

Bazı Antibiyotiklerin Yoğurt Bakterilerinin Asit Geliştirme Özellikleri Üzerine Etkileri

Yrd. Doç. Dr. Ayhan TEMİZ

H.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü — Beytepe - ANKARA

GİRİŞ

Sütte antibiyotik varlığı bazı nedenlere bağlı olarak zaman zaman ortaya çıkmaktadır. Sütte bulunması halinde antibiyotikler, yoğurt ve peynir gibi fermente süt ürünleri teknolojisinde önemli sorunlar yarattığı gibi halk sağlığı açısından da sakıncalar yaratmaktadır. Diğer taraftan sütteki antibiyotik kalıntıları renk maddeleri indirgenme testleri, canlı bakteri sayımı gibi süte uygulanan kalite kontrol testlerinin sonuçlarını saptıran önemli etmenler olarak da değerlendirilmektedir.

Sütte Antibiyotik Varlığı :

Bilindiği gibi süt hayvanlarının mastitis ve diğer enfeksiyon hastalıklarının kontrol altında tutulması ve tedavisi amacıyla başta penisilin olmak üzere streptomisin, klortetrasiklin (aureomisin), oksitetrasiklin (terramisin), tetrasiklin gibi antibiyotikler veya bunların uygun karışımları kullanılmaktadır. Ayrıca basitrasin, neomisin, polimiksin, subtilin, kloramisetin, novobiosin, kloramfenikol, tyrothrisin de bu amaçla kullanılan antibiyotikler arasındadır (Albright ve ark., 1961; Davis, 1968; Yöney, 1970; Kosikowski, 1982). Bu antibiyotikler hayvanlara meme, kas, damar, ağız gibi yollarla uygulanabilmektedir. Antibiyotikler, çeşidine ve hayvana uygulanış şekline bağlı olarak belli süreler içinde süte geçebilmekte ve belli bir sağım sonrasına kadar da sütte yer alabilmektedirler (Lampert, 1975; Kosikowski, 1982). Bu durumda sütün antibiyotik uygulamasını takiben ancak belli bir süre sonunda güvenle kullanılabilen süte çıkmaktadır.

Hayvanların ağız yolu ile antibiyotik alımı daha çok antibiyotiklerin yem katkısı olarak kullanılması sonucunda olmaktadır. Yemlerin bozulmasını önlemek, hayvanda süt verimini ve gelişmeyi artırmak veya koruyucu olarak yemlere belirli oranlarda antibiyotik katılabilmektedir. Bu tür uygulama sonunda süte geçebilen antibiyotik miktarının genelde yok denecek kadar az olduğu yapılan birçok araştır-

mayla gösterilmiştir (Marth, 1961; Albright ve ark., 1961). Diğer taraftan sütün bozulmasını geciktirmek amacıyla süte direkt antibiyotik eklenmesinin de söz konusu olabileceği ancak bu olaya çok sık rastlanılmadığı bildirilmektedir (Albright ve ark., 1961; Süer ve Anter, 1969; Furia, 1972). Süte antibiyotik gibi koruyucu maddelerin katılması yasalarla da engellenebilmektedir (Metin, 1977). Ancak buna karşın Polonya'da 1977 - 1980 yıllarını kapsayan dönemde gerçekleştirilen araştırmadan elde edilen sonuçlar araştırmacıları, bazı üreticilerin sütün daha dayanıklı kılmak için süte penisilin katıkları düşüncesine götürebilmiştir (Kurek ve ark., 1983).

Sütte Antibiyotik Kalıntı Miktarları :

Sütteki antibiyotik varlığının önemini kavrandığı birçok ülkede, süte antibiyotik miktarını belirlemek amacıyla araştırmalara devam edilmektedir. Amerika'da, 1951 - 1960 yıllarını kapsayan 10 yıllık dönemde 768.468 süt örneği antibiyotik içerikleri yönünden incelemeye alınmış ve sonuçta örneklerin yaklaşık % 6'sının 0,003 - 0,55 IU/ml penisilin içerdiği saptanmıştır (Albright ve ark., 1961). İngiltere ve Galler'de 1961 yılında bu amaca yönelik yapılan bir araştırmada ise 41.721 süt örneği incelenmiş ve bunların yaklaşık % 13'ünün 0,01 - 1,5 IU/ml arasında değişen oranlarda penisilin, % 1'inin ise diğer antibiyotik ya da inhibitör maddeler içerdiği saptanmıştır. Sonuçta süte en yaygın olarak rastlanan antibiyotiğin penisilin olduğu görüşü ortaya çıkmıştır (Tramer, 1964). İngiltere'de 1971 yılında sütteki antibiyotik insidansı 0,02 IU/ml penisilin düzeyinde % 0,8 - 2,60; 0,05 IU/ml penisilin düzeyinde ise % 0,7 - 0,9 olarak saptanmıştır (Kosikowski, 1982). İspanya'nın kordoba bölgesinde gerçekleştirilen bir çalışmada 323 süt örneği penisilin, streptomisin ve tetrasiklin içerikleri yönünden incelenmiş ve sonuçta örneklerin % 15,78'inde bu antibiyotiklerin ve tanımlanamayan diğer inhibitörlerin varlığı belirlenmiştir (Marteache, 1975). Yugoslavya'da işletme-

lere gelen sütlerin fermente süt ürünlerine uygunluğu açısından yoğurt kültürü kullanılarak gerçekleştirilen bir araştırmada 199.586 litre süt örneğinden 101.941 litresinin kusurlu fermentasyon gösterdiği (titre edilebilir asitlik < 20 SH) saptanmıştır (Popovic - Vranges, 1979). Polonya'da 1977 - 1979 yılları döneminde incelemeye alınan süt rneklelerinde % 5,4 - 5,7 oranlarında penisilin varlığı saptanmış ve bu oran 1980 yılında % 0,6'ya düşmüştür (Kürek ve ark., 1983). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise, AO Pastörize Süt Fabrikası'na çeşitli yörelerden gelen 103 süt örneğinde, kurumca uygulanan test yöntemiyle, antibiyotik varlığı saptanamadığı bildirilmektedir (Süer ve Anter, 1969).

Antibiyotik Kalıntılarının Fermente Süt rnleri Teknolojisinde Yarattığı Sorunlar :

Süte çeşitli nedenlerle bulaşan antibiyotik kalıntıları, gıda endüstrisine teknolojik açıdan değişik sorunlar getirmektedir. Genellikle sütteki antibiyotik kalıntıları yoğurt, peynir, tereyağı ve benzeri laktik asit fermentasyonuna dayanan diğer süt ürünlerindeki yavaş ya da yetersiz asit gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (Albright ve ark., 1961; Kosikowski, 1982). Çok düşük miktarlarda sütte yer alabilen antibiyotikler, fermente süt ürünlerinin üretiminde yararlanılan starter kültürlerin aktivitesini engelleyerek düşük kaliteli hatta bozuk ürün elde edilmesine yol açmakta, sonuçta da ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. Antibiyotikler, ürüne işleme aşamasından önce çiğ sütlere uygulanan ısıl işlemlerde genellikle bir kayba uğramamakta, ısıya dayanıklılık göstermektedir (Davis, 1968).

Antibiyotik Kalıntılarının Yoğurt Bakterileri zerine Etkileri :

Yoğurt retimi için gerekli olan *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* antibiyotiklere duyarlılık yönünden ayrıcalıklar göstermektedir. Diğer taraftan, literatürde belli bir test kültürünün aynı bir antibiyotiğe karşı duyarlılık sonuçlarında bile tam bir birlik gözlenememektedir. Bu durum dilüsyon hatalarından, antibiyotiğin saflık derecesindeki ayrıcalıklardan, kullanılan kültür suşlarının antibiyotiğe

tiğe farklı direnç gösteren özelliklerde olmasından kaynaklanabilmektedir (Harper ve Hall, 1976).

Streptococcus thermophilus tek başına denendiğinde antibiyotiklere çok duyarlı olan bir bakteridir. Bu nedenle birçok araştırıcı tarafından sütte antibiyotikleri belirleme amacıyla uygulanan çalışmalarda test mikroorganizması olarak önerilmektedir. Neal ve Calbert (1955), sütteki antibiyotikleri belirlemek için kullanılan TTC (2, 3, 5 - Triphenyltetrazolium chloride) testinde *S. thermophilus*'u test mikroorganizması olarak seçmişlerdir. Bu alışma ile çiğ sütteki 0,04 IU/ml penisilin, 0,2 µg/ml aureomisin, 0,25 µg/ml terramisin ve 4,0 µg/ml terramisin ve 4,0 µg/ml streptomisin belirlenebildiği bildirilmektedir. Collins tarafından önerilen ve *S. thermophilus*'un test mikroorganizması olarak kullanıldığı yöntemle 0,02 IU/ml penisilin, 0,5 µg/ml klortetrasiklin, 6,5 µg/ml streptomisin, 0,7 µg/ml oksitetrasiklin ve 0,9 µg/ml tetrasiklinin belirlendiği bildirilmiştir (Marth, 1961). Konecny (1979), yapmış olduğu bir yöntem araştırmasında *S. thermophilus* T280 suşunun penisiline 0,0015 - 0,015 IU/ml düzeylerinde duyarlı olduğunu saptamıştır. Kanę ve arkadaşları (1979), *S. thermophilus* ve TTC yöntemi ile sütte 0,03 IU/ml penisilin varlığını belirleyebildiklerini rapor etmişlerdir. Sozzi ve Smiley (1981), 15 adet *S. thermophilus* suşunun 35 ayrı antibiyotiğe karşı dirençlilik durumlarını ortaya koymak amacıyla yaptıkları araştırmada, bütün suşların 10 µg/ml aureomisin 0,5 IU/ml penisilin G, 10 µg/ml terramisin ve 1 µg/ml tetrasikline duyarlı olduğunu saptamışlardır. Mourot ve Loussouarn (1983), yaptıkları bir çalışmada *S. thermophilus*'un sütteki gelişimi üzerine antibiyotiklerin etkisini incelemişlerdir. Bu alışma sonucunda 0,005 µg/ml penisilin ve ampilisin, 0,25 µg/ml oksitetrasiklin ve klortetrasiklin, 0,05 µg/ml tetrasiklin, 1,25 µg/ml dihidrostreptomisin, 0,01 µg/ml amoksisilin, 0,15 - 0,31 µg/ml kloksasilin, 2,5 µg/ml neomisin ve 0,62 µg/ml kloramfenikolun, belirtilen bu değerlerin üstündeki düzeylerde sütte bulunmaları halinde pH değerlerini etkiledikleri ortaya konmuştur. Antibiyotiksiz kontrol rneklelerine göre yukardaki değerler üstünde antibiyotik içeren süt rneklelerinin pH de-

ğerlerinde önemli artışlar saptanmıştır. Demidova (1983), belli bir *S. thermophilus* suşu kullanarak ve metilen mavisi indirgeme testi uygulayarak sütteki inhibitör aktiviteye sahip bazı maddeleri belirlemek amacıyla bir çalışma yapmış ve 0,01 IU/ml penisilini, 30 - 50 µg/ml streptomisin, 1 IU/ml tetrasiklin ve oksitetrasiklin, 10 IU/ml oleandomisin ile formalin ve H₂O₂'nin belirli konsantrasyonlarının inhibitör etki yarattığını ortaya koymuştur.

Sütte antibiyotik belirlenmesi amacıyla 0,01 IU/ml penisiline duyarlı olan bir *Lactobacillus bulgaricus* suşunun kullanıldığı hızlı bir test yönteminin geliştirildiği bildirilmektedir (Marth, 1961). Storgards, *L. bulgaricus*'un faaliyetini engelleyen antibiyotik konsantrasyonunun 0,03 - 0,06 IU/ml penisilin olduğunu, bu bakterinin gelişmesini tamamen durduran antibiyotik miktarlarının ise 0,1 - 0,3 IU/ml penisilin ve 0,3 - 0,5 µg/ml klortetrasiklin olduğunu belirtmektedir (Yaygın, 1977). Sozzi ve Smiley (1981), inceledikleri 29 adet *L. bulgaricus* suşunun 10 µg/ml aureomisin, 0,5 IU/ml penisilin G, 10 µg/ml terramisin ve 1 µg/ml tetrasikline duyarlı olduğunu saptamışlardır. Bulgularları sonuçları Reinbold ve Reddy (1975)'nin yapmış olduğu çalışma sonuçlarıyla karşılaştırdıklarında, *L. bulgaricus*'un, antibiyotiklere dirençli olanlarının sayısında *S. thermophilus*'un aksine bir azalma olduğunu görmüşlerdir.

Sütte yer alan 0,02 IU/ml penisilinin yoğurt starterlerinin ortak faaliyetlerinde yavaşlamaya yol açtığı, 0,03 IU/ml penisilinin ise aktiviteyi durdurduğu bildirilmektedir (Tramer, 1964). Nikolov (1965), yoğurt kültürü ile yaptığı bir çalışmada sütteki 0,16 IU/ml penisilin ve 1 µg/ml klortetrasiklin içeriğinin resazurin ve koagülasyon test sürelerinde kontrole göre gecikmelere yol açtığını bildirmektedir. Hendrickx ve arkadaşları (1965), sütte penisilin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirdikleri bir araştırmada, kullandıkları yoğurt kültürü aracılığı ile sütteki asit üretimini 1 ve 1,5 saatlik inkübasyon periyodunda incelemişler ve sonuçta bu yöntemle 0,01 - 0,05 IU/ml ve 0,01 - 0,03 IU/ml penisilin saptamışlardır. Frank (1965), bir yoğurt kültürü ile yaptığı çalışmada, süt örneği 0,03 IU/ml veya daha fazla miktarda penisilin ya da bunun eşdeğeri bir inhibitör

içeriyorsa kullanılan kültürün deney koşullarında inhibe olacağı görüşünü ortaya koymuştur. Penisilin, basitrasin ve tyrothrisinin yoğurt bakterilerinin ortak faaliyetleri üzerine etkilerini inceleyen Yaygın (1977), 0,008 IU/ml penisilin, 0,1 µg/ml basitrasin ve 0,08 µg/ml tyrothrisinin, yoğurt bakterilerinin ortak faaliyetini engellediğini bildirmektedir. Yine aynı çalışma ile penisiline karşı *S. thermophilus*'un *L. bulgaricus*'tan, basitrasin ve tyrothrisine karşı ise *L. bulgaricus*'un *S. thermophilus*'dan daha duyarlı olduğu ortaya konmuştur. Sütteki antibiyotiklerin belirlenmesi amacıyla yapılan yoğurt testinde, asit titrasyonu ile 0,1 IU/ml, litmus milk'deki renk değişikliği ile 0,03 IU/ml penisilin saptanabildiği bildirilmektedir (Maeck, 1970). Cogan (1973), yoğurt ve peynir yapımında kullanılan starterlerin antibiyotiklere duyarlılığı konusunda yaptığı bir çalışmada, yoğurttan izole ettiği 6 adet laktik asit bakteri suşunda % 50 inhibisyona yol açan antibiyotik konsantrasyonlarını 0,009 - 0,035 µg/ml penisilin, 0,20 - 0,60 µg/ml tetrasiklin hidroklorid ve 1,60 - 13,0 µg/ml streptomisin olarak saptamıştır. Yoğurttan izole edilen bakterilerin streptomisine oldukça dirençli olduğu ancak basililerin koklara göre daha duyarlı bulunduğu bildirilmektedir. Bu nedenle bu antibiyotiklerin sütte yüksek düzeylerde bulunması halinde yoğurt bakterilerinin dengesinin bozulacağına değinilmektedir. Çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının yönün - 6 ticari peynir starteri ve 5 ticari yoğurt starteri üzerinde yapılan bir çalışmada ise yoğurt starterlerinin asit üretiminde % 20 - 50 azalmaya yol açan penisilin düzeylerinin 0,008 ve 0,08 IU/ml arasında olduğu belirlenmiştir (Waes ve Naudts, 1979). Jurdi ve Asmar (1982), ülkelerindeki yerel Lübnan yoğurt kültürünün (laban) sütteki antibiyotikleri saptamaya uygunluğunu belirlemek amacıyla yoğurt oluşumunu dikkate alarak bir çalışma yapmışlardır. Bu yöntemle sütte minimum olarak 0,005 IU/ml penisilin, 0,05 - 0,5 µg/ml oksitetrasiklin, 10 µg/ml kloramfenikol, 1 µg/ml streptomisin ve dihidrostreptomisin'i belirleyebildiklerini bildirmişlerdir.

AMAÇ

Sütteki antibiyotik varlığının süt endüstrisindeki olumsuz etkileri uzun zamandan beri bilinen bir gerçektir. Yoğurt yapımı kısa sürede gerçekleştiğinden, sütteki antibiyotiklerin fermente süt ürünlerinde yarattığı sorunlar özellikle yoğurt teknolojisinde kendini göstermektedir. Yoğurda işlenen sütte antibiyotik bulunduğu, yavaş ya da yetersiz asit gelişiminin neden olduğu kusurlu ürünler ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Ancak antibiyotiklerin yoğurt bakterileri üzerinde hangi düzeylerde bu tür kusurları oluşturduğu konusunda ülkemizde yapılmış bulunan araştırma sayısı çok azdır (Yaygın, 1977).

Yapılan araştırmanın amacı bazı antibiyotiklerin yerel yoğurtlarımızda yer alan starter bakterileri üzerindeki etkilerini ortaya koymaktır. Bu amaçla araştırmada, ülkemizin çeşitli yörelerinden sağlanan yoğurt örneklerinden izole edilen *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* suşları ile bunların 1/1 oranında karışımıyla elde edilen yoğurt kültürü kullanılmıştır. Antibiyotiklerin bu kültürlerin sütte oluşturdukları asit gelişimi üzerine etkileri titre edilebilir asitlik ve pH olarak saptanmaya çalışılmıştır. Bu çalışmada ayrıca incelemeye alınan mikroorganizmaların sütteki antibiyotiklerin belirlenmesinde test mikroorganizması olarak kullanılabilirliği de ele alınmıştır. Yoğurt bakterilerinin tek tek ve bir karışım kültür halinde incelemeye alınmasındaki amaç, bunların seçilen antibiyotiklerin belirli dozlarına duyarlılıklarını asit gelişimi yönünden ayrı ayrı belirleyebilmektedir.

MATERYAL ve METOT :

Araştırmada kullanılan *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* ve bunlardan 1/1 oranında hazırlanmış yoğurt kültürleri Ankara Etlik Veteriner Bakterioloji Enstitüsünden sağlanmıştır*. Kültürler adı geçen Enstitüde, ülkemizdeki yoğurt örneklerinden izole edilerek hazırlanmışlardır. *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* kültürleri litmus milk besiyerinde, yoğurt kültürü ise bir ampul içinde liyofilize formda alınmıştır. Bu kültürler aktif hale getirilmiş ve hazırlanan kültürlerin aktiviteleri

Kosikowski (1982) tarafından önerilen yöntemle göre saptanmıştır. Kültürlerin gram boyama yöntemi ile hazırlanan preparatları mikroskopta incelenerek saflık kontrolleri yapılmıştır.

Çalışmada ele alınan antibiyotikler çiğ sütlerde en sık rastlanan antibiyotikler olan penisilin (penisilin Gpotasyum; Deva Holding A.Ş.), streptomisin (Streptomisin Sülfat; Pfizer İlaçları A.Ş.), oksitetrasiklin (Oksitetrasiklin Hidroklorid; Pfizer İlaçları A.Ş.), tetrasiklin (Tetrasiklin HCl; Mustafa Nevzat İlaç Sanayii A.Ş.) ve klortetrasiklin (Klortetrasiklin Hidroklorid; Vetaş Veteriner ve Tarım İlaçları A.Ş.) dir. Herbir antibiyotik için üç ayrı çalışma dozu belirlenmiş ve bu dozlar incelemeye alınan üç ayrı kültür için aynen tekrarlanmıştır. Bu antibiyotik düzeylerinin seçiminde, sütteki antibiyotik kalıntı miktarları ile yoğurt bakterileri üzerine antibiyotiklerin etkilerini konu alan ve daha önce değinilen araştırma sonuçlarından yararlanılmış, incelenecek kültürlerle yapılan ön çalışmalar sonucunda da her antibiyotik için çalışma dozları belirlenmiştir. Buna göre antibiyotiklerin belirlenen son konsantrasyonları; penisilin için 0,1, 0,01 ve 0,001 IU penisilin/ml süt, streptomisin için 10, 1 ve 0,1 µg streptomisin/ml süt, oksitetrasiklin için 10, 1 ve 0,1 µg oksitetrasiklin/ml süt, tetrasiklin için 1, 0,5 ve 0,005 µg tetrasiklin/ml süt, klortetrasiklin için ise 10, 0,5 ve 0,05 µg klortetrasiklin/ml süt'dür.

İncelemeye alınan her antibiyotik için yağsız süt tozundan hazırlanmış % 10 kuru madeli rekombine süttan 4 ayrı erlenmayere belli hacimlerde aktararak otoklavda sterilize edilmişlerdir. Antibiyotiğin uygun dilüsyonları hazırlanarak, sütteki son konsantrasyonları yukarıda belirtilen düzeyde olacak şekilde üç ayrı erlenmayere belli hacimlerde ilave edilmiştir. Dördüncü erlenmayere antibiyotiksiz kontrol örneği olarak kullanılmıştır. Daha sonra aktif hale getirilmiş incelenecek kültürden her erlenmayere % 2 oranında aşılama yapılarak sonuçta herbir erlenmayere toplam hacmin 100 ml olması sağlanmıştır. Kültür ilave edilen zaman

* Kültürlerin hazır olarak sağlanmasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Uz. Vet. Hek. Güner Özalp'a teşekkürü bir borç biliyorum.

0. saat olarak dikkate alınmış ve örnekler 44°C'deki etüvde 3 saat inkübe edilmişlerdir. Bu örneklerin 0. 2. ve 3. saatlerdeki asitliği süt asidi cinsinden hesaplanmış (Anonymous, 1984; Yöney, 1973) ve ayrıca pH değerleri saptanmıştır. pH ölçümlerinde Fisher Accument pH -metresi (Model 610A) kullanılmıştır. Analizler ve her örnek için üç defa tekrarlanmış ve sonuçlar üç ayrı deneysel verimin ortalaması alınarak verilmiştir.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

Daha önceki bölümlerde sözü edilen ve araştırma için belli bir nedene bağlı olarak seçilen 5 antibiyotikğin *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* ve bunların 1/1 oranındaki karışımıyla hazırlanmış yoğurt kültürünün asit geliştirme özelliği üzerine etkilerini konu alan çalışmada asit gelişimi, titrasyon asitliği ve pH olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, bütün örneklerde titrasyon asitliği ve pH arasında yakın bir ilişkinin olduğunu ortaya koymaktadır.

Antibiyotiklerin *S. thermophilus*'un gerçekleştirdiği asitlik ve pH üzerindeki etkileri Tab-

lo 1'de gösterilmiştir. *S. thermophilus*'un oluşturduğu asitlik gelişimi, kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında, penisilin 0,1 ve 0,01 IU/ml süt, streptomisin 10 µg/ml süt, oksitetrasiklin 10 ve 1 µg/ml süt, tetrasiklin 1 ve 0,5 µg/ml süt ve klortetrasiklin 10 µg/ml süt konsantrasyonlarında tam bir gerileme göstermiştir. Buna karşılık, *S. thermophilus*'un süütün ml/'sindeki 0,001 IU penisilin, 10 ve 1 µg streptomisin ve 0,05 µg tetrasiklin varlığından diğer örneklerle göre fazlaca etkilenmediği, kontrol örneklerine yakın değerlerde asitlik gelişimi gerçekleştirdiği görülmektedir. Diğer taraftan oksitetrasiklinin en küçük çalışma dozu olan 0,1 µg/ml süt ile klortetrasiklinin ikinci çalışma dozu 0,5 µg/ml süt konsantrasyonları incelenen *S. thermophilus* suşu üzerinde oldukça etkili olmuş ve bu dozlarda başlangıca göre çok düşük düzeyde asitlik gelişimi izlenmiştir. Klortetrasiklinin en küçük çalışma dozundan ise *S. thermophilus*'un hemen hemen hiç etkilenmediği ve kontrol örneğine benzer bir asit gelişimi gösterdiği saptanmıştır.

Tablo 1. Antibiyotiklerin Streptococcus thermophilus'un Asit Geliştirme Özelliği Üzerindeki Etkileri*

Antibiyotik	İnkübasyon Süresi / Saat					
	0.		2.		3.	
	% Asitlik pH		% Asitlik pH		% Asitlik pH	
Penisilin (IU/ml)						
0,1	0,17	6,42	0,18	6,48	0,18	6,45
0,01	0,18	6,40	0,18	6,41	0,18	6,45
0,001	0,18	6,40	0,30	5,71	0,35	5,43
Kontrol	0,18	6,40	0,32	5,70	0,41	5,40
Streptomisin (µg/ml)						
10	0,18	6,45	0,18	6,40	0,18	6,35
1	0,18	6,40	0,31	5,70	0,35	5,45
0,1	0,18	6,40	0,31	5,62	0,37	5,40
Kontrol	0,17	6,41	0,32	5,62	0,40	5,41
Oksitetrasiklin (µg/ml)						
10	0,17	6,37	0,17	6,45	0,17	6,41
1	0,18	6,40	0,17	6,41	0,17	6,39
0,1	0,17	6,42	0,23	6,12	0,29	5,70
Kontrol	0,17	6,45	0,32	5,65	0,40	5,26
Tetrasiklin (µg/ml)						
1	0,19	6,30	0,19	6,35	0,19	6,30
0,5	0,18	6,30	0,19	6,35	0,19	6,29
0,05	0,18	6,28	0,26	6,04	0,36	5,49
Kontrol	0,18	6,32	0,32	5,71	0,40	5,22
Klortetrasiklin (µg/ml)						
10	0,19	6,40	0,19	6,37	0,19	6,33
0,5	0,18	6,40	0,21	6,20	0,28	5,90
0,05	0,18	6,40	0,30	5,70	0,40	5,29
Kontrol	0,19	6,40	0,32	5,73	0,42	5,28

* Sonuçlar üç ayrı deneysel verinin ortalamasıdır.

Lactobacillus bulgaricus'un gerçekleştirdiği asitlik üzerine antibiyotiklerin etkileri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Antibiyotiklerin *Lactobacillus Bulgaricus*'un Asit Geliştirme Özelliği Üzerindeki Etkileri *

Antibiyotik	İnkübasyon Süresi / Saat					
	0.		2.		3.	
	% Asitlik pH	% Asitlik pH	% Asitlik pH	% Asitlik pH	% Asitlik pH	% Asitlik pH
Penisilin (IU/ml)						
0,1	0,17	6,42	0,19	6,25	0,20	6,21
0,01	0,17	6,41	0,26	5,81	0,36	5,31
0,001	0,17	6,32	0,27	5,75	0,39	5,22
Kontrol	0,18	6,30	0,27	5,75	0,39	5,25
Streptomisin (µg/ml)						
10	0,17	6,35	0,17	6,45	0,17	6,42
1	0,17	6,38	0,18	6,25	0,19	6,30
0,01	0,17	6,40	0,21	6,20	0,38	5,41
Kontrol	0,17	6,40	0,25	6,15	0,39	5,39
Oksitetrasiklin (µg/ml)						
10	0,16	6,45	0,17	6,38	0,17	6,41
1	0,17	6,40	0,18	6,27	0,18	6,32
0,1	0,16	6,42	0,26	5,85	0,34	5,55
Kontrol	0,17	6,38	0,28	5,69	0,39	5,24
Tetrasiklin (µg/ml)						
1	0,17	6,42	0,17	6,30	0,18	6,33
0,5	0,16	6,40	0,17	6,35	0,19	6,30
0,05	0,16	6,45	0,23	6,10	0,36	5,38
Kontrol	0,16	6,50	0,28	5,65	0,39	5,29
Klortetrasiklin (µg/ml)						
10	0,17	6,38	0,17	6,38	0,17	6,40
0,5	0,16	6,49	0,17	6,32	0,26	6,05
0,05	0,17	6,32	0,24	6,10	0,36	5,45
Kontrol	0,17	6,40	0,25	6,05	0,40	5,25

* Sonuçlar üç ayrı deneysel verinin ortalamasıdır.

Tablodan da izleneceği gibi streptomisin, oksitetrasiklin, tetrasiklin ve klortetrasiklinin en büyük çalışma dozları ile oksitetrasiklinin 1 µg/ml süt konsantrasyonu asitlik gelişimi üzerinde engelleyici etki yaratmıştır. Penisilin en yüksek çalışma dozu ile streptomisin 1 µg/ml süt ve tetrasiklinin 0,5 µg/ml süt konsantrasyonlarında asitliğin çok düşük düzeyde geliştiği görülmüştür. *L. bulgaricus* 0,01 IU penisilin/ml süt ile oksitetrasiklin, tetrasiklin ve klortetrasiklinin en küçük çalışma dozlarından fazlaca etkilenmemiş ve kontrol örneklerine yakın asit oluşturmuştur. Buna karşılık klortetrasiklinin 0,5 µg/ml süt konsantrasyonundan oldukça etkilenmiş ve başlangıca göre çok az bir asit gelişimi görülmüştür. Penisilin ve streptomisin en küçük çalışma dozlarında ise kontrol örneğine benzer asit gelişimleri görülmüştür. Yani *L. bulgaricus* bu antibiyotik dozlarından hemen hemen hiç etkilenmemiştir. Burada dikkati çeken bir nokta, streptomisin sütteki en düşük, klortetrasiklinin ise 0,5 µg/ml konsantrasyonlarının inkübasyonun 2. saati sonunda oluşturulan asitlik üzerinde kontrol örneklerine ve başlangıca göre bir gecikmeye yol açmış olmasıdır.

1/1 oranındaki *Streptococcus thermophilus*/*Lactobacillus bulgaricus* yoğurt kültürünün gerçekleştirdiği asitlik üzerine antibiyotiklerin etkileri Tablo 3'de verilmiştir. Yoğurt kültürü, penisilin ve oksitetrasiklinin sütteki en yüksek çalışma dozları olan 0,1 IU penisilin/ml süt ve 10 µg oksitetrasiklin/ml süt konsantrasyonlarında hemen hemen hiç asitlik gelişimi göstermemiştir. Tetrasiklin ve klortetrasiklinin sütteki en yüksek konsantrasyonları ile oksitetrasiklinin ikinci çalışma dozu olan 1 µg/ml süt konsantrasyonunda ise başlangıca göre fazlaca bir asit gelişimi görülmemektedir. Buna karşın streptomisin sütteki en yüksek konsantrasyonunda dahi diğer antibiyotiklere oranla azımsanmayacak bir düzeyde asit gelişimine olanak sağlamıştır. Penisilin, streptomisin ve klortetrasiklinin kullanılan ikinci dozlarında asit gelişiminde bir önceki doza oranla artışlar meydana gelmiştir. Oksitetrasiklin dışındaki antibiyotiklerin en küçük miktarlarını içeren süt örneklerinde ise, asitlik ve pH değerleri kontrol örneklerine çok yakın ya da benzeri değişimler göstermiştir. Ancak oksitetrasiklinin denenen en küçük konsantrasyonunun dahi yoğurt kültürünün asitlik gelişimini belli bir dereceye kadar engellediği ilgili tablodan görülmektedir.

Tablo 3. Antibiyotiklerin Yoğurt Kültürünün Asit Geliştirme Özelliği Üzerindeki Etkileri*

Antibiyotik	İnkübasyon Süresi / Saat					
	0.		2.		3.	
	% Asitlik pH		% Asitlik pH		% Asitlik pH	
Penisilin (IU/ml)						
0,1	0,19	6,25	0,20	6,25	0,21	6,28
0,01	0,18	6,30	0,38	5,41	0,52	5,01
0,001	0,19	6,28	0,49	5,01	0,69	4,60
Kontrol	0,19	6,35	0,55	4,96	0,72	4,50
Streptomisin (µg/ml)						
0,1	0,19	6,26	0,54	5,01	0,74	4,62
1	0,19	6,35	0,51	5,10	0,71	4,68
0,1	0,19	6,26	0,54	5,01	0,74	4,62
Kontrol	0,19	6,32	0,56	5,00	0,74	4,65
Oksitetrasiklin (µg/ml)						
10	0,19	6,28	0,19	6,31	0,21	6,23
1	0,19	6,36	0,21	6,30	0,23	6,12
0,1	0,19	6,34	0,31	5,70	0,48	5,02
Kontrol	0,19	6,35	0,56	4,92	0,71	4,55
Tetrasiklin (µg/ml)						
1	0,19	6,29	0,24	6,25	0,25	6,05
0,5	0,18	6,32	0,26	6,10	0,31	5,71
0,05	0,19	6,30	0,43	5,30	0,62	4,72
Kontrol	0,19	6,35	0,55	4,93	0,72	4,50
Klortetrasiklin (µg/ml)						
10	0,19	6,31	0,22	6,29	0,23	6,22
0,5	0,19	6,37	0,30	5,75	0,50	5,15
0,05	0,19	6,35	0,52	5,10	0,72	4,70
Kontrol	0,18	6,40	0,56	5,00	0,75	4,65

* Sonuçlar üç ayrı deneysel verinin ortalamasıdır.

Bu sonuçlar, sütte herhangi bir nedenle bulunabilen antibiyotiklerin en küçük dozlarda dahi yoğurt bakterilerinin tek başına veya birlikte oluşturdukları asitlik gelişimini farklı şekillerde etkilediğini ortaya koymaktadır. *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'un 1/1 oranında ka-

rışımıyla hazırlanmış yoğurt kültürü incelenen antibiyotiklerden en az etkilenen örneği oluşturmuştur. Buna karşın incelenen yoğurt kültürünün hemen hemen hiç asitlik gelişimi gösteremediği ya da çok az asitlik gelişimini gösterdiği antibiyotik dozları da bulunmaktadır. Di-

ğer taraftan sütün ml'sindeki 0,01 IU penisilin, 10 µg streptomisin, 0,1 µg oksitetrasiklin, 0,5 µg klortetrasiklin ve > 0,05 µg tetrasiklinin yoğurt kültürünün oluşturduğu asitlik gelişiminde yaklaşık % 20 - 50 dolaylarında gerilemeye yol açtığı görülmektedir. Bu sonuçlara bakılarak, yoğurda işlenecek sütün ml'sinde 0,1 IU penisilin, 10 µg oksitetrasiklin bulunduğu ya da 1 µg oksitetrasiklin, 1 µg tetrasiklin ve 10 µg klortetrasiklin varlığında teknolojik anlamda yoğurt yapımının gerçekleştirilemeyeceği söylenebilir. Asit gelişiminde yaklaşık % 20 - 50 dolaylarında gerilemeye yol açan antibiyotik konsantrasyonlarında da yavaş ya da yetersiz asit gelişimi belli bir kalite normundan yoksun ürün elde edilmesi sonucunu doğurabilecektir. Yoğurt kültürünün streptomisine oldukça dirençli olması ve yoğurt yapımının belli ölçüde engellenmesi, yoğurtla birlikte yüksek dozda alınacak bu antibiyotiklerin özellikle antibiyotiğe duyarlı kişilerde sağlık sorunları yaratabileceğini akla getirmektedir.

İncelemeye alınan antibiyotik konsantrasyonlarında, *S. thermophilus* örneğinin sütün ml'sindeki 0,01 IU penisilin, 10 µg streptomisin, 1 µg oksitetrasiklin, 0,5 µg tetrasiklin ve 10 µg klortetrasikline duyarlı olduğu saptanmıştır. Buna karşın *L. bulgaricus*'un 10 µg streptomisin, 1 µg oksitetrasiklin 1 µg tetrasiklin ve 10 µg klortetrasikline duyarlı olduğu, 0,1 IU penisilin, 1 µg streptomisin, 0,5 µg tetrasiklinin hemen üstündeki antibiyotik dozlarına da duyarlı kabul edilebileceği Tablo 2'den anlaşılmaktadır. Tablo 3'deki sonuçlara bakılarak, yoğurt örneğinin 0,1 IU penisilin, 1 µg oksitetrasiklin, 1 µg tetrasiklin ve 10 µg klortetrasiklinin hemen üstündeki antibiyotik dozlarına duyarlı olduğu söylenebilir. Bu sonuçlar, *S. thermophilus*'un incelenen antibiyotiklere *L. bulgaricus* ve yoğurt kültüründen daha duyarlı olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızda *L. bulgaricus*'un streptomisine duyarlılığı konusunda Cogan (1973)'in sonuçlarına benzer sonuçlar elde edilmiş olup, bu bakteri streptomisine *S. thermophilus*'dan daha duyarlıdır. Bu durumda, streptomisinin sütteki küçük konsantrasyonlarının aranması söz konusu olduğunda *L. bulgaricus*'un test mikroorganizması olarak kullanılabilmesi olasıdır. Diğer taraftan sütte

bu antibiyotiklerin yüksek dozlarda bulunması halinde yoğurt mikroorganizmaları dengesinde olumsuz etki yaratması beklenilebilir. Sonuç olarak, *S. thermophilus*'un sütte antibiyotik belirlenmesi amacıyla test mikroorganizması olarak kullanılabilmesi, ancak bu amaca dönük seçilecek yöntem için antibiyotiklerin denenmemiş diğer dozlarda ele alınması gerektiği söylenebilir.

Araştırmadan ulaşılan sonuçların uygulamalara ve bu konuda yapılacak yeni araştırmalara ışık tutacağı umudundayız.

SUMMARY

The effects of some antibiotics (penicillin, streptomycin, oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline) on the acid development of yoghurt starter bacteria in milk were studied. Cultures of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* strains and mixture of both microorganisms in all experimental antibiotic milks were tested for titratable acidity and pH after incubation for 0, 2 and 3 hours at 44°C.

The results indicate that yoghurt was the most resistant culture to the antibiotics. However, 0,1 IU of penicillin and 10 µg of oxytetracycline per ml of milk inhibited the acid production of yoghurt culture. Concentrations of 1 µg of tetracycline; 10 µg of chlortetracycline and 1 µg of oxytetracycline per ml of milk also caused poor starter activity with very little acid production. A reduction of 20 - 50 % of acid production was observed with the samples using 0,01 IU/ml penicillin; 10 µg/ml streptomycin; 0,1 µg/ml oxytetracycline; 0,5 µg/ml chlortetracycline and > 0,05 µg/ml tetracycline.

The sensitivities of three cultures to antibiotics varied widely. *S. thermophilus* was the most sensitive culture to the antibiotics. This culture was sensitive to 0,01 IU of penicillin; 10 µg of streptomycin; 1 µg of oxytetracycline; 0,5 µg of tetracycline and 10 µg of chlortetracycline per ml of milk. However, *L. bulgaricus* showed more sensitivity to streptomycin than *S. thermophilus*. Measured sensitivity was found approximately 1 µg/ml of milk.

ÖZET

Bazı antibiyotiklerin (penisilin, streptomisin, oksitetrasiklin, tetrasiklin ve klortetrasiklin) yoğurt bakterilerinin sütteki asit geliştirme özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* kültürü ile bunların karışımıyla elde edilen yoğurt kültürünün, denenen antibiyotik konsantrasyonlarında gerçekleştirdikleri asit gelişimleri titre edilebilir asitlik ve pH olarak saptanmıştır. Asit gelişimleri, örneklerin 44°C de 0, 2 ve 3 saat inkübasyonu sonunda test edilmiştir.

Yoğurt kültürü incelenen antibiyotiklerden en az etkilenen örneği oluşturmuştur. Buna karşın yoğurt kültürü 0,1 IU penisilin/ml süt ve 10 µg oksitetrasiklin/ml süt konsantrasyonlarında hemen hemen hiç asit gelişimi göster-

memiştir. Sütün ml'sindeki 1 µg tetrasiklin, 10 µg klortetrasiklin ve 1 µg oksitetrasiklin dozlarında da başlangıca göre fazlaca bir asit gelişimi görülmemiştir. Diğer taraftan sütün ml'sindeki 0,01 IU penisilin, 10 µg streptomisin, 0,1 µg oksitetrasiklin, 0,5 µg klortetrasiklin ve > 0,05 µg tetrasiklin yoğurt kültürünün oluşturduğu asit gelişiminde yaklaşık % 20 - 50 dolaylarında gerilemeye yol açmıştır.

S. thermophilus incelenen antibiyotiklere en duyarlı kültür örneğini oluşturmuştur. Buna karşın, *L. bulgaricus* streptomisine *S. thermophilus*dan daha fazla bir duyarlılık göstermiştir. *S. thermophilus*'un sütün ml'sindeki 0,01 IU penisilin, 10 µg streptomisin, 1 µg oksitetrasiklin, 0,5 µg tetrasiklin ve 10 µg klortetrasikline duyarlı olduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

- Albright, J.L.; Tuckey, S.L.; Woods, G.T. 1961. Antibiotics in Milk. A Review. *Journal of Dairy Science*. 44: 779 - 798.
- Anonymous, 1984. T.S.E. Yoğurt Standardı. TS 1330, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Cogan, T.M. 1973. Susceptibility of Cheese and Yoghurt Starter Bacteria to Antibiotics. *Dairy Science Abstracts*, 35 (3): 92.
- Davis, J.G. 1968. Dairy Products. Quality Control in the Food Industry. Edited by S.M. Herschdoerfer, Vol. 2, Academic Press, London and New York, 131 - 134.
- Demidova, L.D. 1983. Development of a Biological Method for Determination of Some Substances in Milk Possessing Inhibitory Activity. *Dairy Science Abstracts*, 45 (12): 927.
- Frank, H. 1965. Detection of Inhibitory substances in Milk and Dried Milk. *Dairy Science Abstracts*, 27 (11): 561.
- Furia, T.E. 1972. Handbook of Food Additives. Second Edition. CRC Press Inc., Cleveland, Ohio. 165 - 171.
- Harper, W.J.; Hall, C.W. 1976. Dairy Technology and Engineering. The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut 223 - 225, 238 - 239.
- Hendrickx, H.; Huyghebaert, A.; Moor, H. DE. 1965. The Use of Yoghurt and Mixed Indicator for the Routine Detection of Penicillin in Milk. *Dairy Science Abstracts* 27 (4): 175.
- Jurdi, D.A.; Asmar, J.A. 1982. Use of a Simple Fermentation Test to Detect Antibiotic Residues in Milk. *Dairy Science Abstracts*, 44 (4): 266.
- Kang, K.; Lee, S.W.; Baek, Y.J.; Kim, Y.C. 1979. Antibiotic Assay Method for Fermented Milk Drinks. *Dairy Science Abstracts*, 41 (12): 874.
- Konecny, S. 1979. Detection of Inhibitory Substances in Milk by a Modified Reduction Micromethod. *Dairy Science Abstracts*, 41 (11): 784.
- Kosikowski, F. 1982. Cheese and Fermented Milk Foods, Second Edition. Edwards Brothers, Inc., Ann Arbor, Michigan. 26 - 32, 80, 587, 369 - 370.
- Kurek, C.; Milko, K.; Bialkowska, M. 1983. Occurrence of Penicillin and Other Inhibitory Substances in Raw and Retail Milk in Gdansk Province, Poland. *Dairy Science Abstracts*, 45 (1): 29.
- Lampert, L.M. 1975. Modern Dairy Products. Third Edition. Chemical Publishing Company, Inc., New York. 134 - 137.

- Maeck, K. 1970. Detection of Inhibitory Substances in Milk Using Yoghurt- acidification Method and Brilliant Black Reduction Test with *Bacillus stearothermophilus* var. *caldolactis*. Dairy Science Abstracts, 32 (9): 589.
- Marteache, A.H. 1975. Antibiotic Residues in Milk. Dairy Science Abstracts, 37 (1): 19.
- Marth, E.H. 1961. Antibiotics in Milk. A Review. I. Recent Developments ve II. Methods for Detection of Antibiotics in Milk. Journal of Milk and Food Technology. 24: 36-44 ve 70-78.
- Metin, M. 1977. Süt ve Mamüllerinde Kalite Kontrolü. Ankara Ticaret Borsası Yayınları, No: 1, Ankara. 176-178.
- Mourot, D.; Loussouarn, S. 1983. Sensivity of Starters to the Antibiotics Used in Veterinary Medicine. Dairy Science Abstracts, 45 (7): 518.
- Neal, C.E.; Calbert, H.E. 1955. The Use of 2, 3, 5 - Triphenyltetrazolium Chloride as a Test for Antibiotic Substances in Milk. Dairy Science Abstracts, 17 (10): 851-852.
- Nikolov, N. 1965. Method for the Detection of Antibiotics and Other Inhibitory Substances in Milk. Dairy Science Abstracts, 27 (4): 175.
- Popovic - Vranjes, A. 1979. Some Observations on Inhibition of Lactic Acid Fermentation Under Industrial Conditions. Dairy Science Abstracts, 41 (1): 40.
- Reinbold, C.W.; Reddy, M.S. 1975. Sensivity or Resistance of Dairy Starter and Associated Microorganisms to Select Antibiotics. Dairy Science Abstracts, 37 (11): 701.
- Sozzi, T; Smiley, M.E. 1981. Antibiotic Resistances of Yoghurt Starter Cultures *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. Dairy Science Abstracts, 43 (10): 836.
- Süer, I.; Anter, C. 1969. A.O.Ç. Pastörize Süt Fabrikasına Gelen Sütlerde Antibiyotik Araştırılması. Etlik Veteriner Bakteriyo-loji Enstitüsü Dergisi. 3 (7-8): 69-75.
- Tramer, J. 1964. Antibiotics in Milk. Journal of the Society of Dairy Technology. 17 (2): 95-100.
- Waes, G.; Naudts, M. 1979. Some Problems Concerning Antibiotics in Milk. Dairy Science Abstracts, 41 (4): 246.
- Yaygın, H. 1977. Süt ve Mamüllerinde Antibiyotikler. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 327. E.Ü. Matbaası, İzmir.
- Yöney, Z. 1970. Süt ve Mamülleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 424. A.Ü. Basımevi, Ankara. 75.
- Yöney, Z. 1973. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 491. A.Ü. Basımevi, Ankara. 491.