

## **E.COLİ ENFEKSİYONLARINDA ETKEN İZOLE VE İDANTİFİKASYONU, PATOLOJİK BULGULAR VE ETKENLERİN ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIK ORANININ BELİRLENMESİ**

Ayten AKMAN

Arife ÖZKAN

### **G İ R İ Ő**

Kanatlı hayvanlarda E.Coli'den ileri gelen infeksiyonlara yurdumuzda sıkça rastlanmaktadır. İnfeksiyona daha çok gençler duyarlı olduğundan bu tip enfeksiyonlar özellikle broyler yetiştiriciliği için önemli bir tehlike oluşturmaktadır.

E.Coli'ler tek başına infeksiyon yapabildikleri gibi koşulları iyi olmayan sürülerde mix infeksiyonlar şeklinde yüksek düzeyde mortaliteye neden olmaktadır.

E.Coli'den kaynaklanan hastalıkların sağıtımında antibiyotiklerden yararlanılmaktadır. Fakat son yıllarda yapılan araştırmalarda mikroorganizmaların çeşitli antibiyotiklere direnç kazandığı tesbit edilmiştir.

Tavukçuluk endüstrisinde infeksiyonlardan korunmak ve tedavi amacıyla yemlere katılan antibiyotikler de dirençli mikroorganizmaların süratle artmasına neden olmaktadır.

Bu nedenle araştırmada E.Coli suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları incelenmiştir.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal :

E.Coli suşları : Etlik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Tavuk Hastalıkları Teşhis Laboratuvarına getirilen hasta ve ölü kanatlıların karaciğer ve kalp kanından izole edilmiştir.

Besi yerleri : Kanlı agar, MacConcey agar, buyyon peptonlu su D.S.T. agar kullanılmıştır.

Antibiyogram testlerinde kullanılan antibiyotik diskleri Enstitünün Antibiyogram dist üretim laboratuvarından temin edilmiştir.

### Metot :

Tavuk Hasalıkları Teşhis Laboratuvarına getirilen hasta ve ölü tavukların klinik ve otopsi muayenesinde E.Coli infeksiyonundan şüpheli bulunanların kalp kanları ve karaciğerlerinden aseptik koşullarda alınan marazi maddeler Kanlı agar ve Macconcey agar besi yerlerine ekilmiş, petri kutuları 37°C'de 24 saat inkübe edilerek üreyen mikroorganizmaların identifikasyonları yapılmıştır.

Biyokimyasal Özellikleri : Bunun için aşağıdaki testler uygulanmıştır.

1 — Karbonhidrat fermentasyon testleri : İzole edilen suşların glikoz laktöz mannitol, sakkaroz, maltoz ve dulsite etkileri genel yöntemlere göre yapılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

2 — H<sub>2</sub>S, Üre, İndol, Metil Red, V.P. ve sitrat kullanım testleri yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

3 — Antibiyotik duyarlılık testleri :

İzole edilen E.coli suşlarının Kloranfenikol ampisilin, tetrasiklin, Eritromycine, Oksitetrasiklin Klortetrasiklin, Colistin, Sülfamatokral + Trimetroprim, Cephalosporin'e duyarlılıkları Kirby-Baue disk diffzyon yöntemine göre D.S.T. (Disk Sensiti vity test

agar) agarda yapıldı. Zon çapları Dünya Sağlık Teşkilâtının öngör-  
düğü kriterlere göre değerlendirildi.

4 — Histopatolojik muayene : Laboratuvarımızda muayene  
edilen materyallerde E.Coli infeksiyonunda şüphe edildiğinde ka-  
raciğer, kalp ve dalak tetkik için histopatoloji laboratuvarına gön-  
derildi.

## B U L G U L A R

Hasta ve ölü tavukların karaciğer ve kalp kanında izole edilen  
78 adet E.Coli suşlarının biyokimyasal özelliklerini tesbit amacıyla  
yapılan testlerden elde edilen sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir.  
Tabloda da görüldüğü gibi izole edilen suşlar glikoz, laktoz, maltoz,  
mannitol'u % 100, dulciti % 7,7, sakkaroz'u % 50 oranında fermen-  
te etmiştir. H<sub>2</sub>S, üre, V.P. ve sitrat kullanım testleri negatif, İndol  
ve M.R. % 100, hareket % 89.7 pozitif bulunmuştur. (Tablo 1)

Başlangıçta 8 değişik antibiyotik içeren disklerle yürütülen an-  
tibiyogram testlerine daha sonraki aşamalarda Cephlosporin diski  
ilave edilmiştir. Bu yüzden Tablo 2'de de görüldüğü gibi ilk 8 an-  
tibiyotiğe 78 suşun duyarlılığı test edilirken Cephlosporin'e son  
15 suşun duyarlılığı test edilebilmiştir.

Tablo 2'de de görüldüğü gibi izole edilen suşların büyük bir  
bölümü kullanılan antibiyotiklere oldukça dirençli bulunmuştur.

İzole edilen 78 suştan % 38,46'sının *Kloranfenikole*, % 43,59'u-  
nun *Colistin'e*, % 33,33'ünün *Sülfametoksal + Trimetoprim'e*,  
% 83,33'ünün *Tetrasiklin'e* dirençli olduğu saptanmıştır. Toplam  
15 suştan ancak % 6,67'sinin *Cephalosporin'e* duyarlı olduğu görül-  
müştür. *Eritromycine* ve *oksitetrasikline* tüm duyarlı suşa rastlan-  
mamıştır. *Ampisilin* ve *Klortetrasikline* duyarlı suş oranı % 1,28  
olarak bulunmuştur.

## T A R T I Ş M A V E S O N U Ç

E.Coli suşları arasında karbonhidratları fermente etme ve bi-  
yokimyasal aktiviteleri açısından genelde bir homojenlik olduğu  
bilinmektedir. (Ghoniem ve ark. 1982) Bu çalışmada da benzer du-  
rum gözlenmiştir. Tablo 1'de de görüldüğü gibi izole edilen suşlar

sadece dulsiti ve sakkarozu fermente etme bakımından farklılık göstermiştir. Toplam 78 suşun 6'sı (% 7,7) dulsit'i, 39'u (% 50) sakkarozu fermente etmiştir. Aynı durum konuyla ilgili çalışmaların çoğunda tesbit edilmiştir. Arda ve ark. (1983)'nin yaptığı çalışmada toplam 20 suşun % 60'ı dulsiti, % 67'si sakkarozu fermente ederken, Demiröz (1980)'nin yaptığı çalışmada bu değerler sırasıyla % 29,51 ve % 70,49 bulunmuştur.

Uzun yıllardan beri kanatlılar için patojen bir etken olarak bilinen E.Coli ülkemizde de önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. E.Coli'nin olumsuz etkisi daha öncede belirtildiği gibi büyük ölçüde broyler yetiştiriciliğinde görülmektedir. Bu durumda yetiştiriciler koruyucu ve tedavi amacıyla yem ve sularıyla hayvanlara sürekli antibiyotik vermektedir.

Antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı insan ve hayvan ekosistemlerine dirençli bakterilerin hızla artmasına yol açmaktadır. Yine aynı ilaçların kontrolsüz ve yaygın olarak kullanımı bu ilaçların etki kaybına uğramalarına neden olmaktadır. Şanlı ve ark. (1987). Koruyucu ve tedavi amacıyla antibiyotik uygulamalarından sonra et ve yumurta piliçlerinden izole edilen E.Coli suşlarındaki dirençliliğin infeksiyon öncesine göre % 0.1-100 arasında arttığını tesbit etmişlerdir.

Laboratuvara getirilen kanatlılarda izole edilen E.Coli suşlarının antibiyotiklere duyarlılığını tesbit amacıyla yürütülen bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi suşların büyük bir kısmı antibiyotiklere dirençli bulunmuştur. Ülkemizde daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda bu oranlar daha farklıdır. Örn. Demiröz (1980)'nin yürüttüğü bir çalışmada Kloranfenikol, ampisilin, tetrasiklin, eritromycine oksitetrasiklin ve klortetrasikline duyarlı suş oranı sırasıyla % 62.29, % 16.39, % 24.59, % 1.63, % 19.67 ve % 13.11 bulunurken, bu çalışmada tesbit edilen değerler aynı sıra ile % 28.21, % 1.28, % 7.69, % 0 ve % 1.28'dir.

İzole edilen suşların patojenik özelliklerini de inceleyen Arda ve ark. (1983) ise toplam 20 suşun % 80'inin Ampisilin'e, % 90'ının

Kloranfenikole, % 45'nin Klortetrasikline % 50'sinin de oksitetrasiklin ve tetrasikline duyarlı olduklarını tesbit etmişlerdir.

Aynı araştırmacılar bütün suşları Eritromycin'e dirençli bulmuşlardır.

İstanbulluoğlu ve Diker (1980) ise sağlıklı tavuklardan elde edilen 35 E.Coli suşunun, oksitetrasiklin, tetrasiklin, ampicilin, kloranfenikole duyarlılık oranlarını sırasıyla % 0, % 11, % 42, % 71 olarak tesbit etmişlerdir.

Şanlı ve ark. (1987) tarafından yumurtacı piliçler ve broylerlerden izole edilen E.Coli suşlarının % 60-100'nü eritromycine ve oksitetrasikline dirençli bulunmuştur. Kloranfenikol için bu değerler çeşitli gruplarda % 20-80 arasında değişmiştir.

Sonuç olarak ülkemizde yaklaşık son 10 yıl içerisinde yürütülmüş olan bu çalışmaların ortaya koyduğu en önemli gerçek antibiyotiklerin hızla etki kaybına uğradıkları ve dirençli suşların hızla arttığıdır.

Bu durum, yakın bir gelecekte E.Coli'den kaynaklanan enfeksiyonların tedavi şansının son derece azalacağı anlamına gelmektedir. Gelişmekte olan tavukçuluk sektörünün günümüzdeki durumu gözönüne alındığında konuya verilecek önem daha da artmaktadır. Çünkü üreticiler gereksiz ve israf ölçüsünde antibiyotik kullanmaktadır. Bu tür antibiyotik kullanımı mutlak önlenmeli ve bu ilaçların seçimi antibiyogram testleri ile belirlenmelidir. Böylece antibiyotiklere dirençli bakteriler artması, kısmende olsa, önlenilecek ve insan besini olarak kullanılan hayvansal ürünlerin insanlara zararlı hale gelmesinin önüne geçilebilecektir.

## Ö Z E T

Etilik Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Tavuk Hastalıkları Teşhis Laboratuvarına getirilen hasta ve ölü kanatlıların klinik ve otopsi muayenesinde E.Coli infeksiyonundan şüpheli vak'alarından bakteriyolojik muayeneler yapılarak 78 adet E.Coli izole edildi.

İzole edilen 78 adet E.Coli suşunun Kirby Bauer disk diffizyon yöntemine göre antibiyogram testleri yapılarak, antibiyotiklere duyarlılıkları incelendi.

Test sonuçlarında :

% 36,46'sı choloramfenikole, % 83,33 ampisiline, % 83,33'ü tetrasikline, % 97,44'ü eritramycine, % 94,87'si oxytetrasikline, % 93,59'u chlortetrasikline, % 43,59'u colistine, % 33,33'ü sülfamatoksol - trimetoprim'e dirençli bulundu. Son 15 suşu % 6,67'si Cephalosporin'e dirençli bulunmuştur.

### S U M M A R Y

In clinical inspection and autopsy of dead and diseased poultry material brought in to the diagnostic Laboratory for Poultry Diseases of the Etlik Research Institute for Uvestocle Diseases, 78 of them were found to be infected by E.Coli.

These isolated E.Coli strains were investigated for sensitivity to antibiotics by the Kirby-Bauer disk diffusion method.

The test results revealed that the isolates were resistant to *Choloromphenical* by 38,46 %, *ampiciline* by 83,33 %, *tetracycline* by 83,33 %, *Erythromycine* by 97,44 %, *Oxytetracycline* 94,87 %, *Chlortetracycline* by 93,59 %, *Colistine* by 43,59 % and *sülfameta-toksal-Trimetoprim* by 33,33 %.

The 6,67 percent of the last 15 strains were resistant to Cephalosporin.

**TABLO 1. İzole Edilen E.Coli Suşlarının kimi Biyokimyasal Özellikleri**  
Vt. v Hayvan D, C: 11(1): 72-85.

	Dulsiit	Glikoz	Laktoz	Maltoz	Mannit	Sakkaroz	H <sub>2</sub> S	İndol	MR	VP	Üre	Sitrat	Hareket
Pozitif	6	78	78	78	78	39	—	78	78	—	—	—	70
Negatif	72	—	—	—	—	39	78	—	—	78	78	78	8
Pozitiflik (%)	7.7	100	100	100	100	50	0	100	100	0	0	0	%89,7

**TABLO 2. İzole edilen E.Coli suşlarından çeşitli antibiyotiklere dirençli orta duyarlı olanların sayısı ve oranları**

Antibiyotik	Top- lam	Dirençli		Orta Duyarlı (+,++)		Duyarlı (+++,++++)	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
1 — Kloramfenikol	78	30	38.46	26	33.33	22	28.21
2 — Ampisilin	78	65	83.33	12	15.38	1	1.28
3 — Tekrasiklin	78	65	83.33	7	8.97	6	7.69
4 — Eritromisin	78	76	97.44	2	2.56	—	—
5 — Oksitetrasiklin	78	74	94.87	4	5.13	—	—
6 — Kiertetrasiklin	78	73	93.59	4	5.13	1	1.28
7 — Kolistin	78	34	43.59	23	29.49	21	26.92
8 — Sülfametoksalt Trimetroprim	78	26	33.33	5	6.41	47	60.26
9 — Cephalosporin	15	1	6.67	1	6.67	13	86.67

## L İ T E R A T Ü R

- 1 — Arda, M. (1978) : Genel Bakteriyoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları: 342.
- 2 — Arda, M. Akay, Ö., İzgür, M. (1983) : Septisemili pilicilerden izole edilen Escherichia Coli suşlarının bazı biyokimyasal ve patojenik özellikleri üzerinde bir araştırma. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 30(3): 407-419.
- 3 — Başkaya, H. ve Minbey, A. (1979) : Kütmes hayvanları hastalıkları. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları: 354.
- 4 — Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, L.C., Türk, M. (1966) : Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. A. Mer. S. Clin. Pathol. 45: 493.
- 5 — Demiröz, K. (1980) : Kanatlıların Coliform enfeksiyonlarından izole edilen Escherichia Coli suşlarının Biyokimyasal ve Antibiyotik duyarlılık özellikleri üzerinde inceleme. Pendik Vet. M.K. Ens. Derg. 12(1): 48-52.
- 6 — Chonrem, N., Hanschke, G., Amtsberg, G. and Bisping, W. (1982) : Vergleichende bakteriologische Untersuchungen und Antibiotikaresistenzbestimmung an Escherichia-Coli stammen von Kalbern aus Moreke und Nordwestdeutschland. Berl. Münch. Tierarztl. Wschr., 95: 141-143.
- 7 — Harry, E.G. and Chubb, L.G. (1964) : Relationships between certain biochemical characteristics and pathological activity in avian strains of E.Coli. S. Complath. 74: 180-187.
- 8 — Heller, E.D. and Perek, M. (1968) : Pathogenic Escherichia Coli strains prevalent in poultry flocks in Israel. Br. Vet. S., 124 509-513.
- 9 — İstanbulluoğlu, E. ve Diker, S. (1980) : Tavuklardan izole edilen Escherichia Coli suşlarının biyokimyasal, colicine, lizojenik karakterleri ve antibiyotiklere duyarlılık oranları üzerinde incelemeler. A.Ü. Vet. Fak. Derg. 27: 484-490.
- 10 — Şanlı, Y., Aydın, N., İzgür, M., Akman, A., Baydan, E. (1987) : Sağıtıcı bazı Antibiyotiklerin hayvan yetiştiriciliğinde verim artırıcı ve koruyucu amaçlarla kullanılması sonucu bakterilerde gelişen direnç kazanma olgusunun in vivo ve in vitro olarak duyarlı mikroorganizmalarla araştırılması Doğa TM.



## **ANKARA PİYASASINDA SATILAN PAKETLENMİŞ KAŞAR VE ERİTME PEYNİRLERİNDE SORBİK ASİT MİKTARININ SAPTANMASI**

Yıldız AYAZ

Ahmet AKILLI

### **G İ R İ Ő**

Tüm dünyada çok sevilerek tüketilen gıda maddelerinden biri olan peynir mikrobiyolojik bozulmalarada o derece elverişlidir. Bozulmaya neden olan mikroorganizmalar, bakteriler, küf mantarları ve mayalar peynirde bol miktarda vardır. Çünkü uygulamada peynirin steril şartlarda imali düşünülemez. Diğer yandan peynir, mikroorganizmaların gelişimi için gerekli besin maddelerini; yağları, proteinleri, karbonhidratları, vitaminleri, mineral maddeleri ve suyu ihtiva eder. Bunun yanında, mikroorganizmalar için elverişli yaşam koşulları, peynirin olgunlaşma ve depolama koşulları ile ilişkili olarak geniş ölçüde sağlanabilmektedir. Depolama ve olgunlaşma için gerekli nem, sıcaklık ve oksijen genellikle mikroorganizmaların gelişimine yetecek düzeydedir. Çoğu peynirlerin depolanma süreleri de, bozulmanın ortaya çıkabilmesine imkân sağlayabilecek uzunluktadır. Hernekadar tekniğine uygun şekilde imâl edilen bir peynirde bakteriler olgunlaşma periyodunda etkilerini kaybeder, küf mantarları ve mayalar genellikle bozulmaya neden olurlar ve bu nedenle arzulanmazlar. Çünkü küflü peynirler herşeyden önce tüketici üzerinde olumsuz etki yapar. Bunun yanında imalatçı, olgunlaşma boyunca peynirini sık sık küflerden temizlemek zorunda kalır. Bu da ek zahmet ve gideri gerektirir. Daha kötüsü bazı küf

mantarlarının çok tehlikeli (Mycotoxinler. Örneğin Aflatoxine oluş-turmalarıdır). Bu nedenle, peynirin konserve edilme konusu çok önemlidir. Çünkü bazı küf mantarlarının sağlığa zararlı metabolizma ürünlerinin kısmende olsa, peynirin derinliklerine geçebildiği gerçeği artık bugün bilinmektedir. Öylese küfleri sadece yüzeysel olarak temizlemek yetersizdir ve çözüm getirici bir yöntem değildir. Elbette peynirdeki mikrobiyel bozulmaları sınırlayabilmenin ilk şartı iyi bir işletme hijyenidir. Mikropsuz şartlarda çalışmak depolama ve olgunlaştırma odalarında hijyenik tedbirlerin alınması gereklidir. Bunların yanında peynirin hava ile temasının kesilmesi ve soğukta depolamadanda söz edilebilir. Ancak düşük sıcaklıkta üreyebilen küf mantarları çoktur. Bu nedenle soğukta depolamaya kesin bir çözüm olarak bakılmaz. Küf mantarlarının gelişebilmesi için ihtiyaç duyulan oksijenin ortamdaki uzaklaştırılmasında küflenmenin önlenmesinde kesin etkili değildir. Gerçekte vakum altında paketleme peynircilikte büyük önem taşır. Ancak bu tedbirlerde uygulamada sınırlı sonuçlar vermektedir. Çünkü birçok küf mantarları çok az oksijen yoğunluğunda da yaşamalarını sürdürebilirler. Hele paketin fiziksel zarar görmesi yırtılması, delinmesi, vakumla paketlemenin her zaman emin bir koruma sağlayamamasına yol açabilir. Kaldığı folyolarda veya peynirin parafinlenmesiyle küf bulaşmasına karşı iyi bir koruma yapmak mümkün isede, folyo torbaların kapatma yerlerinde hafif bir hava yastığının oluşması folyolardaki gözenekler, parafin katmanındaki yarıklar ve çatlaklar uzun depolama sürecinde özellikle yüksek sıcaklıklarda küf gelişimini canlandırıcı etki yapabilirler. Sözü edilen tedbirler, temiz çalışma, iyi dezenfeksiyon soğuk depolama ve vakumda paketleme küflenme problemini yeteri ölçüde çözememektedir. Yani fiziksel tedbirler tek başına yeterli olmamaktadır. Kimyasal yöntemlerden ise mutfak tuzu, sodyum ve potasyum nitrat kullanılması işlemi eskiden beri uygulanmaktadır. Ancak ne varki bu maddeler küflenmeye karşı çok az etkilidirler. Pekçok ülkede geniş bir tatbikat sahası bulmuş olan ve son derece etkili bir madde olan sorbik asit ve sorbatların kullanımı kaçınılmazdır.

## LİTERATÜR ÖZETİ

Sorbik asit ilk kez 1859 yılında A.W. HOFMANN tarafından kuş üzümü yağından elde edilmiştir. Antimikrobiyal etkisi ise 1939 yılında Almanya'da C.M. GOODİNG tarafından ortaya konulmuştur. 1950 yılından beride endüstriyel düzeyde üretimine başlanmıştır. Yaklaşık 30 yıldır tüm Dünya'da gıda maddelerinin konserve edilmesinde kullanılmaktadır (9).

Sorbik asit ( $C_6H_8O_2$ ) organik bir asit olup molekül ağırlığı 112,13'dür. Soğuk suda çok az, sıcak suda iyi, alkolde-eterde kolay çözünür. Renksiz iğnecikler veya yaprakçıklar halinde kristalize olur, erime noktası 134.5C, kaynama noktası 228C'dir. Su buharında uçucudur. Sorbik asit, serbest asit olarak veya sodyum, potasyum, kalsiyum tuzları şeklinde ve çeşitli formlarda (toz, granüle, çözelti) bulunmakta ve kullanılmaktadır. Sorbik asitin Na, K, Ca, tuzları olan sorbatları maya ve küflere karşı geniş spektrumlu bir aktiviteye sahiptir. Küflerde bulunan dehydrogenaz enziminin aktivitesini inhibe ederek küflerin gelişimini önler. Bakterilere karşı olan antimikrobiyal etkisi ise sınırlıdır. Katalaz pozitif mikroorganizmlere karşı, katalaz negatif olanlara kıyasla daha etkilidir. Süt asidi bakterileri ve Clostridiumlara etkisi ise çok daha düşüktür (3, 9, 10). Sorbik asitin antimikotik etkinliği, yüksek ölçüde, substratın pH değerine bağlıdır. pH değeri ne kadar düşükse, etki o kadar büyük olur. Tam aktivite gösterdiği pH; 2'dir. pH; 7'den sonra etkinlik tesbit edilememiştir. Yüksek pH'da mikroorganizmalar sorbik asit moleküllerini etkileyerek onu  $H_2O$  ve  $CO_2$ 'e parçalar. Sorbik asidin etkisini yükselten bir diğer faktörde NaCl'dür. NaCl'ün % 8'lik çözeltisi sorbik asit etkisini yaklaşık dört katına yükseltebilir (10).

Sorbik asidin asıl kullanım alanı süt ve mamülleridir. İçinde Türkiye de olmak üzere 34 ülke tarafından kullanılmasına izin verilmiştir. Bu ülkelerde izin verilen miktarlar 600-3000 ppm sınırlarındadır. Ülkemizde ise en çok 1000 ppm'e izin verilmektedir (5, 8, 9).

**ÇİZELGE 1. Peynircilikte Sorbik asit ve Sorbatların kullanımına izin veren Ülkeler (9).**

<u>Ülkeler</u>	<u>İzin verilen en yüksek miktar</u>
ARJANTİN	Belirtilmemiş
AVUSTURYA	1000-3000 ppm
BELÇİKA	1000 ppm
B. AMERİKA	2000-3000 ppm
BREZİLYA	1000 ppm
BULGARİSTAN	Yüzeysel muamele : % 5'lik çözelti
DANİMARKA	1000-2000 ppm
F. ALMANYA	Yüzeysel muamele : 0.3 g/dm <sup>2</sup>
FİNLANDİYA	1000-3000 ppm
FRANSA	Paketleme Materyaline ilave olarak
G. AFRİKA	600 ppm
HİNDİSTAN	1000 ppm
İNGİLTERE	1000 ppm
İRLANDA	1000 ppm
İTALYA	1000 ppm
İSPANYA	1000-2000 ppm
İSRAİL	1000 ppm
İSVEÇ	2000 ppm
KANADA	3000 ppm
KIBRIS	1000 ppm
KOLOMBİYA	Belirtilmemiş
MALAYA	1000 ppm
MEKSİKA	Belirtilmemiş
NORVEÇ	1000 ppm
PERU	Belirtilmemiş
POLONYA	Yüzeysel muamele : 0.1 g/dm <sup>2</sup>
SRİLANKA	1000 ppm
TUNUS	Paketleme Materyaline ilave olarak
TÜRKİYE	1000 ppm
S. RUSYA	2000 ppm
URUGUAY	700-1000 ppm
VENEZUELLA	Belirtilmemiş
YUGOSLAVYA	Yüzeysel muamele ve peynir örtü maddesine
YUNANİSTAN	1000 ppm

Sorbik asit, peynirinin çeşitine ve konservenin amacına göre kullanılır.

1 — Sorbik asit ve potasyum sorbat şeklinde taze peynirlere ve eritime peynirlerine eklenir.

2 — Potasyum sorbat şeklinde salamuraya eklenir.

3 — Katı sorbik asit şeklinde peynire serpilir.

4 — Sulu sorbat çözeltisi halinde peynirlere püskürtülür, veya peynirler çözeltiye daldırılır.

5 — Kalsiyum sorbat suspansiyonu ile, olgunlaşan sert peynirler muamele edilir.

6 — Fungistatik paket materyali veya peynir örtü maddesi, sorbik asit, K-Sorbat veya Ca-Sorbat ile muamele edilir. Sorbik asidin Fungustatik etkisi yanında olgunlaşma için gerekli proteinazlar üzerine engelleyici etkisinin olmadığı bildirilmektedir. Sert peynirler sorbik asit veya tuzları ile yüzeysel olarak muamele edilirler. Arzulanan küf gelişimi genellikle sadece yüzeyde ortaya çıktığı için bu tür işlem yeterlidir. Ancak bunun peynir küflenmeden evvel uygulanması zorunludur. Yüzeysel konserve işleminde çoğunlukta potasyum sorbat çözeltilerinden yararlanır. Kullanılan yoğunluk depolama sürecine bağlıdır. Normal olarak % 20-30'luk sulu potasyum sorbat çözeltisi kullanılır. Peynirin sorbat çözeltisiyle muamelesi genellikle peynir salamurayı terk ettikten kısa bir süre sonra yapılmalıdır. Çünkü ıslak bir peynir sorbat çözeltisini daha kolay çeker, oysa kuru peynire yağlı yüzeyinden dolayı sorbat çözeltisinin nüfuzu kolay olmayabilir. Çok uzun depolama sürelerinde ve açıkta olgunlaşan peynir çeşitlerinde K-Sorbat çözeltisine birkaç kez peynirin daldırılması ya da bu çözeltinin peynir yüzeyine püskürtülmesi gerekir. Folyolarda olgunlaşan peynirlerde bir kez yapılan işlem yeterlidir (9).

Taze peynirler, cottage peyniri ve benzer mamuller maya ve küf mantarlarının etkinliğiyle kolaylıkla bozulabilen süt mamuleridir. Sözü edilen mamullerin dayanıklılığı, özenli hijyenik imalat koşulları altında ve soğuk zincir hiç kırılmaksızın (10C'nin altında) 2-3 hafta arasında değişir. Pastörize taze peynirlerde mikroorganizmalar geniş ölçüde ortadan kaldırılabilir. Ancak bu reinfeksiyonu ortadan kaldırmaz, gerçi aseptik doldurma reinfeksiyonu bertaraf

eder. Ama bu teknik geniş kullanım alanı bulmamıştır. Bu nedenle pastörize taze peynirlerin dayanıklılığını sorbik asit veya sorbatların kullanılmasıyla uzatmak en uygun çözümdür. Bu tür süt mamullerinde en yüksek düzeyde etkiye ulaşabilmek için sorbik asit veya K-Sorbat mamüle doğrudan doğruya % 0.05 - 0.07 oranında karıştırılmalıdır. Böylelikle dayanma süresini % 50 uzatmak mümkündür (1, 2). Eritme peynirleride bilhassa küf mantarları için ideal bir besin ortamıdır. Gerçi eritme peynirlerinde küflenmenin neden olduğu bir bozulma eritme işlemi nedeniyle, diğer peynirlerdeki ka-

dar yoğun değildir. Eritme anında vegetatif hücrelerin büyük bir bölümünün tesirini ortadan kaldırmak mümkün isede sonradan olan bulaşmalar her zaman engellenemez. Bu nedenle sorbik asit ve tuzlarının kullanılmasında yarar vardır. İyi bir dağılım için sorbik asit bu peynirde eritme tuzlarıyla birlikte kullanılmalıdır. Çünkü ısıtma işleminin sorbik aside olumsuz yönde bir etkisi yoktur, genellikle % 01 oranında kullanılır. Paketleme materyalinin sorbik asit veya tuzları ile muameleside peyniri küflenmeden koruyabilir. B.Amerika'da, Fransa ve İngiltere'de bu tür paketleme materyalleri geniş ölçüde kullanılmaktadır. Genellikle beher m<sup>2</sup> paketleme materyaline yaklaşık 4 gr. sorbik asit önerilmektedir (9).

Sorbik asit peynirlerden başka margarinlerin, mayonezlerin, et ve balık mamullerinin, şekerlemelerin preservasyonunda da başarı ile kullanılabilir (6, 9, 10).

## **MATERYAL ve METOT**

### **Materyal :**

Ankara piyasasında satılan eritme ve paketlenmiş kaşar peynirlerinden 25 adet eritme ve 25 adet paketlenmiş kaşar olmak üzere toplam 50 adet numune işleme alındı.

### **Metot .**

Metodun prensibi : Buharlı destilasyon ile gıdalardan ekstrakte edilen sorbik asidin, potasyum dikromat ile okside edilmesi ve bu sırada oluşan melondialdehitin tiyobarbitürik asitle kırmızı renk vermesi ilkesine dayanır (4).

### A — REAKTİFLER :

- Sülfürik asit çözeltisi ( $H_2SO_4$ ), 2 N
- Sülfürik asit çözeltisi ( $H_2SO_4$ ), 0,3 N
- Sodyum hidroksit çözeltisi (NaOH), 0,5 N
- Potasyum dikromat çözeltisi ( $K_2Cr_2O_7$ )

147 mg Potasyum dikromat az bir miktar distile suda çözümlür ve su ile 100 ml'e tamamlanır.

- Tiyobarbiturik asit çözeltisi; % 0.5'lik.

250 mg tiyobarbituric asit 5 ml 0.5 N (NaOH) çözeltisi içinde sıcak su altında çalkalayarak çözülür, üzerine 20 ml destile su eklenir ve 3 ml 1NHCl çözeltisi ile nötralize edilerek hacim su ile 50 ml'ye tamamlanır.

- Magnezyum sülfat ( $MgSO_4, 7H_2O$ )

— Standart sorbik asit çözeltisi 100 mg sorbik asit  $\pm$  0,1 mg duyarlılıkla tartılır ve destile su ile litreye tamamlanır.

Çözelti buzdolabında birkaç gün bozulmadan saklanabilir.

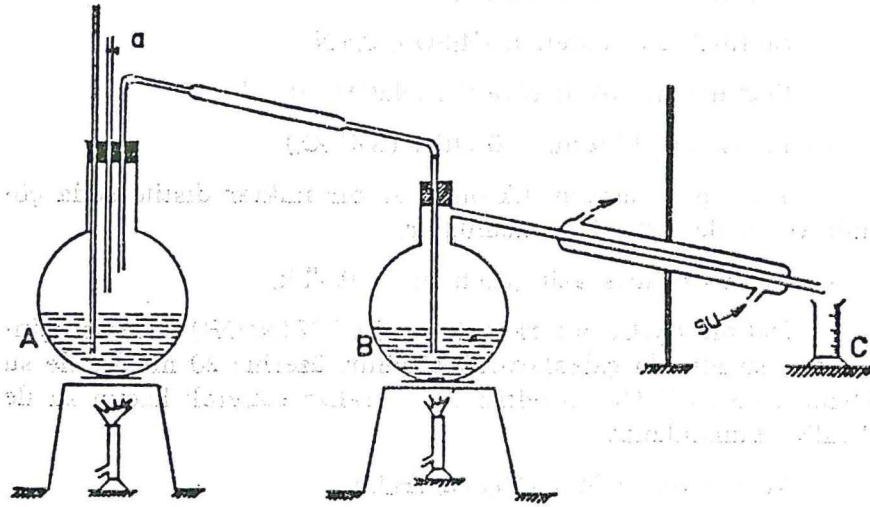
### STANDART KURVENİN ÇİZİMİ :

Standart çözeltiden 5-10-15 ml alınır. 500 ml'lik 3 ayrı balona konur ve balonlar damıtık suyla hacmine tamamlanır. Bu çözeltilerden 3 ayrı deney tüpüne 2'şer ml alınır. Şahit deneme için dördüncü tüpe deney numunesi yerine 2 ml su konur, hepsinin üzerine 1 ml 0.3  $NH_2SO_4$  çözeltisi ve 1 ml  $K_2Cr_2O_7$  çözeltisi eklenerek su banyosunda 5 dakika ısıtılır ve hemen soğutulur. Üzerlerine 2'şer ml tiyobarbiturik asit çözeltisi konulur. Su banyosunda 10 dakika daha ısıtılır ve hemen soğutulur. Her tüp 532 nm dalga boyunda 1 cm optik yollu kuvvetler kullanılarak spektrofotometrede optik danciteleri okunur. Bu değerler ve bunların karşılığı olan sorbit asit miktarları mg/ml dikkate alınarak standart kurve çizilir ve (K) sabitesi hesaplanır (4, 7).

### B — İŞLEM :

Deneye başlamadan önce A balonundaki su, kaynatılır. Musluklu borudan buhar çıktığı anda musluk (a) kapatılır. B balonuna de-

ŞEKİL : 1 BUHARLI ESTİLASYON DÜZENİ



Buharlı Destilasyon Düzeni

ney numunesinden 1.5 - 2 gr. tartılır. Üzerine 10 ml  $2\text{NH}_2\text{SO}_4$  çözeltisi 10 gr.  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  konur ve cam borulu lastik tıpa balona takılarak bek alevi hafifçe yakılır. Bu sırada köpürme olmamasına dikkat edilmelidir. Toplama kabına (C) 100-125 ml destilat toplanıncaya kadar B balonuna su buharı verilmeye devam edilir. Bu işlem ortalama 45 dakikada tamamlanmış olur. Toplama kabındaki destilat 250 ml'lik ölçülü balona alınarak destile su ile hacmine tamamlanır. Bu çözeltilerden 2 ml bir behere alınır ve standart kurve çiziminde yapılan işlemler aynen uygulanır (Sorbik asit varlığında kırmızı renk oluşur (4).

#### C — HESAPLANMASI :

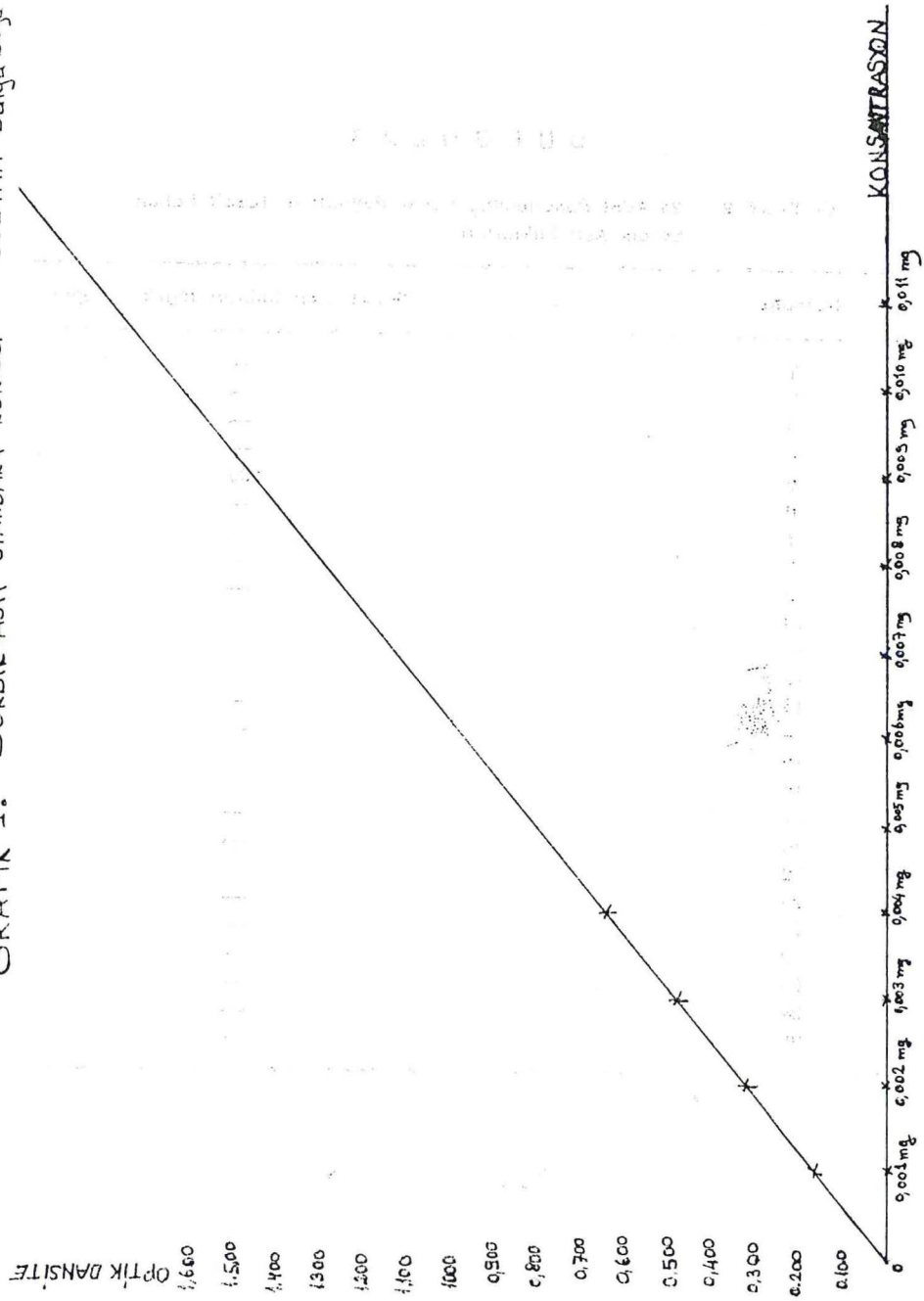
$$K = \frac{\text{OPTİK DANSİTE}}{10 \times \text{Konsantrasyon (mg/ml.)}}$$

$$K = \text{Standart kurveden hesaplanan sabite 16.5}$$

Okunan optik dansitelerin karşılığı olan konsantrasyonlar bulunarak ve sulandırmalar dikkate alınarak mg/kg olarak sorbik asit miktarı hesaplanır.



GRAFİK 1. SORBİK ASİT STANDART KURVESİ 532 nm Dalga Boyu



## B U L G U L A R

ÇİZELGE 2 : 25 Adet Paketlenmiş Kaşar Peynirinde Tesbit Edilen Sorbik Asit Miktarları

Numune	Sorbik Asit Miktarı mg/kg = ppm
1	—
2	—
3	—
4	—
5	500
6	—
7	—
8	—
9	—
10	—
11	—
12	—
13	—
14	—
15	—
16	—
17	—
18	—
19	—
20	—
21	—
22	—
23	—
24	—
25	—

**ÇİZELGE 3 : 25 Adet Eritme Peynirinde Tesbit Edilen Sorbik Asit Miktarları**

Numune No.	Sorbik Asit Miktarı mg/kg = ppm
1	—
2	—
3	1600
4	—
5	—
6	150.0
7	—
8	125.0
9	—
10	—
11	100.0
12	—
13	—
14	—
15	125.0
16	—
17	—
18	100.0
19	—
20	—
21	37.50
22	—
23	240.0
24	—
25	—

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde peynirlere katılacak sorbik asit miktarı Gıda Maddeleri Tüzüğü ve 18097 sayılı 4 Temmuz 1983 Tarihli Resmi Gazete'de yayınlanan Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğine göre en üst sınır 1000 ppm olarak tesbit edilmiştir. Keza peynircilikte sorbik asit ve sorbatların kullanımına izin veren ülkelerden Belçika, Brezilya, İngiltere, İtalya, Norveç gibi ülkelerin standartlarında da izin verilen en yüksek miktar 1000 ppm olarak tesbit edilmiştir. Diğer taraftan B.Amerika'da 2000-3000 ppm, İsveç'te 2000 ppm, Kanada'da 3000 ppm ve Sovyetler Birliği Standartlarında da en üst sınır olarak 2000 ppm'e izin verilmektedir (9).

Araştırmamızda deneye alınan 25 adet kaşar peynirinin % 96'ında sorbik asit tesbit edilememiş olup, % 4'ünde 500 ppm düzeyinde bulunmuştur. Bulunan miktar Gıda Maddeleri Tüzüğü, Resmi Gazetede yayınlanan yönetmelik ile Belçika, Brezilya, İngiltere, İtalya ve Norveç standartlarında kullanılmasına izin verilen en yüksek sorbik asit miktarı olan 1000 ppm sınırı dahilindedir.

Denemeye alınan diğer 25 adet eritme peynirinin % 68'inde sorbik asit tesbit edilmemiş olup, örneklerin % 32'sinde ise 37.5-1600 ppm sınırları arasında bulunmuştur.

Deneye alınan eritme peynirlerinin % 4'ü Gıda Maddeleri Tüzüğü ve Resmi Gazete'de yayınlanan yönetmelik ile Belçika, Brezilya, İngiltere, İtalya ve Norveç Standartlarında, kullanılmasına izin verilen en yüksek sorbik asit miktarı olan 1000 ppm sınırı dışındadır. Keza örneklerin % 28'i ise bu sınırın dahilindedir.

Araştırma sonuçlarıyla, Ankara piyasasında tüketime sunulmuş olan paketlenmiş kaşar peynirlerine sorbik asit ve tuzlarının katılmadığı kanısına varılmıştır. İhracat amacıyla hazırlanan ve ihracat fazlası olarak iç tüketime verilen sadece bir kaşar peynirinde 500 ppm düzeyinde sorbik asit tesbit edilmiştir. Keza eritme peynirlerinde de sorbik asit ve tuzlarının % 68 oranında kullanılmadığı, geri kalan % 28'inde ise 3 No'lu çizelgede görüleceği gibi düşük miktarlar dahilinde kullanıldığı anlaşılmıştır.

Araştırma bulgularımız en kısa zamanda tüm peynir imalathanelerinin tüzük ve yönetmeliklerde belirtilen oranı geçmemek kaydıyla sorbik asit ve tuzlarının; ürünün kalitesini muhafaza etmek, halk sağlığını korumak ve ekonomik kaybı önlemek bakımından tüzük sınırları dahilinde katılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Yapılan taramalarda yurt içinde bu konuda herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır.

### Ö Z E T

Ankara piyasasında tüketime sunulan paketlenmiş kaşar peynirlerinden 25 adet, eritme peynirlerinden de 25 adet olmak üzere toplam 50 adet numune, sorbik asit yönünden araştırıldı. Toplanan numunelerin spektrofotometrik analiz yöntemiyle 532 dalga boyunda okunan optikal dansitelerine tekabül eden sorbik asit miktarları tesbit edildi.

Kaşar örneklerinin % 96'sında sorbik asit bulunamamış olup örneklerin % 4'ünde 500 ppm düzeyinde tesbit edilmiştir. Deneye alınan eritme peynirlerinde % 68'inde sorbik asit bulunamamış olup % 32'sinde ise 34.5 - 1600 ppm sınırlarında tesbit edilmiştir.

### S U M M A R Y

The 25 packaged Kaşar and 25 Cream cheese samples being sold in Ankara marketing were investigated interms of sorbic acid content which they contain.

The samples picked up were analyzed by spectrophotometric methods, their absorbance values were determined at 532 n.m. In 96 % of the Kaşar cheese samples, sorbic acid was not encountered, where as 4 % of the Kaşar cheese samples contained sorbic acid as 500 ppm.

The content of sorbic acid in Kaşar cheese were found in accordance with the Food code.

In the Cream cheese samples sorbic acid was not encountered in 68 % of these samples.

In 32 % of the Cream cheese samples, however contained sorbic acid in the range between 34.5 - 1600 ppm.

## T E Ş E K K Ü R

Araştırmamıza katkıda bulunan sayın Ayman ÖNAL'a teşekkür ederiz.

## L İ T E R A T Ü R

- 1 — CHAKRABORTY, B.K. and T. KRISTOFERSEN (1963) : «Evaluation of methods for improving the keeping Quality of creamed cottage cheese». J. Dairy Sci. 46: 603-604.
- 2 — CHAKRABORTY, B.K. and T. KRISTOFFERSEN (1964) : «Keeping Quality of creamed cottage cheese». J. Dairy Sci 47: 931-936.
- 3 — EMARD, L.O. and R.H. VAUGHN (1952) : «Selectivity of Sorbic Acid Media for the catalose Negative Lactic Acid Bacteria and Clostridia.» J. Bacterial 63: 487-494.
- 4 — Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Yöntemleri Kitabı. Haziran 1983, Ankara, 62-105. S. 503.
- 5 — Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük.
- 6 — KESKİN, H. (1982) : «Besin Kimyası» Fatih Yayınevi ve Matbaası, İstanbul.
- 7 — SKOOG, A.D. and West, M.D. (1980) : «Principles of Instrumental Analysis» Second Edition, 149-150.
- 8 — T.C. Resmi Gazete «Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği» 4 Temmuz 1983, Sayı 18097. Başbakanlık Basımevi, Ankara.
- 9 — ÜÇÜNCÜ, M. (1980) : «Gıda Dergisi» Sayı 4, Ankara.
- 10 — YALÇIN, S. (1984) : «Süt ve Ürünlerinde Kullanılan Kimyasal Katkı Maddeleri.» Doktora Tezi, A.Ü. Vet. Fak. Besin Kontrolü ve Teknolojisi Kürsüsü, Ankara.