihaliç peynirleri gibi diğer peynir gruplarında da %33.32 ton üretim artışı olduğu görülmektedir (2). Ülkemizde geleneksel yöntemlerle üretilen ve bölgelere göre yapım teknikleri, isimleri ve tüketim şekilleri farklılık arz eden onlarca peynir çeşidimiz de bulunmaktadır. Bu durum kültürel zenginliğimizin de bir işaretidir (3-5). Doğu Anadolu Bölgesi'nde yaklaşık olarak 50 çeşit yöresel peynir yapılmaktadır. Yöresel peynirlerden olan tomas (Serto, Dorak ya da Karın kaymağı) peyniri Bingöl, Elâzığ, Malatya, Erzurum, Muş ve Tunceli illeri ile çevresinde yapılan genellikle tereyağı fiyatına yakın bir fiyatla satılan ve diğer tulum peynirlerinden yapım

aşamaları ve olgunlaştırmadaki bazı nüansları nedeniyle farklılıklar arz eden geleneksel ve yöresel bir tulum peyniri çeşididir (6,7). Tomas peynirinin standardı olmadığı için yapım şekli çadırdan çadıra, evden eve, yöreden yöreye göre farklılıklar arz etmektedir. Buna bağlı olarak da hem lezzeti hem de kalitesi birbirinden farklı olabilmektedir (8). Yapılan araştırmalar neticesinde tomas peynirinin en yaygın geleneksel kullanım şekli kısaca şöyledir: Çiğ süttten önce yoğurt yapılmakta bu yoğurt tereyağı yapımı için yayıklanmakta geriye kalan ayran tekrar ısıtılarak çökelek yapılmakta içerisine tuzsuz tereyağı, taze kaymak, süt ve yoğurt katılarak iyice yoğrulmakta ve böylece tomas peyniri tüketime hazır hale gelmektedir. Hazırlanan tomaslar ya taze olarak kahvaltılı sofralarında tüketilmekte ya da deri tulumlara basılarak birkaç ay (1-3 ay) olgunlaştırıldıktan sonra tüketime sunulmaktadır (9,10). Yapılan literatür taramaları neticesinde (6,8,9,11) tomas peynirlerinin yapım metotları, tarihçeleri, mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerinin incelendiği sınırlı sayıda araştırma olduğu görülmüştür. Ancak Elâzığ ili ve çevresinde yapılan tomas peynirleri ile alakalı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bundan dolayı bu çalışma Elâzığ ili merkezde veya merkeze bağlı köylerde vatandaşların kendi aile ihtiyaçlarını karşılamak için geleneksel yöntemle yaptıkları tomas peynirlerinin bazı kalite parametrelerini incelemek için planlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Araştırma ve Yayın Etiği

Geleneksel Yöntemle Yapılan Tomas Peynirlerinin Bazı Kalite Parametrelerinin Araştırılması başlıklı çalışmaya ait izin belgesi 10.08.2023 tarihli ve 2023/11-19 oturum sayılı Fırat Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul'undan alınmıştır.

### Materyal

Materyal olarak kullanılan tomas peyniri örnekleri, Elâzığ ili merkezde veya merkeze bağlı köylerde ikamet eden kendi aile ihtiyacını karşılamak için geleneksel yöntemle tomas peynirini yapan üreticilerden 01.08.2023-01.11.2023 tarihleri arasında toplandı. Örnekler daha önce yapılan ön araştırma neticesinde tespit edilen altı evden haftada bir gün olmak üzere her evden 500-600 g kadar olacak şekilde alındı. Tomas peyniri yapan kişilerin her hafta farklı oranlarda ve farklı bileşimlerde ürünler yapabileceği göz önünde tutularak; her hafta aynı evden, aynı muhafaza günlerinde (yaklaşık olarak 30-35 gün) ve aynı gramajlarda örnek almaya özen gösterildi. Toplamda ise 60 adet tomas peyniri örneği incelenmiştir.

### Metot

#### Mikrobiyolojik analizler

Tomas peyniri örneklerinin her birinden aseptik şartlar altında parçalayıcının (Bag Mixer Interscience 78860 St. France-Stochmaer) özel steril torbasına 10 g alındı ve üzerine steril 90 mL %0.1'lik peptonlu sudan ilave edilerek parçalayıcıda homojen hale getirildi. Böylece örneğin  $10^{-1}$  ( $1/10$ )'lik dilüsyonu hazırlanmış oldu. Bu dilüsyondan aynı seyrelticiyi kullanmak suretiyle örneğin  $10^{-9}$ 'a kadar diğer desimal dilüs-

yonları yapıldı. Örneklerin her bir seyreltisinden 1'er mL kullanılarak çift paralelli şekilde dökme plak metoduyla ve yayma yöntemiyle ekimleri yapıldı. İnkübasyon süresi sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirilmeye alındı (12,13). Örneklerdeki toplam mezofilik aerob (TMA) için Plate Count Agar (PCA) ( $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat)(14), toplam psikotrof bakteri (TPB) için Plate Count Agar (PCA) ( $7\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 gün)(12), *Enterobacteriaceae* için Violet Red Bile Glucose Agar ( $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat) (15), koliformlar için Violet Red Bile Agar (VRB) ( $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat)(16), *Staphylococcus-Micrococcus*'lar için Baird Parker Agar ( $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat)(16), maya-küf için Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar ( $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün)(17), *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* (LLP) için Man Rogosa Sharpe Agar ( $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün)(12), laktik streptokoklar için M17 Agar ( $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48-72 saat)(16,18), lipolitik mikroorganizmalar için Tributyrin Agar ( $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat)(16), proteolitik mikroorganizmalar için Calcium Caseinat Agar ( $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat)(16), *E. coli* için Tryptone Bile X-Glucuronide Medium ( $30^{\circ}\text{C}$ 'de 4 saat, daha sonra  $44^{\circ}\text{C}$ 'de 18 saat) (19) kullanıldı. Koagulaz pozitif *Staphylococcus aureus* sayımı için ise Egg Yolk Tellurite Emulsion katılmış Baird Parker Agar ( $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat) besi yerinde üreyen spesifik koloniler (siyah koloniler) Brain Heart Infusion Broth veya TSB Broth'a aktarıldı ve  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. Steril boş tüpler içerisine 0.1 mL Broth'larda üreme gösteren kültürlerden eklendi ve bu tüplerin üzerine tarife göre hazırlanan Bactident Coagulase'dan 0.3 mL ilave edildi. Tüpler  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 4 saat inkübasyona alınarak pıhtı veya jel oluşumuna göre değerlendirildi. Koagulaz test sonucu pozitif olan kolonilerin sayısı şüpheli kolonilerin sayısıyla çarpılıp 5'e bölündü ve koagulaz pozitif *S. aureus*'un sayısı hesaplandı (20,21).

#### Kimyasal analizler

Örneklerin pH değerleri pH metre (Selecta - pH 2001) ile (22), asitlik tayini (% g laktik asit) titrasyon yöntemi ile (23), kuru madde miktarlarının tayini gravimetrik yöntem ile (24), yağ tayini Gerber metoduyla (24), kül ve tuz miktarı ise TSE'ye göre (23) yapıldı.

#### İstatistiksel analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS paket programı (Versiyon 21) kullanıldı (25).

## BULGULAR

Analiz edilen tomas peynirlerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1 ve Tablo 2'de, fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Tablo 3'de, mikrobiyolojik ve kimyasal verilerin pearson korelasyon katsayıları sonuçları ise Tablo 4'de gösterilmektedir. Ortalama  $\log_{10}$ kob/g olarak toplam mezofilik aerob 8.27, toplam psikotrof 4.33, *Enterobacteriaceae* 3.67, koliform 2.03, *Staphylococcus-Micrococcus* 3.86, maya-küf 4.74, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* 7.27, laktik streptokok 7.31, lipolitik 6.51, proteolitik 6.88, *E. coli* 1.54 ve *S. aureus* ise 1.32 düzeyinde bulundu. İncelenen 14 (%23) örnekte *E. coli* ve 12 (%20) örnekte ise *S. aureus* bakterisine rastlanıldı. Ancak koagulaz (+) *S. aureus* bakterisi identifiye edilmedi.

**Tablo 1.** Tomas peynirlerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları ( $\log_{10}$  kob/g) (n: 60)

Mikroorganizma	Aritmetik		En az	En çok
	Ortalama $\pm$ Std Sapma			
Toplam Mezofilik Aerob	8.27 $\pm$ 0.97		7.00	9.68
Toplam Psikotrof	4.33 $\pm$ 0.70		4.00	6.25
<i>Enterobacteriaceae</i>	3.67 $\pm$ 0.63		3.00	4.77
Koliform	2.03 $\pm$ 0.03		1.10	2.27
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	3.86 $\pm$ 0.91		2.00	5.53
Maya-Küf	4.74 $\pm$ 0.95		1.00	6.63
<i>Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus</i>	7.27 $\pm$ 1.00		5.00	8.55
Laktik Streptokok	7.31 $\pm$ 1.00		5.00	8.62
Lipolitik Mikroorganizma	6.51 $\pm$ 0.65		4.00	7.77
Proteolitik Mikroorganizma	6.88 $\pm$ 1.05		5.00	8.52
<i>E. coli</i>	1.54 $\pm$ 0.28		1.00	2.77
<i>S.aureus</i>	1.32 $\pm$ 0.38		1.00	2.39

**Tablo 2.** Tomas peynirlerde mikroorganizmaların sayısal dağılımı ( $\log_{10}$  kob/g) (n: 60)

Mikroorganizma	0-0.99		1.0-1.99		2.0-2.99		3.0-3.99		4.0-4.99		5.0-5.99		> 6.00	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Top. Mez. Aerob													60	100
Top. Psikotrof									49	81.67	8	13.33	3	5.00
<i>Enterobacteriaceae</i>					53	88.33	7	11.67						
Koliform			16	26.67	44	73.33								
<i>Staphy-Micro.</i>					15	25.00	30	50.00	10	16.67	5	8.33		
Maya-Küf			17	28.33	14	23.33	10	16.67	5	8.33	5	8.33	9	15.00
LLP					5	8.33	8	13.33	15	25.00	10	16.67	22	36.67
Laktik Streptokok					8	13.33	6	10.00	14	23.33	8	13.33	24	40.00
Lipolitik									8	13.33	16	26.67	36	60.00
Proteolitik									12	20.00	16	26.67	32	53.33
<i>E. coli</i>	46	76.67	6	10.00	8	13.33								
<i>S.aureus</i>	48	80.00	5	8.33	7	11.67								

**Tablo 3.** Peynir örneklerinin fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Analiz	Aritmetik Ortalama $\pm$ Std Sapma		En az	En çok
pH	4.57 $\pm$ 0.15		4.40	5.09
Asitlik (% g laktik asit)	2.18 $\pm$ 0.13		1.90	2.40
Kuru Madde (%)	45.03 $\pm$ 1.62		41.20	47.12
Kül (%)	4.39 $\pm$ 0.17		3.08	4.80
Yağ (%)	16.37 $\pm$ 1.70		13.40	19.70
Kuru Maddede Yağ (%)	28.57 $\pm$ 3.60		21.43	34.96
Tuz (%)	2.56 $\pm$ 0.29		2.14	3.20
Kuru Maddede Tuz (%)	6.92 $\pm$ 0.69		5.70	8.91

**Tablo 4.** Tomas peynirine ait mikrobiyolojik ve kimyasal verilerin pearson korelasyon katsayıları

	Asitlik	Kuru Madde	Kül	Yağ	Tuz	TMAB	TPB	Koli-form	Entero-bac.	Maya-Küf	<i>Staph.-Micro.</i>	LLP	Laktik streptokok	Lipolitik mikroorg.	Proteolitik mikroorg.	<i>E.coli</i>
pH	0.051	-0.121	-0.123	0.384*	0.152	0.335*	0.198	0.111	0.308	0.485**	0.294	0.363*	0.338*	0.366*	0.381*	0.413*
Asitlik		-0.270	0.469**	0.267	0.206	0.072	0.462**	-0.267	-0.161	-0.015	-0.225	-0.065	0.034	0.396*	0.345*	0.572**
Kuru Madde			-0.307	0.350*	0.068	0.058	-0.141	0.076	-0.171	0.032	0.141	0.028	0.051	0.235	0.233	0.054
Kül				-0.064	0.057	-0.194	-0.372*	0.352**	0.238**	-0.095	-0.266	-0.272	-0.201	-0.429**	-0.401*	-0.388*
Yağ					0.186	0.213	-0.357*	0.142	0.057	0.289	0.032	0.145	0.198	-0.018	-0.038	-0.146
Tuz						0.490**	-0.240	0.051	0.450**	0.587**	-0.032	0.439**	0.462**	-0.058	-0.027	-0.011
TMAB							0.254	0.588**	0.732**	0.600**	0.659**	0.929**	0.994**	0.575**	0.577**	0.351*
TPB								0.369*	0.218	0.136	0.335*	0.315	0.532**	0.531**	0.573**	
Koliform									0.614**	0.065	0.418*	0.515**	0.604**	0.420*	0.426**	0.496**
<i>Enterobac.</i>										0.524**	0.411*	0.706**	0.724**	0.346*	0.319	0.456**
Maya-Küf											0.186	0.650**	0.592**	0.282	0.292	0.189
<i>Staph.-Micro.</i>												0.697**	0.649**	0.775**	0.645**	0.500**
LLP													0.933**	0.642**	0.512**	0.372*
Laktik streptokok														0.598**	0.600**	0.380*
Lipolitik mikroorg.															0.878**	0.649**
Proteolitik mikroorg.																0.708**

\*: P&lt;0.05 \*\*: P&lt;0.01

## TARTIŞMA VE SONUÇ

TMA sayısı tomas peyniri örneklerinde en az 7.00, en çok 9.68 ve ortalama olarak  $8.27 \pm 0.97 \log_{10} \text{kob/g}$  düzeyinde saptandı (Tablo 1). Bu bakteri grubunun incelenen örneklerinin tamamında (%100)  $>6 \log_{10} \text{kob/g}$ 'dan fazla olduğu belirlendi (Tablo 2). Elde edilen sonuçların Gündüz'ün (26) bulmuş olduğu sonuçlarla ( $8.27 \log_{10} \text{kob/g}$ ) aynı seviyelerde olduğu ancak bazı araştırmacıların (8,11,27) buldukları sonuçlardan ( $7.0, 7.61, 7.60 \log_{10} \text{kob/g}$ ) ise nispeten yüksek seviyede olduğu görüldü. Bu bakteri grubunun  $>6 \log_{10} \text{kob/g}$ 'dan daha fazla sayıda çıkmış olması tomas peyniri yapımında yoğurt, tereyağı, süt ve kaymak gibi starter kültür içeren ürünlerin kullanılmış olmasından kaynaklanmış olabilir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre bu grup bakteriler ile pH arasında  $r=0.335$  ( $P<0.05$ ), koliform arasında  $r=0.588$  ( $P<0.01$ ), *Enterobacteriaceae* arasında  $r=0.732$  ( $P<0.01$ ) ve maya-küf arasında ise  $r=0.600$  ( $P<0.01$ ) düzeyinde pozitif yönde korelasyon tespit edildi (Tablo 4).

TPB mikroorganizma sayılarının fazla olması özellikle çiğ sütlerin ve bunlardan yapılan ürünlerin kalitelerinin iyi olmadığı ve bu ürünlerin uygun derecelerde muhafaza edilmediğinin bir göstergesidir. Bu çalışmada TPB sayısı ortalama olarak  $4.33 \pm 0.70 \log_{10} \text{kob/g}$  seviyesinde bulundu (Tablo 1). Analiz edilen 49 örnekte (%81.67) bakteri sayılarının  $4.0-4.99 \log_{10} \text{kob/g}$  arasında seyrettiği 3 örnekte (%5.00) ise  $>6.0 \log_{10} \text{kob/g}$ 'dan fazla olduğu görüldü (Tablo 2). İstatistiksel analiz neticesinde bu grup bakteriler ile asitlik arasında  $r=0.462$  ( $P<0.01$ ) negatif ve koliform bakteriler arasında ise  $r=0.369$  ( $P<0.05$ ) seviyesinde pozitif yönde korelasyonlar olduğu belirlendi (Tablo 4).

Isıl işlem görmeyen sütlerden yapılan peynirlerin kalitelerinin tespit edilmesinde önemli olan bakteri gruplarından birisi de yüksek sıcaklığa karşı toleranslı ve çevresel faktörlere karşı da dayanıklı olan *Enterobacteriaceae* ailesidir. Bu grup bakteriler ortalama olarak  $3.67 \pm 0.63 \log_{10} \text{kob/g}$  seviyesinde tespit edildi (Tablo 1). İncelenen 7 örnekte (%11.67) bakteri sayılarının  $3.0-3.99 \log_{10} \text{kob/g}$  arasında olduğu görüldü (Tablo 2). *Enterobacteriaceae* ile maya-küf arasında  $r=0.524$  ( $P<0.01$ ), koliformlar arasında  $r=0.614$  ( $P<0.01$ ), *E. coli* arasında  $r=0.456$  ( $P<0.01$ ) ve lipolitik bakteriler ile arasında ise  $r=0.346$  ( $P<0.05$ ) düzeyinde pozitif yönde korelasyonlar saptandı (Tablo 4).

Hijyen indikatörü olarak da bilinen koliformlar peynirlerde lezzet ve yapı bozukluklarına yol açarlar. Analiz edilen tomas peyniri örneklerinde ortalama olarak koliform grubu bakteri sayısı  $2.03 \pm 0.03 \log_{10} \text{kob/g}$  olarak bulundu (Tablo 1). Bakteri dağılımına bakıldığında incelenen örneklerin tamamında (%100) sayının  $1.0-2.99 \log_{10} \text{kob/g}$  arasında olduğu gözlemlendi (Tablo 2). Elde edilen sonuçların Kurtulgan ve Dikici'nin (11) tomas peynirlerinde buldukları sonuçlarla ( $2.30 \log_{10} \text{kob/g}$ ) ve Ustaoglu'nun (28) karın kaymağında bulunduğu sonuçlarla ( $2.39 \log_{10} \text{kob/g}$ ) benzerlik arz ettiği tespit edildi. Ancak Çoşkun ve Korucu'nun (8) tomas peynirlerinde buldukları sonuçtan ( $<1.0 \log_{10} \text{kob/g}$ ) ve Yangılar'ın (29) karın kaymağında saptadıkları değerden ( $<1.0 \log_{10} \text{kob/g}$ ) ise yüksek seviyelerde olduğu görüldü. Koliformların sayıca fazla çıkmış olması muhtemelen ürün yapılırken hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmadığından veya ürün işlendikten sonra

rekontaminasyonun mevcut olmasından kaynaklanmış olabilir. İstatistiksel olarak bu grup bakteriler ile lipolitikler arasında  $r=0.420$  ( $P<0.05$ ) proteolitikler arasında  $r=0.426$  ( $P<0.01$ ) ve *E. coli* arasında ise  $r=0.496$  ( $P<0.05$ ) düzeyinde pozitif yönde korelasyonlar olduğu belirlendi (Tablo 4).

*Staphylococcus*'ların gıdalarda sayıca fazla olmaları sanitasyon ve ısıl işlemlerinin yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır. *Micrococcus*'lar ise toz, toprak, su, insan ve hayvanların derilerinde bulunurlar ve gıdaların bozulmalarında önemli roller üstlenirler (30,31). Tomas peynirlerinde *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı ortalama olarak  $3.86 \pm 0.91 \log_{10} \text{kob/g}$  seviyesinde bulundu (Tablo 1). Yapılan literatür taramalarında tomas peynirlerinde bu bakteri grubu ile alakalı bir yayın olmadığı için tartışma yapılamamıştır. Ancak mevcut çalışmada saptanan değerler çiğ süttten üretilen Şavak tulum peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada tespit edilen değer ( $3.81 \log_{10} \text{kob/g}$ ) ile uyum içerisinde olduğu fakat yine çiğ süttten üretilen tulum peynirlerinde çalışmalar yapan diğer araştırmacıların (32-35) bulgularından ( $4.38-7.69 \log_{10} \text{kob/g}$ ) ise nispeten daha düşük seviyelerde olduğu gözlemlendi. İstatistik analiz sonuçlarına göre bu grup bakteriler ile LLP arasında  $r=0.697$  ( $P<0.01$ ), laktik streptokoklar arasında  $r=0.649$  ( $P<0.01$ ), lipolitik mikroorganizmalar arasında  $r=0.775$  ( $P<0.01$ ), proteolitik mikroorganizmalar arasında  $r=0.645$  ( $P<0.01$ ) ve *E. coli* arasında ise  $r=0.500$  ( $P<0.01$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar tespit edildi (Tablo 4).

Maya ve küfler tüm gıda maddelerinin raf ömrüne, kalitesine ve lezzeti üzerine etki eden mikroorganizmalardan sayılmaktadırlar. Analiz edilen tomas peynirlerinde ortalama olarak  $4.74 \pm 0.95 \log_{10} \text{kob/g}$  düzeyinde saptandı (Tablo 1). Elde edilen bu sonucun Kurtulgan ve Dikici'nin (11) tomas peynirlerinde buldukları sonuç ( $4.6-5.5 \log_{10} \text{kob/g}$ ) ile hemen hemen aynı seviyelerde olduğu görüldü. Ancak bu değerlerin tomas peyniri ( $7.28 \log_{10} \text{kob/g}$ ) (8, 27), karın kaymağı ( $7.14 \log_{10} \text{kob/g}$ ) (28) ve çiğ süttten yapılan tulum peynirlerinde ( $5.6, 5.08$  ve  $6.44 \log_{10} \text{kob/g}$ ) (36-38) belirlenen diğer araştırma sonuçlarından daha düşük seviyelerde olduğu saptandı. Maya ve küf mikroorganizmalarının sayısal dağılımlarına bakıldığında zaman 17 örnekte (%28.33) sayının  $2 \log_{10} \text{kob/g}$ 'dan az olduğu 43 örnekte ise (%71.67) sayının  $2.0->6.0 \log_{10} \text{kob/g}$  arasında olduğu görüldü (Tablo 2). Maya ve küf sayılarının yüksek çıkması muhtemelen peynir üretimi esnasında hijyenik kurallara uyulmadığından, çevresel kontaminasyonlardan ve kullanılan ambalaj malzemelerinden kaynaklanmış olabilir. İstatistiksel olarak bu grup bakteriler ile LLP arasında  $r=0.650$  ( $P<0.01$ ), pH arasında  $r=0.485$  ( $P<0.01$ ) ve laktik streptokoklar arasında ise  $r=0.592$  ( $P<0.01$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar saptandı (Tablo 4).

Laktik asit bakteri grubunda bulunan *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*'lar gıdaların kendine özgü lezzet, aroma ve raf ömrü üzerinde olumlu etkiler yaparlar. Laktik asit bakterilerinin tomas peynirlerinde de sayıca fazla olması tercih edilen bir durumdur. Aksi takdirde koliform grubu başta olmak üzere bazı arzu edilmeyen bakteri gruplarının sayıca fazla üremelerinde ve olumsuz etkilerini önlemede ciddi sorunlar ortaya çıkabilir. Dolayısıyla özellikle peynirlerde kokuşma, lezzet ve aroma bozukluğu ve insan sağlığını olumsuz şekilde etkileyecek zararlı bakterilerin çoğalması ka-

çinilmaz olur (32,36,39). Analiz edilen tomas peyniri örneklerinde ortalama olarak  $7.27 \pm 1.00 \log_{10} \text{kob/g}$  seviyesinde bulundu (Tablo 1). Elde edilen bu sonuçların tomas peynirleri üzerinde yapılan çalışmalarda (8,27,28) tespit edilen değerlerle (7.47, 7.46, 7.22  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) hemen hemen aynı seviyelerde olduğu görüldü (Tablo 1). Ancak Kurtulgan ve Dikici'nin (11) tomas peynirlerinde buldukları değerden (6.10  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) ise yaklaşık olarak 1  $\log_{10} \text{kob/g}$  daha fazla çıktığı belirlendi. Bakterilerin genel dağılımlarına bakıldığında ise 22 örnekte (%36.67) sayının  $>6 \log_{10} \text{kob/g}$  arasında olduğu görüldü (Tablo 2). İstatistiksel olarak bu grup bakteriler ile laktik streptokoklar arasında  $r = 0.933$  ( $P < 0.01$ ), lipolitikler arasında  $r = 0.642$  ( $P < 0.01$ ), proteolitikler arasında  $r = 0.512$  ( $P < 0.01$ ) ve *E. coli* arasında ise  $r = 0.372$  ( $P < 0.05$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar saptandı (Tablo 4).

Süt ürünleri teknolojisinde starter kültür olarak kullanılan başka bakteri grubu ise laktik streptokok grubu bakterilerdir. Bu grup mikroorganizmalar ortalama olarak  $7.31 \pm 1.00 \log_{10} \text{kob/g}$  olarak saptandı (Tablo 1). Tespit edilen bu değerlerin tomas peynirleri üzerinde yapılan bazı araştırma (8,26,27) sonuçlarıyla (7.75, 7.94, 7.74  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) benzer ancak bazı araştırma (11,28) sonuçlarından (6.80 ve 6.43  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) ise yüksek seviyelerde olduğu görüldü. Bu farklılıklar muhtemelen tomas peyniri üretilirken kullanılan hammaddenin (çiğ süt, yoğurt, tuzsuz tereyağı, taze kaymak, çökelek) mikroflorasından, peynirin üretim tekniğinden ve peynirin mikroflorasını oluşturan bakteriler arasındaki etkileşimden kaynaklanmış olabilir. Bu grup bakteriler ile lipolitikler arasında  $r = 0.598$  ( $P < 0.01$ ), proteolitikler arasında  $r = 0.600$  ( $P < 0.01$ ) ve *E. coli* arasında ise  $r = 0.380$  ( $P < 0.05$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar bulundu (Tablo 4).

Lipolitik mikroorganizmalar süt ve süt ürünlerinde süt yağını lipolize ederek arzu edilmeyen tat ve kokuya neden olduklarından dolayı sayılarının fazla olması istenilen bir durum değildir. Tomas peyniri örneklerinde ortalama olarak  $6.51 \pm 0.65 \log_{10} \text{kob/g}$  seviyesinde bulundu (Tablo 1). Tomas peynirleri üzerinde yapılan çalışmalarda bu grup bakterilere ait veriler olmadığı için tartışma yapılamamıştır. Ancak yapım tekniği bakımından benzerlik gösteren karın kaymağı ürünlerinde yapılan çalışmalarda (28,40) tespit edilen değerlerle (6.53 ve 6.49  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) hemen hemen aynı seviyelerde olduğu görüldü. Bakterilerin sayısal dağılımlarına bakıldığında incelenen 36 örnekte (%60) sayının  $>6.0 \log_{10} \text{kob/g}$ 'dan fazla olduğu belirlendi (Tablo 2). İstatistiksel olarak bu grup bakteriler ile pH arasında  $r = 0.366$  ( $P < 0.05$ ), proteolitikler arasında  $r = 0.878$  ( $P < 0.01$ ) ve *E. coli* arasında ise  $r = 0.649$  ( $P < 0.01$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar bulundu (Tablo 4).

Süt ve süt ürünlerinde anormal lezzet, koku ve tat oluşumuna neden olan proteolitik bakteriler proteaz enzimini salgılayarak proteinleri hidrolize ederler. Bu grup mikroorganizmaların sayılarının da çok fazla olması istenilmez. Analiz edilen tomas peyniri örneklerinde ortalama olarak  $6.88 \pm 1.05 \log_{10} \text{kob/g}$  düzeyinde saptandı (Tablo 1). Tomas peynirleri üzerinde yapılan çalışmalarda bu grup bakterilere ait veriler olmadığı için tartışma yapılamamıştır. Ancak yapım tekniği bakımından benzerlik arz eden karın kaymağı ürünlerinde yapılan çalışmalarda (28,40) tespit edilen değerlerle

(6.95 ve 6.92  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) hemen hemen aynı seviyelerde olduğu görüldü. Bakterilerin sayısal dağılımlarına bakıldığında incelenen 32 örnekte (%53.33) sayının  $>6.0 \log_{10} \text{kob/g}$ 'dan fazla olduğu belirlendi (Tablo 2). İstatistiksel olarak bu grup bakteriler ile pH arasında  $r = 0.381$  ( $P < 0.05$ ) ve *E. coli* arasında ise  $r = 0.708$  ( $P < 0.01$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar olduğu gözlemlendi (Tablo 4).

*Escherichia coli* (*E. coli*) gıda zehirlenmelerine neden olan Gram negatif ve *Enterobacteriaceae* familyasının içerisinde olan bir bakteridir. Genellikle çiğ sültere meme başları, personelin elleri, sağım makineleri ve kullanılan alet ve malzemeler gibi çeşitli kontaminasyon noktalarından bulaşmaktadır (1,41). Analiz edilen tomas peynirlerinin 14 tanesinde (%23) ve ortalama olarak  $1.54 \pm 0.28 \log_{10} \text{kob/g}$  seviyesinde bulundu (Tablo 1). Elde edilen bu sonucun tomas peynirleri üzerinde yapılan çalışmaların (8,28) sonuçlarından ( $<1.0$  ve  $<1.0 \log_{10} \text{kob/g}$ ) farklılık arz ettiği görüldü. Ancak çiğ süttten yapılan diğer tulum peynirlerinde (36,42) tespit edilen değerlerden (1.10 ve 0.65  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) ise nispeten yüksek sayıda olduğu gözlemlendi. İstatistik analizler neticesinde bu grup bakteriler ile pH arasında  $r = 0.413$  ( $P < 0.05$ ) ve asitlik arasında ise  $r = 0.572$  ( $P < 0.01$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar saptandı (Tablo 4).

*S. aureus* mastitise neden olduğu için çiğ sülterde bulunma ihtimali olan bir bakteridir. Çiğ sülterin pastörize edilmeden peynir yapımında kullanılması *S. aureus*'un peynirler içerisinde üremesine, toksin üretmesine ve gıda zehirlenmelerine sebebiyet vermektedir (43). Analiz edilen tomas peyniri örneklerinin 12 (%20) tanesinde *S. aureus* bakterisine rastlanıldı. Ortalama olarak  $1.32 \pm 0.38 \log_{10} \text{kob/g}$  seviyesinde tespit edildi (Tablo 1). Tespit edilen *S. aureus* suşlarına koagulaz test uygulandı. Ancak pozitif sonuç veren suş tespit edilmedi. Tomas peyniri ile ilgili yapılan çalışmalarda bu grup bakteri sayımına rastlanılmamıştır. Ancak elde edilen sonuçların çiğ süttten yapılan Şavak tulum peyniri üzerinde yapılan bir çalışmada (36) elde edilen değerlerle (1.42  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) hemen hemen aynı seviyelerde olduğu görüldü. Yine çiğ süttten üretilen diğer tulum peyniri çalışmalarında (33,44) saptanan değerlerden (4.82 ve 4.54 ve 4.82  $\log_{10} \text{kob/g}$ ) nispeten daha az sayılarda olduğu saptandı.

Bakterilerin bir çoğu pH 6-8 aralığında optimum üreme göstermesine rağmen pH  $< 5.0$  değerlerinde ise zayıf üreme gösterirler. Taze peynir telemesinin ortalama olarak pH değeri genellikle 4.5-5.3 aralığındadır. Bundan dolayı da peynirlerin pH değerleri peynirde bakteri üremesini kontrol etmede önemli bir faktördür (45). Tomas peyniri örneklerinde ortalama olarak pH değeri 4.57 olarak bulundu (Tablo 3). Tespit edilen bu değerlerin tomas peynirleri üzerinde yapılan çalışmalarda (8,11,27) saptanan değerlerle (4.84, 4.67, 4.90) hemen hemen aynı seviyelerde olduğu gözlemlendi. pH değeri ile LLP arasında  $r = 0.363$  ( $P < 0.05$ ) düzeyinde ve laktik streptokoklar arasında ise  $r = 0.338$  ( $P < 0.05$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar bulundu (Tablo 4).

Asitlik (% laktik asit cinsinden) laktik asit bakterilerinin laktozu parçalaması neticesinde ortaya çıkan ve peynirlerin olgunlaşmasında önemli rol oynayan reaksiyonlardan birisidir. Ayrıca peynirdeki asitlik miktarı aroma, tat, tekstür, lezzet, olgunlaşma ve sekonder kontaminasyonlarda arzu edilmeyen bakterilerin inhibisyonunda etkilidir (1,46). İncelenen

tomas peynirlerinde asitlik miktarı ortalama olarak %2.18 g laktik asit seviyesinde bulundu (Tablo 3). Tespit edilen bu değerin tomas peyniri üzerinde çalışma yapan Kurt ve ark.'nın (32) buldukları değerle (%2.37 g laktik asit) hemen hemen aynı seviyelerde olduğu görüldü. Ancak yine tomas peynirleri üzerinde çalışmalar yapan bazı araştırmacıların (8,11,27) bulgularından (1.45, 1.08, 1.34) ise yüksek seviyelerde olduğu saptandı. İstatistik analiz sonuçlarına göre asitlik değeri ile lipolitik bakteriler arasında  $r=0.396$  ( $P<0.05$ ) ve proteolitik bakteriler arasında ise  $r=0.345$  ( $P<0.05$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar olduğu belirlendi (Tablo 4). Tomas peyniri bir çeşit tulum peyniri olduğu için incelenen tüm tomas peyniri örneklerinin tamamının (%100) tulum peyniri standardında (23) belirtilen kriterlere (en çok titre edilebilir asitlik miktarı % g laktik asit olarak %3) uygun olduğu görüldü.

Yağ, protein, laktoz, vitaminler, tuz ve mineral maddeler peynirlerin kuru madde miktarını, besleyici değerini, randımanını ve duyuşsal özelliklerini belirleyen faktörlerdir (47). Tomas peynirlerinin kuru madde miktarları ortalama olarak %45.03 olarak hesaplandı (Tablo 3). Bu değerin tomas peynirlerinde yapılan bazı araştırmacıların (8,27,48) bulgularından (%42.44, % 42.45, % 43.46) yüksek bazı araştırmacıların (11,32) bulgularından (%46.76 ve %47.49) ise düşük seviyelerde olduğu görüldü. Tomas peyniri tulum peyniri çeşidi olduğu için TGM Peynir Tebliğinde (49) tulum peynirinin kuru madde miktarının en az %55 olması gerektiği vurgulanmaktadır. Analiz edilen 60 adet tomas peynir örneğinin tamamının (%100) tebliğe uymadığı tespit edildi (Tablo 3). Bu durum muhtemelen tomas peynirlerinin üretiminde kullanılan ham materyallerin kalitelerinin farklılığından ve standart bir üretim metodunun olmamasından kaynaklanmış olabilir.

Gıda maddelerindeki inorganik madde miktarı kül miktarı olarak tarif edilmektedir. Bu değerin yüksek çıkması gıdaların hijyenik olmayan şartlarda üretildiklerinin, kıl, tüy, toprak parçası, gaita parçası, ağır metaller ve çeşitli mineral maddelerin (Cl gibi) seviyelerinin fazla olduğunun bir göstergesidir. Tomas peynirlerinde ortalama olarak kül miktarı %4.39 seviyesinde bulundu (Tablo 3). Bu değerin tomas peynirlerinde araştırma yapan Kurtulgan ve Dikici'nin (11) tespit ettikleri değerle (%4.24) hemen hemen aynı seviyelerde olduğu görüldü. Ancak tomas peynirlerinde çalışmalar yapan bazı araştırmacıların (8,27) buldukları değerlerden (%5.91 ve %5.90) daha düşük bazı araştırmacıların (32,48) buldukları değerlerden (%3.42 ve %2.93) ise daha yüksek seviyelerde olduğu belirlendi. İstatistiksel olarak kül miktarı ile koliformlar arasında  $r=0.352$  ( $P<0.01$ ) ve *Enterobacteriaceae* arasında ise  $r=0.238$  ( $P<0.01$ ) düzeyinde pozitif yönde bir korelasyon olduğu saptandı (Tablo 4).

Yağ ürünlerin kendine özgü lezzet, aroma ve tatlarının oluşmasında etkili olan önemli bir parametredir. Tomas peynirlerinde ortalama olarak yağ miktarı %16.37 olarak tespit edildi (Tablo 3). Bu değerin tomas peynirlerinde araştırma yapan Kurtulgan ve Dikici'nin (11) tespit ettikleri değerle (%17.66) uyum içerisinde olduğu görüldü. Ancak yine tomas peynirlerinde araştırmalar yapan diğer araştırmacıların (8,27,32) bulgularından (%19.01, %18.97 ve %18.13) ise nispeten daha düşük seviyelerde bulundu.

Kuru maddede yağ miktarı ise ortalama olarak %28.57 düzeyinde saptandı. Bu değerin de tomas peynirlerinde araştırma yapan Kurtulgan ve Dikici'nin (11) tespit ettikleri değerler ile (%25.56) uyum içerisinde olduğu belirlendi. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (49) ve TS 3001 Tulum Peyniri Standardı'nda (23) yer alan kuru maddede yağ miktarına göre incelenen tomas peyniri örneklerinin 27 (%45) tanesinin yağlı (en az %30-45 arası) ve 33 (%55) tanesinin ise yarım yağlı (en az %20-30 arası) grubuna dâhil olduğu saptandı.

Tuz genellikle peynir üretiminde sıkça kullanılan peynirin dayanıklılığını artıran, kıvamını düzelten, randımanının artmasına neden olan ve lezzetini iyileştiren önemli bir parametredir. Ortalama olarak tuz miktarı %2.56 düzeyinde saptandı. Tespit edilen bu değerin Kurtulgan ve Dikici'nin (11) tespit ettikleri değerle (%2.93) uyum içerisinde olduğu belirlendi. Ancak yine tomas peynirlerinde araştırmalar yapan diğer araştırmacıların (8,27,32,48) bulgularından (%4.42, %4.42, %3.05, %3.65) ise nispeten daha düşük seviyelerde olduğu gözlemlendi. Bu durum muhtemelen tomas peyniri yapılırken ilave edilen tuzun üreticilerin tecrübe ve alışkanlıklarına göre değişmesinden veya bu peynirin çok tuzlu olarak tüketiminin tercih edilmemesinden kaynaklanmış olabilir. İstatistiksel olarak tuz miktarı ile TMA arasında  $r=0.490$  ( $P<0.01$ ), *Enterobacteriaceae* arasında  $r=0.450$  ( $P<0.01$ ) ve maya-küf arasında ise  $r=0.587$  ( $P<0.01$ ) düzeyinde pozitif korelasyonlar saptandı (Tablo 4).

Analiz edilen tomas peyniri örneklerinin 55 tanesinin Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (49) ve TS 3001 Tulum Peyniri Standardı'nda (23) yer alan kuru maddede tuz (%) maksimum miktarını (%6) aştığı ve ikinci sınıf peynir kategorisine, 5 tane örneğin ise birinci sınıf peynir grubuna girdiği belirlendi. Tomas peyniri geleneksel yöntemle yapıldığı için bu durum muhtemelen üreticilerin tecrübelerinden ve damak tatlarının farklılığından kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada halkımız tarafından sevilererek tüketilen ve geleneksel yöntemle üretilen tomas peynirlerinin bazı kalite parametreleri incelendi. Tespit edilen sonuçlar toplu olarak değerlendirildiği zaman hem kalite sorunlarına neden olan ve hem de halk sağlığı bakımından ciddi anlamda önem arz eden bazı bakterilerin (*Enterobacteriaceae*, koliform, lipolitik, proteolitik, *E. coli*, *S.aureus*) oldukça fazla sayılarda olduğu gözlemlendi. Bu nedenle olası patojen enfeksiyonların ve intoksikasyonların önüne geçebilmek, hem gıda güvenliği ve hem de halk sağlığını korumak ve tomas peynirinin mikrobiyel kalitesini arttırmak için hijyen ve sanitasyon kuralları çerçevesinde HACCP sistemine uygun endüstriyel ortamlarda üretimin yapılması gerekliliği sonucuna varıldı.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma X. Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi'nde (2024) özet bildiri (sözlü) olarak sunulmuştur.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.



## KAYNAKLAR

1. Tekinşen OC, Tekinşen K. (2005). Süt ve Süt Ürünleri: Temel Bilgiler, Teknoloji, Kalite Kontrolü. 1.baskı, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
2. Anonim. Ulusal Süt Konseyi TÜİK 2023 Yılı Üretim Miktarları. Erişim: <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/uretimler/>. Erişim tarihi: 13.02.2024.
3. Kamber U. (2006). Peynirin Tarihçesi. Vet Hekim Der Derg. 77(2): 40-44.
4. Bilir Ormancı FS. (2020). Süt Hijyeni ve Teknolojisi. 1. baskı, Ankara Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
5. Alan S, Öksüztepe G. (2023). Şavak Salamura Beyaz Peynirlerde Potasyum Sorbat, Nisin ve Lizozimin Kullanımı. (İçinde): Sağlık Bilimleri Alanında Akademik Çalışmalar. Şahna E, Akgül H, Selamoğlu Z. (editörler). Cilt 1. Baskı 1. S. 239-260. Gece Kitaplığı, Ankara, Türkiye.
6. Kurt A, Gündüz HH, Demirci M. (1979). Tomas Peyniri Üzerinde Araştırmalar. Atatürk Üniv Zir Fak Derg. 10: 37-49.
7. Güzeler N, Koboyeva F. (2020). Doğu Anadolu Bölgesi'nde Üretilen Peynir Çeşitleri. Osmaniye Korkut Ata Üniv Fen Bil Enst Derg. 3(2): 172-184.
8. Çoşkun F, Korucu D. (2016). Some Properties of Tomas Cheese and Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tomas Cheese. IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT). 10(9): 152-156.
9. Gündüz HH. (1982). I.Tomas Peyniri Doğal Mikroflorası. Gıda. 7(5): 227-230.
10. Hastaoğlu E, Erdoğan M, Işkın M. (2021). Gastronomi Turizmi Kapsamında Türkiye Peynir Çeşitliliği Haritası. Atatürk Üniv Sosyal Bil Ens Derg. 25(3): 1084-1113.
11. Kurtulgan AB, Dikici A. (2016). Physico-Chemical and Microbiological Properties of a Traditional Turkey Cheese Tomas/Serto (Dorak). J Agricultural Sci Technol. 6(2): 129-134.
12. American Public Health Association.(1995). Standarts Methods for The Examination of Dairy Products. 15th edition, American Public Health Association, New York.
13. Harrigan WF. (1998). Laboratory Methods in Food Microbiology. 3rd ed. Academic Press, London.
14. Maturin LJ, Peeler JT. Aerobic plate count. In: Bacteriological analytical manual, Chapter 3. Erişim: <https://cir.nii.ac.jp/all?q=http://www.cfsan.fda.gov/%E3%80%9Cebam/bam-toc.html> Erişim tarihi: 24.06.2024.
15. ISO 21528-2:2017. Microbiology of the food chain- Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae*. Erişim: <https://www.iso.org/standard/63504.html>. Erişim tarihi: 24.06.2024
16. Halkman AK. (2005). Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık, Ankara.
17. ICMSF. (1982). International Commission On Microbiological Specifications for Foods. Microorganism in Foods. 1. Their Significance and Methods of Enumeration. Univto Press, London.
18. Terzaghi BE, Sandine WE. (1975). Improve Medium for Lactic Streptococci and Their Bacteriophages. Appl Micro. 29: 807-813.
19. ISO 16649-2:2001. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs — Horizontal Method for The Enumeration of Beta-Glucuronidase-Positive *Escherichia Coli* - Part 2: Colony-Count Technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide. Erişim: <https://www.iso.org/standard/29824.html> Erişim tarihi: 24.06.2024.
20. ISO 6888-1:2021. Coagulase-positive staphylococci. Erişim: <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso:6888:-1:ed-2:v1:en> Erişim tarihi: 24.06.2024.
21. Lancette GA, Bennett RW. (2001). *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In: Microbiological Examination of Foods. Downes FP, Ito K (eds). 4th ed. pp. 387-404. American Public Health Association, Washington DC, USA.
22. Case RA, Bradley RL, Williams RR. (1985). Chemical and Physical Methods. In: Standart Methods for the Examination of Dairy Products. Richardson GH (ed). 15th ed. American Public Health Association, Washington DC, USA.
23. Tulum Peyniri Standardı. Türk Standardları Enstitüsü. TS 3001. Tulum Peyniri. Erişim: <https://intweb.tse.org.tr/Standard/Standard/Standard.aspx?0811180511151080511041191-10104055047105102120088111043113104073088053067048098075114090066098110>. Erişim tarihi: 24.06.2024.
24. AOAC. (1984). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 14th edition, Washington DC, USA.
25. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. (2000). Biyoistatistik. 9. Baskı, Hattipoğlu Yayınları, Ankara.
26. Gündüz HH. (1982). Tomas Peyniri: I. Tomas Peyniri Doğal Mikroflorası. Gıda. 7(5): 227-230.
27. Korucu D. (2012). Tomas Peynirinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
28. Ustaoglu E. (2018). Modern Teknikle Üretimi Gerçekleştirilen Bayburt Karın Kaymağı'nın Bazı Biyokimyasal, Mikrobiyolojik ve Organoleptik Özelliklerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bayburt.
29. Yangılar F, Dağdemir E. (2011). Geleneksel Bir Lezzet: Karın Kaymağı Peyniri. Gıda Mühendisliği Dergisi. 33: 33-36.
30. Banwart GJ. (1989). Basic Food Microbiology. 1. Food Microbiology. 2nd edition, Avi Book Published by Van Nostrand Reinhold, New York.
31. Jay MJ. (2000). Modern Food Microbiology. 6th edition, Apsen Publication, Inc, Maryland.
32. Kurt A, Çağlar A, Çakmakçı S. (1991). Erzincan (Şavak) Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma. Doğa Tr J of Vet and Anim Sci. 16: 41-50.
33. Morul F, İşleyici Ö. (2012). Divle Tulum Peynirinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg. 23(2): 71-76.
34. Patir B, Ateş G, Dinçoğlu AH, Kök F. (2000). Elâzığ'da Tüketime Sunulan Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik Kalitesi ile Laktik Asit Bakterileri Üzerine Araştırmalar. FU Sağ Bil Derg. 14(1): 75-83.
35. Patir B, Ateş G, Dinçoğlu AH. (2001). Geleneksel Yöntemle Üretilen Tulum Peynirinin Olgunlaşması Sırasında Meydana Gelen Mikrobiyolojik ve Kimyasal Değişimler Üzerine Araştırmalar. FU Sağ Bil Derg. 15(1): 1-8.
36. Demir P, Erkan S, Öksüztepe G. (2018). Elâzığ'da Satılan Şavak Tulum Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi. Harran Üniv Vet Fak Derg. 7(1): 15-20.
37. Kiraz Ş. (2018). Çorum Yöresinde Üretilen Geleneksel Kargı Tulum Peynirlerinin Bazı Bileşim Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum.
38. Haki S. (2012). Erzincan Tulum Peynirinde *Staphylococcus aureus* Sayısının Olgunlaşma Süresince Değişimi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
39. Tekinşen KK, Akar D. (2017). Erzincan Tulum Peyniri. Ata Üniv Vet Bil Derg. 12(2): 218-226.

40. Arslaner A, Akgül Hİ, İspirli H. (2015). Bayburt Yöresinde Üretilen Karın Kaymağı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Nitelikleri, İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi, Nevşehir.
41. Murray RP, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. (1995). Manual of Clinical Microbiology. In: *Escherichia, Salmonella, Shigella and Yersinia*. Gray LD. (ed). pp. 450-452. ASM Press, Washington DC, USA.
42. Kara R, Akkaya L. (2015). Afyon Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik ve Fiziko-Kimyasal Özellikleri ile Laktik Asit Bakteri Dağılımlarının Belirlenmesi. AKU FEMÜBİD. 15: 1-6.
43. Bostan K, Uğur M, Aksu H. (2002). Deri ve Plastik Bidonlar İçinde Satışa Sunulan Tulum Peynirlerinin Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Pendik Hayv. Hast. Merk. Araşt. Enst. Derg. 23(1): 75-83.
44. Dığrak M, Yılmaz Ö, Özçelik S. (1994). Elâziğ Kapalı Çarşısında Satışa Sunulan Tulum (Şavak) Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri. Gıda. 19(6): 381-387.
45. Hayaloglu AA. (2015). Cheese: Microbiology of Cheese. Reference Module in Food Sciences. Elsevier. 1-11.
46. Alan S. (2023). Salamura Solüsyonuna İlave Edilen Potasyum Sorbat, Nisin Ve Lizozimin Şavak Salamura Peynirinin Kalitesi Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elâziğ.

47. Erkan S, Demir P, Öksüztepe G. (2018). Elâziğ'da Satışa Sunulan Şavak Tulum Peynirlerinin Aflatoksin M1 (AFM1) ve Bazı Kimyasal Parametreler Bakımından İncelenmesi. Fırat Üniv Sağ Bil Vet Derg. 32(1): 45-51.
48. Mutlu M. (2023). Tomas Peynirinin Olgunlaşma Sürecinde *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp.'nin Canlılıklarının Araştırılması. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elâziğ.
49. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği. Erişim: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/02/20150208-16.htm> Erişim tarihi: 24.06.2024.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Selçuk ALAN  
Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Üretimi Anabilim Dalı Kars/Türkiye  
E-posta: selcukalannn@gmail.com



## The Effect of Keeping Time in Bain-Marie and Cooling Speeds on The Microbiological Quality of Meatballs Inoculated with *Escherichia coli*

Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU<sup>1,a,✉</sup>, Zühal ÇALIŞKAN<sup>2,b</sup>, Erkan ERLER<sup>2,c</sup>, Ece TARIM<sup>2,d</sup>, Yaren KILINÇ<sup>2,e</sup>, Beyza KURTCU<sup>2,f</sup>

<sup>1</sup>Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Department of Food Hygiene and Technology, Institute of Health Sciences, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, TÜRKİYE

ORCID: <sup>a</sup>0000-0002-9669-5964, <sup>b</sup>0000-0001-8590-0355, <sup>c</sup>0009-0005-3291-3749, <sup>d</sup>0009-0003-0088-3659, <sup>e</sup>0009-0002-6002-470, <sup>f</sup>0009-0000-5004-0973

Geliş Tarihi/Received  
29.05.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
31.10.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Abstract

This study aims to investigate the effect of keeping time in bain-marie and different cooling speeds on the microbiological quality of meatballs served in catering systems after contamination with *Escherichia coli*. For this purpose, the meatball mixture prepared was divided into two equal portions, Group A and B, and then subjected to frying, with Group B being inoculated with *E. coli*. After inoculation, the prepared meatballs were held at 70°C for 2 hours and cooled at different rates. The total mesophilic aerobic bacteria (TMAB) and yeast-mold counts in the meatball mixture, initially measured at levels of 5.59 log<sub>10</sub> cfu/g and 7.91 log<sub>10</sub> cfu/g respectively, decreased to levels of 2.92 log<sub>10</sub> cfu/g and 3.58 log<sub>10</sub> cfu/g after frying. After 2 hours in the bain-marie, the TMAB and yeast-mold levels in Group A meatballs were observed to be 2.42 log<sub>10</sub> cfu/g and 2.30 log<sub>10</sub> cfu/g, respectively. After inoculation, the TMAB, TAPB, *E. coli*, and yeast-mold levels in Group B meatball samples decreased continuously as a function of heating and cooling time. While the initial *E. coli* level was 8.13 log<sub>10</sub> cfu/g, it decreased to 5.49 log<sub>10</sub> cfu/g after 2 hours of heating and further decreased to 3.73 log<sub>10</sub> cfu/g when the sample temperature reached 4°C. It was found that the microbial quality of Group B meatball samples cooled at +4°C was better than those cooled at room temperature. Meatball groups containing *E. coli* were found to have a higher pH value compared to those without *E. coli* and the pH increased further when both groups were left to cool at room temperature. The results suggest that applying rapid chilling after serving meatballs in catering systems positively affects the microbial quality of the product.

**Key Words:** Catering systems, cooling speed, *E. coli*, meatballs, microbiological quality

### *Escherichia coli* ile İnoküle Edilmiş Köftelerin Mikrobiyal Kalitesi Üzerine Benmaride Bekletme Süresi ve Soğutma Hızının Etkisi

#### Öz

Bu çalışma, toplu beslenme sistemlerinde servis edilen et köftelerinin *E. coli* ile kontaminasyonu sonrası ürünün mikrobiyolojik kalitesine benmaride bekleme süresi ve soğutma hızının etkisini araştırmayı amaçlamaktadır. Bu amaç için hazırlanan köfte hamuru A ve B grubu olarak iki eşit porsiyona ayrılarak kızartma işlemi uygulandı ve B grubuna *E. coli* inokulasyonu gerçekleştirildi. Hazırlanan köfteler benmaride 70°C'de 2 saat bekletildikten sonra farklı hızlarda soğutmaya tabii tutuldu. Köfte hamurunda sırasıyla 5.59 log<sub>10</sub> kob/g ve 7.91 log<sub>10</sub> kob/g seviyelerinde tespit edilen toplam mezofilik aerob bakteri (TAMB) ve maya-küf sayısı kızartma işlemi sonrasında 2.92 log<sub>10</sub> kob/g ve 3.58 log<sub>10</sub> kob/g seviyelerine indiler. Toplam aerob psikrofilik bakteri (TAPB) ve koliform sayısı köfte hamurunda sırasıyla 7.80 log<sub>10</sub> kob/g ve 4.45 log<sub>10</sub> kob/g iken kızartma işlemi sonrası bu mikroorganizmalar tespit edilemedi. Benmaride 2 saat bekleme sonrasında TAMB ve maya-küf düzeylerinin A grubu köftelerde sırasıyla 2.42 log<sub>10</sub> kob/g ve 2.30 log<sub>10</sub> kob/g olduğu gözlemlendi. İnokulasyon sonrası, B grubu köfte örneklerinin TMAB, TPAB, koliform ve maya-küf sayıları bekleme ve soğutma sürelerine bağlı olarak sürekli azalmıştır. *E. coli* miktarı başlangıçta 8.13 log<sub>10</sub> kob/g iken, 2 saat benmaride bekletilmesinin ardından 5.49 log<sub>10</sub> kob/g, örnek sıcaklığı 4°C'ye ulaştığında ise 3.73 log<sub>10</sub> kob/g düzeyine inmiştir. Soğutması +4°C'de gerçekleştirilen B grubu köfte örneklerinin mikrobiyal kalitesinin, oda sıcaklığında soğutmaya bırakılanlara göre daha iyi olduğu saptandı. *E. coli* içeren köfte gruplarının içermeyenlere göre daha yüksek pH değerine sahip olduğu, her iki grubun oda sıcaklığında soğumaya bırakılması ile pH'ın daha da yükseldiği tespit edildi. Sonuçlar, toplu beslenme sistemlerinde sunulan köftelere servis sonrasında hızlı soğutma işlemi uygulanmasının ürünün mikrobiyal kalitesini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Catering sistemi, *E. coli*, köfte, mikrobiyal kalite, soğutma hızı

## INTRODUCTION

To maintain a high quality of life and good health, people need an adequate amount of safe and nutritious food. Especially in today's world, catering systems are widely used in public/private industrial facilities, restaurants, schools, hotels, hospitals, and prisons (1). The number of people benefiting from catering systems is increasing every day, and almost every individual receives food services from these establishments at least once a day (2).

Insufficient attention to hygiene and sanitation regulations is a major problem in catering systems today. This not only affects the sensory qualities of food but also seriously threatens the health of consumers. Foodborne diseases cause deaths and significant economic losses (3,4). According to the World Health Organization (WHO), 1.6 million people worldwide fall ill every day due to unsafe food (5). Meat and meat products in particular are considered a risk to public health because of their high moisture content, nitrogenous components, and rich mineral content, which facilitate the vital activities of many microorganisms (6). In addition to the microbial spoilage associated with the growth of bacteria, yeasts, and molds in food, pH, an important parameter in this process, is also affected. Particularly in protein-rich meats and products, these microorganisms can cause an increase in meat pH by releasing alkaline nitrogen compounds such as ammonia and amines (7,8). To ensure food safety and quality, pH must be controlled. *Escherichia coli*, one of the bacteria that pose a threat to human health and cause foodborne illness, is known as an indicator of fecal contamination and belongs to the family Enterobacteriaceae (9). Contamination with this microorganism, found in the human and animal gastrointestinal systems in food establishments, seriously affects public health when contaminated equipment and water are used. Therefore, ensuring the traceability of meat and products, strict adherence to hygiene and sanitation rules, regular training of personnel, and delivery to consumers under a cold chain are crucial (9-11).

In addition to the hygiene regulations that apply to all stages from production to consumption in establishments that implement mass catering systems, attention must be paid to temperature control. Therefore, it has been stated in various sources that heat treatment applications should be below 5-10°C or above 65-70°C, and food should not be kept in this temperature range, also known as the danger zone, for more than 4 hours (12,13). When serving ready-to-eat meals in hot pot catering systems, the "double boiler" method is used to maintain the internal temperature of the food below 65°C for a maximum of 2 hours (14,15). Foods that are not to be consumed immediately should be subjected to rapid chilling (12).

The objective of this study is to monitor the microbial quality and pH changes of meatballs served in hot-pot catering systems during and after keeping time in bain-marie, depending on different cooling rates. Additionally, the study aims to investigate whether cooked meatballs reach the minimum infectious dose or not in the event of potential contamination with *E. coli* during this process.

## MATERIAL AND METHODS

### Procurement of Minced Meat and Spices

Minced meat containing 90% beef and 10% fat, to be used in the experimental production of meatballs, was obtained from butchers in Burdur province. The minced meat was transported to the laboratories of the Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Burdur Mehmet Akif Ersoy University under cold chain conditions and stored at +4°C until the time of production. The spice mixture used in the production of meatballs was commercially purchased (Selay Meatball Seasoning, Istanbul).

### Preparation of Meatball Mixture

The experimental production of meatballs was carried out in the laboratories of the Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Burdur Mehmet Akif Ersoy University according to the method recommended by TS 10581. Meatballs were made by adding 8% meatball seasoning to ground beef, which contained 90% beef and 10% fat. After thorough mixing, the meatball mixture was portioned into balls with a diameter of 5 cm and a weight of 40-50 g each. These portions were then placed in sterile foam plates, covered with cling film, and stored in the refrigerator.

### Determination of the Microbiological Quality of the Meatball Mixture

To determine the initial microbial load of the meatballs used in the study, a 10 g sample of the meatball mixture was weighed and placed in a sterile stomacher bag under aseptic conditions. Then 90 ml of peptone water was added and the mixture was homogenized using a stomacher. Serial dilutions of 1/10 were prepared and plated in duplicate on the appropriate media under the conditions described below. At the end of the incubation period, Petri dishes containing 30-300 colonies were evaluated and the results were expressed as log<sub>10</sub> cfu/g.

**Coliforms:** Petri dishes inoculated with Violet Red Bile Dextrose Agar (Merck 110275) using the pour plate method were incubated at 37°C for 24 h (ISO, 2006).

***E. coli*:** Detection was performed using Tryptone Bile X-Glucuronide Agar (Merck 116122). Petri dishes inoculated with the pour plate technique were incubated at 30°C for 4 h, followed by 44°C for 18 h (16).

**Total mesophilic aerobic bacteria (TAMB):** Plate Count Agar (Oxoid CM0325B) was used for plating using the pour plate method. Inoculated petri dishes were incubated at 37°C for 48 h (17).

**Yeast and mold:** Potato Dextrose Agar (Merck 110130) was used for plating using the spread plate method. Inoculated petri dishes were incubated at 25°C for 5 days (18).

### Preparation of *E. coli* Bacterial Culture and Meatball Groups

The *E. coli* strain ATCC 29998 obtained from the bacterial culture collection of the Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, was revived by inoculation on tryptic soy broth (TSB)

medium and incubated at 37°C for 24-48 hours. To contaminate the meatball samples, a dipping solution was prepared in physiological saline with a bacterial concentration of 10<sup>8</sup> CFU/mL.

The portioned meatballs were divided into two groups (groups A and B) after the cooking process. Group A was not inoculated with *E. coli*, whereas group B was inoculated with *E. coli* via the dipping solution. Group B meatballs were immersed in the bacterial suspension for 1 minute, ensuring thorough exposure of the entire surface through gentle rotation during the process.

### Analyses Performed on Meatball Groups During the Hot-Hold and Cooling Processes

A sterile stainless-steel food holding container containing the meatball samples was placed in a double boiler heated to 70°C, and samples were taken at 0, 1, and 2 hours. After keeping time in a bain-marie for 2 h in the double boiler, the meatball groups were divided into two and kept at room temperature and refrigerator conditions. Sampling was performed when the internal temperature of the samples reached 25°C. Subsequently, all meatball samples were kept in the refrigerator until their internal temperature reached +4°C, and sampling was performed (Figure 1).

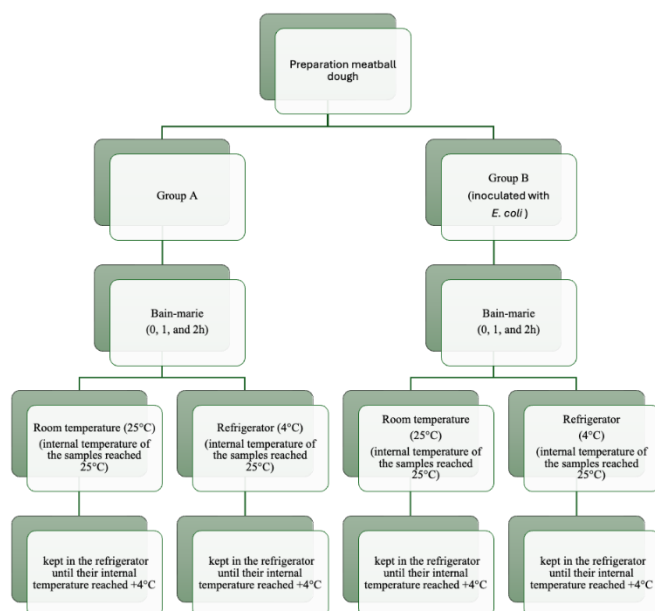


Figure 1. Preparation of groups and procedures applied

All samples were subjected to the following analyses.

**Total mesophilic aerobic bacteria (TAMB):** Plate count agar (Oxoid CM0325B) was used for plating using the pour

plate method. Inoculated petri dishes were incubated at 37°C for 48 h (17).

**Yeast and mold:** Potato dextrose agar (Merck 110130) was used for plating using the spread plate method. Inoculated petri dishes were incubated at 25°C for 5 days (18).

**Coliforms:** Petri dishes inoculated with Violet Red Bile Dextrose Agar (Merck 110275) using the double layer pour plate method were incubated at 37°C for 24 h (16).

**E. coli:** Detection was performed using Tryptone Bile X-Glucuronide Agar (Merck 116122). Petri dishes inoculated with the pour plate technique were incubated at 30°C for 4 hours, followed by 44°C for 18 h (19).

**pH:** The pH value of the meatball samples was determined using a digital pH meter (704 pH Meter, Metrohm) (20).

### Statistical Analysis

The study was performed in triplicate. The results were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) with Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (Version 25.0; SPSS, Chicago, IL, USA). To identify statistically significant differences, the Tukey test was used, and differences with  $p < 0.05$  were considered statistically significant. The relationship between pH and *E. coli* growth was evaluated using the Spearman correlation technique. Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD).

## RESULTS

### Microbiological Analysis Results

The levels of TAMB, TAPB, coliforms, and yeast-mold in the prepared meatball mixture were determined to be 4.59, 7.80, 4.45, and 7.91 log<sub>10</sub> cfu/g, respectively. No TAPB and coliform bacteria were detected in Group A samples hot-held at different times after frying (Table 1). The TAMB count, which was 4.59 log<sub>10</sub> cfu/g in the meatball mixture, decreased to 2.92 log<sub>10</sub> cfu/g after the cooking process and further to 2.42 log<sub>10</sub> cfu/g after the beginning of hot-hold time, 2.88 log<sub>10</sub> cfu/g after the first hour, and 2.42 log<sub>10</sub> cfu/g after the second hour ( $p < 0.05$ ). The yeast-mold count, which was 7.91 log<sub>10</sub> cfu/g in the meatball mixture, decreased to 3.58 log<sub>10</sub> cfu/g after cooking ( $p < 0.05$ ). It was found that Group A meatball samples hot-held for 1 and 2 hours contained yeast-mold at levels of 2.61 and 2.30 log<sub>10</sub> cfu/g, respectively, and the difference between the groups was statistically insignificant ( $p > 0.05$ ). No *E. coli* was detected in Group A meatball samples.

Table 1. Data obtained from the microbiological analysis of Group A meatball samples (log<sub>10</sub> cfu/g) (Mean  $\pm$  SD)

	TAMB	TAPB	Coliform	<i>E. coli</i>	Yeast-molds
Meatball dough	4.59 $\pm$ 1.18 <sup>A</sup>	7.80 $\pm$ 0.01	4.45 $\pm$ 0.01	-	7.91 $\pm$ 0.06 <sup>A</sup>
A0	2.92 $\pm$ 0.04 <sup>B</sup>	-	-	-	3.58 $\pm$ 0.12 <sup>B</sup>
A1	2.88 $\pm$ 0.03 <sup>B</sup>	-	-	-	2.61 $\pm$ 0.13 <sup>C</sup>
A2	2.42 $\pm$ 0.07 <sup>C</sup>	-	-	-	2.30 $\pm$ 0.27 <sup>C</sup>

A0: Group A Hot-hold 0 hours.; A1: Group A Hot-hold 1 hours.; A2: Group A Hot-hold 2 hours.

Groups labelled A, B and C are indicated by different letters within the same column to indicate significant differences. ( $p < 0.05$ ).

After the frying process, it was determined that the yeast-mold count of Group B meatball samples inoculated with *E. coli* was 8.21 log<sub>10</sub> cfu/g at the initial placement in the double boiler ( $p < 0.05$ ). This count decreased to 8.09 log<sub>10</sub> cfu/g after the first hour and further to 5.43 log<sub>10</sub> cfu/g after the second hour ( $p < 0.05$ ). No psychrophilic microorganisms were detected in this group of meatballs after frying. As seen in Table 2, analyses conducted based on the meatball mixture and post-frying hot-hold times revealed a similar trend

in coliforms and TAMB counts, with statistically significant differences observed in all values ( $p < 0.05$ ). It was observed that the level of *E. coli*, which was 8.13 log<sub>10</sub> cfu/g at the beginning of the hot-hold in the double boiler, decreased to 5.49 log<sub>10</sub> cfu/g after the second hour ( $p < 0.05$ ).

After 2 hours of hot-hold in the double boiler, all meatball groups were cooled to ambient (25°C) and refrigerator temperatures (4°C), and the microbiological data obtained are presented in Table 3 and Table 4.

**Table 2.** Data obtained from the microbiological analysis of Group B meatball samples (log<sub>10</sub> cfu/g) (Mean ± SD)

	TAMB	TAPB	Coliform	<i>E. coli</i>	Yeast-molds
Meatball dough	4.59±1.18 <sup>D</sup>	7.80±0.01	4.45±0.01 <sup>D</sup>	-	7.91±0.06 <sup>B</sup>
B0	8.93±0.05 <sup>A</sup>	-	8.97±0.02 <sup>A</sup>	8.13±0.03 <sup>A</sup>	8.21±0.02 <sup>A</sup>
B1	8.32±0.05 <sup>B</sup>	-	8.88±0.03 <sup>B</sup>	8.00±0.03 <sup>B</sup>	8.09±0.08 <sup>A</sup>
B2	5.76±0.04 <sup>C</sup>	-	6.28±0.02 <sup>C</sup>	5.49±0.06 <sup>C</sup>	5.43±0.02 <sup>C</sup>

B0: Group B Hot-hold 0 hours.; B1: Group B Hot-hold 1 hours.; B2: Group B Hot-hold 2 hours.

Groups labelled A, B and C are indicated by different letters within the same column to indicate significant differences. ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Microorganism levels of Group A meatball samples during cooling (log<sub>10</sub> cfu/g) (Mean ± SD)

		Slow-cooling	Rapid-cooling	Sig. (2-tailed)
TAMB	A2 (70°C)	2.42±0.07 <sup>B</sup>	2.42±0.07 <sup>A</sup>	
	25°C	2.44±0.02 <sup>B</sup>	2.23±0.04 <sup>B</sup>	0.01
	4°C	2.97±0.04 <sup>A</sup>	2.38±0.04 <sup>AB</sup>	0.01
TAPB	A2 (70°C)	-	-	
	25°C	-	-	
	4°C	-	-	
Coliform	A2 (70°C)	-	-	
	25°C	-	-	
	4°C	-	-	
<i>E. coli</i>	A2 (70°C)	-	-	
	25°C	-	-	
	4°C	-	-	
Yeast-molds	A2 (70°C)	2.30±0.27 <sup>AB</sup>	2.30±0.27 <sup>A</sup>	
	25°C	1.19±1.04 <sup>B</sup>	2.08±0.08 <sup>A</sup>	0.25
	4°C	2.81±0.04 <sup>A</sup>	2.37±0.07 <sup>A</sup>	0.01

A2: Group A Hot-hold 2 hours.

Groups labelled A, B and C are indicated by different letters within the same column to indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

**Table 4.** Microorganism quantity of Group B meatball samples during cooling (log<sub>10</sub> cfu/g) (Mean ± SD)

		Slow-cooling	Rapid-cooling	Sig. (2-tailed)
TAMB	B2 (70°C)	5.76±0.04 <sup>A</sup>	5.76±0.04 <sup>A</sup>	
	25°C	4.66±0.04 <sup>B</sup>	4.46±0.08 <sup>B</sup>	0.04
	4°C	3.24±0.04 <sup>C</sup>	3.01±0.02 <sup>C</sup>	0.01
TAPB	B2 (70°C)	-	-	
	25°C	-	-	
	4°C	-	-	
Coliform	B2 (70°C)	6.28±0.02 <sup>A</sup>	6.28±0.02 <sup>A</sup>	
	25°C	6.00±0.62 <sup>B</sup>	4.99±0.01 <sup>B</sup>	0.10
	4°C	4.79±0.08 <sup>C</sup>	4.21±0.10 <sup>C</sup>	0.01
<i>E. coli</i>	B2 (70°C)	5.49±0.06 <sup>A</sup>	5.49±0.06 <sup>A</sup>	
	25°C	4.51±0.05 <sup>B</sup>	4.15±0.01 <sup>B</sup>	0.01
	4°C	3.96±0.01 <sup>C</sup>	3.73±0.03 <sup>C</sup>	0.01
Yeast-molds	B2 (70°C)	5.43±0.02 <sup>A</sup>	5.43±0.02 <sup>A</sup>	
	25°C	4.73±0.05 <sup>B</sup>	4.70±0.02 <sup>B</sup>	0.20
	4°C	4.08±0.08 <sup>C</sup>	3.81±0.02 <sup>C</sup>	0.03

B2: Group B Hot-hold 2 hours.

Groups labelled A, B and C are indicated by different letters within the same column to indicate significant differences ( $p < 0.05$ ).

No TAPB, coliforms, or *E. coli* were detected in Group A meatballs. While TAMB levels were determined to be between 2.44-2.97 log<sub>10</sub> cfu/g in meatballs first cooled to 25°C and then to 4°C in the ambient environment (p<0.05), these values were found to be 2.23 and 2.38 log<sub>10</sub> cfu/g in those cooled to 25°C and 4°C in the refrigerator, respectively (p>0.05). In the yeast-mold analysis conducted under the same conditions, values of 1.19 and 2.81 log<sub>10</sub> cfu/g were determined in ambient environment samples (p<0.05), while these values were 2.08 and 2.37 log<sub>10</sub> cfu/g in refrigerator samples, respectively (p>0.05).

In the case of Group B meatball samples cooled to 25°C in ambient conditions, the TAMB count was at the level of 4.66 log<sub>10</sub> cfu/g, while it decreased to 3.24 log<sub>10</sub> cfu/g at 4°C (p<0.05). In the same group, for meatball samples cooled in the refrigerator, the TAMB count decreased from 4.46 log<sub>10</sub> cfu/g at 25°C to 3.01 log<sub>10</sub> cfu/g at 4°C (p<0.05). It was observed that the samples from Group B subjected to cooling

processes did not contain TAPB. Both ambient and refrigerator samples of Group B showed the highest counts of coliforms, *E. coli*, and yeast-mold at 25°C, and the lowest counts at 4°C (p<0.05).

### The pH of the samples

The pH values obtained from pH analysis conducted simultaneously with the microbiological analysis of the experimental meatball samples are presented in Table 5. The pH value, initially 6.43 in the meatball mixture, increased to 6.49 in Group A and 6.57 in Group B after the second hour of hot-hold (p<0.05). During cooling under ambient and refrigerator conditions, the pH values also increased in both groups. These changes were found to be statistically significant in the refrigerator samples of Group A and the ambient samples of Group B (p<0.05).

**Table 5.** pH values and *E. coli* quantity of Group A and Group B samples during marination and cooling processes (log<sub>10</sub> cfu/g) (Mean ± SD)

	pH			pH		
Meatball dough	6.43±0.02 <sup>B</sup>			Meatball dough	6.43±0.02 <sup>B</sup>	
A0	6.47±0.03 <sup>AB</sup>			B0	6.48±0.01 <sup>B</sup>	
A1	6.49±0.02 <sup>A</sup>			B1	6.48±0.03 <sup>B</sup>	
A2	6.49±0.02 <sup>A</sup>			B2	6.57±0.03 <sup>A</sup>	
	A			B		
	Slow-cooling	Rapid-cooling	Sig.(2-tailed)	Slow-cooling	Rapid-cooling	Sig.(2-tailed)
70°C	6.49±0.02 <sup>A</sup>	6.49±0.02 <sup>B</sup>		6.57±0.03 <sup>C</sup>	6.57±0.03 <sup>A</sup>	
25°C	6.52±0.01 <sup>A</sup>	6.52±0.01 <sup>A</sup>	1.00	6.63±0.01 <sup>B</sup>	6.56±0.02 <sup>A</sup>	0.01
4°C	6.53±0.03 <sup>A</sup>	6.54±0.01 <sup>A</sup>	0.37	6.68±0.02 <sup>A</sup>	6.60±0.02 <sup>A</sup>	0.01

A0: Group A Hot-hold 0 hours.; A1: Group A Hot-hold 1 hours.; A2: Group A Hot-hold 2 hours; B0: Group B Hot-hold 0 hours.; B1: Group B Hot-hold 1 hours.; B2: Group B Hot-hold 2 hours.

Groups labelled A, B and C are indicated by different letters within the same column to indicate significant differences. (p<0.05).

The meatball samples from Group A, which did not contain *E. coli*, showed a pH of 6.52 in both ambient and refrigerator conditions when cooled to 25°C, and a pH of 6.53 and 6.54, respectively, when cooled to 4°C. It was found that there was no statistically significant difference in the pH values of *E. coli*-inoculated Group B meatball samples when stored in refrigerator conditions (p>0.05); however, when

kept at room temperature, an increase in pH was observed (p<0.05).

As seen in Table 6, the correlation coefficients indicate a strong relationship between the *E. coli* count and pH values in the samples of Group B that were subjected to 1 hour double boiler treatment, cooled to 25°C in ambient conditions, and reached 4°C in the refrigerator. For the other groups, there is a high degree of correlation between the data.

**Table 6.** Correlation between *E. coli* count and pH values in Group B samples. (log<sub>10</sub> cfu/g) (Mean ± SD)

	<i>E. coli</i>	pH	r
B0	8.13±0.03	6.48±0.01	0.982
B1	8.00±0.03	6.48±0.03	-1.000
B2	5.49±0.06	6.57±0.03	0.998
Slow-cooling 25°C	4.51±0.05	6.63±0.01	-1.000
Slow-cooling 4°C	3.96±0.01	6.68±0.02	0.945
Rapid-cooling 25°C	4.15±0.01	6.56±0.02	-0.982
Rapid-cooling 4°C	3.73±0.03	6.60±0.02	1.000

B0: Group B Hot-hold 0 hours.; B1: Group B Hot-hold 1 hours.; B2: Group B Hot-hold 2 hours.

## DISCUSSION AND CONCLUSION

In this study, the microbial and physicochemical properties of meatball samples were investigated using the double boiler technique commonly employed for the preservation

of food until consumption in mass catering systems. Additionally, the study aimed to explore the development of microorganisms in meatball samples subjected to different

cooling rates to determine whether the minimum infectious dose would be reached in case of possible contamination.

Coliform microorganisms, commonly found in nature and indicative of fecal contamination, serve as essential indicators not only for hygiene but also for evaluating food safety and quality. When their numbers reach a certain level, they can cause off-flavors and shorten the shelf life of food products (21). Meat, during grinding, becomes more susceptible to microbial spoilage due to increased surface area exposed to air, creating an aerobic environment (22). According to Turkish food regulations, the total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) content in ground meat and mechanically separated red meat should be between  $5 \times 10^5$ - $10^6$  cfu/g, while *E. coli* should range from  $5 \times 10^1$ - $10^2$  cfu/g. For meat mixtures, the *E. coli* content can be between  $5 \times 10^2$ - $10^3$  cfu/g. Typically, food is considered spoiled when TAMB levels exceed 7 log CFU/g, and unpleasant odors may emerge when levels surpass 8 log<sub>10</sub> cfu/g (23).

In a study investigating the effect of lavender essential oil on the physicochemical properties of meatballs throughout their shelf life, as well as its impact on microbiological quality, it was observed that the levels of TAMB, yeast, mold, and coliform in the prepared control groups were higher than the values found in this study (24). Another study on Tekirdağ meatballs reported TAMB and coliform counts in the meatball dough as 5.85 and 3.04, respectively (25). These variations in the meatball dough are believed to stem from differences in raw materials, equipment, and personnel.

Elverir and Gönülalan (26) evaluated microbial levels by sampling equipment, personnel, and food produced in a facility engaged in mass catering systems production to identify contamination sources. In a study where the TAMB and coliform counts in the prepared meatball dough decreased to  $<1 \times 10^2$  after cooking, it was reported that the food prepared after cooking did not pose a risk to public health if it was not subjected to any contamination.

Smith et al. (27) reported that cooking ground beef to an internal temperature of at least 71°C reduced the average probability of *E. coli* O157:H7 infection in Canada by a factor of  $9.3 \times 10^{10}$ . During heat treatment processes, the danger zone is between 10°C and 65°C, and foods should not be kept at these temperatures for more than 4 hours (13). In catering systems, proper storage of cooked food at the right temperature and for the appropriate duration helps reduce the risk of foodborne infections. However, it does not provide complete protection against intoxications. Therefore, clear standard procedures should be established from raw material procurement to delivery to the consumer, with each step carefully monitored, and staff hygiene should be a priority (28).

In our study, microbial analysis of Group A meatball samples, which were not inoculated with *E. coli* after cooking, did not reveal the presence of TAMB, coliforms, or *E. coli*. Similarly, no total aerobic psychrophilic bacteria (TAPB) were detected in Group B samples. It is presumed that TAPB was inhibited during cooking. After keeping the Group B samples in bain-marie for 2 hours, a decrease of approximately 2.5 logs was observed in both coliform and *E. coli*

counts. In a study conducted on meatball production in İzmir, TAMB levels were reported to be 4.89, 5.37, and 5.73 log<sub>10</sub> cfu/g in minced meat, prepared minced meat, and raw meatball dough, respectively. Before shipment, the TAMB level in cooked İzmir meatballs was 0.86 log<sub>10</sub> cfu/g, and in the hot-hold ones at the consumption point, it was 1.11 log<sub>10</sub> cfu/g. No pathogenic microorganisms were detected in the same study (29). Considering these data, it is believed that if there is no contamination from personnel, keeping the food in a double boiler until it reaches the consumer will not deteriorate its microbial quality.

In catering facilities, not only is it crucial to cook meals at the correct temperature, but the serving and transfer stages are also critical. Dorman et al. (30) stated in their study that the primary cause of food poisoning incidents in these facilities is the reheating of cooked meals. The study emphasized the need to ensure the microbiological safety of cooked foods by serving them at a minimum temperature of 70°C and keeping those to be served cold at 5°C or below, and that foods not to be consumed immediately should undergo rapid pre-cooling (12).

*E. coli* is a microorganism that is resistant to various environmental conditions, including low pH and heat treatment. As a result, it is a significant contaminant in cooked ground beef. Although heat treatment should eliminate heat-labile *E. coli*, highly heat-resistant strains may persist and pose public health risks after storage (31). It is crucial to cool products quickly during food processing to avoid the growth of any remaining bacteria or the rejuvenation of spores, even when they are stored at appropriate temperatures. Despite being stored in a chilled environment, spore-forming bacteria (SFB) can still survive. Certain pathogenic SFBs, including *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, and *Bacillus cereus*, have been linked to food poisoning outbreaks in various foods, posing potential hazards in prepared chilled meals. Therefore, it is crucial to consider this as a critical production step (32). It is known that some food businesses intentionally disregard regulations to increase productivity during mass production. Several research investigations have demonstrated the significant role of chilling processes and their impact on food safety (32-34).

In the current study, it was observed that rapid cooling of Group B samples contaminated with *E. coli* resulted in lower counts of coliform, *E. coli*, and yeast-mold. This suggests that rapid cooling could improve the microbiological quality of the samples. Another study examined the microbial loads and pH values of meat and analogs contaminated with various pathogens stored at different temperatures and durations. The study discovered that storing beef at 4°C resulted in a maximum 2-log change in the initial total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), coliforms, lactic acid bacteria (LAB), and yeast-mold counts. These counts did not show a significant increase until the 6<sup>th</sup> hour, particularly when stored at inappropriate temperatures (22-32°C). However, the 24 hour analysis reported a significant increase in coliforms and TAMB counts (34).

Changes in the pH of meat can be attributed to various factors, including microbial development. Studies suggest that lactic acid bacteria can cause a slight decrease in pH due



to the lactic acid compounds they produce, while the presence of non-lactic acid bacteria can cause a slight increase in pH. Additionally, microorganisms can release alkaline nitrogenous compounds such as ammonia and amines, which are known to increase the pH of meat (7,8). Both meatball samples showed an increase in pH after 2 hours of hot-hold, which is believed to be caused by TAMB and yeast-mold microorganisms. In the meat and analogs study, beef stored at 4°C exhibited a decrease in pH, while at 22°C and 32°C, there was a slight increase in pH at the 6<sup>th</sup> hour and a subsequent decrease at the 24<sup>th</sup> hour. The study found that the pH increased after 2 hours of hot-hold in both meatball samples, likely due to TAMB and yeast-mold microorganisms. Statistical significance was observed in the increase in pH in the groups of meatballs where *E. coli* was inoculated and left to cool at room temperature at different rates. In contrast, numerical increases in pH were observed in other meatball samples.

Controlling every stage, from raw material procurement to serving, is crucial in hot-pot catering systems. Incorrect implementation of these stages can result in both microbial and chemical spoilage of food, which can adversely affect public health. In our study, we simulated possible contamination from personnel or equipment after the cooking process. We found that hot-holding meatball samples inoculated with *E. coli* in a hot-pot resulted in approximately a 2.5-log reduction in both coliform and *E. coli* counts. This indicates the effectiveness of rapid cooling in positively impacting the microbial quality of the product and pH values indicative of microbial spoilage. Careful implementation of these procedures used in catering systems, along with staff training and attention to equipment hygiene, plays a crucial role in ensuring food safety and minimizing risks to public health.

## REFERENCES

- Özkan R. (2021). Toplu Beslenme Sistemlerinde Kullanılan Gıda Kalite Güvence Sistemleri. Türkiye Sağlık Araştırmaları Dergisi. 2(3):45-56.
- Ayhan B, Bilici S. (2015). Toplu Beslenme Sistemlerinde Kullanılan Gıda Dezenfektanları. THDBD. 72(4).
- Ersin M, Beyhan Y. (2001). Toplu Beslenme Sistemlerinde Hijyen Sanitasyonu Sağlama Önerileri. MSG. 2(8):19-26.
- Bilici S. (2012). Toplu Beslenme Sistemleri Çalışanları için Hijyen El Kitabı. Ankara: Reklam Kurdu Ajansı.
- World Health Organization. (2006). Five Keys to Safer Food Manual. WHO Department of Food Safety, Zoonoses and Food-borne Diseases.
- Alperden İ. (1993). Et ve Su Ürünleri Mikrobiyolojisi, Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları. Marmara Araştırma Merkezi, Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü.
- Allen CD, Russell SM, Fletcher DL. (1997). The Relationship of Broiler Breast Meat Color and pH to Shelf-Life and Odor Development. Poultry Sci. 76(7):1042-1046.
- Zhang H, Wu J, Guo X. (2016). Effects of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Spice Extracts on Raw Chicken Meat Quality. Food Sci. Hum. Wellness. 5(1):39-48.
- Sökmen A. (2003). Ağırlama Endüstrisinde Yiyecek ve İçecek Yönetimi. (1. baskı). Ankara: Detay Yayıncılık.
- Daştan PB. (2010). Et ve Et Ürünlerinin Çiftlikten Sofraya İzlenebilirliği ve Takip Edilmesinde Radyo Frekans Tanımlama Teknolojisinin Kullanılması. MS thesis. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Uçar G, Yörük NG Güner A. (2015). Escherichia coli Enfeksiyonları. Türkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics. 1(3): 22-29.
- Ceyhan Sezgin A, Artık N. (2015). Toplu Tüketim Yerlerinde Gıda Güvenliği ve HACCP Uygulamaları. JOTAGS. 3(2):56-62.
- Kılıç O. (2002). Hazır Yemek Sektöründe Gıda Güvenlik Sistemleri Uygulamaları Mevcut Durum Analizi. Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Ayaz N, Acar A. (2018). Turizm İşgörenleri için Gıda Güvenliği El Kitabı. Ankara: Detay Yayıncılık.
- Bıyıklı AE, Bilici S. (2019). Hastane Beslenme Hizmetlerinde Hasta Memnuniyeti. Bes Diy Derg. 47(1):91-99.
- International Organization for Standardization (ISO). (2006). ISO 4832:2006 - Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs -Horizontal Method for the Enumeration of Coliforms - Colony-Count Technique. Geneva: ISO.
- International Organization for Standardization (ISO). (2003). ISO 4833:2003(E) - Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms-Colony-Count Technique at 30°C. Geneva: ISO.
- International Organization for Standardization (ISO). (2008). ISO 21527-1:2008 - Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs -Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds-Part 1: Colony Count Technique in Products with Water Activity Greater than 0.95. Geneva: ISO.
- International Organization for Standardization (ISO). ISO 16649-1:2018 - Microbiology of the Food Chain — Horizontal Method for the Enumeration of Beta-Glucuronidase-Positive Escherichia coli — Part 1: Colony-Count Technique at 44 °C using Membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide. Geneva: ISO.
- International Organization for Standardization (ISO). (1999) ISO 2917:1999 - Meat and Meat Products - Measurement of pH - Reference Method. Geneva: ISO.
- Tominaga T. (2019). Rapid Detection of Coliform Bacteria using a Lateral Flow Test Strip Assay. J. Microbiol. Methods. 160:29-35.
- Elmalı M, Yaman H. (2005). Microbiological Quality of Raw Meat Balls: Produced and Sold in the Eastern of Turkey. Pak J Nutr. 4(4):197-201.
- Sung SY, Sin LT, Tee TT, Bee ST. et al. (2013). Antimicrobial Agents for Food Packaging Applications. Trends Food Sci Technol. 33(2):110-123.
- Dincoglu AH, Caliskan Z. (2022). Investigation of the Effect of Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) Essential Oil on Microbiological, Physicochemical, and Sensorial Properties of Meatballs during Shelf-Life, and its Inhibitory Effect on *Escherichia coli* O157: H7. Int Food Res J. 29(5):991-1004.
- Bingol E, Colak H, Cetin Ö, Kahraman T. et al. (2012). Effects of High-Oxygen Modified Atmosphere Packaging on the Microbiological Quality and Shelf Life of Tekirdag Kofte: a Turkish Type Meatball. J Anim Vet Adv. 11(17):3148-3155.
- Elverir B, Gönülalan Z. (2010). Toplu Yemek Üretimi Yapılan Bir Tesisin HACCP Planının Mikrobiyolojik İndikatörler Yönünden Değerlendirilmesi. Sağlık Bilim Derg. 19(1):42-50.
- Smith BA, Fazil A, Lammerding AM. (2013). A Risk Assessment Model for *Escherichia coli* O157: H7 in Ground Beef and Beef

- Cuts in Canada: Evaluating the Effects of Interventions. Food Control. 29(2):364-381.
28. Ji Y, Ko W. (2022). Developing a Catering Quality Scale for University Canteens in China: From the Perspective of Food Safety. Sustainability. 14(3):1281.
29. Çınar BS. (2023). Bir Catering İşletmesinde Üretilen İzmir Köftelerinin Üretim Aşamalarında Sürecin Mikrobiyolojik Açısından Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
30. Dorman V, Aslan S, Ceylan A, Nacar Küçük S. et al. (2010). Aynı Fabrikadan Yemek Alan İki İnşaat Firması İşçilerinde Meydana Gelen Toplu Besin Zehirlenmesi. Dicle Tıp Derg. 37(3):248-253.
31. Dlusskaya EA, McMullen LM, Gänzle MG. (2011). Characterization of an Extremely Heat-Resistant Escherichia coli Obtained from a Beef Processing Facility. J Appl Microbiol. 110(3):840-849.
32. Juneja VK, Marks HM. (2002). Predictive Model for Growth of Clostridium perfringens during Cooling of Cooked Cured Chicken. Food Microbiol. 19(4):313-327.
33. Fazil AM, Ross T, Paoli G, Vanderlinde P, Desmarchelier P, Lammerding A.M. (2002). A Probabilistic Analysis of Clostridium perfringens Growth during Food Service Operations. Int J Food Microbiol. 73(2-3):315-329.
34. Liu Z, Shaposhnikov M, Zhuang S, Tu T, Wang H, Wang L. (2023). Growth and Survival of Common Spoilage and Pathogenic Bacteria in Ground Beef and Plant-Based Meat Analogues. Food Res Int. 164:112408.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU

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

Burdur / TÜRKİYE

E-posta: adincoglu@mehmetakif.edu.tr



## Şırnak'ta Satışa Sunulan Pırtığa Bige (*Ferulago stellata*) Bitkisinin Mikrobiyolojik Kalite Parametreleri

Mehmet Emin ERKAN<sup>1a</sup>, Uğur UÇAR<sup>1b</sup>, Berna DUMAN AYDIN<sup>1c</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0001-5581-3867; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0002-7394-3355; <sup>c</sup>ORCID: 0000-0001-6116-3274

Geliş Tarihi/Received  
09.07.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
26.11.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

*Ferulago stellata* beşeri hekimlikte bazı hastalıklara karşı kullanılan şifalı bir bitki türüdür. Dünyada bilinen 28000 bitki taksonunun tıbbi değere sahip olduğu rapor edilmiştir. 3000'den fazla türün kanser ve diyabet başta olmak üzere birçok hastalığa karşı etnomedikal kullanım ve uygulamalarının olduğu bildirilmektedir. Türkiye'nin Doğu ve Güney Anadolu Bölgesi'nde doğal olarak yetişen endemik olmayan bir bitkidir. Kuzey İran ve Kuzey Irak'ta da yetişebilen bu bitki Şırnak ilimizde dağ yamaçlarında 1650-2800 m yükseklikteki alanlarda yetişir ve halk arasında "Pırtığa bige", "Bük", "Nerbig" olarak adlandırılır. Halk arasında geleneksel otantik gıda olarak tüketilen *Ferulago stellata*'nın antidiyabetik, antikolinergik, antioksidan, antienflamatuar ve antimikrobiyal etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada, Şırnak il merkezi ve ilçelerinden farklı dönemlerde toplanan 36 Pırtığa bige örneğinin mikrobiyolojik kalite parametreleri incelenmiştir. Örnekler Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB), koliform bakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus-Micrococcus* spp., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Lactobacillus* spp., küf, maya ve sülfid indirgeyen anaerobik bakteriler açısından analiz edilmiştir. *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* Pırtığa bige numunelerinde tespit edilemezken, *Escherichia coli*, koliform bakteri ve sülfid indirgeyen anaerobik bakteriler sırasıyla örneklerin %52.77, %63.88 ve %27.77'sinde tespit edilmiştir. Şırnak'ta satışa sunulan Pırtığa bige örneklerinin mikrobiyolojik kalitesinin çok düşük olduğu ve bu durumun potansiyel bir sağlık riski oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu tür gıdaların fonksiyonel özelliklerinin daha kapsamlı araştırılması gerekmektedir. Pırtığa bige üretiminin daha hijyenik koşullarda yapılması ve organik olan bu ürünlerin tanıtımının yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Ferulago stellata*, gıda hijyeni, Pırtığa bige, prebiyotik

### Microbiological Quality Parameters of Pırtığa Bige (*Ferulago stellata*) Plant for Sale in Şırnak

#### Abstract

*Ferulago stellata* is a medicinal plant species used in folk medicine against some diseases. It has been reported that 28000 plant taxa known in the world have medicinal value. More than 3000 species are reported to have ethno medicinal uses and applications against many diseases, especially cancer and diabetes. It is a non-endemic plant that grows naturally in the East-South Anatolia region of Turkey. This plant, which can also grow in Northern Iran and Northern Iraq, grows on the mountain slopes in our Şırnak province in areas at an altitude of 1650-2800 m. It is popularly called "Pırtığa bige", "Bük", "Nerbig". *Ferulago stellata*, which is consumed as a traditional authentic food among the people, is reported to have antidiabetic, anticholinergic, antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial effects. In this study, the microbiological quality parameters of 36 Pırtığa bige samples collected from Şırnak provincial center and its districts in different periods were investigated. The samples were analyzed for Total Mesophilic Aerobic Bacteria (TMAB), coliform bacteria, *Escherichia coli*, *Staphylococcus-Micrococcus* spp., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Lactobacillus* spp., mould, yeast and sulphite reducing anaerobic bacteria. *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* were not detected in the samples, while *Escherichia coli*, coliform bacteria and sulphite reducing anaerobic bacteria were detected in 52.77%, 63.88% and 27.77% of the samples, respectively. It was found that the microbiological quality of Pırtığa bige samples offered for sale in Şırnak was very low and this posed a potential health risk. The functional properties of such foods need to be investigated more extensively. Production should be carried out under more hygienic conditions and these organic products should be promoted.

**Key Words:** *Ferulago stellata*, food hygiene, Pırtığa bige, prebiotic

### GİRİŞ

Küreselleşme ve teknolojinin hızlı ilerlemesi ile birlikte tüketicilerin çeşitli kültürlerden birçok gıdaya ulaşması kolaylaşmıştır. Turizm yoluyla bölgeler ve ülkeler arası hareketler lokal üretilen bazı ürünlerin tanınmasını ve hareketliliğini arttırmıştır (1). Toplumlar arası farklı mutfak kültürleri turistler için her zaman merak uyandırıcı ve denenmeye değer bulun-

muştur. Özellikle farklı bölgelere seyahat eden turistler tarafından gittikleri bölgelerin kendilerine has yiyecek ve içecekleri turistlerin tatil deneyimlerinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Bazen de tatil yerine karar verme konusunda gidilecek bölgenin mutfağı belirleyici bir faktör olabilmektedir (2). Türkiye'nin farklı bölgelerinde geleneksel olarak üretilen ve tüketilen fonksiyonel özelliklere sahip mahallî olarak bilinen gıdalar bulunmaktadır. Bu gıda maddeleri ilk defa tüketenlerde merak ve benzersiz bir haz uyandırmaktadır (3).

Dünya genelinde bütün bitkilerin sadece %8'inden az bir kısmından yararlanılırken her beş bitkiden biri önemi anlaşılmadan yok olma tehlikesi altında bulunmakta veya yok olmaktadır (4).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 1999 yılında yabancı bitki terimini "doğal veya yarı doğal ekosistemlerde kendi kendini koruyan popülasyonlar halinde kendiliğinden yetişen ve doğrudan insan eyleminden bağımsız olarak var olabilen bitkiler" olarak tanımlamıştır (5). FAO 2016 yılında Avrupa'da ~100 milyon kadar insanın yabancı yenilebilir bitkileri tükettiğini bildirmiştir (6). Bu rakam şu anda bile bu bitkilerin potansiyelini vurgulamaktadır. Peñalosa'daki (Jaén, İspanya) bir alanda bulunan kalıntılarda bu tür bitkilerin gıda olarak ve/veya tatlandırıcı katkı maddesi olarak tüketiminin Bronz Çağı'na kadar uzandığı ve bu alanda *Rumex* sp. ve *Calendula* sp. dahil olmak üzere 50'den fazla tür tespit edilmiştir (7).

Yenilebilir yabancı bitkiler (YYB) hakkındaki geleneksel bilginin korunması, doğal kaynakların sürdürülebilirliği açısından önemli bir zorluktur. Bu nedenle, YYB'lere ilişkin geleneksel bilginin bazı sosyo-demografik ve ekonomik faktörlerle bağlantılı olarak değerlendirilmesi kritik öneme sahiptir. Yabancı yenilebilir bitkilerin geleneksel ekolojik bilgisinin (GEB) kültürel bir miras olarak bilimsel bilgiye entegre edilmesi önemlidir. Yabancı yenilebilir bitkiler hakkındaki geleneksel bilginin azalmasına rağmen özellikle yaşlı popülasyonun olduğu bölgelerde bu bilgiler korunmaktadır. Bu nedenle, bu bilginin etnobotanik ve etnomedisinal çalışmalar yoluyla belgelenmesi önem arz etmektedir (8).

Şırnak bölgesinde de Gezo (*manna*) (9), Siyabo (*Diplo- taenia cachrydifolia*), Revas (*Rheum ribes*), Mendi (*Chaerophyllum macrospermum*), Soryaz (*Allium kharputense*), Kengir (*Gundelia tournefortii*) (4), Sirik (*Allium giganteum*) ve Pırtığa bige (*Ferulago stellata*) (10) gibi fonksiyonel özelliklere sahip birçok otantik gıda yerel olarak üretilmekte ve sevilerek tüketilmesine rağmen fazla bilinmemektedir. Türkiye'de ve dünyada bilinmeyen ancak bölgede asırlardır sevilerek tüketilen bu lezzetlerin gastronomi turizmine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Lokal olarak tüketilen bu gıdaların fonksiyonel özelliklerinin ve sağlık açısından içerdiği risklerin araştırılması, literatüre kazandırılması önem arz etmektedir. Bu otantik ve muhtemel fonksiyonel gıdalarla ilgili coğrafi işaret ve mahreçlerin alınması da talebi arttıracak ve seri üretime geçilmesini sağlayacaktır (11).

Dünyada yaklaşık 800000 bitki türü insanoğlu tarafından gıda, ilaç, boya ve süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (12). Ülkemizde 10000'e yakın bitki türü doğal olarak yetişmesine rağmen bunlardan yeterince yararlanılamamakta (13) veya bilinmemektedir. Bir bölgede yaygın olarak kullanılan bir bitki diğer bölgelerde yetişmemektedir. Farklı iklimler ve rakımlar da bitki çeşitliliğini artırmaktadır. Bu bölgede geleneksel olarak üretilen ve tüketilen fonksiyonel özelliklere sahip birçok gıda bulunmaktadır. Dünyada bilinen 28000 bitki taksonunun tıbbi değere sahip olduğu rapor edilmiştir. 3000'den fazla türün kanser ve diyabet başta olmak üzere birçok hastalığa karşı etnomedikal kullanım ve uygulamalarının olduğu bildirilmektedir. Türkiye'de bu bitkilerin %11'inden farklı hastalıkların tedavisinde tıbbi amaçla faydalandığı

bildirilmektedir. Bu bitkilerin gıda olarak kullanımı, potansiyel ilaç özellikleri ve gıda koruyucu özellikleri ile ilgili çalışmalar son zamanlarda artmaktadır (14,15).

*Apiaceae* familyasının *Peucedaneae* filumuna ait olan *Ferulago* W. D. J. Koch cinsi, genellikle yüksek rakımlı, çukur yamaçlarda ve taşlık yerlerde yaşayan, çoğunlukla çok yıllık, otsu bitkilerle temsil edilen orta büyüklükte bir cinistir. *Ferula*, *Prangos* ve *Peucedanum* cinsleri ile yakın akraba olan cins, W. D. J. Koch tarafından umbella ve meyve karakteristiğinin çok çiçekli olması temelinde tanımlanmıştır (16).

Türkiye'de "Çakşır, Çağşır, Günlükotu, Kilkuyruk, Kuzukemirdi asaotu, Şeytanteresi" isimleriyle bilinen *Ferulago* türleri, 2400 yılı aşkın bir süredir şifalı bitki olarak halk hekimliğinde de kullanılmaktadır (1). Şırnak bölgesinde Pırtığa bige, bük, nerbig olarak bilinen *Ferulago stellata* yörgürtlü meze ya da otlu peynirlerde kullanılmaktadır (10). *Ferulago* W. D. J. Koch cinsinin Avrupa, Afrika ve Asya'da dağılan 49 üyesi vardır. *Ferulago* üyeleri çok yıllık aromatik türlerdir; bu nedenle bazıları baharat veya şifalı bitki olarak kullanılır (17). Türkiye, Yunanistan, Bulgaristan, İran, Irak, Lübnan ve Suriye'de endemik olarak bulunmaktadır. Türkiye'de on sekizi endemik olan otuz dört tür bulunmaktadır (18,19). Halk hekimliğinde *Ferulago* türleri sindirim sistemi hastalıkları, dolaşım sistemi hastalıklarında, göz hastalıklarında, jinekolojik hastalıklarda, eklemlerle ilgili hastalıklarda, cilt hastalıkları, onkolojik hastalıklarda, yaraların tedavisinde, yılan sokmalarında, bağırsak solucanı tedavisinde; antiseptik, antioksidan, antimikrobiyal, antianaljezik, afrodisyak, antikonvülsan, antidelirium, sakinleştirici, gaz giderici olarak kullanılmaktadır (13,15,16,18,19). Gıda maddesi olarak veya tatlandırıcı baharat olarak aromalı yoğurtlarla veya peynirlerde kullanılmakta olup süt ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için yağının kullanıldığı bildirilmektedir (20). Ayrıca salatalarda baharat olarak, otlu peynir üretiminde ve yoğurtla karıştırılarak meze olarak tüketildiği bildirilmektedir (21). Döl verimi ve süt verimini artırmak için hayvanlarda yem katkısı olarak kullanılan *Ferulago* türleri (22) yeni doğum yapmış kadınlarda galaktagog etki göstererek süt salgısını arttırdığı ve afrodisyak etki için kullanıldığı bildirilmektedir (23). Antioksidan ve bazı metabolik enzimleri inhibe edici özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (15). Halk hekimliğinde bazı hastalıklara karşı kullanılan bir bitki türü olan *Ferulago stellata*'nın biyolojik aktiviteleri, fitokimyasal kompozisyonu, metabolik enzim inhibisyonu, antidiyabetik, antikolinergik ve antioksidan aktivitesi ve kimyasal bileşimine ilişkin veriler kısıtlıdır (10). Bitkiler yetiştirilmesinden tüketilmesine kadar tüm süreçlerin herhangi bir aşamasında halk sağlığı risklerine neden olabilecek patojen bakterilerle kontamine olabilir (24,25).

Bu çalışma ile Şırnak'ta tüketilen Pırtığa bige (*Ferulago stellata*) bitkisinin hijyenik kalitesini araştırmak ve sağlık açısından oluşturabileceği riskleri ve faydaları belirlemek ve lokal olarak bilinen bu gıda maddesinin tanınırlığını arttırmak amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Şırnak il merkezi ve ilçelerinden farklı dönemlerde toplanan 36 farklı Pırtığa bige örneğinin mikrobiyolojik kalite parametreleri incelendi. Steril numune alma torbalarında toplanan örnekler aynı gün soğuk zincir (+4 °C) altında

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarlarına getirilerek Toplam Mezofilik Aeorobik Bakteri, Koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus-Micrococcus* spp., *Lactobacillus* spp., Laktik streptokok, Sülfite indirgeyen Anaerob Bakteri, Maya spp., Küf spp., *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* yönünden analizleri yapıldı.

Pırtığa bige örneklerinin her birinden aseptik koşullarda 1 mL alınarak içerisinde 9 mL %0.1'lik peptonlu su (PW, LABM, UK) bulunan steril tüplere eklendi ve 1/10'luk düzende  $10^7$ 'ye kadar desimal dilüsyonları yapıldı. Toplam Mezofilik Aerob Bakteri sayısının saptanması için Plate Count Agar (PCA, Merck 1.05463) (26), koliform sayısı için Violet Red Bile Lactose (VRBL, Merck 101406) Agar, *Escherichia coli* sayısı için Tryptone Bile X-Glucuronide agar (TBX, LABM, UK) (27), *Lactobacillus* spp. için De Man-Rogosa-Sharpe agar (MRS, Merck 110660), Laktik streptokoklar için M17 agar (M17, Merck 1.15108.0500) ve küf-maya sayısı için Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC, Merck 1.00466) (28) besiyerleri kullanıldı. ISO tarafından önerildiği şekilde TMAB için 30 °C'de 72 saat, koliform bakteriler için 37 °C'de 24 saat, *Escherichia coli* için 44 °C'de 20-24 saat, *Laktobacillus* spp. ve Laktik streptokoklar için 30 °C'de 72 saat, küf-maya sayısı için 25 °C'de 5-7 günlük inkübasyon sıcaklıkları ve süreleri kullanıldı. Sülfite indirgeyen anaerob bakteri sayımında Sülfite Polymyxin Sulfadiazine Agar'a (SPS) roll-tube tekniği ile ekimler yapıldı. Steril tüplere uygun dilüsyondan aseptik koşullarda 1 ml alınarak üzerine iki kat SPS agar eklendi. 37 °C'de 24-48 saatlik inkübasyon sonunda siyah misket şeklindeki koloniler sayıldı (26).

*Staphylococcus-Micrococcus* spp. sayımı için Baird-Parker Agar Base (BP, Merck 1.05406) üzerine Egg Yolk Tellürit (Merck 1.03785) eklenerek besiyeri hazırlandı. Uygun dilüsyonlardan alınan 0,1 ml örnek steril besiyeri yüzeyine steril

cam drigalski spatülü ile yayıldı. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyon sonunda 1-3 mm çapında parlak siyah renkli, etrafında bulanık bir hale bulunan koloniler sayıldı (29).

*Salmonella* spp. varlığının belirlenmesi amacıyla TSE ISO 6579 (TSE ISO 2005) standart analiz yöntemi modifiye edilerek kullanıldı (30).

*Listeria monocytogenes* varlığının belirlenmesi amacıyla TS EN ISO 11290-1 standart analiz yöntemi kullanıldı (31).

*Yersinia enterocolitica* analizi için 25 g(mL) örnek 225 mL peptone sorbitol bile (PSB) broth ile homojenize edildi ve bu homojenizattan 10 mL alınıp 90 mL irgasan ticarcillin potassium chlorate (ITC) brotha aşılandı. ITC broth ile PSB brothun kalan kısmı  $25 \pm 1$  °C'ta 44±4 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her 2 zenginleştirme besiyerinden 0,5 mL alınıp 4,5 mL KOH çözeltisine aktarıldı, 20±5 sn süre ile tüp karıştırıcıda karıştırılıp CIN agara sürme yapıldı. Petri kutuları  $30 \pm 1$  °C'ta 24±2 saat inkübe edildi. Tipik koloniler biyokimyasal testlerle ya da moleküler yöntemlerle tanımlandı (32).

## BULGULAR

Şırnak'ta satışa sunulan Pırtığa bige örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Toplam Mezofilik Aeorobik Bakteri sayısı olarak en düşük 4.20 en yüksek 9.67 ortalama 6.60  $\log_{10}$  kob/g olarak tespit edildi. Koliform bakteri sayısı 3.05, *Escherichia coli* sayısı 1.69, *Staphylococcus-Micrococcus* spp. sayısı 2.19, *Lactobacillus* spp. sayısı 4.76, laktik streptokok spp. sayısı 3.80, küf sayısı 2.91, maya sayısı 2.66 ve sülfite indirgeyen anaerob bakteri sayısı 0.45  $\log_{10}$  CFU/g olarak tespit edildi. Çalışmada analize alınan numunelerin hiçbirinde *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. ve *Yersinia enterocolitica* tespit edilmedi.

**Tablo 1.** Pırtığa bige numunelerinin Mikrobiyolojik Kalite Parametreleri ( $\log_{10}$  CFU/g)±SD

Microorganizmalar (n:36, Log 10 CFU/g)	En az	En Fazla	Ortalama- Standart Hata	Kontaminasyon Oranı %
Toplam Mezofilik Aeorobik Bakteri	4.20	9.67	6.60+1.54	100
Koliform	ND	8.83	3.05+3.01	63.88
<i>Escherichia coli</i>	ND	5.36	1.69+1.91	52.77
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i> spp.	ND	3.18	2.19+0.89	88.88
<i>Listeria monocytogenes</i>	ND	ND	ND	0
<i>Salmonella</i> spp.	ND	ND	ND	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ND	ND	ND	0
<i>Lactobacillus</i> spp.	3.18	7.34	4.76+0.84	100
Laktik streptokok	2	7.30	3.80+1.27	100
Küf spp.	ND	6.41	2.91+1.46	88.88
Maya spp.	ND	5.88	2.66+1.35	86.11
Sülfite indirgeyen Anerob Bakteri	ND	1.70	0.45+0.59	27.77

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Toplam Mezofilik Aeorobik Bakteri sayısı olarak en düşük 4.20 en yüksek 9.67 ortalama 6.60  $\log_{10}$  kob/g olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda tespit ettiğimiz değerler Anie ve ark. (25)'lerinin yapmış olduğu çalışmada tespit ettikleri değerlere göre daha düşüktür. Pırtığa bige numunelerinin mikrobiyolojik analizleri sonunda ortalama toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı, koliform bakteri sayısı, *Escherichia coli*

sayısı, *Staphylococcus-Micrococcus* spp. sayısı, *Lactobacillus* spp. sayısı, laktik *Streptokok* spp. sayısı, küf sayısı, maya sayısı ve sülfite indirgeyen anaerob bakteri sayısı ve standart hataları sırası ile 6.60+1.54, 3.05+3.01, 1.69+1.91, 2.19+0.89, 4.76+0.84, 3.80+1.27, 2.91+1.46, 2.66+1.35 ve 0.45+0.59 olarak tespit edilmiştir. Numunelerin %63.88'inde koliform bakteriler, %52.77'sinde *Escherichia coli*, %88.88'inde *Staphylococcus-Micrococcus* spp., %88.88'inde küf, %86.11'inde

maya ve %27.77'sinde sülfid indirgeyen anaerob bakteri tespit edilmiştir. *Stapylococcus-Micrococcus* ve maya-küf oranı açısından çalışmamızın sonuçları Anie ve ark. (25)' larının bulduğu sonuçlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. ve *Yersinia enterocolitica* numunelerin hiç birinde tespit edilmemiştir. Erkan ve Vural'ın (11) yapmış oldukları çalışmada soryaz numunelerinde *Escherichia coli*, koliform bakteri ve sülfid indirgeyen anaerobik bakteri sayısı numunelerin sırasıyla %40, %60 ve %80'inde tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada soryaz numunelerinde *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. ve *Yersinia enterocolitica* tespit edilmeyip, sülfid indirgeyen anaerobik bakteri sayısı bizim çalışmamızdaki verilere göre daha düşük bulunmuştur ancak diğer verilerin çalışmamızdaki verilerle uyumlu olduğu görülmektedir (11).

İnsanoğlu yeni tatlar tanıma, farklılıkları görme ve bilme arayışı içindedir. Dünyada yaklaşık 800000 bitki türü insanoğlu tarafından gıda, ilaç, boya ve süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde 10000'e yakın bitki türü doğal olarak yetişmesine rağmen bunlar yeterince bilinmemekte ya da bilinen bitkilerden yeterince yararlanılamamaktadır. Bir bölgede yaygın olarak kullanılan bir bitki diğer bölgelerde yetişmemektedir. Farklı iklimler ve rakımlar da bitki çeşitliliğini artırmaktadır. Bu bölgede geleneksel olarak üretilen ve tüketilen fonksiyonel özelliklere sahip birçok gıda bulunmaktadır. *Apiaceae* familyasına ait olan *Ferulago* cinsi esas olarak Akdeniz Bölgesi, Güneybatı ve Orta Asya, Kafkaslar ve Kuzey Afrika'da bulunmaktadır. Antik çağlardan beri, bu cinsin türleri, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antispazmolitik, böcek öldürücü ve anti-sıtma, kolinesteraz inhibisyon etkileri vb. gibi biyolojik özelliklerinden dolayı geleneksel tıpta büyük ölçüde kullanılmıştır.

Şırnak yöresinde yaygın olarak kullanılan fonksiyonel özellikleri muhtemel ama yeterince tanınmayan bu gıdaların farkındalığının artırılması ve lokal otantik ürün olmaktan çıkarılıp tanıtımının ve standart üretiminin yapılması gerekmektedir. Lokal olarak üretilen bu ürünlerin hijyenik kalitesi ile ilgili herhangi bir literatüre rastlanmamıştır. Bu ürünlerin üretim ve saklama koşullarında standardizasyon ya da herhangi bir denetim yapılamamaktadır. Muhtemel fonksiyonel özellikleri olan ve sevilerek tüketilen bu otantik ve organik gıdaların üretim akış şemalarının oluşturulması, hijyen kurallarına dikkat edilerek üretilmesi sağlık risklerini azaltacaktır. Bu tür fonksiyonel özellikleri olan gıdaların lokal üretim ve tüketimden çıkarılıp Türkiye pazarına tanıtımının yapılması gerekmektedir. Genel pazarlarda yer alabilmesi için standardizasyon ve seri üretimlerinin yapılması gerekmektedir. Bu tür gıdaların fonksiyonel özellikleri ile ilgili daha kapsamlı araştırmalar planlayarak coğrafi işaret konusunda çalışmalar yapılmalıdır.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

## KAYNAKLAR

1. Yang J, Lee J. (2019). Application of Sensory Descriptive Analysis and Consumer Studies to Investigate Traditional and Authentic Foods: A Review. *Foods*. 8(2):54.

2. Albayrak A. (2013). Farklı Milletlerden Turistlerin Türk Mutfağına İlişkin Görüşlerinin Saptanması Üzerine Bir Çalışma. *Journal of Yasar University*. 8(30):5049-5063
3. Jang SS, Ha J, Park K. (2012). Effects of Ethnic Authenticity: Investigating Korean Restaurant Customers in the US. *Int. J. Hosp. Manag.* 31:990-1003.
4. Sırrı M, Sırrı G. (2020). Hakkâri İlinde Gıda Olarak Tüketilen Yabancı Bitki ve Yabancı Ot Türlerinin Güncel Durumu. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (19), 393-409.
5. Heywood V. (1999). Use and Potential of Wild Plants in Farm Households. *FAO Farm Systems Management Series 15*. Erişim adresi: [https://www.fao.org/3/W8801E/w8801e00.htm#toc\\_00](https://www.fao.org/3/W8801E/w8801e00.htm#toc_00) Erişim tarihi: 3.10.2022.
6. Bacchetta L, Visioli F, Cappelli G et al. (2016) A Manifesto for the Valorization of Wild Edible Plants. *J. Ethnopharmacol.* 191:180-187.
7. Peña-Chocarro L. (2000). Agricultura y Alimentación Vegetal en el Poblado de la Edad del Bronce de Peñalosa (Baños de la Encina, Jaén). *Complutum*, 11:209-219.
8. Ghanimi R, Ouhammou A, Babahmad R, Cherkaoui M. (2022). A Quantitative Study on the Ethnobotanical Knowledge about Wild Edible Plants among the Population Of Messiwa. *Ethiop J Health Sci.* 32(6):1237
9. Erkan ME, Vural A, Baran MS, Güran HS, Durmusoglu H. (2014). Türkiye'nin Güneydoğusundaki Perakendecilerden Toplanan Manna (Gezo) Örneklerinin Fiziko-Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. *Bitkiler Üzerine Araştırma*, 15(4):902-906.
10. Rüstemoğlu M, Erkan ME, Cengiz G, Hajyzadeh M. (2023). Coğrafi İşaret ve Pazarlama Potansiyelini Tespit Etmek için Yüksek Verimli Dizilemeyi Kullanan El Yapımı Otlı Peynir Örneklerinin Bakteriye Metagenom Profili. *Heliyon*, 9(2):1-10.
11. Erkan ME, Vural A. (2023). Microbiological Quality Parameters of Pickled Soryaz Samples 1st International Future Engineering Conference. 225-227.
12. Öztürk M, Özçelik H. (1991). Doğu Anadolu'nun Faydalı Bitkileri, Siirt İlim Vakfı Yay., Ankara.
13. Baytop T. (1984). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fak.Yay., İstanbul.
14. Uysal A, Zengin G, Mahomoodally MF, et al. (2021). A Comparative Study On Biological Properties and Chemical Profiles of Different Solvent Extracts from *Centaurea Binoelensis*, an Endemic Plant of Turkey. *Process Biochemistry*, 102:315-324.
15. Kızıltaş H, Bingöl Z, Gören AC, et al. (2021). LC-HRMS Profiling and Antidiabetic, Anticholinergic, and Antioxidant Activities of Aerial Parts of Kinkor (*Ferulago Stellata*). *Molecules*, 26(9):2469.
16. Akalin E, Koçyiğit M. (2010). A Chemotaxonomic Study on *Ferulago* Species in Turkey. *J. Pharm. Istanbul Univ.* 41:33-41.
17. Gözcü S, Akşit Z, Şimşek S, et al. (2024). Phytochemical Analysis and Biological Evaluation of *Ferulago setifolia* K. Koch. *J Sci Food Agric.*, 104(3):1382-1390.
18. Karakaya S, Simsek D, Göger G, et al. (2019). Comparison of Essential Oils of *Ferulago pachyloba* (Fenzl) Boiss., *F. trachycarpa* Boiss. and *F. bracteata* Boiss. & Hausskn. Species (Apiaceae) Growing in Turkey and Determination of Their Antimicrobial Activities. *J Essent Oil Bear Plants*. 22(1):200- 213.
19. Rahimpour Y, Delazar A, Asnaashari S, Asgharian P. (2021). The Genus *Ferulago*: a Review on Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Pharmacology. *Iran J Pharm Res.*, 20(4):352.

20. Mollae S, Sedighi F, Habibi B, Hazrat S, Asgharian P. (2019). Extraction of Essential oils of *Ferulago angulata* with Microwave-assisted Hydrodistillation. *Industrial Crops and Products*, 137:43-51.
21. Ekin S, Kizilta H, Bayramoglu Akkoyun M, et al. (2019). Nephro-protective Effect of *Ferulago Angulata* Flowers on N-Nitrosodimethylamine-induced Nephrotoxicity in Rats And its Phytochemical Profile. *J Food Biochem*, 43(11):E13030.
22. Baytop T. (1999). Therapy with Medicinal Plants in Turkey. *Past and Present*, 2:348-349.
23. Badalamenti N, Ilardi V, Rosselli S, Bruno M. (2021). The ethnobotany, phytochemistry and biological properties of genus *Ferulago*—A review. *J Ethnopharmacol*, 274:114050.
24. Freitas Araujo M G de, & Maria, T. (2012). Microbial Quality of Medicinal Plant Materials. *InTech*.
25. Anie OC, Egbon OT, Enemchukwu CM, Adushoke, EL, (2022). The Microbial Quality of Herbal Products, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 12(5):64-69.
26. International Organization for Standardization (ISO). (2006). *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs— Horizontal Method for the Enumeration of Coliforms-Colony-Count Technique*. 4832.
27. International Organization for Standardization (ISO). (2001). *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-Horizontal Method for the Enumeration of  $\beta$ -glucuronidase-positive *Escherichia coli*. Part 2*, 16649-2.
28. *Bacteriological Analytical Manual*. (2001). BAM: Yeasts, Molds and Mycotoxins. Erişim adresi: <https://www.fda.gov/food/laboratorymethods-food/bam-yeasts-molds-and-mycotoxins>. Erişim Tarihi: 06.09.2019.
29. Harrigan WF. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*. 3th Ed. Academic Press, San Diego.
30. TSE ISO 6579. (2005). *Mikrobiyoloji - Gıda ve Hayvan Yemleri - Salmonella İçin Yatay Yöntem*. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
31. Anonim. (1996) *Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi - *Listeria monocytogenes*'in Tespiti ve Sayımı için Yatay Yöntem*. Bölüm 1: Tespit Yöntemi. ISO Standardı 11290-1.
32. Akpınar M, Ataman P, Bağder Elmacı S, et al. (2019). *Gıda Mikrobiyolojisi*. (İçinde): *Mikroorganizma Analizleri*. Halkman AK (editör). s.534. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd, Ankara, Türkiye.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Mehmet Emin ERKAN

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Diyarbakır TÜRKİYE

E-posta: eminerkan@dicle.edu.tr



## Application of Box-Behnken Experimental Design Method in Licorice Extraction

Özlem TURGAY<sup>1,a</sup>, Elif ÇELİK<sup>1,b,✉</sup>, Neslihan GÜLER<sup>2,c</sup>, Şaduman KARATUTLU AKGÖNEN<sup>2,d</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Kahramanmaraş, TÜRKİYE,

<sup>2</sup>Graduate School of Natural and Applied Sciences, Kahramanmaraş Sütçü İmam University Kahramanmaraş, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0003-2286-833X, <sup>b</sup>ORCID: 0000-0002-8280-8809; <sup>c</sup>ORCID: 0000-0003-1438-2751, <sup>d</sup>ORCID: 0000-0001-8092-127X

Geliş Tarihi/Received  
21.05.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
05.12.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Abstract

Licorice root is a traditional food substance used for various purposes and has diverse applications in the food industry. It is most commonly consumed as a sherbet. This study aimed to improve the efficiency of extraction in licorice root. For this purpose, the Box-Behnken Experimental Design was used. Temperature, time, and concentration were used as independent variables, while the total phenolic content was employed as the dependent variable. For solid-liquid extraction, heat treatment was carried out at 30-60°C for 10-30 min. The licorice concentration was in the range of 1-5% (w/v). A quadratic model was developed for the total phenolic content results. It was found that temperature and licorice concentration had a significant effect on the total phenolic content ( $p<0.05$ ), while time had no significant effect. The optimum extraction conditions were determined as 60°C 10 min and 56°C 10 min heat treatment to extracts containing 5% licorice root.

**Anahtar Kelimeler:** Box-behnken, licorice, solid-liquid extraction, total phenolic compound

### Meyan Kökü Ekstraksiyonunda Box-Behnken Deney Tasarım Yönteminin Uygulanması

#### Öz

Meyan kökü, çeşitli amaçlarla kullanılan geleneksel bir gıda maddesidir ve gıda endüstrisinde çeşitli kullanım alanlarına sahiptir. En çok şerbet olarak tüketilmektedir. Yapılan bu çalışmada meyan kökünde ekstraksiyon verimliliği artırılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla Box Behnken deney tasarımı kullanılmıştır. Bağımsız değişkenler olarak sıcaklık, süre ve konsantrasyon; bağımlı değişken olarak toplam fenolik madde miktarı kullanılmıştır. Katı-sıvı ekstrasyonu için 30-60°C aralığında 10-30 dk ısı muamele yapılmıştır. Meyan konsantrasyonu ise %1-5 (w/v) aralığındadır. Toplam fenolik madde miktarı sonuçları için kuadretik model geliştirilmiştir. Sıcaklık ve meyan konsantrasyonunun toplam fenolik madde miktarı üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu ( $p<0.05$ ), sürenin ise anlamlı bir etkisi olmadığı bulunmuştur. Optimum ekstraksiyon koşulları %5 meyan kökü içeren ekstratlara 60°C 10 dk ve 56°C 10 dk ısı uygulaması şeklinde tespit edilmiştir.

**Key Words:** Box-behnken, katı-sıvı ekstraksiyon, meyan kökü, toplam fenolik bileşik

### INTRODUCTION

Oxidative stress in cellular components such as amino acids, DNA, lipids and proteins has been linked to many chronic and terminal diseases (1). Although there are systems that protect biological cells against free radical damage, in some cases these systems are insufficient. Oxidation caused by free radicals in foods is an important factor affecting the quality of foods. This reactivity and the products formed oxidize lipids, nucleic acids and proteins, causing negative consequences in metabolism. Antioxidant substances are effective in reducing the effects of these oxidized products (2).

Interest in antioxidants has increased due to their ability to protect foods against oxidation as well as their positive effects on human health. Various plant-based foodstuffs are

reported to be natural sources of antioxidants (3). Consequently, studies involving phenolic compounds, which are a natural source of antioxidants, have increased in the food and pharmaceutical industries (4,5).

Phenolic compounds are phytochemicals naturally found in the structure of fruits, vegetables, grains, and various plant-based products, which influence various characteristic features such as color, taste, and smell of the foods they are found in. Based on their chemical structures, phenolic compounds are referred to as compounds containing an aromatic ring bound to one or more hydroxyl groups (6,7).



Licorice is a perennial plant belonging to the legume family (*Fabaceae*) and growing wild in the wet and humid areas of Türkiye, Mediterranean countries, Ukraine, Russia and Turkestan. The licorice plant, which has been used in the field of medicine from ancient times to the present day, is also known as the "grandfather of plants". There are about 30 varieties of licorice. Among the hundreds of bioactive components identified in the structure of licorice root are triterpenoids, saponins and flavonoids, isoflavones, coumarins and stilbenoids (8,9).

Licorice root (*Glycyrrhiza glabra*) is widely used in many countries for its antiviral, antiallergic, antioxidant and anti-cancer properties. It is mainly used as a flavoring agent in food, confectionery, pharmaceuticals and tobacco products (10). Glycyrrhizin, which is 4-20% in the dry matter of licorice root, is sweeter than sucrose. Licorice has high antioxidant activity. Due to its high flavonoid content, it shows a more important antioxidant property compared to vitamin E (11).

Microwave assisted extraction was applied in a study in which response surface methodology was used to optimise the extraction conditions of phenolic compounds from licorice. According to this study, it is reported that 80% ethanol as solvent, 5-6 min extraction time and 12.7/1 liquid/solid ratio yielded the best results. It is also stated that extraction conditions have a significant effect on the extraction efficiency and antioxidant capacity of phenolic compounds (12). In a study, it was reported that there was no statistically significant difference in total phenol and total flavonoid values in licorice root samples extracted at room temperature compared to those processed at 40°C. In the same study, it was stated that extraction at 75°C increased phenol and total flavonoid transfers at a statistically significant level (13).

Solid-liquid extraction is a multi-faceted process. It depends on many different factors such as temperature, time, solid concentration. Box-behnken design is an experimental planning method designed to understand the interactions of various factors by reducing the number of experiments in such multi-factorial cases.

The Box-behnken Design Method is a response surface method that requires relatively few experiments compared to the widely used orthogonal design (14). That is, with this design, the independent variables have an empirical relationship on the response function, unlike classical statistics, where all parameters can be estimated independently of the others. The response function affected by several independent variables is optimized to obtain the quadratic polynomial given in Formula 1.

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=2}^k b_{ij} x_j + \sum_{i=2}^k b_{ii} x_{ii}^2 \quad (1)$$

Given in Formula 1  $b_0$ ,  $b_i$ ,  $b_{ij}$  and  $b_{ii}$  are the regression coefficients;  $x_i$  and  $x_j$  are the independent variables affecting the dependent response function (Y), and k is the number of parameters.

This method can examine experimental conditions with 3-7 factors and three levels (high, medium and low) to produce comprehensive data sets (15). These three levels of

control are given in Table 1. It can allocate the correlation between response outcomes and relevant factors through a series of experiments to obtain the best process conditions (16).

Table 1. Box-behnken experimental design levels

Variables	Low Level	Medium Level	High Level
A	-1	0	+1
B	-1	0	+1
C	-1	0	+1

The aim of this study was to determine the effect of different temperature, concentration and time on the amount of phenolic compounds in the extraction process and to determine the optimum range. The temperature, concentration and time ranges to be used in the study were determined using Box-behnken experimental design method. The extraction of licorice root was carried out by solid-liquid extraction method. Solid-liquid extraction method was preferred due to its low cost, simple equipment usage and easy applicability (17).

## MATERIALS AND METHODS

### Material

Licorice root used in the study was obtained from a local market. Gallic acid (Merck), Folin Ciocalteu (Merck), sodium carbonate (Merck), centrifuge (Nüve NF 1200R) and analytical balance (And GX-600), shaking water bath (Wisebath), thermometer (Thermo Orion Star), spectrophotometer (PG Instruments T80 UV/VIS) were used. Box-behnken experimental design was established using Minitab Version 18.1.

### Method

#### Determination of solid-liquid extraction parameters

The temperature, time and concentration ranges to be studied during the extraction process were determined using the Minitab Box-behnken experimental design. Licorice root was extracted without grinding. The experimental design was implemented in two replicates and two parallels. Box-behnken experimental design is given in Table 2 and extraction parameters are given in Table 3. The concentration of the licorice in the solvent was adjusted between 1% and 5%, based on weight/volume.

Table 2. Box-behnken design of experiment

Independent variables	Symbol	Coded Levels		
		1	0	-1
Temperature (°C)	X <sub>1</sub>	60	45	30
Time (min)	X <sub>2</sub>	30	20	10
Concentration (%w/v)	X <sub>3</sub>	5	3	1

**Table 3.** Parameters used for solid-liquid extraction process

Experiment No	Temperature	Time	Concentration
1	30	10	3
2	60	10	3
3	30	30	3
4	60	30	3
5	30	20	1
6	60	20	1
7	30	20	5
8	60	20	5
9	45	10	1
10	45	30	1
11	45	10	5
12	45	30	5
13	45	20	3
14	45	20	3
15	45	20	3

### Solid-liquid extraction and total phenolic content

Licorice was extracted in a shaking mixer at the specified temperatures (30°C, 45°C and 60°C) and times (10, 20 and 30 minute). The supernatant was separated by centrifugation at 4500g for 10 min. Total phenolic compound amount Folin-Ciocalteu method was used with some modifications (18).

First, 0.1 mL licorice and 0.2 mL Folin Ciocalteu reagent were mixed. Purified water (0.2 mL) was added and kept at room temperature for 3 minutes. Then 1 mL of sodium carbonate (20% w/v) was added and vortexed. The resulting mixture was kept in a 50°C water bath for 25 min. Absorbance was measured at 765 nm in a spectrophotometer. Purified water was used as a blind. The calibration curve was plotted in terms of gallic acid in the range of 50 to 250 ppm.

### RESULTS

The data of the samples were determined by applying the surface response method with quadretic model. The statistical significance of model terms is assumed by their respective P-value. Also, "The Lack of Fit F-value" is a special diagnostic test for adequacy of a model. Considering the parameters studied, the effect of extraction temperature and licorice concentration on total phenolic content was found to be significant ( $p < 0.05$ ). The effect of extraction time had not been significant. Lack of alignment was not found to be significant ( $p > 0.05$ ), which indicates that the model is suitable for interpreting the data. The outputs of the quadretic model applied for phenolic extraction in the samples are given in Table 4.

Table 4. Box-benhken quadretic model analysis of variance results for total phenolic content

Source	DF	SS	MS	F-Value	P-Value
Model	9	43526.2	4836.2	80.36	0.000
Linear	3	42925.8	14308.6	237.75	0.000
Temperature	1	375.9	375.9	6.25	0.021
Time	1	261.5	261.5	4.35	0.050
Concentration	1	42288.4	42288.4	702.66	0.000
Square	3	523.8	174.6	2.90	0.060
Temperature*Temperature	1	23.5	23.5	0.39	0.539
Time*Time	1	27.5	27.5	0.46	0.507
Concentration*Concentration	1	503.0	503.0	8.36	0.009
2-Way Interaction	3	76.7	25.6	0.42	0.737
Temperature*Time	1	15.8	15.8	0.26	0.614
Temperature*Concentration	1	57.6	57.6	0.96	0.340
Time*Concentration	1	3.3	3.3	0.05	0.818
Error	20	1203.7	60.2		
Lack-of-Fit	3	410.6	136.9	2.93	0.063
Pure Error	17	793.1	46.7		
Total	29	44729.9			

DF: Degrees of freedom, SD: Mean squares, MS: squares of means

The 5 samples with the highest total phenolic content among the phenolic data optimized by the surface response method are given in Table 5 together with the analysis parameters.

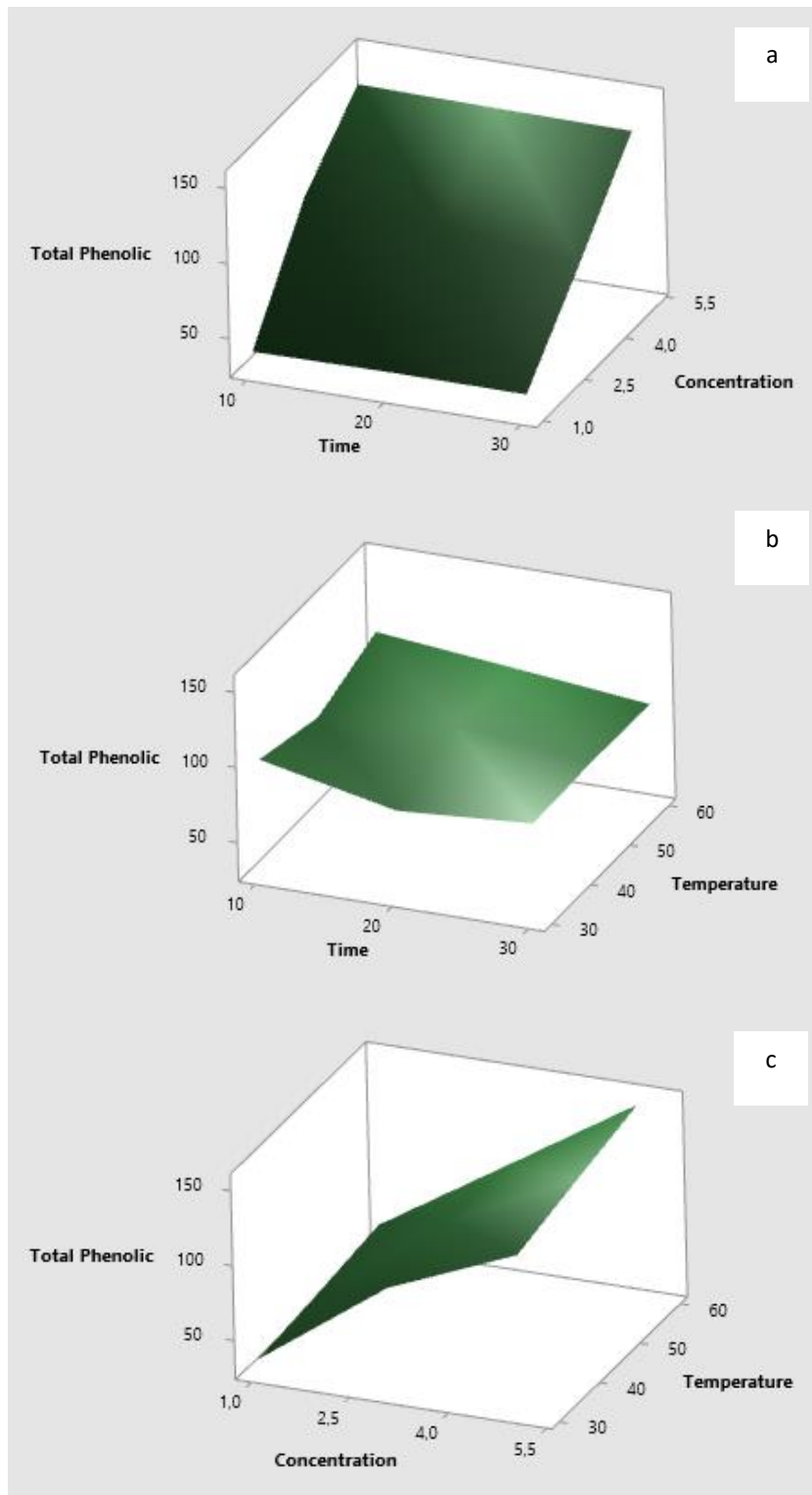
In the study, the model  $R^2$  value was found to be 0.973. In the study, the estimated and calculated  $R^2$  values were 0.961 and 0.943, respectively. The values of  $R^2$  imply a correlation between the experimental results and predicted values. Statistically, these two values are adequately consistent. The response surface function showing the effect of independent variables is given in mathematical model.

$$\text{Total phenolic content} = -23,2 + 0,96 X_1 + 0,89 X_2 + 34,70 X_3 - 0,0079 X_1^* X_1 - 0,0193 X_2^* X_2 - 2,063 X_3^* X_3 - 0,0094 X_1^* X_2 + 0,0895 X_1^* X_3 - 0,032 X_2^* X_3$$

In our study, extraction temperature and sample concentration were found to have an effect on the total amount of extractable phenolic matter. The effect of independent variables on the total phenolic content of licorice extract is shown in Figure 1.

**Table 5.** Optimized total phenolic content

Solution	Temperature $X_1$	Time $X_2$	Concentration $X_3$	Total Phenolic Content (mg GAE/100 g)	Composite Desirability
1	60.00	10.00	5.00	154.93	1.00
2	56.43	10.00	5.00	153.78	1.00
3	60.00	10.00	4.90	152.27	0.99
4	60.00	29.90	5.00	146.89	0.94
5	32.73	10.03	4.97	145.33	0.93



**Figure 1.** Effect of independent variables on total phenolic content of licorice extract  
 a. Time and Concentration b. Temperature and Time c. Concentration and Temperature

## DISCUSSION AND CONCLUSION

Bioactive components found in foods are defined as food ingredients or components with physiological effects on human health, beyond providing energy. The aqueous extract from the roots of the licorice plant contains many phenolic compounds. Bioactive components are substances that significantly contribute to the antioxidant properties of products (13,19). In a study performed by Özcan (8), the amount of total phenolic matter in licorice root extract was investigated. It was reported that the amount of total phenolic matter in the aqueous extract was 37.96 mg GA / g. In a different study conducted by Pala (13), the total phenolic content was found to be 521.2 mg GA / l in the aqueous extract at room temperature and 623.3 mg GA / l at 75°C. In our study, however, the total phenolic content was determined to be 154.93 mg GA / g. The variations observed in these studies may be due to different parameters such as the extraction time and the concentration of licorice root used in the preparation of the extract.

It has been determined that the extraction temperature and liquid-solid ratio have a statistically significant effect on the total phenolic content in the aqueous extraction of licorice root ( $p < 0.05$ ). Our results revealed that the liquid/solid ratio and extraction temperature have a linear effect ( $p < 0.05$ ). No significant relationship was found between extraction time and the total phenolic content measured in the licorice root extract ( $p > 0.05$ ). Similarly, in a study conducted by Ünalın, (20) and Yeler (21), it was reported that the effect of extraction temperature was significant. In a study by Yazıcı (22), it was reported that increasing the extraction temperature and time increased the phenolic content to some degree. It is stated that the total phenolic content decreased with further increase in temperature and time. In their study, Daştan et al., (23) examined the quantity of phenolic compounds obtained from fenugreek extraction at different temperatures, durations, and stirring speeds. At the end of the study, it was observed that the amount of phenolic compounds obtained from the extraction process was better at 55°C compared to 85°C. It is suggested that this is due to the adverse effect of high temperatures on certain phenolic compounds beyond a certain level.

$R^2$  values are important in terms of showing that there is a correlation between experimental results and predicted values (24). These two statistically estimated and calculated values should be close. Palamutoğlu and Kasnak (25) reports that experimental and predicted values are consistent when the difference between estimated and adjusted  $R^2$  is less than 0.2. In this respect, the results obtained in our study are consistent. In different studies, it has been determined that there is consistency between the predictive values and experimental values in Box-behnken experimental design (20,26). Box-behnken experimental design has been proven to give statistically reliable results in the determination of phenolic extraction parameters from licorice. More studies can be conducted and more detailed data can be obtained by using different parameters.

## REFERENCES

1. Weremfo A, Adulley F, Dabie K, Abassah-Oppong S, Peparah-Yamoah E. (2022). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Antioxidants from Turkey Berry (*Solanum torvum* Sw) Fruits Using Response SURFACE METHODOLOGY. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 30:100387.
2. Güzey İ. (2019). Afyon Endemiği *Sideritis zkmarii* Türünün Serbest Radikal Giderici, Toplam Fenolik Madde Miktarı, Total Antioksidan ve Oksidan Statüsü ile Mineral Madde İçeriğinin İncelenmesi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, s. 65, Afyon-karahisar.
3. Çelik SA, Ayran İ. (2020). Antioksidan Kaynağı Olarak Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkiler. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi. 13(2): 115-125.
4. Gültekin S, Özyiğitoğlu G. (2018). *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf Likenin Antitakteriyel Aktivitesi ve Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması. Marmara Fen Bilimleri Dergisi. 2018(2): 189-194.
5. Gezici S. (2022). Potansiyel Doğal Bir Antioksidan İlaç Olarak Goji Meyvelerinin Moleküler Mekanizmaları, Biyolojik ve Farmakolojik Özellikleri. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi. 12(1): 67-76.
6. Karabulut G, Yemiş O. (2019). Fenolik Bileşiklerin Bağlı Formları ve Biyoyararlılığı. Akademik Gıda. 17(4): 526-537.
7. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. (2021). Extraction of Phenolic Compounds: A Review. Current Research in Food Science. 4: 200-214.
8. Özcan FŞ. (2019). Türkiye'de Bulunan Meyan Türlerinin Bazı Biyoaktif Madde İçerikleri Bakımından Karşılaştırılarak Fonksiyonel Toz İçecek Eldesinde Kullanılması. Doktora Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı s. 204, İstanbul.
9. Şekeroğlu N, Gezici S. (2020). Koronavirüs Pandemisi ve Türkiye'nin Bazı Şifalı Bitkileri. Anatolian Clinic the Journal of Medical Sciences. 25 (Special Issue on COVID 19): 163-182.
10. Çoban ÖE, Çoban MZ. (2019). Meyan Kökü Ekstraktı ile Zenginleştirilmiş Kitosan Kaplamanın Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarının Kalitesi Üzerine Etkisi. Ecological Life Sciences. 14(4): 83-92.
11. Erten K, Coşkuntuna L, Koç F. (2023). Toplam Karışım Rasyonuna Bitki Ekstraktları Katkısının İn Vitro Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkisi. Ege Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi. 60(2): 317-329.
12. Karami Z, Emam-Djomeh Z, Mirzaee HA, Khomeiri M, Mahoonak AS, Aydanı E. (2015). Optimization of microwave assisted extraction (MAE) and soxhlet extraction of phenolic compound from licorice root. Journal of Food Science and Technology. 52: 3242-3253.
13. Pala ÇU, Ekşi CN, Özçelik E, Çam BA. (2017). Geleneksel Meyan Kökü Şerbeti Hazırlama Sürecinde Farklı Sıcaklık Uygulamalarının Şerbetin Mikrobiyolojik Kalitesi ve Biyoaktif Bileşenleri Üzerine Etkisi. Journal of Tourism & Gastronomy Studies. 5(Special Issue 2): 276-286.
14. Ayyubi SN, Purbasari A. (2022). The Effect of Composition on Mechanical Properties of Biodegradable Plastic Based on Chitosan/Cassava Starch/PVA/Crude Glycerol: Optimization of the Composition Using Box-Behnken Design. Materials Today: Proceedings, 63:S78-S83.
15. Khatib I, Chow MY, Ruan J, Cipolla D, Chan HK. (2021). Modeling of a Spray Drying Method to Produce Ciprofloxacin Nanocry-

- tals Inside The Liposomes Utilizing A Response Surface Methodology: Box-Behnken Experimental Design. International Journal of Pharmaceutics. 597:120277.
16. Wyantuti S, Pratomo U, Manullang, LA, Hendrati D, Hartati YW, Bahti HH. (2021). Development of Differential Pulse Voltammetric Method for Determining Samarium (III) Through Electro-analytical Study of the Metal Ion in Acetonitrile Using Box-Behnken Design. Heliyon. 7(4).
  17. Atak E, Uslu ME. (2018). Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve Analiz Yöntemleri. Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi. 3(27): 39-48.
  18. Shortle E, O'grady MN, Gilroy D, Furey A, Quinn N, Kerry JP. (2014). Influence of Extraction Technique on The Anti-Oxidative Potential of Hawthorn (*Crataegus monogyna*) Extracts in Bovine Muscle Homogenates. Meat Science. 98 (4): 828-834.
  19. Li K, Ji S, Song W, Kuang Y, Lin Y, Tang S, Cui Z, Qiao X, Yu S, Ye M. (2017). Glycybridins A–K, Bioactive Phenolic Compounds from *Glycyrrhiza glabra*. Journal of Natural Products. 80(2): 334–346.
  20. Ünal D. (2022). Yeşil Çay Yaprağından Fenolik Maddelerin Box-behnken Deneme Deseni Kullanılarak Ekstraksiyonu ve Çay Polifenollerile Zenginleştirilmiş Kraker Üretimine Araştırılması. Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi s. 88, Bursa.
  21. Yeler HB. (2021). Kırmızı Pancar ve Üzüm Kabuğundan Farklı Ekstraksiyon Koşullarında Boyar Madde Üretimi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Doktora Tezi, s. 109, Denizli
  22. Yazıcı SÖ. (2021). Optimization of The Extraction Conditions of Phenolic Compounds from *Alchemilla vulgaris* Using Response Surface Methodology. Gıda. 46(4): 1040-1052.
  23. Daştan S, Türker İ, İşleroğlu H. (2021). Çemen Otu Tohumundan Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu İçin Optimizasyon Çalışması. Gıda. 46(4): 959-970.
  24. Uysal S, Cvetanović A, Zengin G, Zeković Z, Mahomoodally MF, Bera O. (2019). Optimization of Maceration Conditions for Improving The Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Effects of *Momordica charantia* L. Leaves Through Response Surface Methodology (RSM) and Artificial Neural Networks (ANNs). Anal Lett. 52(13): 2150-2163.
  25. Palamutoğlu R, Kasnak C. (2020). Elma Ekstraktının Toplam Fenolik Madde Miktarı ve Antioksidan Aktivitesi Üzerine Değişkenlerin Etkilerinin Yanıt Yüzey Yöntemi ile Belirlenmesi. Journal of the Institute of Science and Technology. 10(2): 1014-1022.
  26. Yazıcıoğlu P. (2015). Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) Bitkisinden Antioksidan Ekstraksiyonunun Optimizasyonu. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, s. 95, İstanbul.

✉ **Corresponding Author:**

Elif ÇELİK

Department of Food Engineering, Faculty of Engineering and Architecture, Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Kahramanmaraş, TÜRKİYE

E-posta: elifcelik@ksu.edu.tr; 0344 300 2086



## Quorum Sensing'e Gıda Mikrobiyolojisi Perspektifinden Bakış

Zühal ÇALIŞKAN<sup>1,a</sup>, Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU<sup>2,b</sup>

<sup>1</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık bilimleri enstitüsü, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Burdur, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Burdur, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0001-8590-0355; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0002-9669-5964

Geliş Tarihi/Received  
28.05.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
20.09.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

Tek hücreli canlılarda çekirdek algılama olarak da adlandırılan quorum sensing (QS), bakterilerin sporulasyon, biyofilm oluşumu, bakteriyosin üretimi, virulans tepkileri gibi birçok hücrel işlevini gerçekleştirdiği bir sinyal mekanizmasıdır. Belirli hücre yoğunluğuna ulaşıldığında, bakteriler tarafından hücre dışı kimyasal sinyaller üretilerek hücreden hücreye iletişim gerçekleşir. Sinyalin (ve hücre popülasyonunun) konsantrasyonu yeterince yüksek olduğunda, hedef gen veya genler ya aktive olur ya da bastırılır. Bu sistem, bakterilerin besinlere veya daha uygun çevresel nişlere erişme yeteneğini artırır, rakip hücrelere ve strese karşı bakteriyel savunmayı kuvvetlendirir. QS'in fizyolojik ve klinik yönleri çok ilgi görmüş ve moleküler düzeyde araştırılmıştır. Bununla birlikte, gıda bozulması ve gıda patojenlerinin matristeki gelişimi üzerine QS rolü hakkında çok az şey bilinmektedir. Mikroorganizmalar arası bu iletişim sistemi mekanizması detaylı olarak anlaşıldığında gıda endüstrisinde sorun haline gelen patojen ve bozulma mikroorganizmalarının gelişiminin kontrol altına alınması için yeni antimikrobiyal maddeler geliştirilerek hem gıda güvenliğinin sağlanabileceği hem de ekonomik kayıpların da önüne geçilebileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, QS'i anlamak, QS'i bozmak ve manipüle etmeye yönelik stratejilerin geliştirilmesi yönünde çalışmalarla ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Gıda mikrobiyolojisi, otoindikatör, quorum sensing, quorum quenching.

### An Examination of Quorum Sensing from the Perspective of Food Microbiology

### Abstract

Quorum sensing (QS), is a signaling mechanism in bacteria where various cellular functions such as sporulation, biofilm formation, bacteriocin production, and virulence responses occur. When a specific cell density is reached, bacteria communicate from cell to cell by producing extracellular chemical signals. When the concentration of the signal (and the cell population) becomes sufficiently high, target genes are either activated or suppressed. This system enhances bacteria's ability to access nutrients or more favorable environmental niches, strengthens bacterial defense against competing cells and stress. The physiological and clinical aspects of QS have garnered significant interest and have been extensively studied at the molecular level. However, little is known about the role of QS in food spoilage and the development of foodborne pathogens in the matrix. When the communication mechanism between microorganisms is fully understood, it is believed that developing new antimicrobial agents can help control the growth of pathogens and spoilage microorganisms in the food industry, ensuring food safety, and preventing economic losses. Consequently, there is a need for research to understand QS, develop strategies to disrupt QS, and manipulate it.

**Key Words:** Autoinducer, food microbiology, quorum sensing, quorum quenching.

### GİRİŞ

Bakterilerin de diğer canlılar gibi popülasyon davranışlarını gerçekleştirmek için çeşitli mekanizmaları bulunmaktadır. Çekirdek algılanması ya da Quorum sensing (QS) olarak bilinen bu mekanizma bakterinin virulensi, biyofilm oluşumu ve bakteriyel direnç gibi mekanizmalarını etkilemektedir. Quorum sensing'in temelini oluşturduğu düşünülen ilk çalışmalar bakterilerin biyoluminesans özelliklerinin ortaya koyulduğu

araştırmalara dayanmaktadır. Nealson ve arkadaşları (1) deniz hayvanları ile simbiyoz yaşam süren *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi*'nin biyoluminesans araştırmalarında, bakterilerin düşük konsantrasyonlarda ışık vermediklerini, yüksek bakteri yoğunluğunda ise biyoluminesans özellikle olduklarını tespit ederek bakterilerin çevreyle iletişim halinde olduklarını tespit etmiştir (1). QS terimi ise ilk kez Fuqua ve arkadaşları (2) tarafından kullanılmıştır (2). Hücreden hücreye iletişimin bir

mekanizmadan kaynaklandığı ve belirli bir hücre yoğunluğuna ulaşıldığında bakteriler tarafından üretilen hücre dışı kimyasal sinyallerle gerçekleştiği anlaşılmıştır.

Çekirdek algılamanın fizyolojik ve klinik yönleri büyük ilgi gören moleküler düzeyde detaylı incelemeleri yapılmıştır. Ancak gıdalarda QS rolü hakkında çok az şey bilinmektedir. Yapılan farklı çalışmalarda sinyal bileşiklerinin bakteriler tarafından üretildiği ifade edilmiştir (3-5). Bununla birlikte, gıda bozulması ve gıda patojenlerinin matristeki gelişimi üzerine QS rolü hakkında çok az şey bilinmektedir. QS gıdalardaki bakterilerin gelişimini kontrol etmek için bir araç olabileceğinden, gıda mikrobiyologlarının bakteriyel QS hakkında bir farkındalığa ve anlayışa sahip olmaları gerekmektedir.

"Quorum Quenching" (QQ) olarak ifade edilen mekanizma ise QS mekanizmasının işleyişini belirleyerek bu iletişim sisteminin engellenmesine neden olarak bakteri popülasyonunu kontrol altında tutulmasını sağlamaktır (6,7). QS ya da QQ mekanizmalarının gıda endüstrisi üzerine olumlu etkilerinin olabileceği tahmin edilmektedir. Fermente ya da probiyotikli gıdalarda floranın metabolik aktivitesi gıdanın kalitesini etkilemektedir. Floranın gelişiminde hem tür içi hem de türler arası iletişim sağlanmasında QS molekülleri aracılık etmektedir. Mikroorganizmalar arası bu iletişim sistemi mekanizması detaylı olarak anlaşıldığında gıda endüstrisinde sorun haline gelen patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişiminin kontrol altına alınması için yeni antimikrobiyal maddeler geliştirilerek hem gıda güvenliğinin sağlanabileceği hem de ekonomik kayıpların da önüne geçilebileceği düşünülmektedir.

Bu derlemede gıda mikrobiyolojisi perspektifinden QS'i anlamak, probiyotiklerin ve starter kültürlerin QS mekanizmasındaki rolünü ortaya koymak ve gıda patojenleri ile gıdalarda bozulmalara sebebiyet veren saprofitlerin gelişimini engellemek için stratejik yaklaşımlar ortaya koymak amaçlanmaktadır.

### Quorum Sensing ve Quorum Quenching'e Genel Bakış

Mikroorganizmalar grup olarak hareket ettiğinde çevre şartlarına daha dayanıklı ve kendileri için uygun yaşam şartları oluşturabilen canlılar haline dönüşmektedirler (2). Quorum Sensing (QS) olarak ifade edilen ortamdaki mikroorganizmaların diğer organizmalarla iletişimlerini sinyal molekülleri aracılığı ile gerçekleştirmesi, birçok bakteri türünde tespit edilmiştir. Bakteri popülasyonu genişledikçe ortamdaki sinyal moleküllerinin konsantrasyonları artarak belirli bir eşik düzeyine gelindiğinde QS'e bağlı hedef gen ekspresyonu gerçekleşerek fenotipik etkiler ortaya çıkmaktadır (8). QS mekanizmasının bakteriler tarafından, genel olarak virulansın düzenlenmesinde, konjugatif plazmitlerin transferinde, sporulasyonda, biyofilm oluşumunda ve antimikrobiyal peptit sentezinde kullanıldığı ifade edilmektedir (9). Bunların yanı sıra gıda bozulmalarının mikroorganizmaların proteolitik, lipolitik, sakkarolitik ve pektinolitik özelliklerinin de QS mekanizması ile geliştiği düşünülmektedir (10,11).

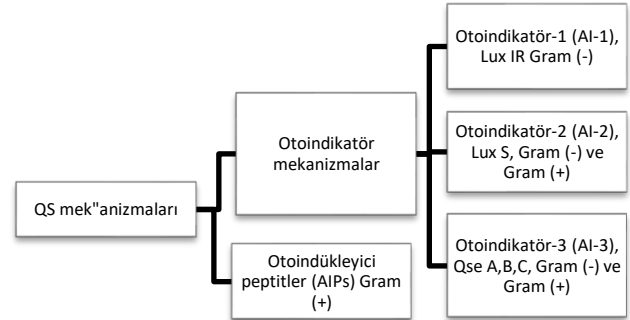
Hücreler arası iletişimi engelleyen "Quorum Quenching" (QQ) mekanizması, mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulmasını sağlamak için "Quorum Sensing" (QS) mekanizmasının işleyişini anlamayı ve engellemeyi he-

deflemektedir. Mikroorganizmaların çeşitli virulans faktörlerini önlemek için QQ mekanizması yaklaşımıyla QS moleküllerinin üretiminin durdurulması, inhibisyonu veya bu moleküllerin parçalanması için araştırmalar yapılmaktadır (6,7).

### Quorum Sensing mekanizmaları

*Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Vibrio* gibi pek çok patojenin sinyal molekülleri tanımlanarak QS mekanizmaları tespit edilmiştir (12). *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Streptomyces* türlerinin de bu mekanizmayı genetik yeterliliklerini geliştirmek, antimikrobiyal peptit veya eksotoksin üretmek ve biyofilm geliştirmek için kullandığı ifade edilmiştir (13).

Çoğu bakteri, çekirdek algılama sinyallerini algılamak ve bunlara yanıt vermek için genel iki mekanizma kullanır (Şekil 1). Birinci mekanizma, N-Acyl Homoserin Lakton (AHL) bağımlı QS sistemi ile ilgili olup, sitozolik bir transkripsiyon faktörü tarafından algılanır. İkinci mekanizmada ise, *Staphylococcus aureus*'un ürettiği otoindükleyici peptit (AIP) gibi sinyal molekülü, 2 bileşenli bir yanıt düzenleyici sistemi tarafından algılanır (14). Bunların dışında, *V. harveyi*'nin QS mekanizmasının incelendiği bir çalışmada, mikroorganizmanın hem Gram-negatif bakteriler gibi açillenmiş homoserin lakton (HSL) ürettiği hem de Gram-pozitif bakteriler gibi zara bağlı histidin kinazların kullanıldığı QS mekanizma özelliklerini taşıdığı gözlemlenmiştir (15).



Şekil 1. Quorum Sensing mekanizmaları

Bakteriler, AHL aracılı Quorum Sensing (QS) mekanizmasında, S-adenosilmetiyonin (SAM) ve acyl zincirleri kullanarak AHL moleküllerini sentezlerler (16). AHL sentaz (I-proteini) olarak bilinen ve LuxI homoloğu tarafından kodlanarak üretilen bu sinyal molekülü, düşük mikroorganizma yoğunluğunda, her bakteri tarafından temel düzeyde üretilerek ortamda birikme göstermektedir (14). Kısa zincirli AHL sinyal moleküllerinin taşınması için pasif taşıma sistemi kullanılırken, uzun zincirli AHL sinyal molekülleri için aktif taşıma mekanizmasının kullanılması gerekmektedir. Artan bakteri popülasyonu ile birlikte eşik düzeye ulaşan R proteini içeren bu AHL sinyal molekülü LuxR transkripsiyonel düzenleyicidir. AHL'ler için reseptör görevini üstlenen bu molekül LuxI tarafından sentezlenmektedir. QS mekanizmasında bu molekül, promotörlere bağlanarak AHL üretimini artırır (oto-indüksiyon) ve diğer genlerin ekspresyonunu da etkiler (17).

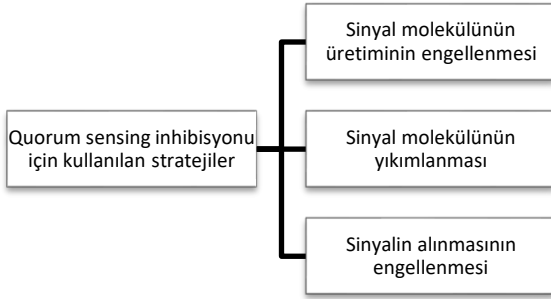
Bu R proteinleri, LuxR transkripsiyonel düzenleyici ailesine aittir ve LuxI proteinleri tarafından sentezlenen AHL'ler

için reseptör görevi görmektedir. Bir dimer olan R-AHL kompleksi, LuxI tipi genin promotörü de dahil olmak üzere, çekirdek kontrollü promotörlerin korunmuş palindromik dizilerine bağlanır ve çekirdek algılamada AHL üretimini (oto-indüksiyon) ve diğer genlerin ekspresyonunu artırmaktadır (17). Bu nedenle, QS mekanizmasında R-AHL kompleksinin, önemli bir rolü bulunmaktadır.

AHL-bozunma enzimi ve aynı kökenli düzenleyici transkripsiyon faktör (ler)i, sinyal bozulmasında rol oynamaktadır. AHL bozunma enzimleri, *Agrobacterium tumefaciens* ve *P. aeruginosa* gibi AHL sinyalleri üreten birkaç bakteriyel patojende tanımlanmıştır (18). AHL sinyallerinin bozulması, çekirdek algılamaya bağımlı gen ekspresyonunu kapatmaktadır (19).

### Quorum Quenching mekanizmaları

Hücreler arası iletişimi engelleme mekanizmalarını ifade eden bir terim olan "Quorum Quenching" (QQ), mikroorganizma topluluklarının bir araya gelerek belirli bir yoğunluğa ulaştıklarında aktive olan "Quorum Sensing" (QS) mekanizmasını kontrol altında tutmaktır. QQ araştırmaları, QS mekanizmalarının nasıl çalıştığını anlamayı ve bu sistemlere müdahale ederek mikroorganizma topluluklarını kontrol etmeyi hedefler. Bu müdahaleler, QS sistemlerini engelleyen veya bozan bileşenleri içerir. Bunun için Şekil 2'de ifade edildiği gibi 3 yöntem bulunmaktadır.



Şekil 2. Quorum Sensing inhibisyonu için kullanılan stratejiler

Reseptör proteinlerine etki eden ve AHL sinyal molekülüne müdahale ettiği bilinen QS inhibitör grubu, Avustralya kırmızı yosunu olarak bilinen *Delisea pulchra* tarafından üretilen halojenli furanonlardır (20,21). *Delisea pulchra* tarafından üretilen bileşiklerle yapılan çalışmada, *P. aeruginosa* ve *S. liquefaciens* mikroorganizmalarının virulans faktörlerini ve biyofilm oluşumunu etkilediği gözlemlenmiştir (20). Ayrıca düşük sitotoksositeye sahip olmasından dolayı bu halojenli furanonların QS mekanizmasının engellenmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Geleneksel tıpta kullanılan bitkiler de, biyolojik olarak aktif yeni bileşiklerin araştırılmasında en umut verici alanlardan biridir (22).

### Gıda Mikrobiyolojisinde Quorum Sensing

Gıda endüstrisinde kullanılan alet ve ekipmanların yetersiz temizliği durumunda mikroorganizmalar yüzeylere tutunarak biyofilm oluşturmakta ve gıda ile teması neticesinde insan sağlığını tehdit edebilmektedir (23). Biyofilm oluşturma-

nın yanı sıra gıda bozulmalarında mikroorganizmaların proteolitik, lipolitik, sakkarolitik ve pektinolitik özelliklerinin de QS mekanizması ile geliştiği düşünülmektedir. Gıda endüstrisinde QS mekanizmasına müdahale edilerek olumlu sonuçlar elde edileceği düşünülmektedir. Ayrıca fermente veya probiyotikli gıdaların florasının metabolik aktivitesi, gıdanın kalitesini etkilerken; bu floranın gelişiminde hem tür içi hem de türler arası iletişimin sağlanmasında QS molekülleri önemli bir rol oynamaktadır.

### Biyofilm oluşumunda Quorum Sensing rolü

Gıda mikrobiyologları genellikle sıvı kültürde ayrı ayrı hücreler olarak gelişen mikroorganizmaları kullanarak araştırma yapmaktadırlar. Ancak biyofilmler gıda endüstrisinde daha ciddi bir soruna sebep olmaktadır. Gıda ve gıda ile temas eden yüzeylerde mikroorganizmalar biyofilm oluşturarak zorlu şartlarda canlılıklarını koruyabilmektedirler. Bazı gıda kaynaklı hastalık salgınları biyofilmler ile ilişkilendirilmiştir (24).

Biyofilm tabakası mikroorganizmalar için korunaklı bir yapı olup, planktonik şekillerine göre antimikrobiyal ajanlara ve dezenfektanlara karşı 200-500 kat daha dirençlidir. Biyofilm tabakasından uzaklaştırılarak sıvı kültür ortamına geçtiklerinde antimikrobiyal ajanlara ve dezenfektanlara tekrar duyarlı hale geldikleri bilinmektedir (25).

Önceki yıllarda yaşanan bazı gıda kaynaklı salgınların QS mekanizması sebebiyle mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı dirençli hale gelmeleri ve biyofilm tabakası oluşturmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. 1982-2002 yılları arasında meydana gelen 7 farklı *E. coli* O157:H7 salgınının elma suyu ve elma şarabından kaynaklandığı bildirilmiştir. Elmaları, dezenfektan ya da su ile yıkama işleminin elma kalıksına ulaşmadığı için bu kısımda bulunan *E. coli*'nin uzaklaştırılmadığı anlaşılmıştır. Burada bulunan mikroorganizmalar kanallardan içeri girerek elmanın çekirdeğine kadar ulaşarak biyofilm oluşturmakta ve elma suyu üretiminde büyük bir sorun teşkil etmektedirler. Elmanın yanı sıra çok az işlem gören sebze ve meyvelerin yüzeyinde de *E. coli* O157:H7'nin biyofilm oluşturmasıyla bu tür salgınlar meydana gelebilmektedir (23,26).

### Gıdaların Bozulmasında Rol Alan Mikroorganizmaların Sinyalizasyonu

Gıdalarda birçok farklı nedenle bozulmalar meydana gelmekte olup mikrobiyal bozulmalar bunlardan biridir. Gıdaların mikroorganizmalar vasıtasıyla bozulması oldukça karmaşık mikrobiyal aktivitelerin sonucu olarak çeşitli biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesiyle meydana gelmektedir. Bu bozulmalarda meydana gelen kötü tat ve koku mikrobiyal metabolitlerden kaynaklanmaktadır. Mikrobiyal kaynaklı bozulma neticesinde çok miktarda gıda tüketilmez hale gelmekte ve gıda endüstrisinde ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (5).

QS ile ilgili çalışmaların çok fazla olmadığı yıllarda QS mekanizmasının yalnızca patojen mikroorganizmalarda gözlemlendiği düşünülürken, ilerleyen zamanlardaki araştırmalarda gıda kaynaklı bozulmalarda rol alan proteolitik, lipolitik, sakkarolitik ve pektinolitik özelliklerin de QS mekanizmasının



dan kaynaklandığı ifade edilmektedir (10,11). Paketleme sistemlerinin raf ömrü üzerine etkisinin QS mekanizmasından kaynaklı olabileceği bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada farklı atmosfer koşullarında paketlenen et örneklerinde AHL ve AI-2 sinyal molekülleri tespit edilirken esansiyel kekik yağı ile modifiye edilmiş atmosfer koşulları sağlanan örneklerde bu moleküllere rastlanılmadığı ifade edilmiştir (27).

QS mekanizmasını tetikleyen veya engelleyen bileşenlerin incelenmesi ile mikroorganizmaların et ürünlerinde depolama koşulları sırasında gerçekleştirebileceği bozulmaların önüne geçilebileceği düşünülmektedir (5,27).

### Fermente gıdalarda Quorum Sensing

Fermente gıdalarda canlılığını sürdüren mikrobiyal floranın metabolik aktiviteleri bu gıdaların kalitesini belirlemektedir (28). Bu mikroorganizmaların bazıları kasıtlı olarak starter kültür olarak gıdaya eklenirken, diğerleri ham madde mikrobiyotasının bir parçasıdır. Mikroorganizmalar tarafından aktif olarak üretilen veya hücre lizisi ile gıda matrisine salınan enzimlere bağlı olarak fermente gıdaların lezzeti ve tekstürü şekillenmektedir (29). Mikroorganizmaların gelişimi ile kefir, yoğurt, ekşi hamur, olgunlaştırılmış peynir ve şarap gibi fermente gıdalar meydana gelmektedir (30). Bu mikrobiyal gelişim mekanizması karmaşık bir etkileşim sistemi ile gerçekleşmektedir. QS moleküllerinin aracılık ettiği bu mekanizma hem tür içi hem de türler arası gerçekleşmektedir (26).

Probiyotikler genellikle fermente ürünlere dahil edilerek tüketiciye sunulmaktadır. Şimdiye kadar çok az sayıda yayın, probiyotik mikroorganizmaların QS mekanizması üzerinedir. Probiyotik *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Lactobacillus salyarius*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus johnsonii* (31) suşlarının AI-2 aktivitesi gösterdiği yapılan literatür taramalarında tespit edilmiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, fermente gıdalarda çeşitli QS mekanizmalarının yer aldığını, bu da fermente gıdaların kalitesinin ilgili QS sistemlerini modüle ederek olumlu yönde etkilenebileceğini göstermiştir. Şimdiye kadar, QS'in fermente gıdalar üzerindeki etkisinin incelendiği araştırmalar sınırlı analitik araçlar sebebiyle genellikle basit gıda matrislerinde gerçekleştirilmiştir. Gelecekte, fermente edilmiş yiyecek ve içeceklerde QS hakkında artan bilgi, gıda endüstrisinin QS'i yiyecek ve içeceklerin kalitesini iyileştirmek için daha fazla kullanılabilir olacaktır.

### Gıda muhafazasında Quorum Quenching

QS sinyal moleküllerinin gıdaları bozma süreci ile ilgili etki mekanizmalarına dair ilgi günden güne artmaktadır. Pubmed'teki literatür taraması, QQ üzerine 1994 yılından günümüze kadar 13.497 adet araştırmanın yayınlandığını göstermektedir. Bu makalelerin yalnızca 1608 adeti gıdaları kapsamaktadır (32).

Süt ve süt ürünleri, *pseudomonas* gibi psikrotrofik bakteriler tarafından bozulmaya duyarlıdır. Gram-negatif bakteriler, hücre dışı proteinazlar, lipazlar, lesitinazlar ve glikosidazlar (14,33), Gram-pozitif psikrotrofik bakteriler ise fosfolipazlar üreterek bazı süt ürünlerinin bozulmasından sorumlulurlar (33). *Serratia proteamaculans* B5a suşu hücre dışı li-

politik ve proteolitik enzim üretiminde, AHL bazlı QS sisteminin regulonu altındadır. Bu da *Serratia* spp. tarafından sütün bozulmasında QS mekanizmasının etkili olduğunu göstermektedir. Yapılan başka bir çalışmada, pastörize sütün *S. proteamaculans* ile inokule edilerek oda sıcaklığında 18 saatlik inkübasyonu sonrası sütte bozulma gözlemlenirken, inaktif edilmiş *sprI* genine sahip mutant bir suş ile inokulasyonun bozulmaya neden olmadığı tespit edilmiştir (3).

Et ve et ürünlerinde de *Pseudomonas* spp. nedenli bozulmalar meydana gelmektedir. Aerobik koşullarda soğutulması gerçekleştirilen (3-8°C) bu hayvansal ürünlerin yüzeyinde QS gerçekleştiği tespit edilmiştir (34). Yine yapılan başka bir çalışmada modifiye atmosfer altında 5, 10, 15 ve 20°C'de muhafaza edilen domuz eti kıymasında AHL molekülleri tespit edilmiştir. AHL üretiminin 10 ve 15°C'de maksimum düzeyde olması Enterobacteriaceae ve Pseudomonadaceae gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (27).

Gıda güvenliğini sağlamak için kullanılan katkı maddeleri önemli bir rol oynamaktadır, ancak bazı tüketiciler bu maddeleri endişe kaynağı olarak görmektedir. "Clean label" kavramı, sentetik katkı maddeleri içermeyen, basit ve tanımlanabilir malzemelerle üretilen gıdaları ifade eder. Bu ihtiyaçları karşılamak için doğal maddeler üzerine çalışmalar artmaktadır (35). Ancak gıdalarda bakteriyel QS'yi hedef alan müdahaleler büyük ölçüde keşfedilememiştir. Laktik asit bakterileri (LAB) ve belirli probiyotik türleri, quorum quenching (QQ) aktivitesine sahip olmaları nedeniyle gıdalarda bozulmaya neden olan bakterilerin quorum sensing (QS) etkileyerek gıda koruma potansiyeli göstermektedir. Özellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsine ait probiyotiklerin, insan sağlığı ve hayvancılık üzerinde olumlu etkiler sağladığı literatürde yer almaktadır. QQ aktivitesinin, gıda kaynaklı patojenler arasında önemli bir yere sahip olan *Listeria monocytogenes* üzerinde belirgin etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu durum, gıda sanayisinde yenilikçi temizlik yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik fırsatlar sunmaktadır.

*Laktobasillus curvatus* B.67 ve *Laktobasillus plantarum* M.2'den elde edilen postbiyotiklerin *Listeria monocytogenes* patojenlerine karşı etkisinin incelendiği bir çalışmada elde edilen postbiyotiklerin metabolit bileşiminde antimikrobiyal etkileri olan çeşitli organik asitler tespit edilmiştir. Postbiyotiklerin pH 1-6 aralığında asidik şartlara tabii tutulduğunda antimikrobiyal aktivitelerini koruduğu ancak nötr pH'da (pH 7) tüm aktivitelerini kaybettiği ifade edilmiştir. Kullanılan postbiyotiklerin *L. monocytogenes*'in yüzme motilitesi ve biyofilm oluşturma gibi virülans faktörleri ile ilişkili çeşitli hedef genlerin ifadesi üzerinde önemli bir inhibe edici etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Sonuç olarak, her iki postbiyotik de gıda endüstrisinde *L. monocytogenes* biyofilm kontrolü için etkili biyokoruyucu olarak kullanılabilirliği düşünülmüştür (36).

Díaz ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada, laktik asit bakterilerinden elde edilen süpernatanın kloroform ekstraktında bulunan düşük polariteli bileşiklerin *Staphylococcus aureus*'un çeşitli virülans faktörlerini (özellikle biyofilm oluşumunu) engelleme yeteneğini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Ekstraktların, sekiz farklı diketopiperazin içerdiği ve bu bileşiklerin *S. aureus* biyofilmlerinin oluşumunu inhibe ettiği, olgun biyofilmleri bozduğu ve biyofilm

hücrelerinin metabolik aktivitesini azalttığı bulunmuştur. Bu çalışmadan elde edilen verilerle, patojenlerin virülansı üzerine etki edebilen, antibiyotiklere alternatif olan ürünlerin kullanımını teşvik etme hedefine katkı sağlamıştır (37).

Doğal katkı maddelerinden bir diğeri olan bitki özlerinin antimikrobiyal aktiviteleri şüphe götürmez olsa da birçok durumda antimikrobiyal işlevselliklerinin tam mekanizması iyi anlaşılamamıştır. Bitkilerin içerdiği fitokimyasalların kimyasal yapılarının sinyal moleküllerine benzerliklerinden dolayı sinyal reseptörlerini bozarak QS inhibitörü olarak görev alabilecekleri varsayılmaktadır (38).

*Litsea cubeba* esansiyel yağının temel bileşeni olan sitral, FFDA tarafından Genel Olarak Güvenli (GRAS) olarak kabul edilmiş olup, hoş kokulu limon aroması ve mükemmel antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle gıda endüstrisinde gıda katkı maddesi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada Sitral, *Staphylococcus aureus*'un virülans faktörlerini quorum sensing (QS) sistemi yoluyla düzenleyen genleri inhibe ederek, hemolitik aktiviteyi ve stafilkokal enterotoksin üretimini baskılamış olduğu gözlemlenmiştir. Domuz etinde *S. aureus* kontaminasyonunu azalttığı, lipid oksidasyonunu ve renk değişimini geciktirdiği ifade edilen Sitral et ürünlerinin korunmasında potansiyel bir doğal katkı maddesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir (39).

Balığın bozulmasında gül polifenollerinin quorum sensing (QS) inhibitörü olarak rolünün incelendiği bir çalışmada gül polifenollerinin balık bozulma bakterileri üzerinde belirli bir inhibe edici etkisi olduğu tespit edilmiştir. Balık kaplamasına ilave edilen bu polifenollerinin, üründe kalite düşüşünü yavaşlatabileceği ve en iyi etkinin 2 mg/mL olarak elde edildiği bildirilmiştir. Çalışma, gül polifenollerini gibi doğal QS inhibitörlerinin balık muhafazasında kullanılabilirliğini doğrulamış olsa da bu bileşenlerin bozulma bakterileri üzerindeki inhibitör etkisinin altta yatan mekanizmasının daha fazla araştırılması gerekmektedir (40).

Geleneksel yöntemlerin dışında hücreler arası iletişimin engellenerek mikroorganizmaların gelişiminin durdurulması sonucu bozulmaların azaltılarak gıdaların raf ömrünün uzatılabileceği ve gıda kaynaklı hastalıkların kontrol altına alınabileceği düşünülmektedir (41).

## SONUÇ

Son elli yıla kadar mikroorganizmaların iletişim mekanizmasının olmadığı düşünülürken, yapılan araştırmalarda birbirleri ile iletişim halinde oldukları tespit edilmiştir. Ortama yaydıkları sinyal molekülleri aracılığı ile iş birliği içinde kaldıkları bu mekanizmaya Quorum sensing denilmektedir. QS; biyo-film oluşumu, virulans ekspresyonu, sekonder metabolit sentezi ve stres adaptasyon mekanizmaları gibi birçok süreçte mikroorganizmalar arasında gerçekleşen iletişim mekanizması olarak bilinmektedir. Quorum sensing'in keşfedildiği yıllarda mekanizmanın yalnızca patojenitenin oluşmasında etkili olduğu düşünülürken, son yıllarda mikrobiyal gıda bozulmada aktif rol oynadığı düşünülmektedir. Gıda kaynaklı patojen ve bozulma mikroorganizmaları gıda güvenliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu mekanizmanın önüne geçmek, hem gıdanın raf ömrünün uzamasına hem de halk sağlığının korunmasına yardımcı olacaktır. Mikroorganizmalar arası bu iletişim sistemi mekanizması detaylı olarak anlaşıldığında

gıda endüstrisinde sorun haline gelen patojen ve bozulma mikroorganizmalarının gelişiminin kontrol altına alınması için yeni antimikrobiyal maddeler geliştirilerek hem gıda güvenliğinin sağlanabileceği hem de ekonomik kayıpların da önüne geçilebileceği düşünülmektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

## KAYNAKLAR

1. Neelson K, Platt H, Hastings JW (1970). Cellular Control of the Synthesis and Activity of the Bacterial Luminescent System. *J Bacteriol.*, 104:313– 22.
2. Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP (1994). Quorum Sensing in Bacteria: the LuxR-LuxI Family of Cell Density-Responsive Transcriptional Regulators. *J Bacteriol.* 176:269-275.
3. Christensen AB, Riedel K, Eberl L, ve ark. (2003). Quorum-Sensing-Directed Protein Expression in *Serratia Proteamaculans* B5a. *Microbiology.* 149:471-483.
4. Cloak OM, Solow BT, Briggs CE, Chen CY, Fratamico PM. (2002). Quorum Sensing and Production of Autoinducer-2 in *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* O157: H7, and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in Foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4666-4671.
5. Gram L, Christensen AB, Ravn L, Molin S, Givskov M (1999). Production of Acylated Homoserine Lactones by Psychrotrophic Members of the Enterobacteriaceae Isolated from Foods. *Appl Environ Microbiol.* 65:3458– 63.
6. Song XN, Cheng YY, Li WW ve ark. (2014). Quorum Quenching is Responsible for the Underestimated Quorum Sensing Effects in Biological Wastewater Treatment Reactors. *Bioresour Technol.* 171:472-476.
7. Ulrich RL (2004). Quorum Quenching: Enzymatic Disruption of N-acylhomoserine Lactone-Mediated Bacterial Communication in *Burkholderia thailandensis*. *AEMS.* 70:6173-6180.
8. Czajkowski R, Jafra S (2009). Quenching of Acyl-homoserine Lactone-dependent Quorum Sensing by Enzymatic Disruption of Signal Molecules. *Acta Biochim Pol.* 56:1-16.
9. Smith JL, Fratamico PM, Novak JS (2004). Quorum Sensing: a Primer for Food Microbiologists. *J Food Protect.* 67:1053-70.
10. Loureiro V (2000). Spoilage Yeasts in Foods and Beverages: Characterisation and Ecology for Improved Diagnosis and Control. *Food Res Int.* 33:247– 56.
11. Ragaert P, Devlieghere F, Debevere J (2007). Role of Microbiological and Physiological Spoilage Mechanisms During Storage of Minimally Processed Vegetables. *Postharvest Biol Technol.* 44:185– 94.
12. Rutherford ST, Bassler BL (2012). Bacterial Quorum Sensing: Its Role in Virulence And Possibilities for Its Control. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2(11):a012427.
13. Podbielski A, Kreikemeyer B (2004). Cell Density-Dependent Regulation: Basic Principles and Effects on the Virulence of Gram-Positive Cocci. *Int J Infect Dis.* 8:81- 95.
14. Dong YH, Zhang XF, Soo LHM, Greenberg EP, Zhang LH (2005). The Two-Component Response Regulator Pprb Modulates Quorum-Sensing Signal Production and Global Gene Expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol.* 56:1287-1301.
15. Waters CM, Bassler BL (2005). Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 21:319– 46.

16. More MI, Finger LD, Stryker JL, ve ark. (1996). Enzymatic Synthesis of a Quorum-Sensing Autoinducer Through Use of Defined Substrates. *Science*, 272:1655-1658.
17. Schuster M, Urbanowski ML, Greenberg EP (2004). Promoter Specificity in *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Revealed by DNA Binding of Purified LasR. *Proc Nat Acad Sci*. 101:15833-15839.
18. Huang JJ, Han JJ, Zhang LH, Leadbetter JR (2003). Utilization of Acyl-homoserine Lactone Quorum Signals for Growth by a Soil Pseudomonad and *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Appl Environ Microbiol*. 69:5941:5949.
19. Zhang HB, Wang C, Zhang LH (2004). The Quorumone Degradation System of *Agrobacterium tumefaciens* is Regulated by Starvation Signal and Stress Alarmone (p)ppGpp. *Mol. Microbiol.*, 52(5):1389-1401.
20. Givskov M, de Nys R, Manefield M, ve ark. (1996). Eukaryotic Interference with Homo-serine Lactone Mediated Prokaryotic Signaling. *J Bacteriol*. 178:6618-6622.
21. Manefield M, Rasmussen TB, Hentzer M, ve ark. (2002). Halogenated Furanones Inhibit Quorum Sensing Through Accelerated LuxR Turnover. *Microbiology*. 148:1119-1127.
22. Jamuna Bai A, Rai VR, Pradeepa VS (2011). Evaluation of the Antimicrobial Activity of Three Medicinal Plants of South India. *Malays J Microbiol*. 7(1):14-18.
23. Annous BA, Fratamico PM, Smith JL (2009). Quorum Sensing in Biofilms: Why Bacteria Behave the Way They Do. *J Food Sci*. 74:24-37.
24. Srey S, Jahid IK, Ha SD (2013). Biofilm Formation in Food Industries: a Food Safety Concern. *Food Control*. 31:572-585.
25. Uludağ Altun H, Şener B (2008). Biyofilm İnfeksiyonları ve Antibiyotik Direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 39:82-88.
26. Bai AJ, Rai VR (2011). Bacterial Quorum Sensing and Food Industry. *Compr Rev Food Sci*. 10:183-193.
27. Blana V, Stamatiou A, Michaelidis C, Stergiou V, Nychas EGJ (2007). Qualitative evaluation of QS compounds produced in pork and beef samples at different storage conditions; possible effect on kinetic characteristics on spoilage bacteria. Athens, Greece : Second Panhellenic Congress: Biotechnology and Food Technology.
28. Josephsen J, Jespersen L (2005). Fermented food and starter cultures. In *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*, vol. 4. Edited by Hui YH. USA: CRS Taylor and Francis, pp.1-20.
29. Smid EJ, Lacroix C (2013). Microbe–Microbe Interactions in Mixed Culture Food Fermentations. *Curr Opin Biotechnol*. 24:148-154.
30. Rysse M, Johansen P, Al-Soud WA, Sørensen S, Arneborg N, Jespersen L (2015). Microbial Diversity and Dynamics Throughout Manufacturing and Ripening of Surface Ripened Semi-Hard Danish Danbo Cheeses Investigated by Culture-Independent Techniques. *Int J Food Microbiol*. 215:124-130.
31. Moslehi-Jenabian S, Vogensen FK, Jespersen L (2011). The Quorum Sensing LuxS Gene is Induced in *Lactobacillus acidophilus* NCFM in Response to *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol*. 149:269-273.
32. PubMed (2024) <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Quorum+Quenching++> Erişim tarihi: 03.09.2024
33. Stepaniak L. (2004). Dairy Enzymology. *Int J Dairy Technol*. 57:153– 71.
34. Jay JM, Vilai JP, Hughes ME (2003). Profile and Activity of The Bacterial Biota of Ground Beef Held from Freshness to Spoilage at 5–7 °C. *Int J Food Microbiol*. 81:105–11.
35. Dinçoğlu AH, Çalışkan Z (2023). Lavanta ve Özlerinin Gıdalarda Kullanımı TEMEL H. (Editor). Sağlık Bilimleri Açısından LAVANTA (227-234) Antalya: Nobel Tıp
36. Hossain MI, Mizan MFR, Roy PK, Nahar S ve ark. (2021). *Listeria monocytogenes* Biofilm Inhibition On Food Contact Surfaces by Application of Postbiotics from *Lactobacillus curvatus* B. 67 and *Lactobacillus plantarum* M. 2. *Food Research International*, 148, 110595.
37. Díaz MA, Vega-Hissi EG, Blázquez MA, Alberto MR, Arena ME (2024). Restraining *Staphylococcus aureus* Virulence Factors and Quorum Sensing through Lactic Acid Bacteria Supernatant Extracts. *Antibiotics*, 13(4), 297.
38. Rios JL, Recio MC (2005). Medicinal Plants and Antimicrobial Activity. *J Ethnopharmacol*. 100:80-84.
39. Shi C, Liu X, Chen Y ve ark. (2024). Inhibitory Effects of Citral on the Production of Virulence Factors in *Staphylococcus aureus* and Its Potential Application in Meat Preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 413, 110581.
40. Zang Y (2024). Application of Rosette Quorum Sensing Inhibitor in Fish Preservation. *Frontiers in Science and Engineering*. Volume 4 Issue 1, 2024
41. Machado I, Silva LR, Giaouris ED, Melo LF, Simões M (2020). Quorum Sensing in Food Spoilage and Natural-based Strategies for its Inhibition. *Food Res Int*. 127:108754.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Zühal ÇALIŞKAN

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık bilimleri

enstitüsü, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı,

Burdur, TÜRKİYE

E-posta: zuhalcaliskan87@gmail.com



## Ağır Metal Maruziyetinin Detoksifikasyonunda Tıbbi Aromatik Bitkilerin Terapötik Etkileri

Mustafa NİZAMLIOĞLU<sup>1,a,✉</sup> Hasan Uğur ÖNCEL<sup>2,b</sup> Fatma NİZAMLIOĞLU<sup>3,c</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>İstanbul Gedik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>İstanbul Gelişim Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İstanbul, Türkiye.

<sup>a</sup>ORCID 0000-0002-2104-784X; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0002-6900-1955; <sup>c</sup>ORCID: 0000-0003-2544-7768

Geliş Tarihi/Received  
17.05.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
04.10.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

Ağır metaller için standart bir tanım bulunmamasıyla birlikte, nispeten yüksek yoğunluklara, atom ağırlıklarına veya atom numaralarına sahip metaller grubunda yer alan elementlerdir. Günümüzde ağır metallerin endüstri, tarım, tıp ve teknolojiye çeşitli kullanımları, doğada yaygın bir dağılım göstermelerine yol açarak insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkileri konusunda endişeleri artırmıştır. Bu yüzden modern yaşam ile birlikte ne yazık ki sadece belirli işlerde çalışanlar değil aynı zamanda günlük hayatın içinde de ağır metallerle maruz kalma yaşanmaktadır. Ağır metaller, insanlarda zamanla "vücut metal yükü" oluşturur. Sonuç olarak, ağır metallerle sindirim, solunum ve deri teması yoluyla maruz kalınması kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik ve nörodavranışsal anormallikler, diyabet, kan anormallikleri ve çeşitli kanser türleri gibi çeşitli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Sağlık problemlerinin birçoğunun arkasında araştırılması gereken ilk şeylerden biri ve belki de en önemlisi vücutta ağır metal zehirlenmesi olup olmadığıdır. Ağır metal zehirlenmesinin vücudun çeşitli organlarında yol açtığı geniş çaplı hasar nedeniyle, ağır metallerle zehirlenmeye yönelik tedavi yöntemlerinin araştırılması ve belirlenmesi çok önemlidir. Ağır metallerin vücuttan uzaklaştırılması için en yaygın yöntem kimyasal şelatörlerin uygulanmasıdır. Son zamanlarda şifalı bitkiler, daha az yan etkiye sahip olmaları nedeniyle ağır metal zehirlenmelerinde potansiyel tedavi yöntemi olarak araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Bu çalışmada, *Allium sativum* (sarımsak), *Silybum marianum* (deve dikenini), *Coriandrum sativum* (kişniş), *Ginkgo biloba* (gingko), *Curcuma longa* (zerdeçal), fitokelatinler, triphala, bitkisel lifler ve *Chlorophyta* (yeşil algler) gibi şifalı bitkilerin ağır metal zehirlenmesini tedavi etme potansiyeli PubMed ve SCOPUS veri tabanlarından elde edilen yayınlara dayanarak ve yazarların mesleki ve kişisel deneyimleri ele alınarak incelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ağır metal, detoksifikasyon, şelasyon, tıbbi aromatik bitki

### Therapeutic Effects of Medicinal Aromatic Plants in Detoxification of Heavy Metal Exposure

#### Abstract

Although there is no standard definition for heavy metals, they are elements in the group of metals with relatively high densities, atomic weights or atomic numbers. Today, the various uses of heavy metals in industry, agriculture, medicine and technology have led to their widespread distribution in nature, raising concerns about their effects on human health and the environment. Therefore, with modern life, unfortunately, not only those working in certain jobs but also in daily life are exposed to heavy metals. Heavy metals form a "body metal burden" in humans over time. As a result, exposure to heavy metals through ingestion, inhalation and skin contact causes various health problems such as cardiovascular diseases, neurological and neurobehavioural abnormalities, diabetes, blood abnormalities and various types of cancer. One of the first and perhaps the most important thing to investigate behind many of the health problems is whether there is heavy metal poisoning in the body. Due to the extensive damage caused by heavy metal poisoning to various organs of the body, it is very important to investigate and determine the treatment methods for heavy metal poisoning. The most common method for removing heavy metals from the body is the application of chemical chelators. Recently, medicinal plants have attracted the attention of researchers as a potential treatment method for heavy metal poisoning due to their less side effects. In this study, the potential of medicinal plants such as *Allium sativum* (garlic), *Silybum marianum* (milk thistle), *Coriandrum sativum* (coriander), *Ginkgo biloba* (gingko), *Curcuma longa* (turmeric), phytochelatin, triphala, plant fibres and *Chlorophyta* (green algae) to treat heavy metal poisoning was examined based on publications obtained from PubMed and SCOPUS databases and the professional and personal experiences of the authors.

**Key Words:** Aromatic medicinal plants, chelation, detoxification, heavy metal

## GİRİŞ

### Ağır Metal Zehirlenmesi

Ağır metallerin sanayide, tarımda, tıpta ve teknolojiye çok çeşitli kullanımları, doğada yaygın bir şekilde kirlenmelere

yol açmış, insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkileri konusunda endişeler yaratmıştır. Ağır metallerden kaynaklanan toksisitenin şiddeti, temas edilen kişinin yaşı, cinsiyeti, genetiği ve beslenme durumunun yanı sıra doz, temas şekli, kimyasal yapısı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Arsenik, krom, kad-

miyum, kurşun ve civa yüksek derecede toksisiteyi nedeniyle halk sağlığı açısından önemli metallerdir. Bu metaller, daha düşük dozlarda bile organ yetmezliğine yol açabilen sistematik zehirlenme ajanları olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle son yıllarda bu ağır metallerle halk sağlığı ve çevre kirliliğine yönelik kaygılar artmaktadır. İnsanların ağır metallerle maruz kalması, endüstrideki yaygın kullanımları nedeniyle son yıllarda artmıştır. Ayrıca madencilik, döküm ve diğer ilgili endüstriyel alanlarda çevre kirliliği çok önemlidir (1,2).

Metalik iyonlar, DNA hasarı ve yapısal değişikliklerden kaynaklanan apoptoz ve karsinogenezise yol açan DNA ve nükleer proteinler gibi hücresel bileşenlerle etkileşime girebilir (3). Laboratuvar araştırmaları, reaktif oksijen türlerinin ve oksidatif stresin arsenik, kadmiyum, krom, kurşun ve civa gibi ağır metallerin toksisitesinde ve kanserojenliğinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Bu metallerin genel sağlık üzerinde önemli bir etkisi vardır,

Bazı ağır metaller düşük dozlarda bile çoklu organ sisteme zarar vererek sistematik toksisiteyi göstermektedir (4). Arsenik, kadmiyum, krom, kurşun ve civa çevre kirliliğine önemli ölçüde katkıda bulunur. Bu elementler insan vücuduna ağız, solunum ve cilt teması yoluyla girerek kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik ve nörodavranışsal anormallikler, diyabet, kan anormallikleri ve çeşitli kanser türleri gibi çeşitli sağlık sorunlarına neden olurlar. Bu metallerin insan sağlığı üzerindeki etkileri metalin cinsine ve kimyasal türüne bağlıdır. Ayrıca bu etkiler zaman-doza bağlıdır. Çeşitli çalışmalar, ağır metallerle maruz kalmanın insan sağlığı üzerinde uzun vadeli sorunlara neden olduğunu göstermiştir. Bu metallerin bazıları hem akut hem de kronik toksisitelere neden olur. Son çalışmalar, bu toksik elementlerin normal metabolik fonksiyonlarını bozmak için demir, kalsiyum ve çinko gibi fizyolojik açıdan önemli bazı metallerle etkileşime girebileceğini bildirmiştir (5).

Organizma tarafından metabolize edilemeyen ağır metaller vücutta toksik etki yapacak seviyelere kadar birikim yapabilirler. Kükürt bakımından zengin bileşikler ağır metal zehirlenmesini engellenmesi yönünden büyük önem taşımaktadır. Toksikite mekanizmasına göre, ağır metaller tercihen proteinlerin ve enzimlerin *sülfidril* (-SH) radikalleri ile birleşir ve işlevlerini inhibe eder. Biyokimya, farmakoloji, tıp ve halk sağlığı alanlarında ağır metal zehirlenmelerinin önlenmesi ve tedavisi için -SH radikali içeren şelatlama ajanlarının koruyucu etkisi üzerine aktif araştırmalar yürütülmektedir. Başlangıçta, British Anti Lewisite (BAL) ve penicillamine gibi -SH bileşikleri ağır metal zehirlenmesi için çare olarak geliştirilmiştir. Daha sonra bunu, 2,3-dimerkaptosüsinik asit, N-asetil-DL-penisilamin ve politiyol resin gibi daha az toksisite ve yan etkiye sahip bileşiklerin geliştirilmesi izlemiştir (6-8).

Barsak mikrobiyotası ve ağır metal maruziyeti arasında karşılıklı ilişki bulunmaktadır. Ağır metaller, barsak mikrobiyotasına doğrudan zarar verebilir. Özellikle barsak mikrobiyotasının çeşidini ve işlevselliğini etkileyerek disbiyozise neden olmaktadır. Mikrobiyota ağır metalleri, daha az toksik formlara dönüştürerek insanlardaki toksik etkileri azaltma etkisine sahiptir. Barsak mikrobiyotası ağır metalleri bağlama kapasitesine sahip olup, ağır metallerin sistemik dolaşıma geçmesini ve dokularda birikmesini önlemektedir (9). Doğal

antioksidanlar, ağır metallerin toksik etkilerini azaltmakta veya tamamen ortadan kaldırmaktadır. Bitkilerin bileşiminde yaygın olarak bulunan antosiyaninler, flavonoller ve flavonoidlerin ağır metal kaynaklı toksisitelere karşı koruyucu etkilere sahip olduğu bulunmuştur (10,11).

### Ağır Metal Zehirlenmelerinin Tedavisinde Etkili Tıbbi ve Aromatik Bitkiler

Ağır metallerin detoksifikasyon süreçlerinde besinlerin rolleri araştırılmaya devam edilmektedir. Vücuttan toksinlerin şelatlanması ve atılımını sağlamak için hücre deneyleri, deney hayvanı ve klinik çalışmalardan yararlanılmaktadır. Birçok besin, ağır metal detoksifikasyon özelliklerine sahip bir veya daha fazla antioksidan içerir. Bu doğal antioksidanlar arasında karotenoidler, flavonoidler, fenolik bileşikler, izoflavonlar ve tokoferoller ilk sırada yer almaktadır. Bitkilerdeki antioksidatif fenolik bileşikler serbest radikalleri yakalayarak antioksidan özellik gösterirken, flavonoidler serbest radikalleri temizlemekte ve ağır metalleri şelatlayabilmektedir. Naringenin gibi bazı flavonoidler, metalleri seçici olarak bağlayabilmektedirler (12-16).

Flavonoidler kadmiyum ile şelat yaparak kadmiyumun organizmada birikmesini engeller ve aynı zamanda diğer faydalı metal iyonlarının miktarlarının da değişmemesini sağlarlar. Roopha ve Padmalathat (17) tarafından yürütülen ve 17 bitkisel üründen oluşan bir karışımın deney hayvanlarında kadmiyum toksisitesi üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada, bitkisel karışımdaki biyoaktif bileşiklerin onarıcı ve sinerjik etkilerinin göstergesi olarak antioksidan enzimlerin kadmiyum kaynaklı inhibisyonunun tersine çevrildiği ortaya konmuştur. Dua ve ark.(18) *Ipomoea aquatica* ve *Enhydra fluctuans* adlı iki bitkinin kadmiyum kaynaklı toksisite üzerindeki etkilerini oksidatif savunma ve anti-apoptotik mekanizmalara odaklanarak araştırmışlardır. Çalışmada, kadmiyum tedavisinin farelerin kalp, beyin, karaciğer, böbrek ve testislerde önemli ölçüde yüksek Cd biyoakümüülasyonu ve oksidatif stres ile sonuçlandığı ortaya konmuştur. Başka bir çalışmada Kim ve ark. (19), *Dendropanax morbiferus* ekstraktının böbreklerden kadmiyum atılımını artırdığını ve sıçanlarda antioksidan seviyelerini yükselterek kadmiyumdan kaynaklanan oksidatif hasarı önlediğini göstermiştir. Xia ve ark. (20), *Smilax glabra* ekstresinin tek başına veya meso-2,3-dimerkaptosüsinik asit ile birlikte uygulanmasının sıçanlarda kurşunun oksidatif stres ve kurşun toksisitesi üzerindeki etkilerine karşı koruyucu rolünü araştırmıştır. *Smilax glabra* ekstresinin tek başına veya meso-2,3-dimerkaptosüsinik asit ile birlikte uygulanması, sıçanlarda kurşun kaynaklı oksidatif stres ve kurşun toksisitesi üzerinde koruyucu etkiler göstermiştir

Köri (*Murraya koenigii*) yaprakları, kadmiyumdan kaynaklanan toksisiteye karşı antioksidan ve potansiyel şelatör olarak görev yapan flavonoidleri ve fenollerini içermektedir. Domatesin (*Solanum lycopersicum*) ağır metallerle maruz kaldığında metal şelatlayıcı proteinler ürettiği ve ağız yoluyla alındığında sıçan karaciğerinde kadmiyum, kurşun ve civa birikimini önemli ölçüde engellediği, *Moringa oleifera*'nın, Pb kaynaklı toksisiteyi azalttığı, bir alg olan spirulina'nın (*Spirulina platensis*), antioksidan etkisi sayesinde Cd'un toksik et-

kilerini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Biberiye bileşiminde bulunan rosmarinik asit, ağır metalleri şelatlama özelliğine sahiptir (17,21).

Bu şekilde hareket edebilen anahtar bitkiler; Sarımsak, deve dikenini, kişniş, çörek otu, zerdeçal, tahin (susam) aşada kısaca tartışılmıştır:

### Sarımsak (*Allium sativum*)

Sarımsak (*Allium sativum*) ana amino asidi olarak allin içeren bitkisel bir ilaçtır. Temel baharatlardan biri olarak kullanılan ve bol miktarda dialildisülfid, pro-pilaldisülfid gibi -S-S- bileşikleri ile glutathione, thiolactic acid, cystine, cysteine, homocystine ve vitamin B gibi -SH bileşikleri içeren sarımsağın, metallerle reaksiyona girerek ve sülfür bileşikleri üreterek insan vücudunda ağır metal zehirlenmesine karşı koruyucu bir etki sağladığı bilinmektedir (22). Sarımsağın yarattığı koku-dan kükürt bileşenleri sorumludur. Sarımsak, soğan, pırasa ve frenk soğanı gibi sebzeler, karaciğer tarafından kurşun ve arsenik gibi ağır metallerin temizlenmesine katkıda bulunan organosülfür bileşikleri içerir. Ayrıca karnabahar brokoli, lahanası, brüksel lahanası, alabaş ve şalgam gibi turpgil sebzeler zengin kükürtü bileşiklerden zengindir.

Sarımsak, çok çeşitli durumları ve hastalıkları önlemek ve tedavi etmek için eskiden beri bitkisel bir ilaç olarak kullanılmıştır. Kanıtlara göre, Orta Doğu ve Doğu Asya'da sarımsak, bronşit, hipertansiyon, tüberküloz, karaciğer rahatsızlıkları, bağırsak solucanları, romatizma, diyabet gibi hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır. Sarımsağın kalp ve damar hastalıklarını önleyici, kan şekerini ve kolesterolü düşürücü, bakteriyel, viral, mantar ve paraziter enfeksiyonlara karşı etkili olması nedeniyle harika bir şifalı bitki olduğu bildirilmektedir.

Ağır metaller, oksidatif stresin dolaylı induksiyonu yoluyla dokulara zarar verebilir. Sarımsağın karaciğeri koruyucu etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Sırasıyla kadmiyum, civa ve kurşun zehirlenmelerinde yüksek etkiye sahiptir. Toksikite mekanizmasına göre ağır metaller tercihen protein ve enzimlerin -SH radikalleri ile birleşerek fonksiyonlarını inhibe eder. Ağır metal zehirlenmelerinin önlenmesi ve tedavisi için -SH radikali içeren şelatlayıcı ajanların koruyucu etkisi üzerine biyokimya, farmakoloji, tıp ve halk sağlığı alanlarında aktif araştırmalar yapılmaktadır. Başlangıçta, 2.3 dimerkapto-a-propanol BAL ve Penicillamine gibi -SH bileşikleri, ağır metal zehirlenmesi için çare olarak geliştirilmiştir. Bunu daha sonra daha az toksik ve daha geniş etkili olan 2.3-dimercaptosuccinik asit N-asetil-DL penisilamin ve politiol reçine izlemiştir. Kore mutfağında temel baharatlardan biri olarak kullanılan ve bol miktarda dialildisülfid, propilaldisülfür ve glutathione, tiyolaktik asit, sistin ve -SH bağları içeren sarımsağın metallerle reaksiyona girerek kükürt bileşikleri oluşturdukları, ağır metal zehirlenmelerine karşı insan vücudunda koruyucu etki sağladıkları gözlemlenmiştir (22-24).

Soğan ve sarımsak, arsenik, kadmiyum, demir, civa ve kurşun gibi toksik ağır metallerin temizlenmesini artırmak için alternatif bir iyileştirme olarak kullanılabilir. Sarımsak C vitamini, B6 vitamini ve manganez açısından zengindir. Özel olarak organosülfür bileşikleri ve allicin, sarımsağın temel koruyucu özelliklerini sağlayan biyolojik olarak aktif bileşenlerdir. Bu bileşenler, ağır metallerin detoksifikasyonuna katkıda

bulunabilirler çünkü bunlar pozitif yükleri barındıran kimyasal bileşiklerin çoğuna bağlanabilir.

Sarımsak özünün, sıçanlarda kurşun kaynaklı hepatik, nöral, renal ve hematik toksisiteyi hafiflettiği ve doku kültürü modellerinde kadmiyum kaynaklı mitokondriyal hasar ve apoptozise karşı koruduğu bildirilmiştir (25, 26). Sarımsak suyunun, üreme sisteminde kurşunun neden olduğu azaltılmış sperm hareketliliğini normal seviyelere çevirdiği bildirilmiştir (27).

Farelerde yapılan çalışmalarda (22), sarımsağın ağır metal zehirlenmelerine karşı koruyucu etki gösterdiği ve özellikle kadmiyum veya organik civa ile 12 hafta boyunca birlikte uygulanmasıyla, ağır metallerin karaciğer, böbrek, kemik ve testislerde (kadmiyum zehirlenmesinin hedef organları) birikimini azalttığını ortaya koymuştur. Ayrıca düzenli sarımsak tüketiminin histopatolojik hasarları azalttığı ve serum alkalin fosfat enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Daha yüksek dozda sarımsak, metil civa ile tedavi edilen hayvanlarda beyinde civa birikiminde azalmaya neden olur. Bu koruyucu etki, sarımsak tarafından vücuttan atılan civa miktarının artması sonucu beyine daha az miktarda civa emilmesinden kaynaklanmaktadır. Sarımsağın koruyucu etkisi muhtemelen vücuttaki ağır metallerle birleşen ve safra yoluyla dışarıya atılımı destekleyen kükürt bileşiklerinden kaynaklanmaktadır. Çalışmalar ayrıca sarımsağın solunum yoluyla alınan kurşunun emilimini sınırlayabildiğini göstermiştir (28).

Kan kurşun seviyeleri yüksek olan 117 akü dönüşüm işçisi üzerinde sarımsak ve d-penisilaminin yan etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada, kan kurşun seviyesinin her iki tedavide de azaldığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, sarımsak tedavisi ile sistolik basınç normale döndürürken, D-penisilamin tedavisinin böyle bir etki göstermediği belirlenmiştir. Ayrıca sarımsakla yapılan tedavide, D-penisilamin ile görülen yan etkilerin görülmediği ortaya konmuştur (29). Sarımsağın kadmiyum ve kurşun toksisitesine karşı koruyucu özelliği, dialil tetrasülfid gibi organo-kükürt bileşiklerinin sağladığı antioksidan kabiliyetine, kükürt içeren amino asitler/serbest karboksil ve amino gruplu bileşiklerin sağladığı şelatlama kabiliyetine bağlanabilir. Bu bileşikler kurşun veya kadmiyumun vücuttan atılımını teşvik eder ve S-alil sistein ve S-allil merkaptosistein gibi kükürt içeren amino asitleri ile kadmiyum ve kurşunun bağırsaklardan emilimini önler (30).

### Devedikeni

Deve dikenini olarak da bilinen *Silybum marianum* Orta Doğu, Kuzey Afrika, Akdeniz Bölgesi ve Avrupa'nın bazı bölgelerine özgüdür. Ancak, ancak dünyanın her yerinde bulunabilen ve 2000 yıldan fazla bir geçmişe sahip olan süt devedikeni antik Yunan doktorlar tarafından yılan sokmalarına çare olarak önerilmiştir. On altıncı yüzyılda, İngiliz şifalı bitki uzmanı John Gerard, "Bitkilerin Anatomisi" adlı eserinde deve dikeninden anti-depresan bir bitki olarak bahsetmiştir. Süt devedikeni tüm dünyada bitkisel bir ilaç olarak kullanılmıştır. Antik Yunan ve Roma'daki ilk botanikçiler ve eczacıların çoğu, bildiğimiz gibi karaciğerle ilgili komplikasyonlar olan safrayla ilgili sorunlara yardımcı olmak için devedikeni kullanmışlardır. Ayrıca geleneksel Çin tıbbında devedikeni, ısıyı temizleyen ve

toksisiteyi azaltan şifalı bitkiler kategorisine aittir. Bu kategorideki bitkiler, geleneksel Çin tıbbında iç ısı olarak adlandırılan enfeksiyonları temizlemek için kullanılır.

*Silybum marianum* silybin silychristin, silydianin ve 2,3 dehidro türevleri gibi flavonoidler içerir, (30). Oral silybin tüketimi, özellikle silybin-β siklodekstrin, farelerde karaciğeri demir kaynaklı toksisiteye karşı korur. Silybin tedavisi, peritoneal portal hepatositlerde ek malondialdehitte değiştirilmiş proteinlerin birikmesini azaltır (oksidatif ve lipid proksidatif hasarları azaltır).

Silybin ayrıca karaciğer fonksiyon bozukluklarını azaltır. Silybin'in koruyucu özellikleri muhtemelen dikkate değer demir bağlama yeteneği olarak açıklanabilir.

Bir grup İtalyan araştırmacı, demir bağlama için silibin içeriği kullanılmasını önermişlerdir (silibin, silimarin veya flavonolignan kompleksinin bir bileşenidir). Araştırmacılar, silibinin asidik pH'da bile ferrik demire güçlü bir şekilde bağlandığını belirlemişlerdir. Biyo yararlanımı ile ilgili olarak, silibin ağır metallerin atılımını artırma potansiyeline sahip gibi görünmektedir (31).

Ek olarak, C vitamini (askorbik asit) ve silimarinin eşzamanlı tüketimi, sıçan karaciğeri tarafından kurşunun daha iyi detoksifikasyonu ile sonuçlanır. Toluen ve ksilenden kaynaklanan karaciğer problemleri olan hastalarda silimarin karaciğer fonksiyonlarını iyileştirebilir (32).

### **Kişniş (*Coriandrum sativum*)**

Bu bitkinin tohumu, uçucu yağlar, kimyasal bileşim ve biyolojik aktiviteleri açısından oldukça fazla araştırılmıştır. Kişniş daha çok sindirim sistemi rahatsızlıklarının giderilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra analjezik, antioksidan, antimikrobiyal, hipoglisemik, hipolipidemik, anksiyolitik, anti-inflamatuar, anti-konvülsif ve kanser karşıtı olarak da yaygın olarak kullanılmaktadır (33).

Civanın vücuttan doğal atılımı kısmen idrar, daha çok bağırsak ve çok az miktarda da saç üzerinden olmaktadır. Doğal şelatörlerden olan kişniş barsak yolu ile atılımı destekler. Kimyasal şelatörlerin kişniş'e üstünlükleri şelasyonun derecesi olup bunlar özellikle akut ve ağır zehirlenmelerde tercih edilmektedir. Kişniş gibi doğal ajanlar ise daha çok kronik toksisitede kullanılmakta ve vücuttan ağır metal atılımının yavaş, güvenli ve böbrekleri koruyarak olmasını sağlamaktadırlar (34). Kişniş (Koriander) kan-beyin bariyerini geçebilen, beyin veya sinir sisteminde depolanan civa, kadmiyum, kurşun ve alüminyum gibi ağır metalleri mobilize edip oradan çıkartabilen bilinen tek ajandır (35-38). Hücre içinden (beyin, periferik sinir sistemi ve diğer dokular) çıkardığı ağır metallerin bağ dokusuna geçmesini yani yer değiştirmesini sağlar. Ağır metalleri hücre içinden çıkarma kapasitesi vardır (39,40).

Ağır metallerin detoksifikasyonunda kişnişin etkisini araştırmak yapılan bazı çalışmalarda, bu bitkinin ağır metallerle zehirlenmiş bazı hastalarda civa klirensini iyileştirmeye yardımcı olabileceğini belirtilmiştir. Ancak, sarımsağın Allisin'i ve devedikeninin Silybin'i ile karşılaştırıldığında, kişnişin ağır metallerle daha zayıf bir bağ kurduğunu belirtilmektedir (41).

### **Zerdeçal (*Turmeric curcumin*)**

Zerdeçal, bilimsel olarak bilinen bir bitkinin köküdür. Zerdeçal tamamen güvenli ve harika bir baharat olsa da, vücut sistemimiz için bileşeni olan kurkumin kadar yararlı değildir. Kurkumin, zerdeçal baharatında bulunan doğal olarak oluşan bir kimyasal bileşiktir.

Kurkumin, bazı bitkiler tarafından üretilen parlak sarı bir kimyasal maddedir. Zingiberaceae zencefil familyasının bir üyesidir. Kurkumin, tarihsel olarak Ayurveda tıbbında çeşitli insan hastalıklarına karşı kullanılmıştır. Zerdeçalın anti-hepatoksik etkileri iyi belgelenmiştir ve literatüre göre kurkumin, arsenik, kadmiyum, krom, kurşun ve civa gibi çevresel toksik maddelerin neden olduğu karaciğer toksisitesini azaltır. Karaciğerin antioksidan kapasitesini geri kazanmak ve karaciğer enzimlerini oksidatif strese karşı korumak için histolojik hasarı, lipid peroksidasyonunu önler ve glutatyon seviyesini düzeltir. Kurkumine atfedilen koruyucu etkilerin çoğu, serbest radikalleri yakalama yeteneğinden ve şelatlama özelliğinden kaynaklanmaktadır (42). Literatürde belirtildiği gibi, diyet takviyesi, detoksifikasyon için doğal bir yöntem olarak kabul edilebilir. C vitamini, krom ve sarımsak takviyesi, toksik metallerin vücuttan atılmasına yardımcı olur ve kimyasal şelatörlerin verilmesinden kaynaklanan yan etkileri göstermez.

Hewlings ve Kalman (43) tarafından yapılan çalışma, kurkuminin iki önemli biyolojik özelliğini vurgulamaktadır; bunlardan biri antioksidan, diğeri ise anti-inflamatuar etkilerdir. Bu araştırmacıların sonuçlarına göre, kurkumin antioksidan etkisini serbest radikalleri yakalayarak ve katalaz, glutatyon ve süperoksit dismutaz enzimlerinin aktivitesini ayarlayarak göstermektedir.

### **Zencefil (*Zingiber officinale*)**

Zencefil (*Zingiber officinale*) Hindistan'da ve diğer Asya ve Afrika ülkelerinde yaygın olarak gıda baharatı olarak kullanılmaktadır. Zencefil yüzyıllardır geleneksel bitkisel ilaç olarak nezle, romatizma, sinir hastalıkları, diş eti iltihabı, diş ağrısı, astım, felç, kabızlık ve diyabet tedavisi için kullanılmaktadır. Ana bileşenleri arasında gingeroller, polifenoller, monoterpenoidler, flavonoidler ve tanenler bulunur. Karakteristik kokusundan ökaliptol gibi monoterpenoidler sorumluyken keskin tadı gingerol olarak bilinen fenolik bileşikten kaynaklanmaktadır. Zencefil, kurşun zehirlenmesinin tedavisinde hem antioksidan hem de şelatlayıcı etkilere sahiptir (44). Son zamanlarda yapılan birkaç çalışmada zencefil ekstraktlarının alkol kaynaklı toksisiteye, kurşun kaynaklı gelişimsel toksisiteye, fungusit kaynaklı karaciğer toksisitesine karşı koruyucu etkileri bildirilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda zencefilin diyabet, kanser ve kalp krizi gibi hastalıklar üzerindeki iyileştirici etkileri de rapor edilmiş ve zencefil tedavisinin kadmiyum ve civa toksisitesinin detoksifikasyonunda daha etkili olduğu bulunmuştur (45,46).

### **Susam (*Sesamum indicum*)**

Susamdan elde edilen susam yağı Çin ve Hint bitkisel ilaçlarında çok uzun bir süredir kullanılmaktadır ve günümüzde, margarin ve salata soslarında ve birçok kozmetik ve cilt ürününün bir bileşenidir (48). Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları arttırarak yer fıstığı ve ayçiçeği tohumlarından

elde edilenler gibi diğer diyet yağlarına kıyasla yüksek tansiyon, hiperlipidemi ve lipid peroksidasyonuna karşı daha iyi koruma sağlar (48). Fenol, sesamin, sesamol, sesamolin ve az miktarda tokoferol içerir (47,49). Susam yağı ve etken maddesi olan sesamol, resveratrol ve ayçiçeği çekirdeği yağından daha güçlü bir antitümör etkiye sahiptir (50). Susam yağı, güçlü bir inhibitördür ve kurşunun karaciğerde yaptığı hasarı azalttığı bildirilmiştir (51). Benzer şekilde, farelerde lipid peroksidasyonunu inhibe ederek demir kaynaklı hepatik hasarı hafifletir (52). Sıçanlarda kurşun ve demir zehirlenmesinin tedavisinde susam yağı ve sesamol, metal şelatlayıcılarla karşılaştırıldığında gözlemlenebilir bir yan etki göstermemiştir (47,51).

### Çörek otu (*Nigella sativa*)

Doğal antioksidanlar arasında birçok Güney Akdeniz ve Orta Doğu ülkesinde kendiliğinden ve yaygın olarak yetişen çörek otu tohumu, tüm temel yağ asitlerinin bol kaynağı olması yanında 100'den fazla farklı kimyasal bileşene sahiptir. Tıbbi olarak en sık kullanılan yağ olmasına rağmen, tohumlar baharat olarak genellikle hamur işleri ve Akdeniz peynirlerinin pişirilmesinde bütün olarak kullanılır. Çörek otu yağı güçlü antioksidan özellikler içermesi sebebiyle, beyin ve böbrek gibi hayati organları oksidatif hasarlardan koruyabileceği ve sızma zeytinyağı ile birlikte özellikle mesleki olarak maruz kalan kadmiyum toksisitesini azaltabileceği bildirilmiştir (53).

### SONUÇ

Şelatlama ajanlarının uygulanması ağır metal toksisitesi için en yaygın tedavi yöntemidir. Şelatlama ajanı olarak oral veya enjekte edilebilir kimyasal bileşiklere ek olarak, daha az yan etkileri nedeniyle bazı şifalı bitkiler de ağır metal zehirlenme vakalarında potansiyel tedavi yöntemi olarak kullanılabilir. Başta sarımsak olmak üzere, kişniş, deve diken, ginkgo, zerdeçal, susam, fitokelatinler, triphala, bitkisel lifler ve yeşil alg gibi şifalı bitkilerin şelatlama özelliklerinden dolayı metal zehirlenmesi vakalarında potansiyel tedavi yöntemi olarak düşünülmesi gerekir.

### KAYNAKLAR

1. Duffus JH (2002). "Heavy Metals" A Meaningless Term? (IUPAC Technical Report). Pure Appl Chem. 74(5):793-807.
2. He ZL, Yang XE, Stoffella PJ (2005). Trace Elements in Agroecosystems and Impacts on the Environment. J Trace Elem Med Biol.19(2-3):125-40.
3. Beyersmann D, Hartwig A (2008). Carcinogenic Metal Compounds: Recent Insight into Molecular and Cellular Mechanisms. Arch Toxicol. 82(8):493-512.
4. Flora SJ, Mittal M, Mehta A (2009). Heavy Metal Induced Oxidative Stress & Its Possible Reversal by Chelation Therapy. Alternative Medicine Review.14(1):87-8.
5. Lopez Alonso M, Prieto Montana F, Miranda M, Castillo C, Hernandez J, Luis Benedito J (2004). Interactions Between Toxic (As, Cd, Hg And Pb) and Nutritional Essential (Ca, Co, . Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) Elements in the Tissues of Cattle from NW Spain. Biometals.17(4):389-97.
6. Lamb J J, Konda VR, Quig D W, Desai A, Minich D M, Bouillon L, Tripp M L (2011). A Program Consisting of a Phytonutrient-Rich

- Me-Dical Food and an Elimination Diet Ameliorated Fibromyalgia Symptoms and Pro-Moted Toxic-Element Detoxification in a Pilot Trial. Altern Ther Health Med. 17(2):36.
7. Andrews, G. K (2000). Regulation of Metallothionein Gene Expression by Oxi-Dative Stress and Metal Ions. Biochem Pharmacol. 59(1):95-104.
8. Zhai Q, Tian F, Zhao J, Zhang H, Narbad A, Chen W (2016). Oral Administration of Probiotics Inhibits Absorption of the Heavy Metal Cadmium by Protecting the Intestinal Barrier. Appl Environ Microbiol. 82:4429-4440.
9. Morais D R, Rotta E M, Sargi S C, et al (2015). Antioxidant Activity, Phenolics and UPLC-ESI(-)-MS Of Extracts from Different Tropical Fruits Parts and Processed Peels Food Res Int. 77:392-399.
10. Baer-Dubowska W, Szafer H (2013). Modulation of Carcinogen-metabolizing Cytochromes P450 by Phytochemicals in Humans. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 9(8):927-941.
11. Bhattacharya S (2017). Medicinal Plants and Natural Products in Amelioration of Arsenic Toxicity: A Short Review. Pharm Biol. 55:349-354
12. Lawal B, Shittu O K, Oibiokpa F I, Eustace B, Berinyuy E B, Mohammed H (2016). African Natural Products with Potential Antioxidants and Hepatoprotectives Properties: A Review. Clinical Phytoscience. 2:23.
13. Brewer M S (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. Compr Rev Food Sci Food Saf. 10:221-247.
14. Geldof N, Engeseth N J (2002). Antioxidant Capacity of Honeys from Various Floral Sources Based on the Determination of Oxygen Radical Absorbance Capacity and Inhibition of in Vitro Lipoprotein Oxidation in Human Serum Samples. J Agric Food Chem. 50:3050-3055.
15. Li X, Jiang X, Sun J, Li X, Tian L, Liu L, Bai W (2017). Cytoprotective Effects of Dietary Flavonoids Against Cadmium-Induced Toxicity. Ann N Y Acad Sci. 1398:5-19
16. Shan B, Cai YZ, Sun M, Corke H (2005). Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. J Agric Food Chem. 53:7749-7759.
17. Roopha, D, Padmalathat C (2012). Effect of Herbal Preparation on Heavy Metal (Cadmium) Induced Antioxidant System in Female Wistar Rats. J Med Toxicol. 8:101-107.
18. Dua TK, Dewanjee S, Khanra R, Bhattacharya N, Bhaskar B, Zoa-UI- Haq M, De Feo V (2015). The Effects of Two Common Edible Herbs, Ipomoea Aquatica and Enhydra Fluctuans, on Cadmium-Induced Pathophysiology: A Focus On Oxidative Defence and Anti-Apoptotic Mechanism. J Transl Med. 13:245.
19. Kim W, Kim DW, Yoo DY, at al (2014). Dendropanax Morbifera Léveille Extract Facilitates Cadmium Excretion and Prevents Oxidative Damage in the Hippocampus by Increasing Antioxidant Levels in Cadmium-Exposed Rats. BMC Complement Altern Med. 14:428
20. Xia D, Yu X, Liao S, Shao Q, Mou H, Ma W (2010). Protective Effect of Smilax Glabra Extract Against Lead-induced Oxidative Stress in Rats. J Ethnopharmacol. 130:414-420.
21. Lili Z, Junyan W, Hongfei Z, Baoqing Z, Bolin Z (2018). Detoxification of Cancerogenic Compounds by Lactic Acid Bacteria Strains. Crit Rev Food Sci Nutr. 58(16):2727-2742.
22. Cha CW (1987). A Study on The Effect of Garlic to The Heavy Metal Poisoning of Rat. J Korean Med Sci. 2(4):213-24.
23. Nwokocha CR, Owu DU, Nwokocha MI, Ufearo CS, Iwuala MO (2012). Comparative Study on The Efficacy of Allium Sativum (Garlic) in Reducing Some Heavy Metal Accumulation in Liver of Wistar Rats. Food Chem Toxicol. 50(2):222-226.



24. Obioha UE, Suru SM, Ola-Mudathir KF, Faremi TY (2009). Hepatoprotective Potentials of Onion and Garlic Extracts on Cadmium-induced Oxidative Damage in Rats. *Biol. Trace Elem. Res.* 129:143-156.
25. Lawal AO, Ellis EM (2011). The Chemopreventive Effects of Aged Garlic Extract Against Cadmium- Induced Toxicity. *Environ Toxicol Pharmacol.* 32:266–274
26. Sharma V, Sharma A, Kansal (2010). The Effect of Oral Administration of Allium Sativum Extracts on Lead Nitrate induced Toxicity in Male Mice. *Food Chem. Toxicol.* 48:928-936.
27. Ouarda M, Abdennour C (2011). Evaluation of the Therapeutic Efficiency of Raw Garlic on Reproduction of Domestic Rabbits under Lead Induced Toxicity. *Ann Biol Res.* 2:389-393.
28. Senapati SK, Dey S, Dwivedi SK, Swarup D (2001). Effect of Garlic (*Allium sativum* L.) Extract on Tissue Lead Level in Rats. *J Ethnopharmacol.* 76(3):229-232.
29. Kianoush S, Balali-Mood M, Mousavi SR, et al (2012). Comparison of Therapeutic Effects of Garlic and D-Penicillamine in Patients with Chronic Occupational Lead Poisoning. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 110: 476–81
30. Zhai Q, Narbad A, Chen W (2015). Dietary Strategies for the Treatment of Cadmium and Lead Toxicity. *Nutrients*, 7:552-571.
31. De Smet PAGM, Keller K, Hansel R, Frank Chandler R (1992). Adverse Effects of Herbal Drugs. Springer Berlin, Heidelberg, Germany.
32. Wellington K, Jarvis B. Silymarin (2001). A Review of Its Clinical Properties in the Management of Hepatic Disorders. *BioDrugs.* 15(7):465-89.
33. Laribi, B, Kouki, K, M'Hamdi M, Bettaieb T (2015). Coriander (*Coriandrum Savum* L.) and its Bioactive Constituents. *Fitoterapia.* 103:9–26.
34. Klinghardt D, Mercola J (2001). Mercury Toxicity and Systemic Elimination Agents. *J Nutr Environ Med.* 11:53-62.
35. Yadav U, Mishra M (2013). Heavy Metal Toxicity and Neurodegeneration. *Novus International Journal of Biotechnology and Bioscience.* 2(2):18-51.
36. Omura Y, Beckman SL (1995). Role of Mercury (Hg) in Resistant Infections and Effective Treatment of Chlamydia trachomatis and Herpes Family Viral Infections (and Potential Treatment for Cancer) By Removing Localized Hg Deposits with Chinese Parsley and Delivering Effective Antibiotics Using Various Drug Uptake Enhancement Methods. *Acupunct Electrother Res.* 20(3-4):195-229.
37. Omura Y, Shimotsuura Y, Fukuoka A, Fukuoka H, Nomoto T (1996). Significant Mercury Deposits in Internal Organs Following the Removal of Dental Amalgam, & Development of Pre-Cancer on the Gingiva and the Sides of the Tongue and their Represented Organs as a Result of Inadvertent Exposure to Strong Curing Light (Used to Solidify Synthetic Dental Filling Material) & Effective Treatment: A Clinical Case Report, Along with Organ Representation on Areas for Each Tooth. *Acupunct Electrother Res.* 21(2):133-160.
38. Aga M, Iwaki, K, Ueda Y, Ushio S, Masaki N, Fukuda S, Kurimoto M (2000). Preventive Effect of Coriandrum savum (Chinese Parsley) on Localized Lead Deposition in ICR Mice. *Journal of Ethnopharmacol.* 77(2-3):203-208.
39. Aggarwal H, Goyal D (2007). Chapter 5 Phytoremediation of Some Heavy Metals by Agronomic Crops. In: *Concepts and Applications in Environmental Geochemistry, Developments in Environmental Science, Volume 5*, Sarkar D, Datta R, Hannigan R (Eds.), pp.79–98, Elsevier, USA.
40. Khalid S, Shahid M, Niazi NK, Murtaza B, Bibi I, Dumat C (2017). A Comparison of Technologies for Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils. *Journal of Geochem Explor.* 182:247-268.
41. Mehrandish R, Rahimian A, Shahriary A (2019), Heavy Metals Detoxification: A Review of Herbal Compounds for Chelation Therapy in Heavy Metals Toxicity. *J Herbmed Pharmacol.* 8(2):69-77.
42. Tunalı-Akbay T, Sener G, Salvarlı H, Sehirli O, Yarat A (2007). Protective Effects of Ginkgo Biloba Extract Against Mercury(II)-induced Cardiovascular Oxidative Damage in Rats. *Phytother Res.* 21(1):26-31.
43. Hewlings S, Kalman D (2017). Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health. *Foods.* 6(10):92.
44. Oboh G, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO (2010). Antioxidant and Inhibitory Effect of Red Ginger (*Zingiber Officinale* var. *Rubra*) and White Ginger (*Zingiber Officinale* Roscoe) On Fe<sup>2+</sup> Induced Lipid Peroxidation in Rat Brain in Vitro. *Exp Toxicol Pathol.* 64:2-7.
45. Ola-Mudathir KF, Suru SM, Fafunso MA, Obioha UE, Faremi TY (2008). Protective Roles of Onion and Garlic Extracts on Cadmium-induced Changes in Sperm Characteristics and Testicular Oxidative Damage in Rats. *Food Chem Toxicol.* 46:3604-3611.
46. Reddy YA, Chalamaiah M, Ramesh B, Balaji G, Indira P (2011). Ameliorating Activity of Ginger (*Zingiber Officinale*) Extract Against Lead Induced Renal Toxicity in Male Rats. *J Food Sci Technol.* 1:1-7.
47. Chandrasekaran VRJ, Hsu D, Liu M (2014). Beneficial Effect of Sesame Oil on Heavy Metal Toxicity. *J Parenter Enter Nutr.* 8:179-185.
48. Sankar D, Sambandam G, Ramakrishna RM, Pugalendi KV (2005). Modulation of Blood Pressure, Lipid Profiles and Redox Status in Hypertensive Patients taking Different Edible Oils. *Clin Chim Acta.* 355:97-104.
49. Cheung SC, Szeto YT, Benzie IF (2007). Antioxidant Protection of Edible Oils. *Plant Foods Hum Nutr.* 62:39–42
50. Kapadia GJ, Azuine MA, Tokuda H et al (2002). Chemopreventive Effect of Resveratrol, Sesamol, Sesame Oil and Sunflower Oil In The Epstein- Barr Virus Early Antigen Activation Assay and the Mouse Skin Two- Stage Carcinogenesis. *Pharmacol Res.* 45:499–504
51. Hsu DZ, Chen KT, Chu PY, Li YH, Liu MY (2007). Sesame Oil Protects Against Lead-Plus-Lipopolysaccharide–induced Acute Hepatic Injury. *Shock.* 27(3):334-337.
52. Robertson A, Tenenbein M (2005). Hepatotoxicity in Acute Iron Poisoning. *Hum Exp Toxicol.* 24:559-562.
53. Mohammed E, Hashem K, Rheim M (2014). Biochemical Study on the Impact of Nigella Sativa and Virgin Olive Oils on Cadmium-induced Nephro-Toxicity and Neurotoxicity in Rats. *J Invest Biochem.* 3:71-78.

## ✉ Sorumlu Yazar:

Mustafa NİZAMLIOĞLU  
 İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi  
 Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İstanbul, TÜRKİYE  
 E-posta: mnizamlioglu@gelisim.edu.tr



## Gıda Endüstrisinde Bakteriyel Biyofilm Oluşumu, Kontrolü ve Giderilmesine Yönelik Yeni Uygulamalar

Semra KAYAARDI<sup>1,a</sup>, Müge UYARCAN<sup>1,b,✉</sup>, Havva TURAN<sup>1,c</sup>

<sup>1</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0003-1747-0976; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0003-1474-672X; <sup>c</sup>ORCID: 0009-0007-4604-3427

Geliş Tarihi/Received  
01.06.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
17.10.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

Gıda zincirinde hammaddenin işletmeye girmesinden son ürün elde edilinceye kadar üretimin tüm aşamalarında ekipmanların yeterince temizlenmemesi ve uygun hijyen standartlarının ihmal edilmesi gibi nedenlerle çeşitli kaynaklardan kontaminasyon riski söz konusudur. Gıda işletmelerinde yaşanan kontaminasyon riskleri sadece ürün kalitesini değil aynı zamanda gıda güvenliğini ve tüketici sağlığını etkileme potansiyeline sahiptir. Kontaminasyonu önlemeye yönelik yapılan temizlik ve dezenfeksiyon uygulamalarında yaşanan en büyük zorluklardan biri ekipman yüzeylerinde bakteriyel kaynaklı biyofilm oluşumudur. Biyofilmler bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapı içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu jeli bir tabaka olarak tanımlanmaktadır. Özellikle gıda işletmelerinde ekipman ve boruların iç yüzeyleri, filtreler, konveyör bantlar, yardımcı alet ve ekipmanlarda, temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi zor olan alanlarda gelişerek gıdalarda bozulmalara neden olmakla birlikte ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu yüzden gıda işletmelerinde biyofilm oluşumunun engellenmesi ya da engellenemediği durumlarda da ortadan kaldırılması gerekmektedir. Son zamanlarda güncel çalışmalar biyofilmlerin endüstriyel ortamlardan giderilmesi veya oluşumunun engellenmesi için mevcut yöntem ve stratejilerin iyileştirilmesiyle birlikte daha etkili inhibitör ajanlar veya uzaklaştırma tekniklerinin geliştirilmesine odaklanmıştır. Biyofilmlerin kontrolünde son uygulamalar arasında soğuk atmosferik plazma, yüksek basınç, vurgulu ışık, elektrolize su, ozon, ultrason gibi yeşil teknolojiler ile bakteriyofaj ve bakteriyosin uygulamaları yer almaktadır. Biyofilm engel teknolojilerine bakıldığında bakterisidal yüzey teknolojileri ve nanoteknoloji gibi yeni teknikler üzerine güncel çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmada bakteriyel biyofilm oluşumu ve gelişimi, etkileyen faktörler, önlemeye yönelik stratejiler ile her şeye rağmen oluşumu engellenemeyen biyofilmlerin gıda güvenliği, tüketici sağlığı, ekipman ve yüzeylere zarar vermeyecek ileri tekniklerle en etkili şekilde giderilmesine yönelik uygulamalar derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyel biyofilm, gıda güvenliği, ileri teknikler, temizlik ve dezenfeksiyon

### New Applications for the Formation, Control and Removal of Bacterial Biofilm in the Food Industry

### Abstract

In the food chain, there is a contamination risk from various sources due to reasons such as inadequate equipment cleaning and neglect of appropriate hygiene standards throughout production, from the entry of raw materials into the factory to the final product acquisition. Contamination risks within food enterprises have the potential to affect not only product quality, but also food safety and consumer health. Among the foremost challenges in preventing contamination through cleaning and disinfection procedures is the formation of bacterial biofilms on equipment surfaces. Biofilms are defined as a gel-like layer formed by microorganisms living in the polymeric structure they produce by adhering to a surface. It develops especially in food enterprises, on inner equipment surfaces, pipes, filters, conveyor belts, and other hard-to-clean areas, leading to food spoilage and substantial economic losses. Therefore, biofilm formation in food enterprises should be prevented or eliminated in cases where it cannot be prevented. Recently, current studies have focused on improving existing methods and strategies to remove or prevent the formation of biofilms from industrial environments, as well as the development of more effective inhibitory agents or removal techniques. Recent applications in biofilm control include green technologies such cold atmospheric plasma, high pressure, pulsed UV, electrolyzed water, ozone, ultrasound and bacteriophage and bacteriocin applications. Ongoing studies explore novel techniques like bactericidal surface technologies and nanotechnology within the field of biofilm hurdle technologies. In this study, bacterial biofilm formation and development, influencing factors, prevention strategies, and applications for the most effective removal of biofilms, which cannot be prevented despite everything and advanced techniques that safeguard food safety, consumer health, equipment and surfaces were reviewed.

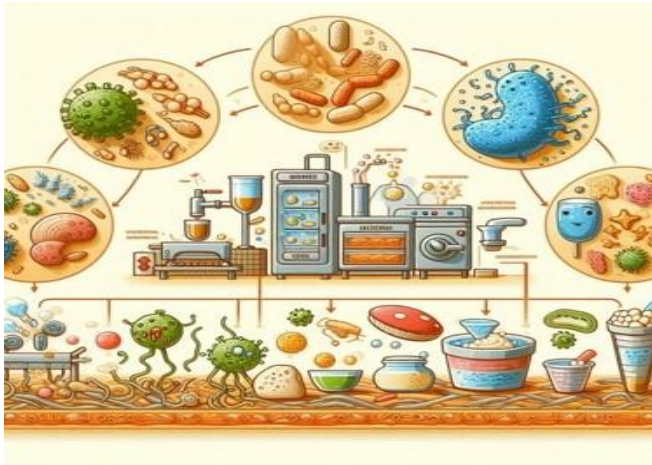
**Key Words:** Advanced techniques, bacterial biofilm, cleaning and disinfection, food safety

## GİRİŞ

Biyofilmler, canlıların yaşam alanlarının hemen hemen her alanında oluşabilmektedir (1). Patojen mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilmler gıdalarda çapraz kontaminasyon kaynağı olabildiğinden, gıda işleme stratejilerinin etkinliğini azaltarak gıda kalitesi ve güvenliğinde sıkıntı yaratabilmekte ve bu durum hem üretici hem de tüketici için bir zorluk ve/veya endişeye neden olmaktadır (2). Biyofilmler kalıcı enfeksiyonların en önemli nedenlerindedir. Biyofilm bazlı enfeksiyonlar hastaneye yatma, yaşam kalitesinin azalması, ölüm riskinin artması gibi önemli sosyo-ekonomik problemlerle sonuçlanmaktadır. Hastane enfeksiyonlarının yaklaşık %60-70'inin mikrobiyal biyofilmlerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (3).

Kendi kendine üretilen bir polimer matrisi ile çevrelenmiş mikrobiyal hücre birliği olarak tanımlanan (4) biyofilm terimi daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından kullanılmış olmasına rağmen, 1985 yılında J.W. Costerton bu terimi tıbbi mikrobiyoloji alanına tanıtmıştır. Literatürde biyofilmlerin giderilmesine ilişkin potansiyel yöntemleri açıklamaya yönelik çok sayıda çalışma yayınlanmıştır (5). Gıda endüstrisindeki biyofilmler ciddi ekonomik kayıp ve sağlık sorunları oluşturmaktadır. Gıda üretim alanlarında özellikle metal ekipmanların yüzeylerinde bazı bakterilerin biyofilm oluşturarak yüzeye yapışması ile o bölgeyi korozyona uğratması sonucu ekipmanlar zarar görebilmekte, bu durum da maddi kayıplara yol açabilmekte ve/veya gıda firmalarının itibarına zarar verebilmektedir (6,7).

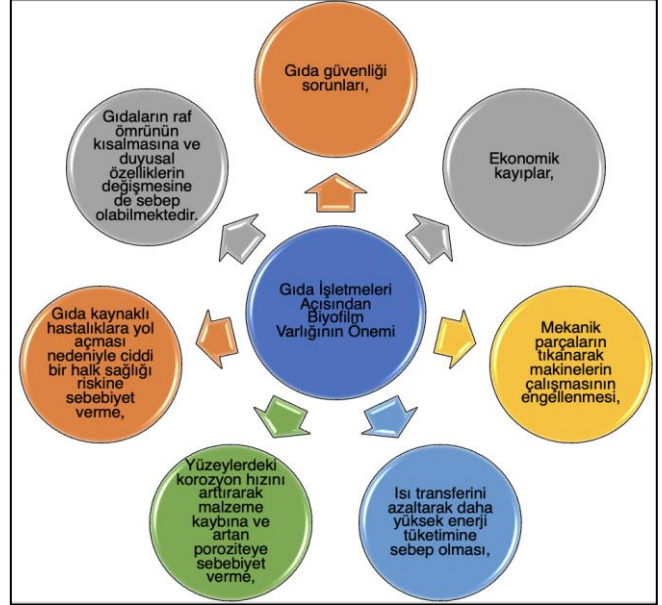
Biyofilmlerin mekanik güç veya antimikrobiyal ajanlar yoluyla çıkarılması zordur. Gıda işletmeleri mikrobiyal gelişim için uygun gıda bileşenlerinin bolluğu ve yapısal barınak sağlaması nedeniyle bakteriyel çoğalma ve biyofilm oluşumu için çok uygun ortamlardır (8) (Şekil 1). Biyofilmlerin antimikrobiyal direnç düzeyleri, antimikrobiyal maddelerin biyofilm matrisine nüfuz etmesi ya da organizmaların yüzeyle etkileşimine sebep olan diğer fizyolojik değişikliklerden etkilenmektedir (9).



Şekil 1. Gıda işletmelerinde biyofilmler (Yapay zekâ kullanılarak oluşturulmuştur.)

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, her yıl yaklaşık 600 milyon insanın kontamine gıda tüketimine bağlı olarak hastalandığı ve yaklaşık 420000 kişinin gıda kaynaklı has-

talıktan öldüğü bildirilmiş (10) ve tüm bakteriyel enfeksiyonların neredeyse %80'i biyofilm ile ilişkilendirilmiştir (7). Endüstride biyofilm oluşumu, temizlik ve hijyen sorunlarının yanı sıra, tıkanma, ısı iletiminin azalması ve akışın bozulmasıyla enerji kaybına sebebiyet verebilmektedir (11). Şekil 2'de gıda işletmeleri açısından biyofilm varlığının önemi yer almaktadır.



Şekil 2. Gıda işletmeleri açısından biyofilm varlığının önemi (22)

## BIYOFİLM OLUŞUM VE GELİŞİM MEKANİZMASI

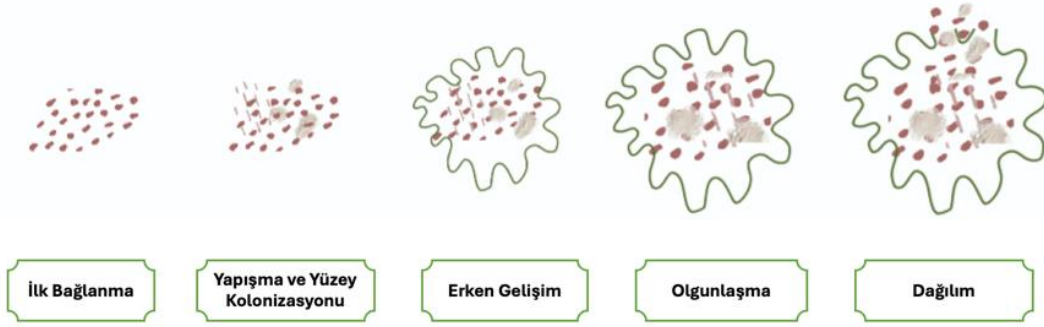
Bakteriler hem serbest formda hem de çeşitli yüzeylere yapışan biyofilmler halinde çoğalma eğilimindedirler. Biyofilmler, yüzeylere tutunan ve hücre dışı polisakkarit matrisi (EPS) içine alınmış karmaşık mikroorganizma toplulukları olduğundan, doğal ve zorlu koşullar altında bakteri hücrelerini antimikrobiyal maddelerden ve toksik bileşiklerden koruyarak bakterilerin hayatta kalmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bakteriyel biyofilmler cam, plastik, ahşap, metal, toprak parçacıkları, tıbbi implant malzemeleri, dokular ve gıdalar da dahil olmak üzere her türlü yüzeyde oluşabilmektedir (12).

Dinamik ve karmaşık bir süreç sonucu oluşan biyofilmler, bakterilerin hayatta kalmasını sağlamak için etkili bir savunma mekanizmasıdır (5,12). Biyofilmler, farklı bakteri kolonilerine veya tek tip hücreye sahip, kendi kendini organize eden ve özerk bir şekilde çoğalan mikrobiyal topluluklardır. Bu karmaşık mikrobiyom yapılar, kendi kendine üretilen polisakkarit matrisi EPS tarafından güçlü bir şekilde korunmakta ve yüksek antibiyotik direnç göstermektedir. Buna ek olarak EPS, popülasyon yoğunluğunu algılamak ve kontrol etmek için bakterilerin çekirdek algılama ve otoindüktör salgısı yoluyla birbirleriyle iletişim kurmasına olanak tanımaktadır (7).

Biyofilmler yüzeye dönüşümlü tutunma, dönüşümsüz tutunma, koloni oluşumu, olgunlaşma ve ayrılma olmak üzere fiziksel, kimyasal ve biyolojik çok aşamalı süreçler sonucunda oluşmaktadır (13). Yüzeye tutunma sonrası koloni gelişim aşamasında, mikroorganizmalar EPS üreterek hem yüzeye bağlanmakta hem de bu sayede kendilerini çevresel streslere karşı korumaktadır. EPS oluşumu ile yüzey ve bak-

teriler arasındaki bağlantı kararlı hale geldikten sonra olgunlaşma aşamasında bakteriler çekirdek algılama yeteneği sayesinde birbirleri arasında iletişim kurup mikrokoloniler oluşturmaktadır. Yüzeye tutunmuş halde bulunan ve biyofilm

oluşturan mikrokolonilerin çevreye dağılmasıyla süreç tamamlanmaktadır (14-16). Şekil 3'te biyofilm oluşum mekanizması yer almaktadır.



Şekil 3. Biyofilm oluşum mekanizması (Yapay zekâ kullanılarak oluşturulmuştur.)

### BİYOFİLM OLUŞUMUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Biyofilm oluşumunu çeşitli faktörler etkileyebilmektedir. Bunlar; mikroorganizma türü, hidrofobiklik, kamçılanma ve hareketlilik gibi hücre özellikleri, yüzey tipi, sıcaklık, pH, besin ve oksijen varlığı ile hidrodinamik koşullar gibi çevresel faktörlerdir (12). *Salmonella*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, enterohemorajik *Escherichia coli* ve *Listeria* gibi patojenik bakterilerin biyofilm oluşturduğu bilinmektedir. Bu tür biyofilmler, gıda ile temas eden yüzeylerde olduğu takdirde gıdalar için önemli bir kontaminasyon kaynağı olabilmektedir (17).

*Salmonella* spp.'nin gıdalla temas eden yüzeylerde biyofilmler oluşturabileceği ve bu biyofilm hücrelerinin planktonik hücrelere kıyasla dezenfektanlara karşı çok daha dirençli olduğu ifade edilmektedir (17). *Salmonella enterica*'nın gıda işletmelerinde hayatta kalmasının en önemli nedenlerinden birinin biyofilm oluşturma yeteneği olduğu rapor edilmiştir. *S. enterica*, çok çeşitli çevresel koşullara uyum sağlama ve canlılığını sürdürme yeteneği ile bilinen bir mikroorganizmadır ve temel hayatta kalma avantajlarından biri aerobik ve anaerobik olarak gelişme yeteneğidir (18).

*Pseudomonas aeruginosa*'nın yüksek tuz konsantrasyonlarına ve farklı çevre koşullarına dayanıklı olması, çok çeşitli besin ortamına ihtiyaç duymaması ve nemli ortamlarda üreyebilmesi gibi özelliklerinden dolayı birçok alanda gelişim gösterebilmektedir. *P. aeruginosa*, gıda ve tıbbi alet yüzeylerine yapışıp biyofilm oluşturmada, dezenfektan ve antibiyotige dirençli bir mikroorganizma olduğundan giderilmesi zorlaşmaktadır (19-21).

*Listeria monocytogenes*'in gelişimi ve biyofilm oluşturmalarını ise besin unsurlarının varlığı ve çeşitliliği, sıcaklık, nem, pH, yüzey malzemeleri, pürüzlülüğü ve temizlik ve dezenfeksiyon uygulamaları gibi çevresel faktörler etkilemektedir (22). Dünya çapında son derece önemli olarak görülen listeriozis hastalığının kaynağı olan *L. monocytogenes* geniş sıcaklık aralıklarında gelişim gösterebilmesi, gıda işletme ortamlarında yıllarca canlı kalarak barınabilmesi ve birçok suşunun biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olmasından dolayı gıda endüstrisinde ciddi bir sorun teşkil etmektedir (23).

### BİYOFİMLERİN GİDERİLMESİ VE OLUŞUMUNUN ÖNLENMESİNE YÖNELİK UYGULAMALAR

Gıda işletmeleri, fabrika ekipmanlarının yüzeylerinde biyofilmlerin giderilmesi veya oluşumunun önlenmesi için çeşitli yöntemler kullanmaktadır. Gıda işletmelerinde biyofilm giderme için fiziksel (fırçalama, basınçlı su), kimyasal (sodyum hipoklorit, hidrojen peroksit, perasetik asit, kızgın buhar, doymuş buhar ve kuru ısı kullanarak) ve biyolojik (enzimler) yöntemler kullanılırken oluşumunu önlemeye yönelik paslanmaz çelik, polivinil kaplama ve cam kaplama gibi geleneksel kontrol stratejileri kullanılmaktadır. Ancak çoğu zaman bu tekniklerin gelişmiş biyofilmlerin giderilmesinde etkisiz kaldığı bilinmektedir. Bu nedenle, gelişmiş bakteriyel biyofilmleri ortadan kaldırmak için yeni stratejiler geliştirilmektedir. Bu yeni stratejilerden biyofilmlerin giderilmesinde atmosferik plazma, yüksek basınç, vurgulu ışık, elektrolize su, ozon gibi yeşil teknolojiler ile bakteriyofaj, bakteriyosin uygulamaları kullanılırken, oluşumu önlemek için bakterisidal yüzey ve nanoteknolojik kaplamalar gibi çevre dostu teknolojiler üzerine umut vaat eden çalışmalar sürdürülmektedir (24-28).

#### Geleneksel Uygulamalar

##### I. Dezenfektan uygulaması

Biyofilmlerin yüzeyden giderilmesi için geleneksel olarak çeşitli konsantrasyonlarda dezenfektanların kullanıldığı bilinmektedir. Klor bazlı dezenfektanlar her ne kadar gıda sektöründe yaygın kullanılsalar da *S. enterica* gibi dirençli bakterilerin giderilmesinde etkisiz kalabilmektedirler (24). Yapılan bir çalışmada perasetik asit ile birlikte esansiyel yağ kullanımının gıda işletmelerinde paslanmaz çelik ve polistiren yüzeylerde *L. monocytogenes* biyofilmlerinin giderilmesi etkili bir strateji olduğu rapor edilmiştir (29).

##### II. Sıcak buhar uygulaması

Kızgın buhar ve doymuş buhar uygulamaları gıda işletmelerinden ekipman yüzeylerinden biyofilmlerin giderilmesinde kullanılan diğer geleneksel yöntemler arasında yer almaktadır. Kızgın buhar, belirli bir basınçta doymunluk noktası boyunca sıcaklığını artırmak için ısıtılmış bir buhar şeklidir. Kız-

gın buhar, düşük nemli koşullarda patojenleri etkili bir şekilde giderebilmektedir (30). Bu konuda yapılan bir çalışmada, *Bacillus cereus* endosporlarına karşı, kızgın buhar ve nebulize organik asitlerin (laktik, malik ve sitrik asit) birlikte kullanımının bakteri sporları üzerine etkileri araştırılmıştır. 5 dakika boyunca 150°C'de kızgın buhar ve %10 laktik, malik ve sitrik asitler ile kombinasyon işleminin paslanmaz çelik üzerindeki endosporları sırasıyla 3.2- 2.6 ve 1.9 log kob/cm<sup>2</sup> azalttığı tespit edilmiştir (31). Doymuş buhar ile ısıtma, yüzeylerde mikrobiyal inaktivasyonda sıcak hava ve sıcak sudan daha etkili olduğu için yaygın kullanılan geleneksel bir yöntemdir. *L. innocua*'nın gıdayla temas eden yüzeylerden giderimi için doymuş buhar uygulaması yapılan bir çalışmada, 100°C'de doymuş buharın, test edilen tüm yüzeylerde bulunan biyofilmler üzerinde etkili olduğu tespit edilmiş, 6 saniyelik buhar uygulaması ile yüzey tipine bağlı olarak *L. innocua* sayısında 2.4-3.1 log kob/cm<sup>2</sup> azalma olduğu rapor edilmiştir (32).

### III. Enzim uygulaması

Enzimler, biyolojik olarak parçalanabilir ve düşük toksisiteye sahip olması gibi avantajları nedeniyle gıda işletmelerinde deterjan içeriklerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (18). Enzimler sadece agregasyonu engellemekle kalmaz, aynı zamanda gelişmiş biyofilmlerin EPS bileşenlerini de bozmakta, hücre parçalamasını doğrudan etkilemekte ve hidrolitik enzimlerle kombinasyon halinde kullanılmaları durumunda dezenfektanların etkinliğini arttırmaktadırlar (33). Yapılan bir çalışmada paslanmaz çelik yüzeylerde enzim uygulaması (50°C, 20 dk) ile *L. monocytogenes* biyofilmlerinin %85-90 oranında giderildiği tespit edilmiştir (34).

### IV. Yüzey kaplama

Biyofilm oluşumunun önlenmesinde paslanmaz çelik, polipropilen, polivinil klorür kaplama ve cam kaplama gibi geleneksel kontrol stratejileri de kullanılmaktadır (18,35). Paslanmaz çelik genellikle gıda endüstrisinde ekipman için kullanılması tavsiye edilen bir malzemedir. Bazı dezenfekte edici maddeler paslanmaz çelik için aşındırıcıdır. Hipoklorit tuzları ve kloraminler, agresif olabilen kloru serbest bırakarak yüzeylerde çatlak ve çukur korozyonuna sebep olabilmektedir. Paslanmaz çelik yüzeylerde *Vibrio parahaemolyticus* oluşumu ve benzalkonyum klorürün *V. parahaemolyticus*'e karşı inhibitör etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmada, bu patojenin temastan sonra tüm paslanmaz çelik yüzeylere bağlanabildiği ve pürüzlü yüzeye pürüzsüz olanlardan daha iyi yapışma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir (36).

Polipropilenin düşük maliyetli ve bakteriyel yapışmayı kolaylaştıran bir özellik olan yüksek hidrofobikliğe sahip hafif bir malzeme (37) olmasının yanı sıra kimyasallara ve korozyona dirençli bir polimer olduğu bilinmektedir (38). Özellikle su dağıtım sistemlerinde yaygın kullanılan polipropilenin biyofilm oluşumunu tamamen engelleyemediği bildirilmiştir (39). Ultraviyole ışık ve darbeli ışık teknolojilerinin gıda ile temas yüzeylerinde dekontaminasyon etkinliğini değerlendirilmesi için yapılan çalışmada, *P. fluorescens*'in, polietilen yüzeylere kıyasla, paslanmaz çelik yüzeylerde daha yüksek direnç gösterdiğini bildirmişlerdir (40). Buhar ve laktik asit uygulamasının, biyofilmlerin polivinil klorür (PVC) ve paslanmaz

çelik üzerindeki inaktivasyonu üzerindeki bireysel ve kombine etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada, buhar ve laktik asit kombinasyonunun gıda işletmelerinde biyofilm kontrolünde uygulama potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (41).

## Yeni Uygulamalar

### I. Soğuk atmosferik plazma

Biyofilmlerin giderilmesinde ön plana çıkan yeni teknikler arasında soğuk atmosferik plazma, yüksek basınç, vurgulu ışık, elektrolize su, ozon, ultrason gibi yeşil teknolojiler ile bakteriyofaj ve bakteriyosin uygulamaları yer almaktadır. Yapılan bir çalışmada soğuk atmosferik plazma uygulamasının *Pseudomonas aeruginosa* biyofilminin kalınlığında önemli oranda azalma meydana getirdiği rapor edilmiştir. Doğrudan ve dolaylı olarak soğuk plazma uygulaması (300 saniye) ile *P. aeruginosa* biyofilminin kalınlığının 23 µm'den 8 ve 6 µm'ye düştüğü tespit edilmiştir (42).

### II. Yüksek basınç

Yüksek basınç teknolojisi, gıdaların besin değerini ve duyuşal özelliklerini koruyarak sterilizasyonunu sağlayan ısıl olmayan etkili bir teknolojidir. Gıda kaynaklı patojen mikroorganizma ve virüsleri inaktive edebilmekte ancak tüm sporları tamamen yok edememektedir (43). Yüksek basınç teknolojisinin bakteriyel biyofilmlerin giderilmesi üzerine etkilerinin incelendiği sınırlı çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, asidik koşullar altında yüksek basınç teknolojisi (400 MPa, 20 dk) ile nisin birlikte kullanımının *L. monocytogenes* biyofilmlerinin giderilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (44).

### III. Vurgulu ışık

Vurgulu ışığın ultraviyole, görünür ve kızılötesi ışık (200-1100 nm) frekans aralıklarında darbe şeklinde uyarılan yoğun beyaz ışık olduğu bilinmektedir. Vurgulu ışık uygulaması, yüksek işleme verimliliği ve gıdalarda kalıntı bırakmaması gibi avantajları sayesinde gıdalarda mikrobiyal inaktivasyon amacıyla kullanılmaktadır (45). Vurgulu ışığın *Salmonella* biyofilmleri üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, gıda işleme sırasında temas yüzeylerinde *Salmonella* biyofilmlerinin inaktivasyonu için etkili olduğu rapor edilmiştir (46).

### IV. Elektrolize su

Sürdürülebilir ve doğa dostu bir uygulama olan elektrolize su, ekonomik, kolay ve etkili dezenfeksiyon stratejileri arasında yer almaktadır. Yapılan bir çalışmada elektrolize su süt fabrikasında paslanmaz çelik borular, PVC hortumlar ve kauçuk contaların temizlenmesi için kullanılmıştır. Paslanmaz çelik yüzeyde 9.9 dakika elektrolize su (60 mg/L) uygulamasının, kauçuk conta ve PVC hortumlarda ise 14.4 dakika elektrolize su (60 mg/L) uygulamasının etkili olduğu bildirilmiştir (26). Ultrason ile kombinasyon halinde elektrolize su veya ozonlu su kullanılarak paslanmaz çelik üzerinde gıda kaynaklı patojenler tarafından oluşturulan biyofilmlerin ortadan kaldırılması için yapılan bir çalışmada, elektrolize suyun gıda ile

temas eden yüzeyleri temizlemek için tek başına ozonlu sudan daha etkili olabileceği bildirilmiştir (47).

#### V. Ozonlu su

Güçlü bir oksidan ajan olarak ozonun, virüsler, algler, bakteriler ve mantarlar dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizma türlerine karşı oldukça etkili olduğu ifade edilmektedir (48). Yapılan bir çalışmada mikrobiyal kontaminasyonların kontrol edilmesinde çevre dostu bir teknoloji olarak öne çıkan ozon uygulamasının *Listeria monocytogenes* planktonik hücreleri ve biyofilmleri üzerinde etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada, 50 ppm konsantrasyonunda 10 ve 30 dakika ozon gazı uygulaması sonucunda mikrobiyal yükte sırasıyla  $3.7 \pm 0.4$  ve  $3.9 \pm 0.4 \log_{10}$  CFU/mL'lik bir azalma meydana geldiği, 6 saatlik uygulama sonrası planktonik hücrelerin tamamen inaktive olduğu ve biyofilm kütlelerinde % 59 oranında azalma meydana geldiği bildirilmiştir. (49).

#### VI. Ultrason

Biyofilmlerin ultrasonik olarak yok edilmesi, esas olarak kavitasyon kabarcıklarından ve biyofilm dispersiyonunu tetikleyen sıvı akışından üretilen kuvvetlere bağlı olduğu bilinmektedir (50). Ultrason yoluyla üretilen kavitasyon, bakteri hücrelerinin içinde şiddetli salınımlar üretmekte, biyofilme zarar vermekte ve sonunda bakterisidal etkiye neden olmaktadır (51). *S. aureus* biyofilminin kontrol edilmesi üzerine yüksek yoğunluklu ultrason uygulamasının etkinliğinin değerlendirilmesine yönelik yapılan bir çalışmada,  $1.38 \times 10^5$  Pa akustik basınçta 240 W güçte uygulama işlemi ile *S. aureus* biyofilmlerinin % 96.02 oranında giderildiği tespit edilmiştir (52).

#### VII. Bakteriyofaj uygulaması

Bakteriyofajlar, tek başına hayatta kalabilen fakat yayılması için bir bakteri hücresi gerektiren, doğal olarak oluşan virüsler veya bakteriyel parazitlerdir (53). Son zamanlarda, konak aralığı genişletilmiş istenen özelliklere sahip bakteriyofaj sentezi ve biyofilmlerin giderilmesinde kullanımı üzerine yapılan çalışmalar popülerlik kazanmıştır (54). Gıda endüstrisinde paslanmaz çelik üzerinde oluşmuş patojen mikroorganizmaların kontrolünde, bakteriyofajların potansiyel yeteneklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada bakteriyofaj uygulamasının biyofilm oluşumunda önemli düzeyde %38'lik bir azalmaya neden olduğu, 4°C'de uygulandığında 25°C'nin üzerindeki sıcaklıklara kıyasla antibakteriyel faj aktivitesinin önemli ölçüde 3.54 kat azaldığı bildirilmiştir (55).

#### VIII. Bakteriyosin uygulaması

Bakteriyosinler, ribozomlarda peptitler veya protein kompleksleri olarak sentezlenmekte ve diğer mikroorganizmalara karşı inhibitör aktivite sergilemektedirler (56). Bakteriyosinler doğrudan bir bileşik olarak veya dolaylı olarak bakteriyosin üreten organizma aracılığıyla kullanılabilirler (57). Yapılan bir çalışmada, ticari nisin A'nın laktik asit bakterilerinin biyofilm oluşumunu %67 oranında önlediği tespit edilmiştir (58).

#### IX. Nanoteknoloji temelli yüzey kaplama

Nanopartikül malzemelerin yüksek su içeriği, kimyasal ve fiziksel bileşimleri, güçlü mekanik yetenekleri ve olağanüstü

biyoyoumluluk gibi olumlu özellikleri, onları antimikrobiyal yüzey kaplamaları olarak kullanım için çok uygun hale getirmektedir. Gümüş (Ag) ve gümüş nanopartikül (AgNP) kompleksi doğal olarak antibakteriyel ilaçlara direnç gösterdiğinden, Ag+AgNP'lerin etkili bir antimikrobiyal yüzey kaplaması olarak kullanılması çalışmaları sürdürülmektedir (24). Yapılan bir çalışmada cam yüzeyden, *Staphylococcus aureus* biyofilmlerinin giderilmesinde nanopartikül ve bakteriyofaj uygulamasının etkisi araştırılmıştır. Nanopartiküllerin ve bakteriyofajların sinerjik aktivitesinin biyofilm hücrelerinin yıkımına neden olarak kolonizasyonu önlediği tespit edilmiştir (59).

## SONUÇ

Biyofilmlerin üretici ve tüketici üzerinde çeşitli olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Ekipman yüzeyinde oluşan biyofilm ekipmanda hasar oluşturduğundan temizlik zorlaşmakta, gıda ile temas edebileceği alanlarda oluşması durumunda ise çeşitli gıda güvenliği riskleri ve beraberinde ürün kalitesinde düşüşler yaşanabilmektedir. Bu nedenle gıda işletmelerinde biyofilmlerin oluşumunun engellenmesi veya engellenemediği durumlarda da kontrol altına alınması son derece önemlidir. Tüketici sağlığının korunması ancak gıda güvenliğinin sağlanması ile mümkün olabileceğinden tüm gıda üretim ortamları biyofilm oluşumunu engelleyecek şekilde tasarlanmalı veya kontrol altında tutulmalıdır. Kullanılacak malzemenin doğru seçimi biyofilmin daha az oluşumunda yarar sağlayabilir. Literatürde biyofilm oluşumunun engellenmesi veya kontrol edilmesinde yeni teknolojilerin ve uygulamaların kullanımına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Bu teknikler geleneksel yöntemlere kıyasla, daha yüksek verimlilik ve gıda ve/veya yüzey üzerinde daha az tahribat bırakması gibi avantajları nedeniyle umut vaat eden uygulamalar olarak görülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Kanematsu H, Barry DM. (2020). Formation and Control of Biofilm in Various Environments. 1<sup>st</sup> edition, Springer, Singapore.
2. Alvarez-Ordóñez A, Coughlan LM, Briand R, Cotter PD. (2019). Annual Review of Food Science and Technology Biofilms in Food Processing Environments: Challenges and Opportunities. Annu Rev Food Sci Technol. 10: 173-195.
3. Moser C, Jensen PØ, Thomsen K, et al. (2021). Immune Response to Pseudomonas aeruginosa Biofilm Infections, Front Immunol. 12: 625597.
4. Høiby N. (2017). A Short History of Microbial Biofilms and Biofilm Infections. Apmis. 125(4): 272-275.
5. Guzmá NI, Mctiernan C, Gonzalez-Gomez M, et al. (2021). Mimicking Biofilm Formation and Development: Recent Progress in Invitro and In vivo Biofilm Models. Iscience. 24(5): 102443.
6. Galié S, García-Gutiérrez C, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. (2018). Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. Front Microbiol. 9: 898.
7. Shineh G, Mobaraki M, Bappy MJP, Mills DK. (2023). Biofilm Formation, and Related Impacts on Healthcare, Food Processing and Packaging, Industrial Manufacturing, Marine Industries, and Sanitation—A Review. Appl Microbiol. 3(3): 629-665.
8. Byun KH, Han SH, Choi MW, Kim BH, Ha SD. (2024). Efficacy of disinfectant and bacteriophage mixture against planktonic and

- biofilm state of *Listeria monocytogenes* to control in the food industry. *Int J Food Microbiol.* 413: 110587.
9. Turhan UE, Polat S, Erginkaya Z, Konuray G. (2022). Investigation of Synergistic Antibacterial Effect of Organic Acids and Ultrasound Against Pathogen Biofilms on Lettuce. *Food Biosci.* 47: 101643.
  10. World Health Organisation, 2022. Food safety. Erişim: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Erişim tarihi: 01.10.2024.
  11. Khanashyam AC, Shanker MA, Thomas PE, Babu KS, Nirmal NP. (2023). Phytochemicals in Biofilm Inhibition. In: *Recent Frontiers of Phytochemicals: Applications in Food, Pharmacy, Cosmetics, and Biotechnology.* S Pati, T Sarkar, D Lahiri (eds). 1<sup>st</sup> ed. pp. 397-412, Elsevier, USA.
  12. Alotaibi GF. (2021). Factors Influencing Bacterial Biofilm Formation and Development. *Am J Biomed Res.* 12(6): 617-626.
  13. Kartal MO, Ekinci MB, Poyraz B. (2021). Biyofilm Yapısı ve Önlenmesi. *Akademik Gıda.* 19(3): 353-363.
  14. Ashikur RM, Akter S, Ashrafudoulla M, et al. (2024). Insights Into the Mechanisms and Key Factors Influencing Biofilm Formation by *Aeromonas hydrophila* in the Food Industry: A Comprehensive Review and Bibliometric Analysis. *Food Res Int.* 175: 113671.
  15. Gürlük N, Koluman A, Kahraman T. (2017). Gıda İşletmelerinde Biyofilm Sorunu ve Gümüş Nanopartikül Uygulamaları. *Aydın Gastronomy,* 6(1): 51-63.
  16. Türetgen İ. (2005). Su Sistemlerinde Mikrobiyal Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 79 s., İstanbul.
  17. Joseph B, Otta SK, Karunasagar I, Karunasagar I. (2001). Biofilm Formation by *Salmonella* spp. on Food Contact Surfaces and Their Sensitivity to Sanitizers. *Int J Food Microbiol.* 64: 367-372.
  18. Ghosh S, Sarkar T, Chakraborty R. (2021). Formation and Development of Biofilm- an Alarming Concern in Food Safety Perspectives. *Biocatal Agric Biotechnol.* 38: 102210.
  19. Çevikbaş H, Ulusoy S. (2023). Gül (*Rosa damascena* Mill.) Uçucu Yağının *Pseudomonas aeruginosa*'da Biyofilm Oluşumu ve Kayma Hareketi Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda.* 21(4): 367-374.
  20. Li X, Gu N, Huang TY, Zhong F, Peng G. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: A Typical Biofilm Forming Pathogen and an Emerging but Underestimated Pathogen in Food Processing. *Front Microbiol.* 13: 1114199.
  21. Sırıken B, Öz V. (2017). *Pseudomonas aeruginosa*: Özellikleri ve Quorum Sensing Mekanizması. *Gıda ve Yem Bilimi- Teknolojisi Dergisi.* 18: 42-52.
  22. Fagerlund A, Langsrud S, Mørretrø T. (2021). Microbial Diversity and Ecology of Biofilms in Food Industry Environments Associated with *Listeria monocytogenes* persistence. *Curr Opin Food Sci.* 37: 171-178.
  23. Gemmell, C. T., Parreira, V. R., & Farber, J. M. (2022). Controlling *Listeria monocytogenes* growth and biofilm formation using flavonoids. *J Food Prot.* 85(4), 639-646.
  24. Gouda M, Khalaf MM, Taleb MFA, El-Lateef HMA. (2024). Fabrication of Silver Nanoparticles Loaded Acacia Gum/Chitosan Nanogel to Coat The Pipe Surface for Sustainable Inhibiting Microbial Adhesion and Biofilm Growth In Water Distribution Systems. *Int J Biol Macromol.* 262: 130085.
  25. Gungor C, Onmaz NE, Gundog DA, Yavas, GT, Koskeroglu, K, Gungor, G. (2024). Four Novel Bacteriophages From Slaughterhouse: Their Potency on Control of Biofilm-Forming *MDR S. aureus* In Beef Model. *Food Control.* 156: 110146.
  26. Liu Y, Yan Y, Yang K, et al. (2023). Inhibitory Mechanism of *Salmonella* Derby Biofilm Formation by Sub-inhibitory Concentrations of Clove And Oregano Essential Oil: A Global Transcriptomic Study. *Food Control.* 150: 109734.
  27. Zhang Q, Hu X, Zhang R, et al. (2024). Characterization of *Brevibacillus* Biofilm Isolated from Pasteurized Milk and Evaluation of the Efficacy of Sodium hypochlorite, CIP, and Enzymatic Treatment Against the Biofilm. *Food Control.* 161: 110405.
  28. Zhu T, Yang C, Bao X, Chen F, Guo X. (2022). Strategies for Controlling Biofilm Formation in Food Industry. *Grain Oil Sci Technol.* 5(4): 179-186.
  29. Vázquez-Sánchez D, Galvão JA, Ambrosio CMS, Gloria EM, Oetterer M. (2018). Single and Binary Applications of Essential Oils Effectively Control *Listeria monocytogenes* Biofilm. *Ind Crops Prod.* 121: 452-460.
  30. Park HW, Xu J, Balasubramaniam VM, Snyder AB. (2021). The Effect of Water Activity and Temperature on the Inactivation of *Enterococcus faecium* In Peanut Butter During Superheated Steam Sanitation Treatment. *Food Control.* 125: 107942.
  31. Kim SH, Park SH, Kang DH. (2024). Simultaneous Combination Treatment with Superheated Steam and Nebulized Organic Acid to Inactivate *Bacillus cereus* Endospores on Stainless Steel Surfaces. *Food Control.* 155: 110028.
  32. Hua Z, Younce F, Tang J, et al. (2021). Efficacy of Saturated Steam Against *Listeria innocua* Biofilm on Common Food-Contact Surfaces. *Food Control.* 125: 107988.
  33. Nahar S, Ha AJ, Byun KH, Hossai MI, Mizan MFR, Ha SD. (2021). Efficacy of Flavourzyme Against *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms on Food-Contact Surfaces. *Int J Food Microbiol.* 336: 108897.
  34. Mazaheri T, Ripolles-Avila C, Hascoët AS, Rodríguez-Jerez JJ. (2020). Effect of an Enzymatic Treatment on the Removal of Mature *Listeria monocytogenes* Biofilms: A Quantitative and Qualitative Study. *Food Control.* 114: 107266.
  35. Kartal MO, Ekinci MB, Poyraz B. (2021). Biyofilm Yapısı ve Önlenmesi. *Akademik Gıda.* 19(3): 353-363.
  36. Tantratian S, Srimangkornkaew N, Prakitchaiwattana C, Sanguanadeekul R. (2022). Effect of Different Stainless Steel Surfaces on the Formation and Control of *Vibrio parahaemolyticus* Biofilm. *LWT.* 166: 113788.
  37. Moraes JO, Cruz EA, Pinheiro Í, et al. (2019). An Ordinal Logistic Regression Approach to Predict the Variability on Biofilm Formation Stages by Five *Salmonella enterica* Strains on Polypropylene and Glass Surfaces as Affected by pH, Temperature and NaCl. *Food Microbiol.* 83: 95-103.
  38. Ergin Ç, Öner SZ, Özkan B, et al. (2023). Evaluation of *Malassezia furfur* Biofilm Formation on Polypropylene Membrane. *Mikrobiyoloji Bülteni.* 57(3): 432-443.
  39. Hoca S. (2010). Model Şebeke Boru Sisteminde Oluşan Biyofilmdeki Bakteriler Üzerine Kısa Süreli Kurumanın Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 72 s., İstanbul.
  40. Pedrós-Garrido S, Condón-Abanto S, Clemente I, et al. (2018). Efficacy of Ultraviolet Light (UV-C) and Pulsed Light (PL) For The Microbiological Decontamination of Raw Salmon (*Salmo salar*) and Food Contact Surface Materials. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 50: 124-131.
  41. Ban GH, Park SH, Kim SO, Ryu S, Kang DH. (2012). Synergistic Effect of Steam and Lactic Acid Against *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* Biofilms on Polyvinyl chloride and Stainless Steel. *Int J Food Microbiol.* 157(2): 218-223.

42. Traba C, Liang JF. (2011). Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Biofilms to Reactive Discharge Gases. *Biofouling*. 27(7): 763-772.
43. Liu L, Chen X, Li Y, Yuan L, Rao Y. (2023). Biofilm Formation, Hyphae Growth, and Transcriptome Characteristics of *C. albicans* Surviving High-Pressure Processing. *LWT- Food Sci Technol*. 187: 115332.
44. Cava R, Higuero N, Ladero L. (2021). High-Pressure Processing and Storage Temperature on *Listeria monocytogenes*, Microbial Counts and Oxidative Changes of Two Traditional Dry-Cured Meat Products. *Meat Sci*. 171: 108273.
45. Liu S, Chen S, Shao L, Ding Z, Xu X, Wang H. (2024). Spoilage Bacteria Growth Reduction and Microbial Community Variation of Chilled Chicken Packaged in PA/PE Treated With Pulsed Light. *Food Control*. 157: 110196.
46. Gao F, Lyu C, Ning Z, et al. (2023). Inactivation of *Salmonella* Biofilms Formed on Stainless Steel Surfaces by Pulsed Light. *Food Control*. 153: 109955.
47. Shao L, Dong Y, Chen X, Xu X, Wang H. (2020). Modeling the Elimination of Mature Biofilms Formed by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. Using Combined Ultrasound and Disinfectants. *Ultrason Sonochem*. 69: 105269.
48. Bigi F, Maurizzi E, Quartieri A, Leo RD, Gullo M, Pulvirenti A. (2023). Non-Thermal Techniques and the "Hurdle" Approach: How is Food Technology Evolving? *Trends Food Sci Technol*. 132: 11-39.
49. Panebianco, F., Rubiola, S., Chiesa, F., Civera, T., & Di Ciccio, P. A. (2021). Effect of gaseous ozone on *Listeria monocytogenes* planktonic cells and biofilm: An in vitro study. *Foods*. 10(7), 1484
50. Erriu M, Blus C, Szmukler-Moncler S, et al. (2014). Microbial Biofilm Modulation by Ultrasound: Current Concepts and Controversies. *Ultrason Sonochem*. 21(1): 15-22.
51. Wang M, Jiang L, Liu M, et al. (2024). Effects of Ultrasound on Disrupting Metabolite Profiles of *Pseudomonas fluorescens* Biofilms Cultured on the Surface of Lettuce. *Food Control*. 155: 110103.
52. Yu H, Liu Y, Yang F, et al. (2021). Combined an Acoustic Pressure Simulation of Ultrasonic Radiation and Experimental Studies to Evaluate Control Efficacy of High-Intensity Ultrasound Against *Staphylococcus aureus* Biofilm. *Ultrason Sonochem*. 79: 105764.
53. Ashrafudoulla M, Kim HJ, Her E, Shaila S, Park SH, Ha SD. (2023). Characterization of *Salmonella* Thompson-Specific Bacteriophages and Their Preventive Application Against *Salmonella* Thompson Biofilm on Eggshell as a Promising Antimicrobial Agent in the Food Industry. *Food Control*. 154: 110008.
54. Wang D, Zhao X, Wang H. (2023). Recent Advances of Bacteriophage-Derived Strategies for Biofilm Control in the Food Industry. *Food Biosci*. 54: 102819.
55. Azari R, Yousefi MH, Fallah AA, et al. (2024). Controlling of Foodborne Pathogen Biofilms on Stainless Steel by Bacteriophages: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biofilm*. 100170.
56. Lei W, Hao L, You S, Yao H, Liu C, Zhou H. (2022). Partial Purification and Application of a Bacteriocin Produced by Probiotic *Lactococcus lactis* C15 Isolated from Raw Milk. *LWT- Food Sci Technol*. 169: 113917.
57. Melian C, Ploper D, Chein R, Vignolo G, Castellano P. (2024). Impairment of *Listeria monocytogenes* Biofilm Developed on Industrial Surfaces by *Latilactobacillus curvatus* CRL1579 Bacteriocin. *Food Microbiol*. 121: 104491.
58. Villarreal LA, Ladero V, Sarquis A, Martinez B, del Rio B, Alvarez MA. (2024). Bacteriocins Against Biogenic Amine-Accumulating Lactic Acid Bacteria in Cheese: Nisin A Shows the Broadest Antimicrobial Spectrum and Prevents The Formation of Biofilms. *J Dairy Sci*. 107(7): 4277-4287.
59. Manoharadas, Salim, Mohammad Altaf, Abdulwahed Fahad Al-refaei, Rajesh Mamkulatil Devasia, Ahmed Yacine M. Badjah Hadj, ve Mohammed Saeed Ali Abuhasil. 2021. "Concerted dispersion of *Staphylococcus aureus* biofilm by bacteriophage and 'green synthesized' silver nanoparticles". *RSC Advances*. 11(3): 1420-29.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Müge UYARCAN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, TÜRKİYE

E-posta: muge.akkara@cbu.edu.tr





## Gıda Endüstrisinde Küresel Plastik Kirliliği: Mikro-Nanoplastikler ve Çevresel Etkileri

Müge UYARCAN<sup>1,a,✉</sup>, Sude Cansın GÜNGÖR<sup>1,b</sup>

<sup>1</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0003-1474-672X; <sup>b</sup>ORCID: 0009-0005-9166-6952

Geliş Tarihi/Received  
13.06.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
30.10.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

Son yıllarda gıda ambalajlamada petrol bazlı plastik kullanımının ham madde kaynağının bulunabilirliği, düşük maliyet, iyi yalıtım, zayıf elektrik/ısı iletkenlik ve korozyon direnci, hafiflik, yüksek mukavemet ve çok yönlü üretilebilirlik gibi çeşitli faktörler nedeniyle arttığı görülmektedir. 2022 yılında toplam plastik üretimi 400.3 milyon metrik ton olarak gerçekleşirken, plastik atık üretimi 300 milyon metrik ton seviyesine ulaşmıştır ve plastik atıkların sadece %14'ünün geri dönüştürüldüğü rapor edilmiştir. Bu üretim verilerinin arasında gıda ambalajları fosil yakıtlardan elde edilen plastiklerin %50'sini oluşturmaktadır. Plastik ambalajlar gıda endüstrisinde uzun süredir kullanılmasına rağmen kararlılıkları, dayanıklılıkları ve biyobozunur olmamaları sebebiyle çevreye zarar vermektedir. Plastik üretiminde genellikle ham madde olarak ham petrol, gaz ve kömür gibi fosil yakıtlar kullanılmaktadır. Fosil yakıtlar, çevre kirliliği ve toksik sera gazlarının (metan ve etilen) başlıca kaynaklarıdır. Günümüzde plastik üretiminden kaynaklanan bu yakıtların dünya genelinde yüksek bir oranda tüketilmesi, ciddi olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. İklim ve mevsim düzenindeki değişiklikler, buzulların geri çekilmesi ve yükselen deniz seviyeleri dahil olmak üzere olumsuz sonuçlar meydana getirmektedir. Ayrıca parçalara ayrıldıklarında mikroplastiklere ve nanoplastiklere dönüşmekte, bunlar da nihayetinde besin zincirine girerek, insanlar ve çevredeki diğer canlılar için sağlık sorunları oluşturmaktadır. Mikroplastikler ve nanoplastikler, plastik kaynaklı kirleticiler arasında son yıllarda en fazla dikkati çeken konu olmuştur. Mikro ve nanoplastik formlarındaki plastikler, boyutlarının çok küçük olması (mikroplastik (<5 mm) ve nanoplastik (<1 µm)) nedeniyle insan vücuduna hava yoluyla ve besin zinciri gibi çeşitli yollarla kolayca girerek insan sağlığını tehdit etmektedir. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar plastiklerin 'yararlı' kullanımından küresel sorunlara sebebiyet veren 'atıklara' dönüşümüne dikkat çekmekte ve plastik bazlı malzemelerin insan ve çevre sağlığı üzerindeki potansiyel zararlı etkilerini azaltmaya odaklanmıştır. Bu derlemede gıda ambalajlamada petrol bazlı plastiklerin ekolojik döngüsü, mikro-nanoplastik atıkların deniz, kara ve doğa ekosistemine ve küresel iklim değişikliklerine etkisi irdelenecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Gıda ambalajlama, mikroplastikler, nanoplastikler, plastik kirliliği

### Global Plastic Pollution in the Food Industry: Micro-Nanoplastics and Their Environmental Impact

#### Abstract

In recent years, the use of petroleum-based plastics in food packaging has increased due to various factors such as availability of raw material source, low cost, good insulation, poor electrical/heat conductivity and corrosion resistance, light weight, high strength and versatile manufacturability. In 2022, total plastic production was to 400.3 million metric tons, while plastic waste production reached 300 million metric tons, and only 14% of plastic waste was reported to be recycled. Among these production data, food packaging accounts for 50% of plastics derived from fossil fuels. Although plastic packaging has been used in the food industry for a long time, it harms the environment due to its stability, durability and non-biodegradability. In plastic production, fossil fuels such as crude oil, gas, and coal are commonly used as raw materials. Fossil fuels are the main sources of environmental pollution and toxic greenhouse gases (methane and ethylene). Today, the high global consumption of these fuels due to plastic production leads to serious adverse consequences. Changes in climate and seasonal patterns have negative consequences, including retreating glaciers and rising sea levels. In addition, when they break down, they turn into microplastics and nanoplastics, which eventually enter the food chain, posing health problems for humans and other living things in the environment. Microplastics and nanoplastics have attracted the most attention in recent years among plastic pollutants. Plastics in micro and nanoplastic forms pose a threat to human health due to their tiny sizes (microplastics (<5 mm) and nanoplastics (<1 µm)), allowing them to easily enter the human body through airways and various pathways, including the food chain. Especially in recent years, studies have drawn attention to the transformation of plastics from their 'beneficial' use into 'waste', which causes significant global problems, and have focused on reducing the potential harmful effects of plastic-based materials on human and environmental health. In this review, the ecological cycle of petroleum-based plastics in food packaging, the effects of micro-nanoplastic wastes on marine, land and nature ecosystems, and global climate changes will be examined.

**Key Words:** Food packaging, microplastics, nanoplastics, plastic pollution

## GİRİŞ

Plastikler, esas olarak fosil yakıtlardan elde edilen ve uzun hidrokarbon zincirinden oluşan malzemelerdir ve hafiflik, esneklik, neme dayanıklılık, yüksek mukavemet, düşük yoğunluk, düşük ısı ve elektrik iletkenliği, korozyona karşı direnç gösterme gibi mükemmel fizikokimyasal özellikleri ile ekonomik uygulanabilirlikleri nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (1-4).

Plastik endüstrisi 1950'den bu yana muazzam bir şekilde büyüme göstermiştir ve küresel plastik üretimi 2022'de 400,3 milyon tona ulaşmıştır (5). 2050 yılına kadar bu miktarın 33 milyar tona ulaşması beklenmektedir (6). Plastikler yenilenemeyen petrol bazlı ham maddelerden üretilmeleri, çok yönlü muazzam özelliklere sahip olmalarından dolayı özellikle tek kullanımlık ürünlerde tüketimlerinin ve dolayısıyla atık miktarının fazla olması ve atıkların sadece yakılarak bertaraf edilebilmesi nedeniyle önemli çevresel sorunlar meydana getirmektedir (7). Toplam kentsel katı atıkların yaklaşık %15-20'sini oluşturan ambalaj atıklarının birçok ülke için önemli bir sorun haline geldiği bildirilmektedir (8).

Plastik ambalajlar, 1950'lerden bu yana üretilen tüm plastiklerin yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır ve bu ambalajların yaklaşık %41'i gıda endüstrisi için kullanılmaktadır (9). Gıda endüstrisinde plastik ambalaj kullanımı esneklik, dayanıklılık, çok yönlülük ve düşük maliyet gibi cazip özellikleri nedeniyle tercih edilmektedir. Ancak bu özelliklerinden bağımsız olarak, plastik ambalajların yenilenemeyen malzemelerden üretilmeleri, doğada yüzlerce yıl boyunca kalabilmeleri nedeniyle atık sorunu oluşturmaları, üretimlerinin sera gazı emisyonunda artışa dolaylı olarak da küresel ısınma, iklim değişikliği gibi çevresel sorunlara sebebiyet vermesi ve bertarafı sırasında uygulanan fiziksel ve kimyasal işlemlerle ortaya çıkan kanserojen bileşiklerin doğaya karışması sonucu ekosisteme zararlı etkilerinin olduğu bilinen bir gerçektir (10-13). Gıda ambalaj endüstrisinin de yıllık %12'lik büyüme gösterdiği ve bu büyümenin sera gazı emisyonu ve karbon ayak izini önemli düzeyde arttırmışından dolayı çevresel endişe oluşturduğu bildirilmektedir (14).

Plastik atıkların yakma ile kalıcı olarak ortadan kaldırılabileceği yaygın olarak kabul edilse de, yapılan bir çalışmada yakma ile plastik atıkların çevresel etkilerinin tamamen ortadan kaldırılmadığı ve yakma sonucu kalan külün çevreye salınan potansiyel bir mikroplastik kaynağı olduğu rapor edilmiştir (15). Ayrıca çevredeki plastikler, güneş radyasyonuna maruz kaldıklarında metan ve etilen olmak üzere iki sera gazı (GHG) üretmektedir. Dünya çapında en çok üretilen ve atılan sentetik polimer olan polietilenin her iki gazın da en yoğun yayıcısı olduğu belirtilmektedir (16).

Plastik bozunması, polimerlerin ortamdaki fiziksel kuvvet, ultraviyole (UV) ışınları, sıcaklık değişimleri, biyolojik reaksiyonlar nedeniyle parçalanması ve bozunması aşamalarından oluşan çok yavaş bir süreçtir (17). Plastiklerin kullanım miktarındaki artışa bağlı olarak plastiklerin bozunmasından kaynaklı atıklar farklı ekosistemlerde birikmekte, "mikro" (<5.000 µm) veya "nano" (<100 nm) boyutlarında mikroplastikler (MP'ler) ve nanoplastikler (NP'ler) olarak adlandırılan çevresel kirleticilere dönüşmektedir (18). Son zamanlarda yapılan çalışmalar mikroplastik ve nanoplastiklerin, küçük boyutları ve hafiflikleri nedeniyle besin zincirini kontamine

ederek tüketim yoluyla insan vücuduna kolaylıkla girebildiği ve sağlık için potansiyel bir tehdit oluşturduğuna dikkat çekmektedir (19,20).

## GIDA ENDÜSTRİSİNDE KÜRESEL PLASTİK KİRLİLİĞİ

Günümüzde polimerik malzemeler, hafif ve korozyona dayanıklı olmaları, üretimlerinin kolay olması ve mekaniksel özelliklerinin iyi olması nedeniyle gıda ambalaj malzemelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (21). Bu nedenle gıda endüstrisi de küresel plastik kirliliğinin artmasında önemli bir paya sahiptir. Gıda ambalaj endüstrisinin yıllık yaklaşık %12 oranında büyüme göstermesinin küresel plastik kirliliğinin dolaylı olarak GHG emisyonlarının ve karbon ayak izlerinin artmasına neden olarak çevresel endişelere yol açtığı bildirilmektedir. Gıda ambalajlarının önemli bir kısmını kısa ömürlü tek kullanımlık plastik ambalaj malzemeleri oluşturduğu için kullanımları sonucu açığa çıkan yüksek miktarda atık çevre kirliliğine neden olmaktadır (14). Ek olarak, gıda ambalajlamada kullanılan plastiklerin üretim sürecinde çok fazla su ve enerji harcanmaktadır (22).

Gıda ambalajlamada kullanılan plastikler, esas olarak yenilenemeyen hammaddelere dayandıkları için ve genellikle kısa ömürlü ürünlerde (örneğin, tek kullanımlık ambalajlarda) kullanıldıkları için önemli çevre sorunlarına yol açmaktadır. Atıldıklarında ise çoğunlukla çöpe atılmakta ya da yakılmaktadırlar, bu da çevresel etkilerini artırmaktadır (7).

Gıda ambalajlamada kullanılan plastikler, kullanım ömürlerinin sonunda genellikle depolama alanlarına atılarak, yakma fırınlarında yakılarak veya çöpe atılarak bertaraf edilmektedir. Çöpe atıldıklarında plastik atıklar depolama alanlarına ya da yakma fırınlarına ulaşmamaktadır. Bu, plastiklerin uygunsuz bir şekilde bertaraf edilmesine yol açmakta ve çeşitli ekolojik sorunların kaynağı olarak tanımlanmaktadır. Plastik atıkların yakılması, bertaraf edilmesi gereken atık hacmini önemli ölçüde azaltmaktadır; ancak, bu süreç zehirli ağır metallerin açığa çıkmasına ve dioksin ile furan gibi zararlı gazların atmosfere yayılmasına neden olmaktadır (23).

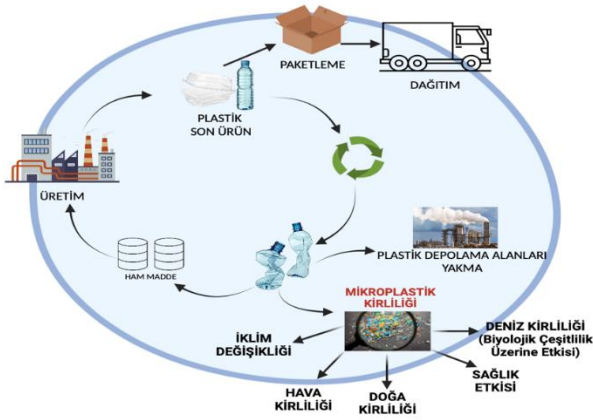
Plastik atık kaynaklarını genel olarak %14.9 şişeler/kapaklar, %12.5 polietilentereftalat (PET) şişeler, %9.3 süpermarket poşetleri/perakende poşetler, %6.5 gıda poşetleri ve %2.1 gıda kapları oluşturmaktadır. Plastikler, yüksek stabilite ve dayanıklılıkları nedeniyle doğada sınırlı bir bozunma göstermektedirler. Plastiklerin bozunma süreci, güneş ışığı, ısı, kimyasal ve biyolojik aktiviteler gibi çevresel faktörlerin yanı sıra, polimerlerin boyutu, yoğunluğu ve moleküler ağırlığı gibi fiziksel özelliklere de bağlıdır. Plastiklerin biyolojik olarak bozunma sürelerinin 100 ile 1000 yıl arasında değiştiği ve kullanılan plastiklerin yaklaşık %80'nin doğada biriktiği bu nedenle, ilk üretimi yapılan plastiklerin de doğada hala var olabileceği bildirilmektedir (24). 2019 yılında toplam plastik üretimi 368 milyon metrik tona, plastik atık üretimi ise 300 milyon metrik tona ulaşmıştır. Bununla birlikte plastik atıkların sadece %14'ünün geri dönüştürüldüğü ifade edilmektedir (25). Mevcut üretim ve atık yönetimi uygulamaları ile birlikte, 2050 yılına kadar yaklaşık 12000 milyon ton plastik atığın çöplüklerde veya çevrede olacağı tahmin edilmektedir (26). Gıda ambalajının toplam plastik kullanımındaki büyük payı ve tek kullanımlık ürünler olarak geniş uygulaması göz

önüne alındığında, çevre kirliliğine önemli bir katkıda bulunduğu görülmektedir (19).

## GIDA AMBALAJLAMADA KULLANILAN PLASTİKLER VE EKOLOJİK DÖNGÜSÜ

Gıda ambalaj malzemelerinde en yaygın olarak kullanılan plastikler, düşük ve yüksek yoğunluklu polietilen, polipropilen, polivinil klorür, PET ve polistirendir. Gıda ambalajlarının fosil yakıtlardan elde edilen plastiklerin yaklaşık %50'sini oluşturduğu bildirilmektedir (27).

Plastiklerin ekolojik döngüsü, ham petrolün çıkarılmasıyla başlayan dönüştürme, taşıma, üretim ve dağıtım ile devam eden geniş bir süreçten oluşmaktadır (Şekil 1) (28). Petrol, rafinerilerde çeşitli fraksiyonlara ayrılmakta ve ardından petrokimya tesislerinde monomerlerin üretimi için işlenmektedir. Bu monomerler daha sonra polimerizasyon işlemi ile plastik malzemelere dönüştürülmektedir. Üretilen plastikler, çeşitli ürünlerin üretiminde ham madde olarak kullanılmaktadır ve son ürünler tüketiciye ulaştırılmak üzere paketlenmektedir. Kullanım ömrünün sonunda, bu ürünler genellikle atık haline gelmektedir. Plastik atıklar, geri dönüşüm tesislerine yönlendirilmezse, çevreye önemli zararlar verebilecek şekilde çöplüklerde, denizlerde ve diğer doğal ortamlarda birikmektedir (13,29).



Şekil 1. Plastiklerin ekolojik döngüsü (biorender.com kullanılarak oluşturulmuştur)

Petrol bazlı plastikler, yenilenemeyen kaynaklardan üretilmektedir ve ekolojik döngüsü boyunca doğal habitatların tahrip edilmesi, su kütlelerinin kirlenmesi ve GHG emisyonu dahil olmak üzere önemli çevresel etkiler meydana getirmektedir. Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD) (2022)'ne göre, plastiklerin ekolojik döngüsü sonucu şu anda 1,8 Giga ton (Gt) CO<sub>2</sub> sera gazı oluşturmaktadır; ancak artan kullanım nedeniyle bu rakamın 2060 yılına kadar iki katına, yani >4,3 Gt CO<sub>2</sub> çıkması beklenmektedir (30). Bu emisyonların oranının küresel havacılık endüstrisinden kaynaklanan yıllık doğrudan hava kirliliğine yol açan sera gazı emisyonlarından önemli ölçüde yüksek olduğu bildirilmiştir (31).

2020 yılında yapılan bir çalışmada (32), yuvarlak ve dikdörtgen şekilli plastik kaplar ile plastik bardaklardaki mikropplastik (MP) varlığı incelenmiştir. Araştırma sonucunda, yuvarlak plastik kaplardan 12±5.12 mg, dikdörtgen kaplardan

38±5.29 mg ve plastik bardaklardan ise 3±1.13 mg MP parçacığı izole edilmiştir. Bu çalışma, plastik kapların şeklinin mikropplastik varlığı açısından önemli bir parametre olduğunu göstermekte ve plastik kapların insan ve çevreye doğrudan mikropplastik maruziyetinin önemli bir kaynağı olabileceğini ortaya koymaktadır.

## MİKRO-NANO PLASTİKLER

Plastikler, türüne ve bulunduğu ortama bağlı olarak yüzlerce hatta binlerce yıl varlığını sürdürebilmektedir (33). Çevreye atılan plastikler, mekanik güç, fiziksel, kimyasal ve biyolojik modifikasyonlar dahil olmak üzere dış etkenlere maruz kalmakta ve bu da mikro-nanoplastiklerin oluşumuna neden olmaktadır (34).

Mikropplastik kavramı ilk kez 2004 yılında ortaya çıkmıştır (35). Mikropplastikler boncuk, çekirdek, lif, köpük, parça/kırıntı, pelet, filament, film vb. gibi çok çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadır (36,37). Mikropplastikler çevrede kalma sürelerine ve maruz kaldıkları parçalanma işlemlerine göre şekil değiştirerek silindirik, disk, düz, küresel, uzun, yuvarlak ve şekilsiz görünümde doğada bulunmaktadır (38). Plastiklerin kullanıldığı ve atıldığı her yerde (toprakta, yüzey sularında, kıyılarda, plaj kumlarında, tatlı su alanlarında, denizde, nehirlerde, atmosferde, kar ve buzullarda) mikropplastik bulunabilmektedir. Plastik malzemelerin çevrede birikmesi bu nedenle önemli bir kirlilik sorunu olarak kabul edilmektedir (39).

Nanoplastikler büyük plastik atıkların fotokimyasal, oksidasyon, mekanik aşınma ve biyolojik bozunma gibi reaksiyonlar yoluyla parçalanması sonucu oluşan karışık şekillere ve kimyasal bileşimlere sahip nano boyutlarda küçük plastik parçalardır (40-42).

Nanoplastikler, çok küçük boyutları ve geniş yüzey alanları nedeniyle su ve toprakta kolayca taşınabildikleri için daha fazla çevresel kirlenmeye potansiyeline sahiptirler. Bu yüzden nanoplastiklerin yüksek düzeyde ekolojik risk oluşturdukları ifade edilmektedir (42). Ortamda biriken nanoplastikler çeşitli yollarla tatlı su alanlarına taşınarak bu ortamlarda önemli düzeyde kirlilik oluşturmaktadır. Nanoplastikler, benzersiz kimyasal yapıları nedeniyle tatlı su ortamlarında uzun süre boyunca kararlı kalabilmekte ve kalıcılığını sürdürebilmektedir. Bu nedenle tatlı su kaynaklarındaki nanoplastik kirliliği, küresel olarak büyüyen bir sorun haline gelmiştir (43). Nanoplastiklerin deniz ekosisteminde plastik kirliliğinin en önemli parçası olduğu belirtilmektedir (44). Ayrıca nanoplastiklerin atık su arıtma tesislerinde mikropplastiklerden 10<sup>14</sup> kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (45).

## Mikro-Nanoplastiklerin Çevresel Etkileri

Gıda endüstrisinde küresel plastik kirliliğinin çevreye salınması dünya çapında ciddi bir sorun olarak kabul edilmektedir. Mikropplastik parçacıklar çevrenin her yerinde (havada, içme suyunda, gıdalarda, göllerde, nehirlerde ve denizlerde) bulunabilmektedir (38). Son zamanlarda yapılan çalışmalar mikropplastik ve nanoplastik varlığının çevrede önemli bir düzeye ulaşmasının gıdalara da kontaminasyonuna sebep olduğuna dikkat çekmektedir. Çalışmalarda poşet çay (46), bira (47), kabuklu deniz ürünleri (48), kanatlı eti (49), şişelenmiş

su (50), sofr tuzu (51), şeker, bal (52,53) gibi çeşitli gıdalarda da mikropplastik varlığı rapor edilmiştir. Gıdalarda mikropplastik kontaminasyonu ile ilgili yapılan bazı çalışmalar Tablo 1’de gösterilmektedir.

**Tablo 1.** Gıdalarda mikropplastik kontaminasyonu ile ilgili yapılan bazı çalışmalar

Gıda	Bulgular	Kaynaklar
Poşet çay	Tek bir plastik çay poşetini demleme sıcaklığında (95 °C, 5 dakika) demlemenin, içeceğin tek bir fincanına yaklaşık 11,6 milyar mikropplastik ve 3.1 milyar nanopplastik tespit edilmiştir.	46
Bal, süt, bira ve alkolsüz içecekler	Çalışma sonucunda alınan örneklerde mikropplastiklerin sayısının 10 ila 100 MPs/L arasında değişim gösterdiği ve ortalama 40 MPs/L civarında olduğu saptanmıştır.	47
Şişe suyu	9 farklı ülkede incelenen 259 şişe suyun %93’ünün mikropplastikler ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. 1 litre şişelenmiş suda ortalama 10.4 adet >100 um boyutunda mikropplastik partikül bulunmuştur.	50
Deniz tuzu, göl tuzu, kuyu tuzu	Çin’deki süpermarketlerde satılan deniz tuzlarında 550-681 partikül/kg, göl tuzlarında 43-364 partikül/kg ve kaya / kuyu tuzlarında 7-204 partikül/kg mikropplastik tespit edilmiştir.	51
Şeker	Bangladeş’de farklı süpermarketlerden elde edilen şekerlerde ortalama 343.7 ± 32.08 mikropplastik/kg şeker varlığı tespit edilmiştir.	52
Midye dolma	Çalışma sonucunda bir tüketicinin ortalama porsiyon başına 100 g midye dolma tüketmesi durumunda porsiyon başına 5.8 mikropplastik tüketme riskinin olduğu ifade edilmiştir	86
Armut, elma, domates, soğan, patates ve hıyar	Çalışma sonucunda tüm örneklerde (n=72) toplam 210 mikropplastik partikül (ortalama 2.9 ± 1.6 partikül/g) varlığı tespit edilmiş ve en yüksek mikropplastik varlığı domateste (3.63 ± 1.39 partikül/g) bulunmuştur.	87

Nanoplastiklerin gıdalarda tespitine yönelik literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak yapılan bir çalışmada salatalık bitkisinde fizyolojik ve biyokimyasal değişimler üzerine nanopplastiklerin etkisi araştırılmış çalışma sonucunda nanopplastiklerin salatalık yapraklarının şeker metabolizmasını, fotosentetik ve antioksidan özelliklerini etkilediği tespit edilmiştir (54).

Gıda endüstrisinde işleme, depolama ve nakliye gibi çeşitli alanlarda plastik ambalajların kullanımı mikropplastiklerin gıda zincirine girmesine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır. Çeşitli gıda işleme faaliyetleri sırasında plastik ambalaj malzemelerinin ve ekipmanlarının kullanılması, mikropplastiklerin işlenen gıdaya geçmesine yol açmaktadır (55). Bununla birlikte, son zamanlarda yapılan çalışmalar gıda ambalaj malzemelerinden mikropplastik partiküllerin salındığını ve bu durumun gıda kontaminasyonuna sebep olduğunu göstermektedir (56,57).

Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan plastikler çevrede mikropplastiklere dönüşerek önemli düzeyde kirlilik sorunu oluşturmaktadır. Mikropplastikler çevrede homojen

dağılmayan ve özellikle karasal ve sucul ekosistemlerde yaygın olarak bulunan kirleticiler olarak bilinmektedir. Güncel çalışmalar genellikle sucul ekosistemler üzerine yoğunlaşsa da, plastiklerin karasal ortamlarda kullanılması nedeniyle, karasal ekosistemler bu kirleticilerin sucul alanlara taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Örneğin, toprağa karışan mikropplastikler burada birikmekte, erozyonla taşınabilmekte ve zamanla bozunarak yeraltı sularına sızabilmektedir. Ayrıca, toprakta yaşayan canlılar bu mikropplastikleri vücutlarına alabilmekte ve köstebek, sincap gibi hayvanların hareketiyle de bu kirleticiler başka bölgelere yayılarak kirliliği arttırabilmektedir (58).

Gıda endüstrisinde tek kullanımlık plastik kapların kullanımı her geçen gün artmakta ve insanların tüketimi için kaçınılmaz bir hal almaktadır. Gıda endüstrisinde kullanılan plastiklerin üretim sürecinden tüketime kadar mekanik kuvvet, ısı, ışık gibi fiziksel etkilere maruz kalması sonucunda mikropplastikler oluşmakta ve bunlar da gıda kabının iç yüzeylerinde pürüzlü döküntü yapılar oluşturarak gıda kontaminasyonuna sebep olmaktadır. Örneğin, plastik şişe kapaklarının açılıp kapanması sırasında uygulanan mekanik gerilmeler bile milyonlarca mikropplastik parçacığının suya karışmasına neden olmaktadır (59). 2019 yılında yapılan bir çalışmada (60), mekanik stresin Yüksek Yoğunluklu Polietilen (HDPE) kapak ve PET şişelerde mikropplastik oluşumunu doğrudan etkilediğini göstermiştir. Ayrıca, aynı tek kullanımlık plastik şişenin tekrar tekrar kullanılmasıyla, insanların mikropplastikleri yutma riskinin arttığı belirtilmektedir. Gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan tek kullanımlık ambalajlar, özellikle kısa ömürlü ürünler için kullanıldıktan kısa bir süre sonra atık haline gelmektedir. Bu ambalajların büyük bir kısmı çöplüklere ve okyanuslara atılmakta ve çok azı geri dönüştürülmektedir. Bu atıklar, çevreye yayıldıkça mekanik kuvvetlerle mikropplastiklere dönüşerek çevre kirliliğine katkıda bulunmaktadır (14).

Mikropplastikler gıda endüstrisine hazırlama, pişirme ve işleme aşamalarında da kontaminasyona yol açabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, gıda hazırlama sırasında kullanılan plastik kesme tahtalarının belirli bölgesinde yapılan analizlerde her bir kesimde mm başına yaklaşık 100-300 mikropplastik/nanoplastik parçacığı ve mm<sup>2</sup> alan başına da yaklaşık 3000 mikropplastik/nanoplastik parçacığın kesim işlemi boyunca salınım gösterebileceği rapor edilmiştir (61). Ayrıca, plastik gıda kaplarının mikrodalga veya fırın ısıtması sonrası ambalajlanmış gıdanın yüzeyine mikropplastiklerin sızdığı bildirilmektedir (62). Mikropplastikler, bitki fotosentezini ve mikrobiyal karbon kullanım verimliliğini engelleyerek ekosistem sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açmaktadır. Ayrıca, karbon bağlama ve oksijen üretiminde önemli bir rol oynayan fitoplanktonların büyümesi, mikropplastik kirliliği nedeniyle engellenmektedir. Bu durum, deniz ekosistemlerinde karbon havuzunun azalmasına ve sera gazı emisyonlarının artmasına neden olarak küresel ısınma potansiyelini artırmaktadır. Son olarak, mikropplastikler karbon döngüsü ve enerji akışı gibi ekolojik işlevleri değiştirerek çevresel sürdürülebilirliği ve insan sağlığını tehdit etmektedir (63).

Günümüzde yapılan çalışmalar mikropplastik kirliliği sorununun giderek daha ciddi hale geldiğini ve çevre üzerindeki

potansiyel risklerinden dolayı endişe oluşturduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarda okyanusta (64), içme suyunda (65), toprakta (66), canlı organizmalarda (67) ve hatta insan plasentası (68) ve kanında (69) mikroplastik varlığının tespit edilmesi yeni bir küresel çevre kirliliği sorununu beraberinde getirmiştir.

Plastik atıklar, çeşitli karasal (kentsel atıklar, turizm vb.) ve sucul (balıkçılık ve denizcilik faaliyetlerinden kaynaklanan atıklar) kaynaklardan çevreye yayılmaktadır (70) ve her yıl deniz ekosistemine karışarak giderek artan bir endişe kaynağı oluşturmaktadır. Plastik atıkların büyük bir kısmı karada üretilmekte ve çeşitli yollarla atıkların ana birleşim yeri olarak kabul edilen deniz ortamına ulaşmaktadır. Askıda kalan küçük plastik parçacıklar deniz yüzeyinde birikirken, diğer parçacıklar deniz tabanında ve plajlarda birikerek habitat için risk oluşturmaktadır (71).

Okyanus ortamlarında yaşamı tehdit eden yoğun mikroplastik kontaminasyonu giderek artmakta ve mikroplastik miktarının 2060 yılına kadar 270 milyon tona ulaşacağı öngörülmektedir (72). Plastik atıklardan kaynaklanan sucul ekosistemlerin kontaminasyonunun iklim değişikliğine sebebiyet verdiği bilinmektedir. İklim değişikliği, dünya genelinde artan okyanus sıcaklıkları, deniz seviyesindeki yükselme, okyanus asitlenmesi ve aşırı hava olaylarıyla birlikte büyük ekolojik ve sosyo-ekonomik zararlara neden olmaktadır. Bu durumun, küresel bir tehdit unsuru olarak etkilerinin gelecekte daha da yoğunlaşması beklenmektedir (73). Ayrıca iklim değişikliği küresel ısınmaya yol açarak mercan türlerinde yüksek ölüm oranlarına ve bazı türlerin neslinin tükenmesine neden olmaktadır (74).

Nanoplastikler ise küçük boyutları nedeniyle çıplak gözle görülemeyebilirler, bu durum tespit edilmelerini zorlaştırmaktadır. Bu küçük plastik parçacıklar okyanuslar başta olmak üzere (75), toprak (76) ve atmosfer (77) gibi çeşitli ekosistemlere yayıldıkça, insan sağlığı ve çevre için potansiyel tehlike oluşturmaktadır (78). Atmosferdeki nanoplastiklerin insanlar ve karada yaşayan hayvanlar tarafından kolayca solunabileceği ve sağlığı olumsuz etkileyebileceği belirtilmektedir (79). Yapılan bir çalışmada (80), karasal ortamda nanoplastiklerin topraktan bitkiye (maş fasulyesi, *Vigna radiata*) ve ardından tüketiciye (salyangoz, *Achatina fulica*) geçişi araştırılmıştır. Sonuçlar, nanoplastiklerin bitkide kök büyümesini azalttığını ve bitkiyi tüketen salyangozda büyüme hızının düşmesine ve beslenme zorluğu çekmesine neden olduğu bildirilmektedir.

### Mikro-Nanoplastiklerin Toksik Etkileri

Mikroplastiklerin her yerde bulunması, organizmalar ve insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Hayvanlarda, sindirim sisteminin tıkanmasına neden olarak hayvanın ölümüne veya beslenme alışkanlıklarının bozulmasına yol açabilir. İnsanlarda ise sağlık etkileri henüz tam olarak belirlenmemiştir. Ancak potansiyel olarak akciğer iltihabına, birincil ve ikincil düzeyde genotoksik etkilere neden olabileceği ifade edilmiştir (81).

Suda yaşayan organizmalarda mikroplastiklerin araştırılması önemlidir; çünkü bu parçacıklar besin zinciri yoluyla taşınabilmekte, organizmaların büyüme ve üreme süreçlerini

olumsuz etkileyebilmekte ve insan vücudunda birikerek sağlık üzerinde zararlı etkilere yol açabilmektedir (82). Özellikle keskin yapıya sahip mikroplastik parçacıkları, insan vücudunu fiziksel olarak uyararak toksisiteye neden olabilmektedir. Ayrıca, bu parçacıklar, plastik polimerlerin yapılarında bulunan endokrin bozucuların salınımını sağlayarak insan vücudunu olumsuz etkileyebilmektedir. Endokrin bozucular, hormon aktif maddeler olarak da adlandırılan, insan vücuduna çeşitli kanser hücrelerinin üretimini teşvik ederek ve üreme sistemi bozukluklarına yol açarak zarar verebilen maddelerdir. Bunun yanı sıra, mikroplastikler ortamda bulunan ağır metaller ve organik kirleticiler gibi toksik kimyasalları adsorbe ederek taşıyabilmekte; bu durum da insan vücudunu olumsuz etkileyebilmektedir (83).

Deniz canlılarının mikroplastikleri yutmasının sonucu gastrointestinal sistem fizyolojisindeki değişiklikler, bağışıklık sisteminde bozulma, oksidatif stres, sitotoksikite ve büyüme inhibisyonu olduğu bildirilmektedir (84, 85). Mikroplastiklerin toksik etkileri ile ilgili yapılan bazı çalışmalar Tablo 2'de gösterilmektedir.

Toksik Etki	Organizma	Boyut / Maruz kalma süresi	Kaynaklar
Karaciğerde inflamasyon ve lipid birikimi	Zebra balığı ( <i>Danio rerio</i> )	5 µm / 0-7 gün	88
Ortalama spesifik büyüme oranında düşüş	<i>Tetraselmis chuii</i>	5 nm / 96 saat	89
Büyüme oranında düşüş ve üremede azalma	<i>Hyalella azteca</i>	<5 mm / 10 gün	90
Larva uzunluğunda azalma	<i>Paracentrotus lividus</i>	<5 mm / 24 saat	91
Serum albümin proteinlerinin yapı ve işlevlerinin zarar görmesi	İnsan	5 µm	92
Bağırsakta birikim	Japon balığı ( <i>Carassius auratus</i> )	<5 mm / 1.5 saat - 6 gün	93
Kök büyümesinin engellenmesi	Su mercimeği ( <i>Lemna minor</i> )	< 5 mm / 48 saat	94
Besin alımının azalması, büyüme oranında düşüş, üremede azalma	Zooplankton	< 50 µm	95
Yüksek mikroplastik seviyelerinde beslenme bozuklukları ve üremede azalma	<i>Daphnia magna</i>	1-5 µm	96

## SONUÇ

Petrol bazlı plastikler, sahip oldukları özellikler nedeniyle gıda ambalajlamada önemli rol oynamaktadır. Gıda endüstrisinde plastiklerin yaygın olarak kullanımı, mikroplastiklerin gıdalara geçmesine ve dolayısıyla insan tüketimine zemin hazırlamaktadır. Endüstride yaygın olarak kullanılan plastik ambalajlar, nakliye ve depolama süreçlerinde gıdaların plastik yüzeylerle temas etmesi sonucunda mikro ve nanoplastiklerin gıdalarda birikmesine yol açabilmektedir. Ayrıca, gıda endüstrisinde kullanılan plastiklerin çevreye atılması, ekosistemlerin zarar görmesine neden olmakta ve çevresel kirliliğin yoğun olduğu bölgelerde bulunan bitkiler, hayvanlar, su kaynakları ve toprak mikro ve nanoplastiklere maruz kalmaktadır. Plastiklerin dayanıklı yapısı, bozunmaya karşı direnç göstermekte ve bozduğunda bile mikroplastiklere ve nanoplastiklere dönüşerek plastik atıkların bertaraf edilmesini zorlaştırmaktadır. Özellikle deniz ekosistemlerinde biriken mikroplastikler, deniz canlıları tarafından besin sanılarak tüketilmekte ve bu organizmaların biyolojik işlevlerini bozabilmektedir. Araştırmalar, mikroplastiklerin sadece fiziksel zararlar vermediğini, aynı zamanda organizmalar üzerinde toksik etkilere neden olabileceğini göstermektedir. İnsan sağlığı açısından potansiyel riskler henüz tam olarak anlaşılmamış olsa da, gıda zincirine dahil olmaları ve vücutta birikmeleri konusundaki endişeler giderek artmaktadır. Sonuç olarak, gıda endüstrisindeki artan plastik kirliliği, çevresel sürdürülebilirliği ciddi biçimde tehdit eden bir sorun olarak ön plana çıkmaktadır. Plastikler su kaynaklarından toprak kalitesine, hava kirliliğinden biyoçeşitliliğe kadar birçok alanda olumsuz etkileri yol açmaktadır. Uzun vadede ekosistemler ve insan sağlığı üzerinde kalıcı hasarlar bırakabilecek bu sorunla baş edebilmek için, gıda endüstrisinin plastik kullanımını azaltmaya yönelik yenilikçi ve sürdürülebilir çözümler üretmesi büyük bir gereklilik haline gelmiştir.

## KAYNAKLAR

- Jasso-Salcedo AB, Díaz-Cruz CA, Rivera-Vallejo CC, Jiménez-Regalado EJ, Aguirre-Loredo RY. (2024). Human Consumption of Microplastics via Food Type and Habits: Recent Review. *Wat Air and Soil Poll.* 235(2):1-22.
- Frias JPGL, Nash R. (2019). Microplastics: Finding a Consensus on the Definition. *Mar Pollut Bull.* 138:145-147.
- Iroegbu AOC, Sadiku RE, Ray SS, Hamam Y. (2020). Plastics in Municipal Drinking Water and Wastewater Treatment Plant Effluents: Challenges and Opportunities for South Africa—a Review. *Environ Sci Pollut Res Int.* 27:12953–12966.
- Pan D, Su F, Liu C, Guo Z. (2020). Research Progress for Plastic Waste Management and Manufacture of Value-Added Products. *Adv Compos Hybrid Mat.* 3:443–461.
- Pereyra-Camacho MA, Pardo I. (2024). Plastics and The Sustainable Development Goals: from Waste to Wealth with Microbial Recycling and Upcycling. *Microb Biotechnol.* 17(4): e14459.
- Xu S, Ma J, Ji R, Pan K, Miao AJ. (2020). Microplastics in Aquatic Environments: Occurrence, Accumulation, and Biological Effects. *Sci Total Environ.* 703: 134699.
- Pivnenko K, Eriksen MK, Martín-Fernández JA, Eriksson E, Astrop TF. (2016). Recycling of Plastic Waste: Presence of Phthalates in Plastics from Households and Industry. *Waste Manag.* 54: 44-52.
- Tencati A, Pogutz S, Moda B, Brambill M, Cacia C. (2016). Prevention Policies Addressing Packaging and Packaging Waste: Some Emerging Trends. *Waste Manag.* 56: 35-45.
- Majder-Lopatka M, Weśnierski T, Ankowski A, et al. (2022). Thermal Analysis of Plastics Used in the Food Industry. *Mater.* 15, 248.
- Qasim U, I. Osman A, H. Al-Muhtaseb A, et al. (2021). Renewable Cellulosic Nanocomposites for Food Packaging to Avoid Fossil Fuel Plastic Pollution: A Review. *Environ. Chem. Lett.* 19:613–641.
- J. Groh K, Backhaus T, Carney-Almroth B, et al. (2019). Overview of Known Plastic Packaging-Associated Chemicals and their Hazards. *Sci. Total Environ.* 651:3253–3268.
- Shen M, Song B, Zeng G, et al. (2020). Are Biodegradable Plastics a Promising Solution to Solve the Global Plastic Pollution? *Environ. Pollut.* 263:114469.
- Evode N, Qamar SA, Bilal M, Barcelo D, Iqbal HMN. (2021). Plastic Waste and Its Management Strategies for Environmental Sustainability. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.* 4:100142.
- Ncube LK, Ude AU, Ogunmuyiwa EN, Zulkifli R, Beas IN. (2021). An Overview of Plastic Waste Generation and Management in Food Packaging Industries. *Recycl.* 6, 12.
- Yang Z, Lü, F, Zhang H, et al. (2021). Is Incineration the Terminator of Plastics and Microplastics? *J Hazard Mater.* 401: 123429.
- Royer SJ, Ferrón S, Wilson ST, Karl DM. (2018). Production of Methane and Ethylene from Plastic in The Environment. *PLoS ONE*, 13(8): e0200574.
- Zurub RE, Cariaco Y, Wade MG, Bainbridge SA. (2024). Microplastics Exposure: Implications for Human Fertility, Pregnancy and Child Health. *Front Endocrinol.* 14: 1330396.
- Rubio L, Marcos R, Hernández A. (2020). Potential Adverse Health Effects of Ingested Micro- and Nanoplastics on Humans. Lessons Learned From in Vivo and in Vitro Mammalian Models. *J Toxicol Env Health B Crit Rev.* 23(2): 51-68.
- Boone L, Prétat N, Nhu TT, et al. (2023). Environmental Performance of Plastic Food Packaging: Life Cycle Assessment Extended with Costs on Marine Ecosystem Services. *Sci Total Environ.* 894: 164781.
- Zhang J, Li T, Tao S, Shen M. (2024). Microplastic Pollution Interaction with Disinfectant Resistance Genes: Research Progress, Environmental Impacts, and Potential Threats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 31: 16241–16255
- Agarwal A, Shaida B, Rastogi M, Singh NB. (2023). Food Packaging Materials with Special Reference to Biopolymers-Properties and Applications. *Chem Afr.* 6: 117-144.
- Kan, M, & Miller, SA. (2022). Environmental Impacts of Plastic Packaging of Food Products. *Resour Conserv Recycl.* 180: 106156.
- Acquavia MA, Pascale R, Martelli G, Bondoni M, Bianco G. (2021). Natural Polymeric Materials: a Solution to Plastic Pollution from the Agro-Food Sector. *Polym.* 13,158.
- Pilapitiya NTPGC, Ratnayake AS. (2024). The World of Plastic Waste: a Review. *Cleaner Materials.* 11: 100220.
- Das, D., Panesar, P. S., Saini, C. S., Kennedy, J. F. 2022. Improvement in Properties of Edible Film Through Non-Thermal Treatments and Nanocomposite Materials: A Review, *Food Packaging and Shelf Life*, 32, 100843.
- Geyer R, Jambeck JR, Law KL. (2017). Production, Use, and Fate of All Plastics Ever Made. *Sci Adv.* 3: e1700782.
- Ncube LK, Ude AU, Ogunmuyiwa EN, Zulkifli R, Beas IN. (2020). Environmental Impact of Food Packaging Materials: A Review

- of Contemporary Development from Conventional Plastics to Polylactic Acid Based Materials. *Mater.* 13(21): 4994.
28. Lithner D, Larsson A, Dave G. (2011). Environmental and Health Hazard Ranking and Assessment of Plastic Polymers Based on Chemical Composition. *Sci Total Environ.* 409: 3309-3324.
  29. Alhazmi H, Almansour FH, Aldhafeeri Z. (2021). Plastic Waste Management: A Review of Existing Life Cycle Assessment Studies. *Sustainability*, 13: 5340. 23
  30. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (2022). *Global Plastics Outlook: Policy Scenarios to 2060*. OECD Publishing.
  31. Jiao H, Ali SS, Alsharbaty MHM, et al. (2024). A Critical Review on Plastic Waste Life Cycle Assessment and Management: Challenges, Research Gaps, and Future Perspectives. *Ecotoxicol Environ Saf.* 271: 115942.
  32. O. Fadare O, Wan B, Guo L, Zhao L. (2020). Microplastics from Consumer Plastic Food Containers: Are We Consuming It? 253-126787.
  33. Bishop G, Styles D, Lens PNL. (2020). Recycling of European Plastic is a Pathway for Plastic Debris in the Ocean. *Environ Int.* 142: 105893.
  34. Wen S, Zhao Y, Wang M, Yuan H, Xu H. (2024). Micro(Nano) Plastics in Food System: Potential Health Impacts on Human Intestinal System. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 64(5): 1429-1447.
  35. Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, Davis, A., et al. (2004). Lost at Sea: Where is All The Plastic? *Science*, 304 (5672): 838.
  36. Hirt N, Body-Malapel M. (2020). Immunotoxicity and Intestinal Effects of Nano- and Microplastics: A Review of The Literature. *Part Fibre Toxicol.* 17: 1-22.
  37. Esmeray E, Armutcu C. (2020). Mikroplastikler, Çevre-İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri ve Analiz Yöntemleri. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8(1): 839-868.
  38. Ziani K, Ioniță-Mîndrican CB, Mititelu M, et al. (2023). Microplastics: A Real Global Threat for Environment and Food Safety: a State of the Art Review. *Nutr.* 15(3): 617.
  39. Reynaud S, Aynard A, Grassl B, Gigault J. (2022). Nanoplastics: From Model Materials to Colloidal Fate. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 57: 101528.
  40. Samsudin MS, Azman A, Latiffah ARN. (2023). Nanoplastics in Environment Environmental Risk, Occurrence, Characterization, and Identification. In: Nanofillers for Sustainable Application. NM Nurazzi, E Bayraktar, MNF Norrahim, HA Aisyah, N Abdullah, MRM Asyraf (eds). 1<sup>st</sup> ed. pp. 188-197, CRC Press, Boca Raton.
  41. Gulati S, Amar A, Olihan S. (2024). Environmental Fate, Behavior, and Risk Management Approaches of Nanoplastics in the Environment: Current Scenario and Future Insights. In: *Solid Waste Treatment Technologies: Challenges and Perspectives*. P Gautam, V Kumar, S Kumar(eds). 1<sup>st</sup> ed. pp. 148-172, CRC Press, Boca Raton.
  42. Ye J, Ren Y, Dong Y, Fan D. (2024). Understanding The Impact of Nanoplastics on Reproductive Health: Exposure Pathways, Mechanisms, and Implications. *Toxicology*, 504: 153792.
  43. Wang L, Zhu Q, Hu M, et al. (2024). Toxic Mechanisms of Nanoplastics Exposure at Environmental Concentrations on Juvenile Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*): from Multiple Perspectives. *Environ Pollut.* 352: 124125.
  44. Hietbrink ST, Materic D, Holzinger R, Niemann H. (2023). High nanoplastic concentrations across the North Atlantic. *Research Square*. In press. Doi: 10.21203/rs.3.rs-3376869/v1
  45. Yoganandham ST, Hamid N, Junaid M, Duan JJ, Pei DS. (2023). Micro(Nano) Plastics in Commercial Foods: a Review of Their Characterization and Potential Hazards to Human Health. *Environ Res.* 236: 116858.
  46. Hernandez LM, Xu EG, Larsson HCE, Tahara R, Maisuria VB, Tufenkji N. (2019). Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environ. Sci. Technol.* 53(21), 12300–10.
  47. Diaz-Basantes MF, Conesa JA, Fullana A. (2020). Microplastics in Honey, Beer, Milk and Refreshments in Ecuador as Emerging Contaminants. *Sustainability.* 12:551.
  48. Daniel DB, Ashraf PM, Thomas SN, Thomson KT. (2021). Microplastics in The Edible Tissues of Shellfishes Sold for Human Consumption. *Chemosphere.* 264:128554.
  49. Kedzierski M, Lechat B, Sire O, Le Maguer G, Le Tilly V, Bruzaud S. (2020). Microplastic Contamination of Packaged Meat: Occurrence and Associated Risks. *Food Packag. Shelf Life*, 24:100489.
  50. Mason SA, Welch VG, Neratko J. (2018). Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water. *Front Chem.* 6: 389699.
  51. Yang D, Shi H, Li L, Li J, Jabeen K, Kolandhasamy P. (2015). Microplastic Pollution in Table Salts from China. *Environ Sci Technol.* 49: 13622-13627.
  52. Afrin S, Rahman MM, Hossain MN, Uddin MK, Malafaia G. (2022). Are There Plastic Particles in My Sugar? A Pioneering Study on the Characterization of Microplastics in Commercial Sugars and Risk Assessment. *Sci Total Environ.* 837: 155849.
  53. Mühlischlegel P, Hauk A, Walter U, Sieber R. (2017). Lack of Evidence for Microplastic Contamination in Honey. *Food Addit Contam.* 34(11): 1982-1989.
  54. Li Z, Li R, Li Q, Zhou J, Wang G. (2020). Physiological Response of Cucumber (*Cucumis sativus L.*) Leaves to Polystyrene Nanoplastics Pollution. *Chemosphere*, 255: 127041.
  55. Sharma P. (2024). Microplastic Contamination in Food Processing: Role of Packaging Materials. *Food Sci. Eng.* 147:110516.
  56. Cella C, La Spina R, Mehn D, et al. (2022). Detecting Micro- and Nanoplastics Released from Food Packaging: Challenges and Analytical Strategies. *Polymers.* 14:1238.
  57. Schymanski D, Goldbeck C, Humpf HU, Fürst P. (2018). Analysis of Microplastics in Water by Micro-Raman Spectroscopy: Release of Plastic Particles from Different Packaging into Mineralwater. *Water Research*, 129, 154-62.
  58. Arı M, Öğüt S. (2021). Mikroplastikler ve Çevresel Etkileri. *Düzce Univ. Sci. Technol. J.* 9:864-877.
  59. Jadhav EB, Sankhla MS, Bhat RA, Bhagat DS. (2021). Microplastics from Food Packaging: an Overview of Human Consumption, Health Threats, and Alternative Solutions. *Environ. Nanotechnol. Monit. Manag.* 16: 100608.
  60. Winkler A, Santo N, Ortenzi MA, Bolzoni E, Bacchetta R, Tremolada P. (2019). Does Mechanical Stress Cause Microplastic Release from Plastic Water Bottles? *Water Research*, 166:115082.
  61. Luo Y, Chuah C, Amin MA, et al. (2022). Assessment of Microplastics and Nanoplastics Released from a Chopping Board Using Raman Imaging in Combination With Three Algorithms. *J. Hazard. Mater.* 431:128636.
  62. Marazuela MD, Klaiber M, Moreno-Gordaliza E, Barata A, Gómez-Gómez MM. (2022). Safety Assessment of Commercial Antimicrobial Food Packaging: Triclosan and Microplastics, a Closer Look. *Food Packag. Shelf Life*, 31:100780.
  63. Li X, Wang X, Ren C, Palansooriya KN, Wang Z, Chang SX. (2024). Microplastic Pollution: Phytotoxicity, Environmental Risks, and Phytoremediation Strategies. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 54:6, 486-507.

64. Lusher AL, Tirelli V, O'Connor I, Officer R. (2015). Microplastics in Arctic Polar Waters: The First Reported Values of Particles in Surface and Sub-Surface Samples. *Sci Rep.* 5(1): 14947.
65. Shen M, Song B, Zhu Y, et al. (2020). Removal of Microplastics via Drinking Water Treatment: Current Knowledge and Future Directions. *Chemosphere*, 251: 126612.
66. Chang X, Fang Y, Wang Y, Wang F, Shang L, Zhong R. (2022). Microplastic Pollution in Soils, Plants, and Animals: A Review of Distributions, Effects and Potential Mechanisms. *Sci Total Environ.* 850: 157857.
67. Wieczorek AM, Croot PL, Lombard F, Sheahan JN, Doyle TK (2019). Microplastic Ingestion By Gelatinous Zooplankton May Lower Efficiency of the Biological Pump. *Environ Sci Technol.* 53(9): 5387-5395.
68. Ragusa A, Svelato A, Santacroce C, et al. (2021). Plasticenta: First Evidence of Microplastics in Human Placenta. *Environ Int.* 146: 106274.
69. Leslie HA, van Velzen MJM, Brandsma SH, Vethaak AD, Garcia-Vallejo JJ, Lamoree MH. (2022). Discovery and Quantification of Plastic Particle Pollution in Human Blood. *Environ Int.* 163: 107199.
70. Gündoğdu S, Rathod N, Hassoun A, et al. (2023). The Impact of Nano/Micro-Plastics Toxicity on Seafood Quality and Human Health: Facts and Gaps. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 63(23): 6445-6463.
71. Imhof HK, Ivleva NP, Schmid J, Niessner R, Laforsch C. (2013). Contamination of Beach Sediments of A Subalpine Lake with Microplastic Particles. *Curr Biol.* 23(19): R867-R86855
72. Benson NU, Agboola OD, Fred-Ahmadu OH, De-la-Torre GE, Oluwalana A, Williams AB. (2022). Micro(Nano)Plastics Prevalence, Food Web Interactions, and Toxicity Assessment in Aquatic Organisms: A Review. *Front Mar Sci.* 9: 851281.
73. Ford HV, Jones NH, Davies AJ, et al. (2022). The Fundamental Links Between Climate Change and Marine Plastic Pollution. *Sci Total Environ.* 806: 150392.
74. Bento R, Hoey AS, Bauman AG, Feary DA, Burt JA. (2016). The Implications of Recurrent Disturbances Within The World's Hottest Coral Reef. *Mar Pollut Bull.* 105: 466-472.
75. Halle AT, Jeanneau L, Martignac M, et al. (2017). Nanoplastic in the North Atlantic Subtropical Gyre. *Environ Sci Tech.* 51(23): 13689-13697.
76. Wahl A, Le Juge C, Davranche M, et al. (2021). Nanoplastic Occurrence in A Soil Amended with Plastic Debris. *Chemosphere*, 262: 127784.
77. Bhat MA, Gedik K, Gaga EO. (2023). Atmospheric Micro (Nano) Plastics: Future Growing Concerns for Human Health. *Air Qual Atmos Health.* 16(2): 233-262.
78. Gupta J, Rajamani P. (2023). Beyond Microplastics: Concern of Nanoplastic Pollution on Human and Environmental Health. *Plastic Pollution. EIACP: Geodiversity and Impact on Environment*, 28(4): 1-10.
79. Joksimovic N, Selakovic D, Jovicic N, et al. (2022). Nanoplastics As an Invisible Threat to Humans and the Environment. *J Nanomater.* 2022(1): 6707819.
80. Chae Y, An Y. (2020). Nanoplastic Ingestion Induces Behavioral Disorders in Terrestrial Snails: Trophic Transfer Effect via Vascular Plants. *Environ Sci Nano.* 7(3): 975-983.
81. Verla AW, Enyoh CE, Verla EN, Nwarnorh KO. (2019). Microplastic-Toxic Chemical Interaction: a Review Study on Quantified Levels, Mechanism And Implication. *SN Applied Sciences.* 1:1400.
82. Chen YY, Cheng XT, Zeng YQ. (2023). The Occurrence of Microplastic in Aquatic Environment and Toxic Effects for Organisms. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 20:10477-10490.
83. Lee Y, Cho J, Sohn J, Kim C. (2023). Health Effects of Microplastic Exposures: Current Issues and Perspectives in South Korea. *Yonsei Med J.* 64(5):301-308.
84. Meaza I, Toyoda JH, Wise Sr JP. (2021). Microplastics in Sea Turtles, Marine Mammals and Humans: A One Environmental Health Perspective. *Front. Environ. Sci.* 8:575614.
85. Kedzierski M, D'Almeida M, Magueresse A, et al. (2018). Threat of Plastic Ageing in Marine Environment. Adsorption/Desorption of Micropollutants. *Mar. Pollut. Bull.* 127:684-694.
86. Gündoğdu S, Çevik C, Ataş NT. (2020). Stuffed with Microplastics: Microplastic Occurrence in Traditional Stuffed Mussels Sold in the Turkish Market. *Food Biosci.* 37: 100715.
87. Aydın RB, Yozukmaz A, Şener İ, Temiz F, Giannetto D. (2023). Occurrence of Microplastics in Most Consumed Fruits and Vegetables from Turkey and Public Risk Assessment for Consumers. *Life*, 13(8): 1686.
88. Lu Y, Zhang Y, Deng Y, et al. (2016). Uptake and Accumulation of Polystyrene Microplastics in Zebrafish (*Danio Rerio*) and Toxic Effects in Liver. *Environ. Sci. Technol.* 50(7):4054-4060
89. Davarpanah E, Guilhermino L. (2019). Are Gold Nanoparticles and Microplastics Mixtures More Toxic to the Marine Microalgae *Tetraselmis chuii* than the Substances Individually? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 181:60-65.
90. Au SY, Bruce TF, Bridges C, J. Klaine S. (2015). Responses of *Hyalella Azteca* To Acute and Chronic Microplastic Exposures. *Environ. Toxicol. Chem.* 34:11, 2564-2572.
91. Oliviero M, Tato T, Schiavo S, et al. (2019). Leachates of Micronized Plastic Toys Provoke Embryotoxic Effects Upon Sea Urchin *Paracentrotus Lividus*. *Environ. Pollut.* 247:706-715.
92. Ju P, Zhang Y, Zheng Y, et al. (2020). Probing The Toxic Interactions Between Polyvinyl Chloride Microplastics and Human Serum Albumin by Multispectroscopic Techniques. *Sci. Total Environ.* 734:139219.
93. Grigorakis S, Mason SA, Drouillard KG. (2017). Determination of The Gut Retention of Plastic Microbeads and Microfibers in Goldfish (*carassius auratus*). *Chemos.* 169:233-238.
94. Kalcıkova G, Gotvajn AZ, Kladnik A, Jemec A. (2017). Impact of Polyethylene Microbeads on the Floating Freshwater Plant Duckweed *Lemna minor*. *Environ. Pollut.* 230:1108-1115.
95. Cole M, Lindeque P, Fileman E, et al. (2013). Microplastic Ingestion by Zooplankton. *Environ. Sci. Technol.* 47, 6646-6655.
96. Ogonowski M, Schür C, Jarsén Å, Gorokhova E. (2016). The Effects of Natural and Anthropogenic Microparticles on Individual Fitness in *Daphnia Magna*. *PLoS ONE* 11(5): e0155063.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Müge UYARCAN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa

Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,

Manisa, TÜRKİYE

E-posta: muge.akkara@cbu.edu.tr





## A Traditional Fermented Product 'Kishk'

Sara KHEDR<sup>1,a</sup>, Hüsnü Şahan GÜRAN<sup>1,b</sup>✉

<sup>1</sup>Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Dicle University, Diyarbakır, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0002-2592-5478; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0002-6674-5510

Geliş Tarihi/Received  
14.06.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
05.12.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Abstract

The preservation of food through fermentation dates back to ancient times. With the understanding of its positive effects on health, fermented foods have become commonly consumed today. Kishk, a traditional fermented product among fermented foods, is widely produced in different countries, especially in the Eastern Mediterranean, North Africa, and the Middle East. It is similar to tarhana and is made by fermenting and drying a mixture of milk or fermented milk products (yogurt, buttermilk, churned buttermilk "Shanina," or Labneh), along with bulgur or other cereals and salt. The production of kishk can vary from country to country and even within different regions of the same country. This variation makes it difficult to standardize kishk production worldwide. This study aims to provide general information about kishk, which is relatively unknown in Turkey but broadly produced and consumed with love worldwide, especially in Arab countries.

**Anahtar Kelimeler:** Fermentation, food, kishk, production, traditional

### Geleneksel Bir Fermente Ürün 'Kışk'

#### Öz

Gıda maddelerinin fermantasyon yolu ile muhafazası tarihte çok eski yıllara kadar uzanmaktadır. Sağlık üzerindeki olumlu etkilerinin anlaşılmasıyla birlikte, fermente gıdalar günümüzde sıklıkla tüketilen gıdalar haline gelmişlerdir. Fermente gıdalar arasında yer alan kışk farklı ülkelerde; özellikle de Doğu Akdeniz, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'da yaygın üretilen, tarhanaya benzeyen, süt veya fermente süt ürünleri (yoğurt, yayık ayranı "Shanina", veya Labne) ile bulgur gibi tahıl ürünleri ve tuz eklendikten sonra fermente edilip kurutulmuş elde edilen geleneksel bir fermente üründür. Kışk üretimi ülkeden ülkeye hatta aynı ülkenin farklı bölgelerine göre değişkenlik gösterebilmektedir. Bu durum dünyada standart bir kışk üretimini yapılmasını zorlaştırmaktadır. Bu çalışmada; Türkiye'de az bilinen ancak dünya genelinde ve başta Orta Doğu ülkeleri olmak üzere birçok Arap ülkesinde geleneksel olarak üretilip sevilerek tüketilen kışk hakkında genel bilgilerin verilmesi amaçlanmıştır.

**Key Words:** Fermantasyon, gıda, geleneksel, kışk, üretim

## INTRODUCTION

Fermentation is one of the most inexpensive techniques for manufacturing and preserving food (1,2). It has been used along with smoking, drying, and salting processes since ancient times to store food for later consumption, marking a significant step in the culinary history of humanity (3-7). Fermentation is a natural method that enhances the nutritional value of foods by preserving them from spoilage and providing essential amino acids, probiotics, postbiotics, and vitamins. Moreover, it increases the digestibility and absorption of some nutrients. It also detoxifies unwanted substances such as phytates, tannins, and polyphenols in raw foods or

breaks down lactose sugar, thus helping lactose-intolerant individuals (8,9).

Fermented foods are defined as foods that undergo fermentation through controlled processes involving beneficial microorganisms, resulting in various enzymatic changes and health-promoting end products. With the appearance of microbiology as a branch of knowledge in the sixteenth century, the fermentation concept started to be understood, and dairy-based fermented products were considered inherently safe, acceptable, and highly nutritious and were being offered to the customers (1,2,10-13). Fermented foods and beverages are a fundamental component of the dietary culture of every society in the world, carrying the cultural history of ethnic communities (9,10,14-16). It is evaluated that more than

thirty-five hundred fermented foods and beverages are produced worldwide, including dairy-based (Kefir, Kumis, Kurut), grain-based (Boza, Mahewu, Idli, Dosa), and grain-dairy-based (Tarhana, Kishk) products (3,6-9,17). Fermented products have many biological functions, such as preserving perishable foods, enriching nutritional value, producing antioxidants and postbiotics, and having immunological benefits due to the functional microorganisms they contain. Besides being greatly nutritious, their organoleptic properties appeal to many taste buds, which makes them have high acceptability (11,18-21). This is the reason why the range of fermented dairy products and their variety is expanding day by day, such as Greek-style yogurt and yogurts containing probiotic microflora (e.g., *Lactobacillus acidophilus* and/or *Bifidobacterium* spp.) (5,7,9).

Kishk is a traditional fermented product based on grains and dairy, originated in the Pharonic period (3200-322 B.C.) in Upper Egypt where it's called 'Kishk Sa'eedi' and is made in various shapes and forms depending on the geographical region. The time when kishk began to be developed in Lebanon during the early 10th century, mainly in the Al-Bekaa' region, then started to be known in the nearby countries such as Jordanian and Syrian regions with some differences in the production process. In this review study, introducing the traditional production stages and the general

characteristics of kishk based on compiled research have taken place (13,22-25). It's foreseen that this can be a great reference to produce more functional kishk products that can be high quality, safe with long-shelf-life, and at the same time super fortifying food. This would be a significant contribution to future generations and school students, the dairy food sector, and the kishk industry.

### KISHK TYPES AND NOMENCLATURE

Kishk is a highly nutritious, fermented food widely consumed by rural populations, particularly in the Eastern Mediterranean, Middle East (including Egypt, Syria, Lebanon, Northern Jordan, and Iraq), and the Indian subcontinent. At the same time, similar products are widespread in Greece and Turkey. The different synonyms of the word 'Kishk = dried yogurt' vary according to the product's production region, the type of milk and grain used, the borrowed name, the country's convention, and the type of content material (13,15,17). For instance, the fermented product kishk, made from bulgur and yogurt (Laban Zeer), is called Sa'eedi (KS) in Egypt. The variation in naming is due to differences in the cereal base used when both the yogurt base and salt addition remain constant (Table 1).

**Table 1.** Synonyms for Kishk and related products in different countries<sup>a</sup>

Traditional Name	Ingredient/additive <sup>b</sup>	Country
Kishk, Kushuk, Keshkeh, or Kichk Sa'eedi	Bulgur, Burgul or Burghol <sup>c</sup>	Syria, Lebanon and Egypt
Hogut	Same as above	Qatar
Kishk Siyamy	Vegetables	Egypt
Zhum	Wheat flour, garlic and pepper	Yemen
Kushuk, Kushik	Wheat flour and herbs	Iraq
Kashk, Kaskg	Herbs	Iran
Chura	Wheat flour and tea	Nepal, Tibet, India
Tarhana, Kapestoes	Crushed wheat or flour	Greece and Türkiye
Kurut	None	Türkiye
Madeer, Oggt	None	Saudi Arabia
Tamar Oggt	Dates	Saudi Arabia
Kliila	None	Algeria

<sup>a</sup> Data compiled from Tamime et al. (13).

<sup>b</sup> Major ingredients besides the salt added to yogurt.

<sup>c</sup> Parboiled cracked wheat

### KISHK PRODUCTION

The traditional method of producing kishk has been inherited through generations and has shaped the food identity of Egyptian, Syrian, and Lebanese people. Involving two main components: cereal and fermented milk. Systematically, as grains, white and hard cracked wheat "bulgur," *Triticum vulgare*, and as fermented milk, yogurt, are the most used ones (1,10,13,24). However, the types of ingredients (such as cow, goat, sheep, buffalo, or camel milk; white/brown bulgur, rice, etc.) and the preparation method (including the making processes, fermentation conditions and techniques, storage conditions, tools and utensils used) vary across different re-

gions, countries, and ages. This is the reason why its chemical composition, physical, and sensory properties also differ (12,15-17). For example, while goat and buffalo milk are used in Lebanon and Egypt, camel milk products are more preferred to be used in North Africa. Thus, differences in the materials used and traditional methods during kishk production can factually affect the compositional, sensory, and nutritional properties of the final product (1,17,23,25). Kishk is typically made during the spring and summer months, specifically in August and July, when the sunlight and temperature are the most suitable for open-air fermenting and drying. The traditional kishk is prepared in 4 stages: 1. Cereal and

milk processing and mixing with salt, 2. Fermentation (conditioning), 3. Hand-shaping and drying, and 4. Packing or packaging (10,12-17).

### Cereal and Milk Processing

White hard durum wheat, commonly referred to as "bulgur" in Turkish, is typically used in kishk production as cereal. Wheat grains are cleaned of dirt using a metallic sieve called 'Ghorbal' that was usually used to separate the fine particles of grains from the coarse ones. Then partially boiled until they become soft 'Belila' (1,12,15). The partially boiled wheat grains are washed and spread over fabric mats or trays to be sun-dried for 24-48 hrs. Thereafter, the dehydrated grains are crushed using a stone/wood hand mill, named Al-Jaroush or Rahaia, into various sizes. The hard bulgur grains are selected for production. Historically, the rotary hand mill, which is called Rahaia, was also used for grinding different cereals (e.g., millet, bulgur, rice, chickpeas, lentils, oats, and barley), turning them into powder or small pieces. Nowadays, these hand mills have been replaced by small mechanized manual or electric grinders and large rotary industrial grain mills (10,15). For making yogurt, 'Laban Rayeb,' 'Laban Zeer,' or 'Laban Khad,' sheep and cow milk are the most traditionally preferred among Arab countries. Full cream sour milk or sour buttermilk was sometimes utilized by the elite class. Generally, the milk used is full, med, low-fat cow milk, and it's initially pasteurized to eliminate microorganisms that could compete with the starter culture. Milk fermentation is carried out using a yogurt starter (The starter culture from a previous batch of yogurt) added at 45 °C (1,13,15,17). The name 'Laban Zeer' comes from the earthenware jars called 'Zeer' in which sour buttermilk was gathered and drained to be used in the making of kishk.

### Fermentation (conditioning)

Yogurt is gradually and daily added to the bulgur at usually a 1:2, 1:4 or 1:5 ratio (w:w) over 2-8 days (at 30-35°C), mixed with (1-6% w/w) salt, and always covered with a thick fabric or metallic cover, resulting in hydrated bulgur indulged in a Kishk paste called 'Hamma' (13,15,16,23). Ambient temperature, relative humidity (RH), culture, and moisture content influence the fermentation rate and the absorption rate of the premix. Salameh et al. (24) studied the sorption isotherms of kishk samples when exposed to a progressive rehydration process with a gradually increasing relative humidity (RH) under a controlled atmosphere, temperature, and time. Prominent changes in the microstructure of the particles' surface were observed clearly at high water activities ( $a_w$ ) (above 0.75  $a_w$ ). Concluding that water absorption, surface rehydration, and physical bonding between kishk particles are directly proportional to the biochemical interactions of starch and protein, resulting in the formation of more solid bridges and agglomerations. The purpose of the fermentation step is to enhance the product's safety, flavor, nutritional value, texture, and rheological quality (11,24-26).

### Hand-Shaping and Drying

When fermentation ends, the paste 'Hamma' is modeled into tiny sphere shapes, placed over mats or trays on concrete roofs to be sun-dried for 2-8 days until reaching 6-12% moisture content. No specific temperature had been identified specifically for this step, but it's thought to be between 48 and 55 °C. Dried kishk is either ground into a fine powder using grain mills or food/grain processors or sold as small round balls. Nowadays, Kishk is produced with variations in traditional production basic lines and materials. It's being fermented under much more aseptic conditions and dried in an air oven and by freeze or roller-drying (13,15-17,23,27,28).

### Packaging

Kishk is usually packed in cloth or plastic bags (80 grams or 10-12 balls in upright/flat bags) or in airtight glass jars. Meeting the common demand of urban European markets for individual-sized packaging. The package cover should provide a variety of recipes selected to suit the global consumer (16,24,29).

### KISHK HEALTH BENEFITS

Each society has its own unique food culture and eating habits, and at the same time, every person in this society needs adequate and balanced nutrition for a sustainable, healthy life. Addressing dietary patterns, kishk can be consumed at every stage of production. Common ways for consumption are as follows: Hamma (paste) (a semi-solid puree consumed with vegetables or eggs); the dried kishk reconstituted by boiling in water as a hot soup with bread, spices, and vegetables; a school snack (sandwich); Meeykeh (a Kishk salad made with wild mint, onions, olive oil, and tomatoes); Mana'neş (a kishk pie: as a filling on pita bread); Kebbeh b Kishk (a stuffed kibbeh with kishk filling); Shish Barak b Kishk (a kishk chicken dumplings with rice). The unique fermented product, kishk, holds great significance in nutritional and sensorial value (3,5). It possesses excellent high-quality nutrients, being a well-balanced food. It is richer in B vitamins, lactic acid, minerals, protein, and fiber than both milk and cereals. As cereals are known to have a decreased protein content, poor in some essential amino acids (e.g., lysine), and starch availability compared to milk and milk products, the art of gathering milk with cereals in kishk creates a complementary source of balanced essential amino acids and high protein availability (13%-23.5%) derived from fermentation and the combination of milk and wheat proteins. This also results in a low-sugar and nutritive high-fiber mixture. Additionally, the bioavailability of calcium, iron, magnesium, and zinc is super-enhanced in kishk. This fermented product is recognized as a significant source of fibers, complex carbs, antioxidants, polyunsaturated fatty acids ( $\alpha$ -linolenic C18:3 (n-3) and  $\alpha$ -linoleic C18:2 (n-6)), and therapeutic probiotic-prebiotic potential, with a low glycemic load (GL). Thus, it's believed to facilitate digestion and offer numerous health benefits, such as reducing cholesterol levels, blood sugar levels, the risk of colon cancer and heart diseases, along with strengthening immunity (30,31). It is also advancing in nutrition practices due to its content of minerals (Fe, Mg, Mn, Ca,

phosphorus, and selenium), vitamins (riboflavin, thiamine, niacin), and growth factors, aligning with current nutritional perspectives (15-19,27,32,33). In light of Yavuz E et al.'s (34) findings that investigated the possible health effects of tarhana on the impaired lipid profile criteria and serum glucose readings in male BALB/c mice fed a high-fat diet; fermented dairy products may affect positively in alleviating metabolic disorders such as diabetes, high cholesterol, and coronary heart disease by enhancing the total lipid profile, and blood sugar values. Similar findings have been reported by Altundağ ÖÖ et al. (35), emphasizing that the same health attributes are entirely dependent on the properties of the ingredients used in production and the storage conditions engaged in that area (10,23,25,27,30,36).

Globally recognized kishk manufacturing is one of the cheapest and simplest ways to preserve nutritious raw food materials. Although kishk is not widely recognized in some countries and among cosmopolitan consumers, it remains an indispensable staple in rural areas, among nomads, and desert dwellers due to its high nutritional value and effectiveness as a strategic food reserve (Mouneh) without losing its health benefits (3,10,14). Researchers have started using different flours (e.g., soybean, malt, chickpea, rice, carob, purslane, or corn flour) instead of the traditional "bulgur" or wheat flour" along with fermented milk products combinations to develop Kishk products in Middle Eastern countries (11,17-20,23,37). As the prevalence of malnutrition, colon diseases, and many foodborne infections increases, some researchers have attempted to produce functional, nutritious, and delicious kishk products by integrating rich foods or milks (such as buffalo or camel milk) or using plant-based milk and flour such as using soy milk instead of cow's milk and replacing bulgur with oat or quinoa flour to provide  $\beta$ -glucan, much more protein and fiber, and unsaturated fatty acids for individuals with weak immune systems or intestinal disorders (9,20,21,24,25,32,33,38).

## KISHK PROPERTIES

The chemical and microbial content, as well as the physical, rheological, and sensory properties of kishk products from different countries, vary depending on the production method, duration, and materials used. However, all kishk producers share a common goal, which is to produce a fermented food product with a long shelf life that is well-textured, tasty, and functional (1,11,24,26).

### Chemical Properties of Kishk

Due to its low pH and moisture contents of 3.5 – 4.42 and 6% -12%, respectively, along with high salt content, kishk is famous for its long shelf life (1-3 years). The chemical properties of Kishk are influenced by several factors, including the addition of other milk products (e.g., Labneh), the type of bulgur or grain added, the type of milk and fermented milk products used, the relative ratio of added salt, the compositional attributes of using strained yogurt (e.g., 26%-50% dry matter) or buttermilk (10% dry matter), the ratio of bulgur to the fermented milk product (1:4 w:w), and the different

multiplying factors (such as 6.25 or 6.38) used in protein content calculations (1,10,17,24).

Kishk holds increased amounts of essential amino acids like phenylalanine, leucine, isoleucine, histidine, threonine, and L-2,6 Diaminohexanoic acid. However, small amounts of 2-amino-3-(1H-indol-3-yl) propanoic acid and sulfur-containing amino acids can be found. This is also the case for tryptophan (an important essential amino acid) content, which has been considered by the FAO and WHO (18) as one of the most important amino acids that are likely to be limiting and temporary. This is due to the loss of tryptophan and sulfur-containing amino acids, such as cysteine and methionine, associated with exposure to sunlight during drying and fermentation. However, the substitution of the sun drying method with more advanced technologies under controlled conditions has shown good levels of tryptophan within kishk products during and after manufacturing (8,18,28,30-33,38,40). Additionally, The sort and status of milk primarily affect the fat content. Kishk made from goat milk had significantly higher fat content. While the moisture content is influenced by both the type of milk and the drying technique, the ash content is associated with the salt added to the kishk mixture. Regarding protein content, it's dependent on the type of milk, the grains used, and their ratio to each other (16,24,26,32).

### Physical Properties of Kishk

Significant physical properties of kishk, such as color and particle size, vary significantly depending on production-storage conditions and the materials used. Regardless of the type of milk, kishk is perceived as a composite system of macro-components (such as milk protein and wheat starch inside a thick fatty layer). The fattier the kishk formulation, the more agglomerates it produces and the more advanced its microstructure becomes (24). The color of kishk varies as well, this is dependent on the type of milk and grain used. For example, kishk made with goat milk does not contain carotene, giving more brightness (increased L\* values) compared to the one prepared with cow's milk and brown bulgur (wheat grains) that gives lower L\* and higher b\* values. Moreover, the color of kishk darkens when exposed to sunlight for longer periods due to browning reactions from heat treatment and evaporation (10,16,24,38).

### Microbiological and Antimicrobial Properties of Kishk

Lactic acid bacteria (LAB), like *L. Bulgaricus* and *S. thermophilus*, are the major flora for undergoing the conditioning process in kishk. So far, Kishk production remains traditional, and the diversity of LAB in kishk has not been fully studied. One of the current major goals is to enhance its production using selected cultures (16,21,30,32).

*Lactobacillus* genus has an extended history of harmless utilization, and plays a major role in the production of fermented milk products. During the last fifteen year, it has undergone evolution and currently comprises of more than 80 species found in raw milk and cheese, yogurt, and fermented milk products (41,42). *Lactobacilli* include huge and varied groups of gram-positive, non-spore-forming, cata-

lase-negative rod-shaped bacteria that has the ability to produce lactic acid as the final outcome from carbohydrate fermentation (40,43). They are generally recognized as safe (GRAS) organisms and can be safely used as probiotics for medical and veterinary applications. During recent decades, an amplified desire has been seen for segregating the novel *Lactobacillus* strains which are probiotic forms that have a favourable health effect when ingested by humans (14,40,43-45). As a result, hindrance of pathogenic microorganisms like *Shigella*, *Salmonella*, and *Helicobacter* was also noticed (40,43,46-49). Furthermore, a bacteriocin-like substance (BLS) obtained from a strain of *Streptococcus infantium* spp. (CNCM I-841) was indicated by Gomez et al. (50) that it had shown an inhibitory effect on gram-positive food-borne pathogens including *Clostridium* and *Listeria* species (40,48-51). The microbiological quality of kishk, both commercially and in industrial production, varies significantly. This variation serves as an indicator of the reliability of kishk and whether it is produced under hygienic conditions. Therefore, the decreased moisture, increased acidity, and the ratio of salt added during production serve as sources of microbiological safety and greatly reduce the likelihood of coliforms and *Staphylococcus aureus* being present in kishk. However, kishk can still be exposed to contamination by various organisms. It can be contaminated with coliforms, *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli*. While both coliforms and *E. coli* are considered as hygiene indicators, no limits have been set for *Enterococci*, which have small-scale merit as hygiene marks in food industry (1,8,10,14,16,29,40,41). Particularly, milk gathered from mammals fed with feeds that contaminated with mycotoxins (aflatoxin B1) can also contain aflatoxin M1 which is a hepatocarcinogen (40,51-53).

In the last two decades, probiotic (health-promoting) microorganisms, especially lactic acid bacteria (LAB), such as *L. bulgaricus*, *B. animalis*, *B. Lactis*, *L. acidophilus*, and *S. thermophilus*, have been progressively embodied into different food products, particularly fermented dairy products (19,20,41). Probiotics, are live microorganisms, that advantageously influence the host's health by enhancing the intestinal microbial balance (21,26,51,54). Literally, great settlements of probiotic bacteria are required to conduct the beneficial outcomes and to prevent pathogenic microorganisms and food-borne illnesses. The professional implementation in the field of fermented dairy products points to integrating the prospective health benefits of probiotics with their ability to increase in milk, creating a highly nutritious and desirable product (41,42,46,47,49).

Functional foods are defined as foods that supply more than simple nutrition; they provide extra physiological benefits to the consumer (55). Nowadays, the world market is full of functional foods that have numerous positive health-promoting attributes. Traditional fermented products containing probiotics and an extended shelf life, such as kishk might be very promising (2,25,28,55).

## CONCLUSION

Kishk, with a long history, is one of the nutritious and healthy grain-dairy-based fermented foods characterized by a tasty nature with an ideal shelf life. The variations in the characteristics of kishk referred to the ratio of grains to yogurt, chemical composition, production time, drying, and storage conditions. Thus, further analyzing for these characteristics helps to understand the reactions within the product during processing, storage, and consumption, leading to higher quality outcomes without losing the organoleptic properties.

Each food product reflects the identity of the society, the cultural dimensions, and the production and storage conditions it undergoes, just like "Kishk." Therefore, because of its nutritious nature and effectiveness in food security, kishk is still an essential dish globally. It is a fermented food product that appeals to a wide range of consumers through both traditional consumption methods and modern recipes. This characteristics enabled kishk to meet the growing demand in urban European markets and adapt to different cultural preferences through various consumption styles. Current thoughts and studies on improving kishk's nutritional and microbiological values in terms of high acceptability are growing day after day.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was presented at the X. Veterinary Food Hygiene Congress that was organized on 25-27th of April 2024.

## REFERENCES

1. Abou-Dobara MI, Ismail MM, Refaat NM (2016). A Survey Study on Chemical, Microbiological, and Sensory Properties of Industrial Rayeb Milk Produced in Egypt. *J Food & Dairy Sci.* 7(2): 119-124.
2. Abou-Donia SA (2008). Origin, History and Manufacturing Process of Egyptian Dairy Products: An Overview. *Alexandria J Food Sci and Tech.* 5(1): 51-62.
3. Blandino A, Al-Aseeri ME, Pandiella SS, Cantero D, Webb C (2003). Cereal-based Fermented Foods and Beverages. *Food Res Int.* 36(6): 527-543.
4. Charalampopoulos D, Wang R, Pandiella SS, Webb C (2002). Application of Cereals and Cereal Components in Functional Foods: A Review. *Int J Food Microbiol.*, 79(1-2):131-141.
5. Dirar HA (1993). The Indigenous Fermented Foods of the Sudan- A Study in African Food and Nutrition. pp. xvii+-552., CAB International, Oxon.
6. Kabak B, Dobson AD (2011). An Introduction to The Traditional Fermented Foods and Beverages of Turkey. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 51(3): 248-260.
7. Tamang JP, Kailasapathy K (2010). *Fermented Foods and Beverages of the World.* CRC Press, pp: 435, Newyork, USA.
8. Damir AA, Salama AA, Mohamed MS (1992). Acidity, Microbial, Organic, and Free Amino Acids Development During Fermentation of Skimmed Milk, Kishk. *Food Chem.* 43(4):265-269.
9. Farhad M, Kailasapathy K, Tamang PJ (2010). Health Aspects of Fermented Foods in: *Fermented Food and Beverages of the World.* CRC Press, Newyork, USA., 391-414.
10. Abd El-Ghani S, Bahgaat WK, Fouad MT (2014). The Microbiological Quality And Physicochemical Attributes Of Egyptian Traditional Sa'eedi kishk. *Journal Food Ind & Nutr Sci.* 4(1): 13-21.

11. Gadallah MG, Hassan MF (2019). Quality Properties of Kishk (A Dried Fermented Cereal-Milk Mixture) Prepared from Different Raw Materials. *J Saudi Soc Agric Sci.* 18(1): 95-101.
12. Abou-Zeid NA (2016). Review of Egyptian Cereal-Based Fermented Product "Kishk". *Int J Agric Innov Res.* 4(4): 600-609.
13. Tamime AY, O' Connor TP (1995). Kishk-a Dried Fermented Milk/Cereal Mixture. *Int Dairy J.* 5(2): 109-128.
14. Demerdash MA (1960). Studies in Microbiology of Fermented Milk Common in Egypt. M.Sc. Thesis, Cairo University, Faculty of Agriculture, Egypt. 92.
15. Tamime AY, Barclay MN, McNulty D, O'Connor TP (1999). Kishk – a Dried Fermented Milk/Cereal Mixture. 3. Nutritional Composition. *Le Lait* 79(4): 435-448.
16. Tamime AY, Muir DD, Khaskheli M, Barclay MNI (2000). Effect of Processing Conditions and Raw Materials On The Properties of Kishk. 1. Compositional and Microbiological Qualities. *LWT-Food Sci Technol.* 33(6): 444-451.
17. Tamime AY, Munir DD, Barclay MNI, Khaskheli M, McNulty D (1997). Laboratory-made Kishk from Wheat, Oat, And Barley: Production and Comparison of Chemical and Nutritional Composition of Burghol. *Int Food Res.* 30(5): 311-317.
18. World Health Organization, United Nations University (2007). Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. 935. Vol. Technical Report Series. Geneva, Switzerland.
19. Gomez GD, Balcázar JL (2008). A Review on the Interactions Between Gut Microbiota and Innate Immunity of Fish. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 52(2): 145-154.
20. Salman KH, Mahmoud EA, Abd-Alla AA (2020). Preparing Untraditional Kishk Formula with Purslane as Natural Source of Bioactive Compounds. *J Food Dairy Sci.* 11(11): 299-305.
21. Hotel ACP, Cordoba A (2001). Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food, Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. *Prevention* 5(1): 1-10.
22. Gazete R (2008). Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2008/26), 17.
23. Chedid M, Tawk ST, Chalak A, Karam S, Hamadeh SK (2018). The Lebanese kishk: A Traditional Dairy Product in a Changing Local Food System. *J Food Res.* 7(5): 16-23.
24. Salameh C, Scher J, Petit J, Gaiani C, Hosri C, Banon S (2016). Physico-Chemical and Rheological Properties of Lebanese Kishk Powder, A Dried Fermented Milk-Cereal Mixture. *Powder Technol.* (292): 307-313.
25. Abd-Rabou HS, Shehata MG, Elsohaimy SA, Awad SA (2020). Functional Probiotic Quinoa Camel Milk Kishk. *J Food Process Preserv.* 44(9): 46-81.
26. Ibanoglu S, Ainsworth P, Wilson G, Hayes GD (1995). The Effect of Fermentation Conditions on the Nutrients and Acceptability of Tarhana, *Food Chem.* 53(2): 143-147.
27. Nassar KS, Shamsia SM, Attia IA (2016). Improvement of the Nutritional Value of Cereal Fermented Milk: 2- Dried Kishk-Like. *J Food Process Technol.* 7(11): 1-7.
28. Lar AÇ, Erol N, Elgün MS (2012). Effect of Carob Flour Substitution On Chemical and Functional Properties of Tarhana. *J Food Process Preserv.* 37(5): 670-675.
29. Elewa N (2006). Microbiological and Chemical Aspects of Kishk Fermentation 2-Egyptian Seidi Kishk. *Fayoum J Agric Res & Dev.* 20(1): 210-218.
30. Bahgaat WK, Abd El Ghani S (2017). Comparison of Amino Acids and Fatty Acids Profiles of Egyptian Kishk: Dried Wheat-Based Fermented Milk Mixture as Functional Food. *Am J Food Technol.* 12(1): 43-50.
31. Morcos SR, Hegazi SM, El-Damhougy ST (1973). Fermented Foods in Common Use in Egypt: I. The Nutritive Value of Kishk. *J Sci Food and Agri.* 24(10): 1153-1156.
32. El-Sadek GM, Zawahry MR, Mahmoud SAZ, Abd El-Motteleb L (1985). Chemical Composition of Egyptian Kishk. *Indian J Dairy Sci.* (11): 67-75.
33. Shevade AV, O'Callaghan YC, Guinee TP, O'Connor TP, O'Brien NM (2016). Nutritional Composition of a Range of Traditional Kishk Products. *Proc Nutr Soc.* 75(OCE3): E195.
34. Yavuz E, Örkmez M, Bozdayı MA, Orhan S, Kaplan DS, Balkan A (2024). Effect of Tarhana Soup On Serum Lipid Profile in BALB/C Male Mice Fed a High-Fat Diet. *ADYÜ Sağlık Bilimleri Derg.* 10(2): 106-114.
35. Altundağ ÖÖ, Kenger EB, Ulu EK (2020). Farklı Tarhana Türlerinin Sağlık Yönünden Değerlendirilmesine Yönelik Bir Çalışma. *Sağlık Akademisi Kastamonu (SAK)* 5(2): 143-157.
36. El-Gendy SM (1983). Fermented foods of Egypt and the Middle East. *J Food Protect.,* 46(4): 358-367.
37. Hajj E, Dib H, Yaacoub R, Mohyeddin O, Al-Amin M, Mcheik Z (2019). Effect of Modified Manufacturing Procedure on the Overall Quality Attributes and Safety of Kishk. *Leban Sci J.* 20(2): 215-229.
38. Toufeili I, Melki C, Shadarevian S, & Robinson RK (1998). Some Nutritional and Sensory Properties of Bulgur and Whole Wheatmeal Kishk (A Fermented Milk-Wheat Mixture). *Food Qual Prefer.* 10(1): 9-15.
39. AOAC (2000). Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemi-Sts. 17thEd, George Banta Co., Wisconsin.
40. Atia IA, Khatlab AA (1985). Microbiological and Chemical Studies on Kishk. *Alex Sci Exch.* 6(1): 63-71.
41. Fuller R (1991). Probiotics in Human Medicine, *Gut* 32(4): 439.
42. Ryan KA, Jayaraman T, Daly P, et al. (2008). Isolation of Lactobacilli with Probiotic Properties from the Human Stomach. *Lett Appl Microbiol.* 47(4): 269-274.
43. Bernet-Camard MF, Lie'vin V, Brassart D, Neeser JR, Servin AL, Hudault S (1997). The Human Lactobacillus Acidophilus Strain LA1 Secretes a Non-Bacteriocin Antibacterial Substance(S) Active in Vitro and in Vivo. *Appl Environ Microbiol.* 63(7): 2747-2753.
44. Ibrahim A, Kamal NM, Awed S, El-Attar A (2015). Pre-Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated During Fermentation Process of Egyptian Kishk. *Alexandria Sci Exchange J.* 36(4-6): 104-121.
45. Magnusson J, Ström K, Roos S, Sjögren J, Schnürer J (2003). Broad and Complex Antifungal Activity Among Environmental Isolates of Lactic Acid Bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 219(1): 129-135.
46. Ali FS, Saad OAO, Salwa AH (2013). Antimicrobial Activity of Probiotic Bacteria. *Egypt. Acad J Biolog Sci.* 5(2): 21-34.
47. Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W (2000). Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiol Mol Biol Rev.* 64(4): 655-671.
48. Schillinger U, Villarreal JV (2010). Inhibition of Penicillium Nordicum in MRS Medium by Lactic Acid Bacteria Isolated from Foods. *Food Control* 21(2): 107-111.
49. Hammliton-Miller JMT (2003). The Role of Probiotics in The Treatment and Prevention of H. pylori Infection. *Int J Antimicrob Agents* 22: 360-366.
50. Gomez S, Cosson C, Deschamps AM (1997). Evidence for a Bacteriocin-Like Substance Produced by a New Strain of Streptococcus sp., Inhibitory to Gram-Positive Foodborne Pathogens. *Res Microbiol.* 148(9): 757-766.

51. Gomez-Ruiz JA, Ramos, Recio I (2002). Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptides in Manchego Cheeses Manufactured with Different Starter Cultures. *Int Dairy J.* 12(8): 697-706.
52. Elbadry M (2008). Preliminary in Vitro Study On Antifungal Activity of Some Local Lactobacilli and Lactic Streptococci Isolates. *Fayoum J Agric Res and Dev.* 22(2): 129-137.
53. Bakırcı I (2001). A Study on the Occurrence of Aflatoxin M1 in Milk and Milk Products Produced in Van province of Turkey. *Food Control* 12(1): 47-51.
54. Reid G, Sanders ME, Gaskins HR, et al. (2003). New Scientific Paradigms for Probiotics and Prebiotics. *J Clin Gastroenterol.* 37(2): 105-118.
55. Jones PJ (2002). *Functional Foods- More Than Just Nutrition in: Clinical Nutrition.* 7th ed. Cmaj, Canada, 166(12): 1555-1563.

✉ **Sorumlu Yazar:**

H. Şahan GÜRAN  
Department of Food Hygiene and Technology  
Faculty of Veterinary Medicine  
Dicle University, 21280, Diyarbakır, TÜRKİYE  
E-posta: sahanguran@yahoo.com