



**AFYONKARAHİSAR’ DA SATIŞA SUNULAN SUCUKLARIN KÜF
FLORASININ BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selin ÇELİK

Danışman

Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Haziran 2019

Bu tez çalışması
17.FEN.BİL.22 numaralı proje ile BAPK tarafından desteklenmiştir.

TC
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AFYONKARAHİSAR’ DA SATIŞA SUNULAN SUCUKLARIN KÜF
FLORASININ BELİRLENMESİ

Selin ÇELİK

Danışman

Prof.Dr. Ramazan ŞEVİK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Haziran 2019

TEZ ONAY SAYFASI

Selin ÇELİK tarafından hazırlanan “Afyonkarahisar’da Satışa Sunulan Sucukların Küf Florasının Belirlenmesi ” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 28/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

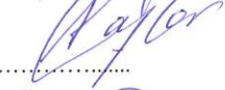
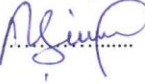
Danışman : Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK

Başkan : Prof. Dr. Mustafa KARAKAYA
Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi

Üye : Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR
AKÜ, Mühendislik Fakültesi

Üye : Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK
AKÜ, Mühendislik Fakültesi

İmza


.....

.....

.....

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. İbrahim EROL
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

28/06/2019

Selin ÇELİK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AFYONKARAHİSAR’ DA SATIŞA SUNULAN SUCUKLARIN KÜF FLORASININ BELİRLENMESİ

Selin ÇELİK

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK

Türk usulü fermente sosis olarak da isimlendirilen sucuk Türkiye’de en iyi bilinen ve en çok tüketilen et ürünlerinden birisidir. Sucuk; koyun, sığır veya manda etinin, iç veya kuyruk yağı, tuz, şeker, nitrit/nitrat, sarımsak, karabiber, kırmızı biber, kimyon gibi çeşitli baharatlarla karıştırılmasıyla elde edilmektedir. Diğer fermente et ürünlerinde olduğu gibi sucuk içerdiği tuz, bakteriyosin, laktik asit, nitrit/nitrat, düşük pH ve su aktivitesi (a_w) nedeniyle uzun raf ömrüne sahiptir. Fermente sucukların güvenilirliğini tuz, antimikrobiyal madde, nitrat/nitrit, olgunlaşma sırasında gelişen pH ve su aktivitesi gibi birçok faktör etkilemektedir. Bununla birlikte, küf gelişimi ve sucuktaki patojen mikroorganizma varlığı gıda güvenliği açısından tüketici için büyük bir problem teşkil etmektedir. Bu araştırmada piyasada satılan Türk sucuklarında ki küf türlerinin belirlenmesi üzerine çalışılmıştır. Bu çalışmada et ve et ürünleri ile ilgili genel bilgiler verilmiş, fermente ve ısıtılmış sucuklar tanıtılmış, bunlardan üretim aşamalarında hangi faktörlere göre hangi küflerin izole edildiğine ilişkin literatürdeki bilgiler geniş olarak aktarılmıştır. Laboratuvar çalışmaları sonucu Türkiye’de üretilen ve 40 farklı firmadan alınan sucuk numuneleri kış ve yaz mevsimine göre ayrı ayrı incelenmiş ve izole edilen küf türlerinin identifikasyonu yapılmıştır. Çalışmalar sırasında yaz ve kış florasında en fazla *Aspergillus flavus* tespit edilmiştir. İkinci sırada *Aspergillus niger* takip etmiştir. Belirlenen toplam 25 küf türünden diğerleri bu iki küf türünden daha az sayıda bulunmuştur.

2019, xi + 74 sayfa

Anahtar Kelimeler: Fermente, sucuk, et, küf türü,

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF MOLD FLORA OF THE SAUSAGES OFFERED FOR SALE IN AFYONKARAHİSAR

Selin ÇELİK

Afyon Kocatepe University

Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Ramazan ŞEVİK

Turkish style fermented sausage sausages also named as one of the most well known and most consumed meat products in Turkey. Sausage; sheep, beef or buffalo meat, internal or tail oil, salt, sugar, nitrite / nitrate, garlic, black pepper, paprika, cumin is obtained by mixing with various spices. As with other fermented meat products, sausage has a long shelf life due to salt, bacteriocin, lactic acid, nitrite / nitrate, low pH and water activity (a_w). The safety of fermented sausages is influenced by many factors such as salt, antimicrobial agent, nitrate / nitrite, pH and water activity during ripening. However, mold growth and the presence of pathogenic microorganisms in sausage are a major problem for the consumer in terms of food safety. The aim of this study was to identify the types of molds in Turkish fermented sausages in the market. Detailed information about meat and meat products, process stages and also fermented and heat-treated sausages' properties were endeavoured to be given besides the mold identifications conditions. 40 different types of Turkish fermented sausages analysed according to summer or winter seasons and isolated molds were identified. *Aspergillus flavus* was detected to be the dominant mold both in summer and winter seasons, followed by *Aspergillus niger*. Number of total identified 25 molds were found to be less than these two molds.

2019, xii + 74 pages

Keywords: Fermented, sausages, meat, products.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın konusu, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK, araştırma ve yazım süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gökhan AKARCA ve Sayın Arş. Grv Çiğdem Aşçıoğluna' na, her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarını gördüğüm hocalarıma, arkadaşlarıma ve 17.FEN.BİL.22 kodlu projeme desteğinden dolayı BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Bu araştırma boyunca maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

Selin ÇELİK

AFYONKARAHİSAR, 2019

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	4
2.1 Kırmızı Et ve Tanımlanması.....	4
2.1.1 Fermente Et Ürünleri	5
2.2 Sucuk	6
2.2.1 Fermente Sucuk	6
2.2.2 Isıl İşlem Görmüş Sucuk	7
2.2.3 Sucuğun Kimyasal ve Mikrobiyal Özellikleri	7
2.2.4 Sucuk Mikroflorası Üzerine Etki Eden Faktörler.....	8
2.2.5 Sucuğun Küfler Tarafından Bozulmasına Etki Eden Faktörler.....	9
2.2.5.1 Su Aktivitesi (a_w).....	9
2.2.5.2 pH	10
2.2.5.3 Tuz.....	10
2.2.5.4 Yağ	11
2.2.5.5 Şeker	11
2.2.5.6 Nitrat ve Nitrit	11
2.2.5.7 Baharatlar ve Askorbik Asit	13

2.2.5.8 Starter Kültürler	13
2.3 Küfler.....	15
2.3.1 Taksonomi ve Küflerin Tanımlanması	16
2.3.1.1 Penicillium.....	16
2.3.1.2 Aspergillus.....	19
2.3.1.3 Mucor	19
2.3.1.4 Rhizopus	20
2.3.1.5 Botrytis cinerea.....	21
2.3.1.6 Byssochlamys fulva.....	21
2.3.1.7 Cladophiala cladosporioides	22
2.3.1.8 Mucor Racemosus	23
2.3.1.9 Paecilomyces Variotti.....	24
2.3.1.10 Byssochlamys nivea	25
2.3.2 Fermente Sucuklara Bağlı Mikrobiyal Tehlikeler	25
2.3.2.1 Escherichia coli.....	25
2.3.2.2 Salmonella	26
2.3.2.3 Staphylococcus aureus.....	27
2.3.2.5 Clostridium botulinum	29
2.3.2.6 Toxoplasma gondii.	30
2.3.3 Sağlık ve Güvenlik İle İlgili Diğer Mikrobiyolojik Faktörler.	31
2.3.3.1 Biyojenik Aminler	31
2.3.3.2 Mikotoksinler.	32
2.3.3.3 Antibiyotik Direnci.....	33
2.4 Fermente Et Ürünlerinde İzole Edilen Küf Türleri	33
3. MATERYAL ve METOT	36
3.1 Materyal.....	36

3.1.1 Numune ve Özellikleri.....	36
3.1.2 Besiyeri ve Çözeltiler	37
3.2 Metot.....	38
3.2.1 Besiyeri ve Numunelerin Analize Hazırlanması	38
3.2.1.1 Besiyerlerin Analize Hazırlanması.....	38
3.2.1.2 Numunelerin Analize Hazırlanması	38
3.2.2 Küf İzolasyonu	39
3.2.3 Küf İdentifikasyonu.....	39
4. BULGULAR	41
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	65
6. KAYNAKÇA	69
ÖZGEÇMİŞ.....	74

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μM	Mikromolar
Cm	Santimetre
CO_2	Karbondioksit
NaCl	Sodyum Klorür
O_2	Oksijen

Kısaltmalar

BA	Biyolojik amin
OTA	Okratoksin A
SE	Stafilokok enterotoksin



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1	Toplam 40 farklı sucuktan elde edilen küf türleri.....	42
Şekil 4.2	20 Farklı sucuk numunesinde elde edilen küf türleri ve yüzdesi	44
Şekil 4.3	Yaz Dönemi 10 farklı ısı işlem görmüş sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri	46
Şekil 4.4	Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri	53
Şekil 4.5	Kış florası için 20 Farklı sucuk numunesinde elde edilen küf türleri ve yüzdesi.....	59
Şekil 4.6	Kış Dönemi 10 farklı ısı işlem görmüş sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri	61
Şekil 4.7	Kış Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri	64

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 4.1 Toplam 40 farklı sucuktan elde edilen küf türleri.....	41
Çizelge 4.2 Yaz Dönemi 20 farklı sucuktan elde edilen küf türleri.....	43
Çizelge 4.3 Yaz Dönemi 10 farklı ısıtılmış sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.....	45
Çizelge 4.4 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.....	52
Çizelge 4.5 Kış Dönemi 20 farklı sucuktan elde edilen küf türleri.....	58
Çizelge 4.6 Kış Dönemi 10 farklı ısıtılmış sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.....	60
Çizelge 4.7 Kış Dönemi 10 farklı fermente sucuktan sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.....	63

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 4.1 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Paecilomyces variotii</i> küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.7).....	47
Resim 4.2 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Aspergillus flavus</i> küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.8).	47
Resim 4.3 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Aspergillus niger</i> küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.9).	48
Resim 4.4 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Aspergillus oryzae</i> küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.10).....	48
Resim 4.5 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Byssoschlamys fulva</i> küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.11).	49
Resim 4.6 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Cladosporium cladosporioides</i> küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.12).....	49
Resim 4.7 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Penicillium chrysogenum</i> küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.13).....	50
Resim 4.8 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Penicillium expansum</i> küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.14).	50
Resim 4.9 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Penicillium notatum</i> küf türünün görüntüsü.	51
Resim 4.10 Yaz Dönemi 10 farklı fermentesucuktan elde edilen <i>Mucor Racemosus</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.15).....	54
Resim 4.11 Yaz Dönemi 10 farklı fermentesucuktan elde edilen <i>Aspergillus ochraceus</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.16).	54
Resim 4.12 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen <i>Aspergillus neo niger</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.17).	55
Resim 4.13 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen <i>Byssoschlamys nivea</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.18).....	55
Resim 4.14 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen <i>Penicillium solitum</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.19).....	56
Resim 4.15 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen <i>Aspergillus fumigatus</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.20).	56

Resim 4.16 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen <i>Aspergillus nidulans</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.21).....	57
Resim 4.17 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen <i>Botrytis cinerea</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.22).....	57
Resim 4.18 Kış Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Trichoderma harzianum</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.23).	62
Resim 4.19 Kış Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Aspergillus parasiticus</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.24).....	62
Resim 4.20 Kış Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen <i>Penicillium citrinum</i> küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.25).	63



1.GİRİŞ

Çağımızın en önemli sorunlarından birisi, hızla artan dünya nüfusunun beslenme ihtiyacını karşılayabilmektir. Dünya nüfusunun hızla artışı yanında gıda üretiminin yetersiz kalması sonucu özellikle hayvansal gıda ihtiyacı her geçen gün biraz daha artmaktadır. Bu sorunun çözümü için, üretimi yapılan gıda maddelerinin yapım, muhafaza ve pazarlama aşamalarında ekonomik yöntemlerin kullanılmasının yanı sıra, kalite kontrolünün uygulanması da gereklidir. Beslenmenin dengeli bir şekilde yapılabilmesi için, vücudun yapı taşlarını teşkil eden ve biyolojik değeri yüksek olan proteinlerin alınması gereklidir. Bu bakımdan et ve et ürünleri ihtiyacı karşılayan en önemli protein kaynaklarıdır (Atala 1992).

Ülkemizde total protein kaynağı yeterli olmasına karşın hayvansal kökenli protein tüketimimizin yeterli olmadığı görülmektedir (Atala 1992). Gelişmiş ülkelerde, insan beslenmesinde önerilen günlük diyetin önemli bir kısmını hayvansal proteinler oluşturmaktadır. Yetişkin bir insanın yeterli ve dengeli bir şekilde beslenebilmesi için günde 2800-3000 kalori ve 75-80 gram protein alması gerekmektedir. Alınması gereken bu protein miktarının %40-45'i yani 30-35 gramı ise hayvansal kökenli olmalıdır (Nazlı 1987).

Sağlıklı ürünler ancak sağlıklı hammaddelerden elde edilebilir. Et ürünlerinde kullanılacak etlerin genel mikroorganizma oranı da kabul edilebilir sınırlarda olmalıdır. Mikroorganizma sayısının yüksekliği, çeşitli kalite bozukluklarına yol açabilmektedir. Ayrıca kullanılan baharatların da hijyenik açıdan kaliteli ve yeterli olması ortaya çıkan ürünün hijyenik kalitesine doğrudan etki etmektedir. Çünkü baharatlar bakterisit ve bakteriyostatik etkileri yanında çok miktarda değişik mikroorganizmaları taşıyabilirler. Bu mikroorganizmalar et ürünlerinin kalitelerini bozdukları gibi dayanma sürelerini de kısaltırlar (Alperden 1993).

Etler ve et ürünleri mikroorganizmaların gelişip çoğalmaları için uygun ortamlardır. Bu tür gıdalar; yüksek nem içerikleri, azotlu besin ögeleri, mineral ve diğer gelişme faktörlerince zengin olmalarının yanında belirli oranda fermente olabilir karbonhidrat içermeleri ve pH değerlerinin birçok mikroorganizmanın gelişmesine elverişli olmaları nedeniyle mikrobiyal üreme sonucu kolayca bozulabilirler (Alperden 1993).

Normal koşullarda, sağlıklı bir etin iç dokularında mikroorganizma pek az bulunmalı veya hiç bulunmamalıdır. Ancak etler kesim, yüzme, parçalanma, taşıma ve depolama sırasında önemli ölçüde dış kaynaklı mikrobiyal kontaminasyona maruz kalırlar. Dışleme, paketlenme, nakliye, depolama şartları ve satış kontrolleri gıda güvenliğindeki en önemli unsurlardır. Özellikle mikrobiyolojik kontroller, sağlık, kalite ve ekonomik yararlar bakımından son derece önemlidir (Snyder 1986).

Gıdaların üretimi sırasında steriliteye dikkat edilmezse ve steril ambalaj materyali içinde saklanmazsa her üretim basamağında mikrobiyal kontaminasyonlar sonucu; gıda bozulmaları, gıda zehirlenmeleri ve gıda kaynaklı hastalıklar meydana gelebilmektedir (Alperden 1993).

Sağlıklı bir yaşam, dengeli beslenmenin yanı sıra hijyenik yönden kaliteli gıdaların alınmasıyla mümkün olabilmektedir. Bu yüzden tüketime sunulan besinlerin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal niteliklerinin iyi olması gereklidir (Alperden 1993).

Et ve et ürünleri teknolojisinde kullanılacak hammadde her ne kadar sağlıklı hayvanlardan elde edilmiş olursa olsun, bu ürünlerin üretimi sırasındaki hijyenik ve teknolojik hatalar halk sağlığı yönünden sakıncalı durumlar ortaya çıkarabilmektedir (Snyder 1986).

Bu çalışmanın amacı; Sivas' ta et ürünleri üretimi yapan tesislerden alınacak sucuk örneklerinin, maya ve küf mantarları yönünden incelenerek, insan sağlığına kalıcı ve

olumsuz etkileri bulunan maya ve küflerin ilimizde üretilen sucuklardaki miktarlarının tehlike sınırlarında olup olmadığını saptamaktır.

Bu çalışmanın, toplumumuzun yemek kültürünün çok önemli bir parçası olan sucukların, yerel üreticiler tarafından daha sağlıklı bir şekilde üretilmesine katkıda bulunması beklenmektedir.



2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Kırmızı Et ve Tanımlanması

Kırmızı et; kasaplık hayvanların iskelet kaslarından elde edilen bir gıda maddesidir. Karkastan ayrılmayan yağ, bağ doku, kan damarı, kan, lenf sistemi, sinir, doku, epitel doku et sayılmaktadır. İç organlarda tüketime uygun olanlar sakatat olarak belirlenmekte, et tanımı dışında bırakılmakta ancak et gibi işlem görmektedir. Tüketime sunulacak taze etlerin türlere göre olgunlaştırma evresinden geçirilmesi gerekmektedir. Ete dayanıklılığını arttırmak üzere soğutma ve dondurma işlemi dışında uygulanacak fiziksel ve kimyasal işlemler sonucu oluşan yeni ürün et ürünü olarak adlandırılmaktadır.

Kırmızı etin elde edildiği kasaplık hayvan etleri her ülkenin örf, adet ve inançlarına göre değişir. Ülkemizde koyun, keçi, sığır, manda ve deve etleri kasaplık hayvan etleridir. Diğer ülkelerde domuz, at ve buna benzer hayvan etleri kasaplık hayvan etlerindendir. Kasaplık hayvan: Büyükbaş hayvanları, küçükbaş hayvanları, domuz ve tek tırnaklı hayvanları ifade eder.

- Küçükbaş hayvanlar: Koyun ve keçiyi,
- Büyükbaş hayvanlar: Sığır, manda ve deveyi ifade eder.

Kasaplık hayvan etlerinin elde edildiği hayvanlara göre özellikleri şöyledir:

- Sığır eti: Et pembe renktedir ve ince et fibrillerine sahiptir. Yağ tabakası ise zayıftır. Dana eti koku olarak sığır etinden oldukça farklıdır; ekşimsi, aromatik bir kokusu vardır. Bu aroma dana etinde tipik lezzet yaratır.
- Manda eti: Manda eti taze iken koyu esmer kırmızı renktedir. Soğuduktan sonra ise siyaha doğru dönen bir renk alır. Manda eti hafif yosun kokan bir ettir. Et fibrilleri dokular oldukça serttir, pişirildiğindeyse daha da sertleşir. Yağı beyaz ve kurudur ve sığırın yağına göre daha settir.
- Koyun eti: Et kırmızı, yağı ise beyaz renktedir. Koyun etinin yağ oranı yüksektir.

Koyun eti ortalama % 55-60 su , % 25 yağ , % 16 protein, % 0.25'i karbonhidrattan meydana gelmiştir. Kas dokusunda ince ve sık fibriller mevcuttur. Koyun eti kendine has hafif amonyacı andıran kokuya sahiptir.

- Keçi eti: Koyun etine göre daha açık renklidir. Et rengi keçinin oğlaklarında çok açık, yaşlı keçilerde ise daha koyudur. Keçilerin kaslarındaki yağ oranı çok azdır. Hafif kokulu ve kaygan bir ettir.

- Domuz eti: Domuzlardaki et özellikleri, renk, yağ ve beslenme durumu dışında, gövdedeki bulunduğu yer açısından da farklılık arz eder. Domuz eti son derece yumuşak kıvamdadır. Yağ kısmi olarak kasların içinde dağılmış, kısmi olarak da onları sarmalamış haldedir. Yaşlı erkek domuzların ve dişi domuzların et özellikleri koyu kırmızı renkte, lifleri oldukça kaba ve yağı azdır. Domuz eti kendine has bir kokuya sahiptir ve diğer etlerden kolaylıkla ayırt edilebilir.

- At eti: Yağlı at etleri koyu kırmızı renkten, kahverengi- kırmızı renge kadar değişebilen renktedirler. Genç atların et renkleri ise açık kırmızı olur. Hava ile temasta olan et yüzeyinde ise kısa süre içinde mavimsi bir parlaklık meydana gelir. Akabinde hızla koyulaşarak siyah kırmızı renkten, siyah renge kadar değişebilen bir görünüme döner. Etteki lifler narin olmakla birlikte oldukça kalın gruplar halindedir. At eti sert kıvamlıdır. Yağ dokusu sadece kasları sarmalamış hâlde bulunur. At eti kaynatıldığı zaman suyun üstünde sarı renkli yağ damlacıklarından oluşan bir tabaka meydana gelir. At eti hafif tatlı bir lezzetlidir. Kendine has kokusu vardır ancak kaynatıldığında biraz gübremsi bir koku meydana gelir (Yılmaztekin 2018).

2.1.1 Fermente Et Ürünleri

Fermente et ürünleri, mikroorganizmaların gelişmeleri ve metabolik aktiviteleri sonunda elde edilen et ürünleridir. Son ürün kalitesi, fermantasyonda rol üstlenen mikroorganizmaların türüne, hammadde tercihi ve üretim esnasındaki koşullara bağlı olarak oldukça farklılaşmaktadır (Heperkan ve Sözen 1988).

2.2 Sucuk

Sucuk kırmızı et ve yağın kıyılarak veya kuterde çekilerek hazırlanan hamura baharat ve çeşitli maddeler eklenerek doğal veya yapay kılıflar içinde belirli sıcaklık, nem ve hava akışı şartlarında olgunlaştırılması ile elde edilen et ürünüdür (Cebirbay 2014).

Sucuklar; fermente Sucuk ve Isıl işlem Görmüş Sucuk olarak ayrılırlar. Aralarında üretim açısından farklılık söz konusu değildir. Ancak fermente sucuklar fermentasyon süresi boyunca hava almaları için bağırsağa doldurulurlar, ısıl işlem görmüş sucuklar ise genelde yapay kılıflara konulmaktadır (Gökmen 2010).

2.2.1 Fermente Sucuk

Kelime anlamı olgunlaştırılmış olan fermente, bir gıda maddesinin kültür (yararlı bakteriler) aracılığı ile belirli şartlar altında kimyasal olarak değiştirilmesi ve önceki haline göre daha dayanıklı, daha lezzetli hale getirilmesi işlemine neder.

Fermente sucuk; kıyma haline getirilen dana veya koyun eti, aynı hayvanların yağları ile belirli oranlarda karıştırıldıktan sonra içerisine çeşitli baharatlar eklenerek hayvan bağırsağı veya hayvan bağırsağına benzer geçirgen yapay kılıflar içerisine doldurulup, uygun şartlarda belirli bir süre bekletilip olgunlaştırılması ile elde edilen gıdalara verilen isimdir. Bu işlem sırasında et, yağ ve baharatların etkisi ile fermente olur ve kendine has özel bir lezzete kavuşur. Olgunlaşma süresi minimum 30 gündür. Fermente sucukta et protein oranı minimum % 16, yağ %40, nem oranı maksimum %50, pH değeri en çok 5,4 olmalıdır (Gökmen 2010).

2.2.2 Isıl İşlem Görmüş Sucuk

Hazırlama aşamaları fermente sucuk gibi, dana ve koyun etinin aynı hayvanların yağları ve çeşitli baharatlar ile karıştırılmasından sonra bu karışımın hayvan bağırsağına veya hayvan bağırsağına benzer geçirgen yapay kılıflar içerisine doldurulup, uygun şartlarda belirli bir süre bekletilmesi ile elde edilen gıda ürünüdür. Bu üründe olgunlaştırma süresini kısaltmak adına ürünler bekleme esnasında neme ve ısıya maruz bırakılır.

Böylece fermente sucuğa göre daha kısa sürede ve maliyette ürün elde edilmiş olur. Olgunlaşma süresi en az 48 saattir. Isıl işlem uygulamanın bir diğer nedeni de ürün içerisindeki zararlı mikroorganizmaların öldürülmesidir. Isıl işlem görmüş sucuğun et protein oranı en az %14, yağ oranı en çok %40, nem oranı en çok %50, pH en çok 5,6 olmalıdır (Gökmen 2010).

2.2.3 Sucuğun Kimyasal ve Mikrobiyal Özellikleri

Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği'nde (2019), fermente sucuklarda yağ miktarının toplam et proteinine oranı 2,5'in altında, nem miktarının toplam et proteinine oranı 3,6'nın altında ve pH değerinin en çok 5,4 olması gerektiği bildirilmektedir. Ülkemizde üretilen sucukların büyük kısmı teknolojik ve hijyenik kurallara uyulmaksızın üretilmekte ve fermentasyonları doğal bulaşmadan kaynaklanan mikroorganizmalar ile gerçekleşmektedir. Bunun sonucu olarak da piyasada duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri açısından çok farklı sucuk örnekleri ile karşılaşılmaktadır (Erdoğan ve Ergül 2005). Ülkemizde Kimyasal nitelikleri yönünden inceledikleri sucuk örneklerinde nem, tuz, protein ve yağ oranı değerlerini ortalama olarak sırasıyla, % 10,3-30,71; % 2,30-5,23; % 20,6-25,12; % 30,30-49,80 arasında tespit etmişlerdir (Gökmen 2010).

2.2.4 Sucuk Mikroflorası Üzerine Etki Eden Faktörler

Sucuk karışımındaki orijinal mikroflora çok çeşitli olup, mikrofloranın kompozisyonu etin işlenme şekline, çevresel mikroorganizmalara ve üretim aşamasında kullanılan katkı maddeleriyle bağlantılı değişiklik göstermektedir. Fermentasyondan önce sucuklardaki mikrobiyolojik yük 10^5 - 10^6 kob/g olup taze etteki mikroflorayla benzerlik göstermektedir. *Laktobasillus*, *Mikrokoklar*, *Enterobakterler*, *Pseudomonas spp.*, *Achromobacter spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Bacillus spp.*, maya ve küfler bulunmaktadır.

Doğal fermentasyon tamamıyla çiğ etteki laktik asit bakterileri temeline bağlı olarak meydana gelmekte ve fermentasyon doğru şekilde uygulandığında laktik asit bakterileri hızla gelişim göstererek sayıları 2-5 gün sonunda 10^7 - 10^9 kob/g'a ulaşmakta ve kuruma periyodu boyunca sabit kalmaktadır.

Sucuklardaki pH değerlerinin azalması sonucunda, 2-3 gün içinde *Pseudomonas*'lar ve diğer asite duyarlı Gram(-) bakteriler ölür ve *Salmonella* gibi aside toleransı yüksek türler ise daha uzun süreler canlılık aktivitelerini sürdürebilirler. Laktik asit fermentasyonun başlaması gecikirse pH değerleri yavaş bir şekilde düşer ve *S. aureus*'un gelişimini ve *Enterotoksin* oluşumunu tetikler ve diğer istenmeyen mikroorganizmaların da gelişme göstermesiyle zayıf bir lezzet oluşur.

Fakültatif homofermentatif *Lactobaciller* doğal sucuk fermentasyonunda baskın olanlar laktik asit bakterileridir. 20-25°C'lerde fermente olan sucuklarda *Lb. sakei* ve *Lb. curvatus* baskın florayı oluştururken, *Lb. plantarum* ise daha yüksek sıcaklıklarda fermente edilen ürünlerde rastlanır. *Leuconostoc* sayısının fazla olması ürünün kalitesindeki düşüklüğü gösterir. *Pediococcus* (*P. damnosus*, *P. acidilactici* ve *P. pentasaceus*) da genelde *Lactobacillus*'dan (*Lb*) sonra önemli miktarda bulunan bakterilerendir. Sucuk mikroflorası içinde H_2O_2 üreten *Lb. curvatus* gibi istenmeyen türler de önemli miktarlarda bulunabilmektedir.

Fermentasyon aşamasında *Micrococcaceae*' da çok önemlidir ve seviyeleri $10^6 - 10^7$ kob/g'a yükselebilir. Bu familyanın üyeleri (*Staphylococcuslar* ve *Micrococcuslar*) aside duyarlı oldukları için kuruma esnasında sayıca azalmaktadırlar. Doğal fermente sucuklarda *S. xylosus* ve *S. carnosus* türleri baskın şekilde bulunmakla beraber, *Micrococcus varians*, *S. saprophyticus*, *S. simulans* ve *S. scivri* az sayıda izole edilirler.

Fermentasyon süresince küf ve mayaların sayısı 10^6 ile 10^7 kob/g'a yükselir. Doğal fermente etlerde *Debaryomyces hansenii* oldukça sık izole edilmesine rağmen, *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Rhodotorula* ve *Trichosporon*'a da rastlanabilmektedir

Fermentasyon sürecinde Enterbactericeae sayısındaki artış çok azdır ve $10^2 - 10^5$ kob/g sayıda yükselir ve kuruma sırasında fark edilebilecek şekilde azalır. Genel olarak Gram(-) bakterilerin sayısı, olgunlaşma sonunda önemsiz bir miktarı (10^3 kob/g'dan az) iner. *Salmonella* spp. gibi patojen bakterilerin gelişmesi, başlangıç aşamasında formülasyona ilave edilen nitrit'in ve sonrasında da su aktivitesi (a_w) ve pH'nın azalmasıyla engellenebilmektedir. *Listeria monocytogenes*'in düşük pH, rekabetçi flora ve antimikrobiyal bileşiklerin birikmesinin sonucunda gelişmesi engellenmektedir.

Yeterli fermentasyon ile *Staphylococcus aureus*'un toksin üretmesi ve gelişmesi de engellenir. *Clostridium botulinum* ve *Clostridium perfringens* üremesi nitrit, tuz ve düşük pH gibi seçici faktörler sayesinde engellenmektedir (Şanes 2006).

2.2.5 Sucuğun Küfler Tarafından Bozulmasına Etki Eden Faktörler

2.2.5.1 Su Aktivitesi (a_w)

Su aktivitesi (a_w) fizikokimyasal bir nitelikdir ve gıda teknolojisinde önemli ve ana bir parametredir. Nemden farklı şekilde, su aktivitesi gıda kalitesinin kimyasal ve mikrobiyolojik kararlılığını da belirler. Termodinamik anlamda bir gıdanın bileşimindeki

suyun buhar basıncının, eşdeğer sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına olan oranı olarak ifade edilen a_w 0-1 arasında değişen bir değerdir.

Gıdalar içerdikleri nem açısından; yüksek (a_w 0,9-1), orta (a_w 0,6-0,9) ve düşük ($a_w < 0,6$) şeklinde sınıflandırılabilirler. Küfler düşük a_w 'nde gelişme gösterebilen mikroorganizmalardır. Kserofilik küfler ise 0.85 a_w altında gelişen küflerdir (Dönderici 2005).

2.2.5.2 pH

Yüksek su aktivitesine sahip gıdaların bozulmasına bakteri ve küfler etkili olurken, buradaki esas belirleyici olan ortamdaki pH'dır. Bakteri florası nötr pH civarında rahat gelişirken, ortamdaki pH'ın 5'in altına inmesi bakteri gelişimini sınırlandırmaktadır. Çoğu küf türleri pH değerindeki değişiklikten çok az etkilenmektedir. Küfler; pH 3.0-8.0 arası faaliyetlerini sürdürebilmektedirler.

Küfler için en az gelişme pH aralığı 1.5-3.5, optimum pH 4.5-6.8, maksimum pH 9.0-11.0 olarak belirtilmiştir (Dönderici 2005).

2.2.5.3 Tuz

Sucuklara %2-4 oranında tuz ilavesi, sucuk hamurunun su aktivitesini (a_w) düşürmektedir. Bu da istenilmeyen mikroorganizmaların üremesini önlemekte ve ürün için yararlı bazı bakterilerin gelişimini kolaylaştırmaktadır.

Ayrıca kürlleme maddesi olarak tuz ile beraber kullanılan nitrat ve nitritin fermente sucuklardaki işlevleri, renk oluşumu, ransiditenin önlenmesi ve ortamda bulunması istenmeyen mikrofloranın gelişim ve fonksiyonlarının engellenmesi şeklinde sıralanmaktadır (Dönderici 2005).

2.2.5.4 Yağ

Karışımındaki yağ miktarı, son ürünün kıvamına önemli derecede etkili olur. Ayrıca farklı yağ oranı, olgunlaşma sırasında pH düşüş seyrine ve a_w değeri seyrine de etki etmektedir. Organizmada bulunan lipidlerin çoğunluğu, uzun zincirli yağ asitleri ile gliserol esterlerinin meydana getirdiği trigliseridler şeklindedir. Büyükbaş ve küçükbaş kasaplık hayvan vücudundaki yağ asitlerince doymuş yağ asitlerinin oranı, doymamış yağ asitlerinin oranından daha fazladır (Dönderici 2005).

2.2.5.5 Şeker

Sucuk formülasyonuna katılan şeker, laktik asit bakterilerinin çoğalıp pH' yı düşürmesine, proteinlerin katı halden jel hale dönüşerek, ürünün dilimlenebilir, kesilebilir özellik kazanmasına, üründe renk oluşumuna ve rengin kalıcılığına neden olur. Şeker, eklenen fazla tuz sebebiyle meydana gelen tadı ve nitrit ile kürlenmiş ürünlerde meydana gelen ekşi tadı yumuşatmaktadır (Dönderici 2005).

2.2.5.6 Nitrat ve Nitrit

Et ürünleri için kullanılan başlıca katkı maddelerinde olan nitrat ve nitrit en yaygın şekilde sodyum nitrat ve sodyum nitrit formunda kullanılır. Nitrat ve nitrit kullanımı sayesinde gıda zehirlenmesinin önemli nedenlerinden olan *Clostridium botulinum* 'un üremesi ve toksik metabolitler üretmesi engellenir. Ürünün kendine has tipik tat ve lezzet oluşumunu sağlarken, diğer bazı mikroorganizma türlerini de inaktive eder.

Sadece tuzlama yönteminden istifade edilerek, ete rengini veren myoglobinin oksidasyona uğramaksızın saklanması mümkün değildir. Myoglobin veya oksimiyoglobin kolaylıkla oksitlenerek metmyoglobine dönüşmektedir.

Kürleme yöntemi, renk stabilizörü maddeler olarak adlandırılan nitrat veya nitritlerin potasyum veya sodyum tuzlarını kullanarak et renginin kalıcı et rengine dönüştürülmesine ilişkin işlemidir. Kürleme işleminde rengin oluşumu ve rengin kalıcılığı ana amaçtır.

Renk oluşumu, ete rengini veren myoglobinin katılan kürleme maddeleri ile nitrosomyoglobine dönüşmesidir. Renk kalıcılığı ise, renk oluşumunun etteki tüm renk pigmentlerini kapsaması ve rengin ürünün raf ömrü süresince bozulmadan devam etmesidir.

Fermente et ürünlerinin yavaş şekilde olgunlaştırılması durumunda, aside duyarlı bu bakteriler (*Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*) daha uygun gelişme olanağına sahip olmaktadır. Çünkü pH'ın düşmesi, düşük miktarda şeker ilavesinde ve düşük olgunlaşma sıcaklığında daha yavaş bir seyir göstermekte ve buna bağlı olarak nitrat ilavesi aside duyarlı nitratı azaltan bu bakterilerin üremesini teşvik etmektedir.

Nitrat ilave edilerek üretilmiş sucuklarda pH değerindeki çok ani düşme, nitratı indirgeyen mikroorganizmaların aktivitelerini inhibe etmekte ve böylece renk oluşumunda hatalar meydana gelmektedir. pH değerinin ani düşmesinde, yüksek şeker oranı ve yüksek olgunlaşma sıcaklığı önemli ölçüde etkin olmaktadır. Bu nedenle hızlı bir şekilde olgunlaştırılan sucuklar için nitrat kullanımı uygun görülmemektedir.

Nitrat ve nitrit, et ve et ürünleri için vazgeçilmez katkı maddeleridir. Ancak standart miktardan daha yüksek oranlarda ilave edildiklerinde ortaya çıkması muhtemel zararlı etkilerinden korunmak için bazı ülkelerde (örneğin Norveç) nitrat ve nitrit kullanımı tamamıyla yasaklanmıştır. Diğer ülkelerde de kullanımına belli bir miktarda olmak kaydı izin verilmiştir. Et ürünlerinde kalıntı nitrit miktarı Avrupa Topluluğu Standartları'nda 15 ppm, Codex Alimentarius'ta da 30 ppm'den fazla olmamalıdır. Ülkemizde Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde; sodyum nitrat ve potasyum nitratın maksimum 150 ppm

kullanımına, fermente sucuk ve pastırma hariç izin verilmiştir. Potasyum nitrit ve sodyum nitritin ısıtıl işlem görmemiş işlenmiş etlerde üretim sırasında maksimum 150 ppm kullanımına izin verilmiştir (Dönderici 2005).

2.2.5.7 Baharatlar ve Askorbik Asit

Kullanılan baharatların içeriklerindeki antimikrobiyal maddeler, eterik yağlar ve aromatik bileşiklerle ürün tadında, dayanıklılığında, renginde ve sindirimi üzerinde etkili olmaktadır. Ancak sağlıksız koşullardaki üretim, uygunsuz koşullarda depolanma sebebiyle de aynı zamanda önemli kirlilik kaynaklarından. Bakteri, küf ve mayaları içeren baharatlar katıldıkları et ürünündeki mikrobiyal yükü artırmakta ve bozulmaları hızlandırmaktadır.

Askorbik asit ve tuzları da ortamdaki pH'ı düşürmekte, nitritin nitrozoksite kadar parçalanmasına neden olmakta, antioksidan etkisiyle de renkte kalıcılığı desteklemektedir (Dönderici 2005).

2.2.5.8 Starter Kültürler

Bakteri starter kültürleri, fermente et ürünlerinde baskın olması istenen mikroorganizma veya mikroorganizmaları belirli sayılarda içeren ve üretimin başlangıç aşamasında sucuk hamuruna katılan saf kültürlerdir. Hamura katılan starter kültür, olgunlaşma sürecinin kısılması, renk gelişiminin hızlanması, tat ve kokunun oluşarak artması, ideal dilimlenebilirlik, mikrobiyal güvenilirliğin sağlanması ve ekonomik verimliliğin artması amaçlarıyla kullanılmaktadır.

Fermente sucuklarda istenilen kıvam, lezzet, aroma ve rengin şekillenmesi olgunlaşma sürecinde meydana gelen sucuk hamurundaki spontan mikroorganizmaların, enzimatik ve biyokimyasal reaksiyonlarına bağlıdır. Fermente sucuğun olgunlaşması ve buna bağlı

olarak kalite özelliklerinin gelişmesi için en önemli faktör mikrobiyal aktivitelerdir. Olgunlaşmada Laktobasiller, Pediokoklar, Mikrokoklar ve Stafilokoklar etkin rol almaktadır. Fermente sucuklarda istenilen kalite standartlarının oluşması, olgunlaşma sürecinde rol alan bu bakteri gruplarının florada bulunma oranları ve oluşturdıkları etkilerle yakından ilgilidir.

Fermente sucukların duysal kaliteleri, olgunlaşma sırasında et proteinlerinde oluşan proteolitik değişikliklere bağlı olarak şekillenir. Proteinlerin büyük kısmı mikrobiyal proteazlarla hidrolize olurlar. Hidroliz sonucu oluşan suda çözünebilir serbest amino asitler, peptidler, nükleotidler ve nükleosidler gibi azotlu bileşiklerin miktarında artış olmaktadır.

Bu komponentlerin artışlarıyla orantılı olarak da sucuklar hoş giden lezzet ve aromaya sahip olurlar.

Fermente sucukların kendine özgü nitelikleri kazanması, mikroorganizmaların faaliyeti sonucu olmaktadır. Bu mikroorganizmalar ürüne hammaddeden ya da üretim esnasında kullanılan alet ve ekipmandan kontaminasyonlarla veya mikrobiyal starter kültürlerin sucuklara katılması yoluyla girmektedir. Starter kültürler, belirli sayıda canlı mikroorganizmaların tek veya karışık kültürlerini taze, donmuş veya liyofilize formda içeren, fermente gıda ürünlerinin (Fermente et ve süt ürünleri, meşrubat, bira vb) üretiminde kullanılan, enzimatik özellikleri sayesinde fermentasyon olaylarını hızlandıran ve arzu edilen nitelikte ürünlerin elde edilmesine olanak sağlayan mikroorganizmalardır. Koruyucu kültürler gıda kaynaklı zehirlenmeye neden olan, arzu edilmeyen mikroorganizmaların üremesini engelleyerek mikrobiyal güvenliği sağlayan kültürlerdir.

Fermente et ürünlerinde starter kültürlerin biyolojik aktivitesi, aromanın oluşması, rengin gelişimi ve ürünün kıvam gibi arzu edilen değişikliklere neden olur ve ürüne özgü karakteri belirler. Starter kültürler, sucuklarda fermentasyon sürecini kontrol etmek, olgunlaşma

süresini kısaltmak, standart tip ve istenilen düzeyde kalite niteliklerine sahip fermente sucuk üretmek amacıyla kullanılmaktadır.

Fermente sucuk üretiminde kullanılacak starter kültürlerin, sucuğun doğal florasında bulunan ve olgunlaşmada rol oynayan mikroorganizmalardan seçilmeleri gereklidir. Starter olarak kullanılacak kültürler sağlık açısından güvenli olmalarının yanı sıra kolay kullanılabilme özelliğini taşımalıdır. Fermente sucuk üretiminde kullanılan starter kültürler üründe renk, aroma ve kıvam oluşumunu sağlarlar, koruyucu etki gösterirler, üretim süresini kısaltırlar ve standart ürün üretimini sağlarlar.

Fermente sucuk üretiminde hatalı üretim rizikosunu azaltmak, arzu edilen kalite niteliklerini elde etmek ve üretimde stabiliteyi sağlamak için, ürün tipine göre seçilmiş starter kültürler kullanılmaktadır. Fermente sucuklarda starter kültür olarak katalaz pozitif koklar (örn., *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*, *Micrococcus varians*), küfler (örn., *Penicillium nalgiovense*) ve mayalar (örn., *Debaryomyces hanseii*) kullanılabilmektedir (Dönderici 2005).

2.3 Küfler

Doğada havada, toprakta, suda ve organik maddelerin üzerinde yaygın şekilde bulunurlar. Küfler miselyum oluşturan çok hücreli funguslar olarak tanımlanırlar. Küf hücreleri ardı ardına dizilerek hifleri, farklı şekillerde dallanarak ve bir araya toplanarak miselyumu oluştururlar. Küfler eşeyli ve eşeysiz olmak üzere iki şekilde ürerler.

Küfler, renksiz hücre yapısına sahip, vejetatif, canlılardır. Ancak üreme organı olarak kullandıkları sporlar gelişme ortamı içindeki koşullara, cins ve türe bağlı olarak değişken renklere sahip olurlar. Küfler, gelişme ortamında hücre veya hif sayısının artması ile çevreye yayılırlar ve yüzeyde pamuk benzeri yumuşaklaşan topluluklar oluştururlar.

Gelişmeleri ile çoğalma etkinlikleri ilerleyerek bir kese içinde veya doğrudan doğruya açık ortamda sporların oluşumu gözlenir. Bu sporlar oluşumlarının ilk aşamasında renksizdirler. Küfler tanımlanırken ve birbirinden ayrılırken genelde eşeysiz spor ve buna ilişkin yapılardan faydalanılır.

Küflerin gelişmesini önleyen başlıca faktör, bulaştıkları yer ve ortamdaki su içeriğidir. Sentezledikleri enzimlerle aşırı kompleks yapıdaki organik maddeleri bileşenlerine ayırırlar ve bunları besin maddeleri olarak kullanırlar. Küfler, beslenmek amacıyla gerçekleştirdikleri metabolik aktiviteler esnasında çok fazla sayıda ve türde maddeler oluşturmaktadırlar. Küflerin meydana getirdiği birincil metabolitler, alkoller, organik asitler, enzimler vb. sayılırken, ikincil metabolitler de mikotoksinlerdir (Williams and Wilkins, 1995).

2.3.1 Taksonomi ve Küflerin Tanımlanması

2.3.1.1 Penicillium

Penicillium sıkça yeşilimsi kolonileri ve penicilli olarak bilinen fırça benzeri kümelerdeki phialidleri destekleyen dallanma veya basit konidioforlarıyla ayırt edilir. Uzun, sivri apikal uzantıları olmayan phialidleri ile Paecilomyces'den de kolaylıkla ayırt edilebilir. Penicilium, scopulariopsis'in aksine, conidia kesik bir tabana sahip değildir.

*P. marneffe*i kolonideki kırmızı veya sarı pigmentli steril hiphaların varlığından kaynaklanan, genellikle kahverengimsi veya kırmızı bir renk tonu olan tüylü gri-yeşil koloniler üretir. Koloniler, Sabouraud Dextrose Agar üzerinde 37 °C'de inkübe edildiklerinde, karakteristik olarak bu pigmentasyonu kaybederler ve füzyonla çoğalan maya benzeri hücrelere dönüşürler. *P. marneffe*i'ye bağlı enfeksiyon teşhisi, lökositlerin iç kısımlarında fisyon ile çoğalan hücrelerin histopatolojik görüntüsü ile anlaşılır.

Penicillium, ılıman iklim bölgelerinde baskın olan türdür. *Penicillium*, izole edilen en yaygın mantar türleri arasında yer alır. Yaklaşık 150 tanınmış türden bazıları, mikotoksin üretebilecekleri gıdaların bozulmasında sıkça yer almaktadır (Williams and Wilkins, 1995).

Penicillium aurantiogriseum Czapek Agar ve CYA'da 25°C de griden koyu yeşil maviye dönen konidialar oluşturmaktadır. Kolonilerin tersi besiyerinde turuncu kahve renk oluşturmaktadır. MEA agarda ise konidialar mavi yeşil renktedir ve kolonilerin tersi sarı renktedir.

P. aurantiogriseum'un minimum gelişme sıcaklığı -2°C, optimum 30°C'dir. Lipolitik aktivitesi çok yüksek olup minimum gelişebileceği su aktivitesi 0.81'dir. Kanatlılarda ve tavşan yemlerinde çok karşılaşılan bir küf türüdür.

Ciegler ve Kurtzman (1970) de yaptıkları bir araştırmada *P.aurantiogriseum* ' un penicilic acid birikiminin 1-10°C arası fazla olduğunu gözlemleyerek bu durumun gıdalarda bozulmaya etken olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada fermente sucukların duyu kalitesini arttırmak için *P.aurantiogriseum* 'un toksijenik olmayan ve lipolitik, proteolitik aktiviteye sahip olan suşları kullanılmış ve olumlu sonuç alınmıştır.

Penicillium solitum Czapek Agar ve CYA' da 25°C de koyu yeşilden mavimsi yeşile doğru dönüşen koloniler oluşturmaktadır. Kolonilerin tersi kahverengi merkezli krem sarı renktedir. Peynir ve et ürünlerine kontaminasyon sonucu bulaşmaktadır. Günümüze kadar yapılan hiçbir araştırmada *P.solitum*'a ait hiçbir mikotoksin saptanamamıştır. Norveç'e özgü kürlenmiş et ürünlerinde küf mikroflorasında %13 *P.solitum* tespit edilmiş ve bu türe ait hiçbir suşta toksik madde tespit edilmemiştir.

Penicillium commune genellikle peynirlerde görülen bozulma etmeni olan *Penicillium* türleri arasında bulunur. Optimum gelişmesi 25°C sıcaklıkta olur.

Maksimum 35°C sıcaklıkta gelişebilir. %80 CO₂, % 20 O₂ koşulları altında gelişimi yavaşlamaktadır.

P. commune kolonileri 25 °C’de 7 gün içinde 2,5-3 cm çapında gelişme göstermektedir. Gri yeşil ve grimsi turkuaz renkte konidialar oluşturur. Önemli toksik metabolitleri cyclopiazonic acid, rugulovasine A ve B’dir. Daha çok peynir ve et ürünleri üzerinde kontaminant olarak bulunmaktadır. Özel fermente İspanyol sucukları (Chorizo de Cantimpalos) üzerinde yapılan bir araştırmada *P.commune*’ün cyclopiazonic acid ürettiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada İspanyol sucuklarının üzerinden alınan örneklerden 54 küf izole edilmiştir. Bu izolatların 18 tanesi *P. commune* olarak tanımlanmıştır.

Penicillium nalgiovense 25°C de Czapek agar da 2,5-3 cm koloniler oluşturmaktadır. Kolonilerin tersinin renkleri genelde sarıdır. Oluşturduğu en önemli toksik metaboliti penicillin’dir. Çoğunlukla peynir ve salam sosis gibi et ürünlerinden izole edilir. Ayrıca et ürünlerinde fermentasyonu arttırıcı ve geliştirici starter kültür olarak da kullanılmaktadır.

P. nalgiovense üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda, bu tür *penicillium*’un fermente et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

İspanyol fermente sucukları üzerinde yapılan bir araştırmada *P.nalgiovense*’ in 10 °C’ de 0.86 a_w değerinde gelişme gösterdiği görülmüştür.

Kürlenmiş Norveç sucuklarından alınan küf florasında baskın olan bu *Penicillium* türünün penicillin ürettiği anlaşılmış ve allerjik tüketiciler için risk teşkil edebileceği öngörülmüştür.

Mintzlaff ve Leistner (1972)'in yılında yaptıkları araştırmalar sonunda *P.nalgiovense* 'Edelschimmel Kulmbach' ticari ismiyle piyasaya sürülmüş ve et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmaya başlanmıştır (Sunesen 2003). *Penicillium nalgiovense* Yunan sucuklarında çok bilinen mikotoksik olan "Penicillin"i üretir ve toksik etkilidir (Turhan 2010).

2.3.1.2 Aspergillus

Aspergillus lar mezofilik karakterlidirler, 6-8 °C den 50-60 °C' ye kadar gelişim gösterebilirler. Optimum gelişmeleri 35-38 °C sıcaklıkta olur. 10-13 °C lerden daha düşük ve 41-42 °C'den daha yüksek sıcaklıklarda aflatoksin oluşumu sınırlanır. En yüksek toksin oluşumu ise; 25-30 °C sıcaklıkta meydana gelir.

Aspergillus küf türü sucuk dış yüzeyi üzerine yerleşerek sucuk yüzeyini önce ıslak ve yapışkan bir hale getirir. Sonra beyaz-gri renkten, yeşile doğru giden bir renk değişimi izlenir. Sucuk yüzeyinde ve iç tabakalarda yer yer boşluklar meydana gelir. Boşluklar sucuğun iç katmanlarına doğru ilerlemişse, böyle sucuklar derhal imha edilmelidir. Sucuklar soğuk depolarda bırakılmamalıdır, en uygun ortam serin fakat havası kuru bir saklama ortamıdır. İnsanlar, mikotoksin üreten *Aspergillus* türleriyle kontamine ve toksite olmuş çeşitli gıdaları tüketmeleri sonucu, sağlık yönünden olumsuz yönde etkilenebilmektedirler (Tunail 2000).

2.3.1.3 Mucor

Mucor toprakta, bitkilerde, gübrede, çürüyen meyvelerde, sebzelerde ve mutfak ve kilerlerde depolanmış ve işlenmiş gıdaların ortak bir mikrobiyal bozulma nedeni olan bir küf türüdür. Dünya çapında tarif edilen yaklaşık 50 tür vardır ve çoğu nemli yapı malzemelerine zarar verebilir ve maruz kalan insanlarda alerjiyi tetikleyebilir.

Yüksek sıcaklıklarda (termotolerant) yetişebilen *Mucor* türleri insanda enfeksiyonlara neden olabilir. *Mucor* türlerinin çoğu, 37 °C' ye kadar sıcak ortamlarda yetişememeleri nedeniyle insanları ve sıcakkanlı hayvanları etkileyememektedir.

Mucor indicus gibi termotolerant türler bazen zigomikoz olarak bilinen enfeksiyonlara neden olurlar. Zigomikoz, mukoza zarlarındaki enfeksiyonları, burun geçişlerini ve sinüsleri, gözleri, akciğerleri, cildi ve beyni, böbrek ve akciğer enfeksiyonları ve septik artriti içerir.

Dişabet, yoğun yanıklar, AIDS ile ilişkili immünosüpresyon semptomları ve diğer rahatsızlıklar veya intravenöz ilaç kullananlar, *Mucor* enfeksiyonlarına en yakın görünmektedir.

Mucor cinsi birkaç tür içerir. En yaygın olanları *Mucor amphibiorum*, *M. circinelloides*, *M. hiemalis*, *M. indicus*, *M. racemosus* ve *M. ramosissimus*'tur.

Birçok *Mucor* türlerinin yaygın oluşumunu ve hatırı sayılır bir ekonomik öneme sahiptir. *M. circinelloides* potansiyel bir karoten ve lipid kaynağıdır. Çünkü misel içerisinde bu bileşikler yüksek seviyelerini biriktirir, biyoreaktörlerde su altında kalan yığın ekimi sırasında iyi bir biyokütle üretimi vardır, çok çeşitli karbon kaynakları kullanabilmektedir. Günümüzde, *M. circinelloides* lipidleri özel bir ilgi kazanmıştır, çünkü *Mucor* biyokütlelerinin biyodizel üretimi için bir hammadde olarak bitkisel yağlara alternatif olabileceğini düşündürmektedir (İnt. Kyn.1).

2.3.1.4 Rhizopus

Rhizopus, *Rhizopodaceae* familyasındaki (eski adı *Mucoraceae*) familyasındaki yaklaşık 10 tür filamentli mantar türünün yaygın bir cinsidir. Çeşitli türleri *Rhizopus stolonifer* dahil bitki ve hayvanlardaki hastalıklardan sorumludur.

Rhizopus türlerinin çoğunluğu saprofittir (ayrıştırıcı) ve bazıları parazitik veya patojenik olsalar da, çeşitli ölü organik maddelerle beslenirler.

Rhizopus mantarlar vücut tarafından karakterize edilir ve sonunda miselleri üç hif türünden oluşur stolons, rhizoids ve genellikle, dallanmamış bir sporangioforlarla kendini gösterirler. Sporangioforların uçlarındaki siyah sporangia yuvarlanır ve aseksüel üreme için çok sayıda nonmotile ve çok çekirdekli spor üretir. Rhizopus iki uyumlu ve fizyolojik açıdan farklı misel bulunduğunda üreyebilir.

Hızla büyüyen koloniler, spor ürettiklerinden beyazdan siyaha doğru geçiş yapar ve dokudaki pamuk şekere (şeker ipi veya peri ipi de denir) benzer (İnt. Kyn.2).

2.3.1.5 Botrytis cinerea

Bazı ekili mahsuller ve birçok yabancı bitki de dahil olmak üzere 400'den fazla konağı enfekte eden spesifik olmayan bir patojendir *Botrytis cinerea* yani “Gri küf” hızla gelişebilir ve hastalık tarlalarda, seralarda ve hasat sonrasında tahrip edici olabilir. Kayıplar üretim boyunca, hasatta, nakliye sırasında, satış sırasında ve son satıştan sonra şiddetlenebilir. Patojen aynı zamanda nekrotik, yaşlanmış veya ölü doku üzerinde saprofit olarak da yaşayabilir. Tek hücreli, non-stat, yumurta şeklinde (oval veya küresel) gri renkte, 8.12 x 11.74 µm (değişken) boyutlarındadır. Bitkinin çiçekleri ve salkımına dair semptomlar çiçeğin yanmasından tam bir çürümeye ve düşmeye kadar değişir.

Meyvelerde, belirtiler kaliksinin dibinde yumuşak bir çürümeye dönüşen küçük bir yuvarlak lezyonla başlar. Meyveler, hastalığın karakteristiği olan bulanık gri spor kütleleri ile kaplanır. Yaşlanmış yapraklar ve gövdeler de enfekte olabilir ve suya batırılmış kahverengimsi gri yumuşak bir çürüklük oluşturur. Enfekte olan yapraklar ve saplar, yeni çiçekler ve meyveler için bir inokulum kaynağı olarak işlev görür. Sönümleme, yaprak lekeleri ve yumrulaşma, büzülme, ve kök çürüklüğü gözlenen diğer semptomlardır (İnt. Kyn.3).

2.3.1.6 Byssosclamyces fulva

Byssosclamyces fulva (Familiya Trichocomaceae), toprakta orijinli olarak tanımlanan bir saprofit mantardır. Isıl işlem görmüş bazı konserve yiyeceklerin bozulmasında etkilidir.

Isıya son derece dirençli ve 85 °C'e. kadar yüksek ısılarda üremesine devam edebilen bir mantardır.

Paketlenmiş besinler, konserve meyveler veya paketlenmiş meyve sularının pektinlerini parçalayabilir. Meyve pektinini parçalayabilen pektinolitik enzimler serbest bırakılarak bozulmaya neden olur.

Ayrıca, metabolizmalarında karbondioksit (CO₂) üreterek, şişkinliğe neden olur. Bu mantarların ana kaynağı topraktır. Bu nedenle meyvelerin toprakla teması veya tozuyla daha fazla temas etmesi, onlarla kirlenmeye daha yatkındır.

Bu nedenle, alınma veya taşıma sırasında meyvelerin toprağa veya toza temas etmemesi, meyve yıkaması veya bu mantarları uzaklaştırmak için meyve suyunun filtrasyonu yapılması tavsiye edilir.

Kutuların hazırlanması sırasında sıcaklığın artırılması tavsiye edilmez, çünkü paketlenmiş ürünün kalitesi düşmüştür, bu nedenle toprak veya tozdan kaynaklanan kirlilik kontrolüne öncelik verilmelidir (İnt. Kyn.4).

2.3.1.7 Cladoporpariu cladoporoides

Cladosporium cladoporoides, hem dış mekanda hem de iç mekanda çok çeşitli malzemelerde dünya çapında ortaya çıkan koyu renk pigmentli bir mantardır. Sporları mevsimsel alerjik hastalıklarda etkili olan dış mekan havasındaki en yaygın mantarlardan biridir. Bu tür nadiren hayvanlarda istilacı ve hastalığa neden olurken, birçok bitkinin hem yapraklarına hem de meyvelerine saldıran bitki hastalıklarının önemli bir ajanıdır. Bu tür, kolayca parçalanan ve havada sürüklenen narin, dallı zincirlerde aseksüel sporlar üretir. Düşük nem içeriği ve çok düşük sıcaklıklarda gelişebilir. *Cladosporium cladoporoides* aseksüel olarak ürer.

Koloniler zeytin yeşili ile zeytin kahverengidir ve kadife gibi veya toz halinde görünürler. Koloniler dağınıktır ve misel paspaslar oluşturur ve koloninin yüzeyinden nadiren yukarı doğru büyürler.

Cladosporium cladosporioides, bitki patojenlerine yönelik antifungal metabolitler üretir. Bitkilerin çürümesinde veya nekrotik olarak sekonder enfeksiyon olarak ortaya çıkan yaygın bir saprotroftur. Bu mantar, kserofiliktir - düşük su aktiviteli ortamlarda iyi büyür (örn., $a_w = 0.86-0.88$). Bu tür aynı zamanda psikrofiliktir, -10 ile -3 ° C (14 ile 27 ° F) arasındaki sıcaklıklarda gelişebilir. *Cladosporium cladosporioides*, yıl boyunca dış ortamlarda, spor seviyelerinin metre küp başına 2.000 spordan, 50.000 spora kadar ulaşabilmesine olanak veren koşullarda ortaya çıkar.

Bitki materyallerini ve toprağı kolonize eden tüm açık havadaki mantarların en yaygınları arasındadır. Buğday, üzüm, çilek, bezelye ve ıspanak gibi birçok üründe bulunur.

Bu tür ayrıca *Penicillium*, *Aspergillus versicolor* ve *Wallemia sebi* türleri de dahil olmak üzere mantarların büyümesiyle sıkça ilişkili olduğu iç mekan ortamlarında da büyür.

Cladosporium cladosporioides, ıslak yapı malzemeleri, boya, duvar kağıdı ve tekstil ürünlerinin yanı sıra kağıt, kağıt hamuru, freskler, fayanslar, ıslak pencere pervazları ve tuzlu ve şekerli yiyecekler dahil diğer iç yüzeylerde iyi yetişir.

Düşük sıcaklıklara toleransı nedeniyle, *C. cladosporioides* soğutulmuş gıdalarda büyüebilir ve nemli yüzeyleri buzdolabında kolonize edebilir (İnt. Kyn.5).

2.3.1.8 Mucor Racemosus

Mucor racemosus bir mantar bitkisi patojenidir. Bazı insanlar arasında alerjik reaksiyonlara neden olduğu bilinmektedir (örn., Mukorikoz). Mantar yumuşak peynir Camembert'te izole edilmiştir. *M. racemosus* 1886'da keşfedilmiş ve izole edilmiştir. Alternatif tıpta olası bir kanser sebebi olduğu düşünülmektedir.

M. racemosus dünya çapında bir dağılıma sahiptir ve sık sık tüm Avrupa'da ve Amerika'da Alaska'dan Brezilya'ya kadar bulunduğu rapor edilmek istenir. Türler temel olarak bir toprak mantarıdır ancak at gübresi, bitki kalıntıları, tahıllar, sebzeler ve

kuruyemiş gibi başka yerlerde de bulunur. Tropiklerde yüksek irtifalarda bulunur. Genellikle yumuşak meyvelerde, meyve suyunda ve marmelatta görülür.

M. racemosus, Çin ve Vietnam'da yaygın olan fermente edilmiş peynir benzeri bir soya fasulyesi ürünü olan sufu üretiminde kullanılabilir. Soya peyniri (tofu) 'nun mantar fermentasyonu ile elde edilir, bu da tofu veya' pehtze 'ile sonuçlanır. Nihai ürün (sufu), birkaç ay boyunca alkol ve tuz içeren bir tuzlu suda kısıpça olgunlaştırılarak elde edilir (İnt. Kyn.6).

2.3.1.9 Paecilomyces Variotti

Paecilomyces variotii, hava ve yiyeceklerde yaygın olarak ortaya çıkan bir türdür, ancak aynı zamanda birçok insan enfeksiyonu ile de ilişkilidir ve immün sistemi baskılanmış konaklarda fırsatçı mikozların yeni ortaya çıkan etkenleri arasındadır. *Paecilomyces Variotti* hyalohyphomycosis'e neden olabilir ve iki tür *Paecilomyces lilacinus* ve *P. variotii* en sık karşılaşılan organizmalardır.

Paecilomyces variotii, pastörize edilmiş gıdalar, toprak, iç mekan havası ve tahta dahil olmak üzere çeşitli substratlardan izole edilmiş yaygın olarak bulunan bir türdür. Bununla birlikte, birçok insan enfeksiyonu ile de ilişkilidir ve immün sistemi baskılanmış konakçılarda yeni ortaya çıkan fırsatçı mikoz ajanları arasında listelenmiştir. *Paecilomyces variotii* standart agarda hızla büyür ve kadife zeytinli kahverengi koloniler oluşturur (Haurbiken *et al.* 2010).

Termofilik bir küf olduğu ve 50-60 °C'lerde iyi gelişme gösterdiği saptanmıştır. Koloniler düz, yassı, toz halinde ve kadife yapıdadır Koloni rengi başlangıçta beyaz, zamanla sarı, sarı-yeşil, sarı- kahverengi-zeytin kahverengi, pembe veya mor olarak izole edilir.

Paecilomyces variotii'nin mikroskopik görünümünde ise bölmeli şeffaf-renksiz hif, konidiospor, kese, konidia ve klamidosporeler gözlemlenmiştir. Konidiosporlar (3-4 µm

genişliğinde ve 400-600 µm uzunluğunda) dallı bir yapı gösterdiği ve uçlarında keseler taşıdıkları saptanmıştır. (Arıcı 2006).

2.3.1.10 Byssochlamys nivea

Byssochlamys nivea pastörize meyve sularında bulunan bir ısıya oldukça dirençli bir mantardır. Natamisin, mantarların kontaminasyonuna duyarlı yiyeceklerin koruyucusu olarak kullanılabilecek uygun bir doğal antifungaltir. Sıcaklığa dayanıklı küftür. 90 °C. 1,5 dakika hayatta kalabilir. Bozulmaya yol açan en tanınmış küflerdendir. *Byssochlamys* türleri meyvelerin ve silajların bozulmasından sorumludur ve ayrıca bir mikotoksin olan patulini üretir (Puel *et al.* 2004).

2.3.2 Fermente Sucuklara Bağlı Mikrobiyal Tehlikeler

Her ne kadar tarihsel olarak güvenli kabul edilse de, fermente sucukların bazı özellikleri, bu ürünlerdeki bazı patojenlerin hayatta kalmasını ve hatta büyümesini sağlayabilir. Araştırmalar, kuru fermente edilmiş sucuklarda patojenik *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimium*, *Staphylococcus aureus* ve *L. monocytogenes* olduğunu göstermiştir. *Clostridium botulinum* ve *Toxoplasma gondii*'nin de fermente sucuk tüketicileri için potansiyel mikrobiyal riskler taşıdığı bildirilmiştir.

Patojenik mikroorganizmalar, kirli ham maddeler yoluyla veya işleme sırasında veya perakende olarak ekipman veya personelden çapraz kirlenme yoluyla bulaşabilir.

Sucuk işleme aşamasındaki ve patojen özellikler ile ilgili koşullar, patojen büyümesini ve hayatta kalma kabiliyetini ve ayrıca ürün güvenliğini sağlamak için patojenlerin ortadan kaldırılması için uygulanacak stratejileri belirler (Holck and Axelsson *et al.* 2017).

2.3.2.1 Escherichia coli

Patojenik *E. coli*, ağırlıklı olarak et ile ilişkili olan verositotoksijenik *E. coli* ile birlikte çeşitli patotip türdendir. Verositotoksijenik *E. coli* suşları Shiga-toksinler 1 ve / veya 2'yi üretir. Kesim işlemiyle kirlenmiş çiğ et bileşenleri, fermente sucuklarda birincil bir Verositotoksijenik *E. coli* kaynağı olarak kabul edilir. Sığırlar birincil Verositotoksijenik

E. coli rezervuarı olarak kabul edilir, ancak koyun, domuz, keçi ve geyik gibi diğer hayvanlar da bu bakteri için taşıyıcıları olabilir. Her ne kadar fermente sucuk üretiminin ilk aşamalarında patojenik *E. coli* büyümesi meydana gelse de, düşük pH ve and kombinasyonları, bitmiş ürünlerde *E. coli*'nin büyümesi engellenir. Bununla birlikte, nemli ürünlerde kapsamlı patojen sağkalımı bildirilmiştir. Fermente sucuklarda etkin Verositotoksijenik *E. coli* bertaraf etme stratejileri, üreticiler için bir zorluktur.

Serotip suşlarının, diğer serotiplere kıyasla asitlere toleransı arttırdığı ve bunun fermente sucuklar gibi düşük pH gıdalar yoluyla salgınlara neden olma olasılıklarında rol oynayabileceği öne sürülmüştür. Düşük bulaşıcı dozda da olsa *E.coli* enfeksiyonlarının ciddi sonuçlarına ve Verositotoksijenik *E. coli* ile kirlenmiş fermente sucuklar bağlı olarak bildirilen birkaç salgın, Verositotoksijenik *E.coli*'nin fermente sucuklardaki en ciddi güvenlik riski olduğunu göstermiştir (Holck and Axelsson *et al.* 2017).

2.3.2.2 Salmonella

Salmonella, hayvanlara ve insanlara yüksek ekonomik zararı olan önemli zoonotik patojendir. Gıda kaynaklı patojenler olarak iki *Salmonella* tipi, *S. enterica* serotip *Epidermidis* ve *Typhimurium* insan rahatsızlık vakalarında ön sıralardadır.

Serotip *epidermidis*, yumurta ve kümes hayvanları ile ilişkilendirilirken, *typhimurium* domuz ve sığır kökenli etlerle bağlantılıdır. Çoğu Salmonelloz enfeksiyonu kendi kendini sınırlar. Ancak ciddi ve hayatı tehdit eden komplikasyonlar (örn. Sepsis) oluşabilir. Enfekte hayvanlar, fekal kirlenme ve çapraz kirlenme yoluyla ortaya çıkan çevre ve yiyeceklerle geçme olasılığı olan birincil kaynak *Salmonella* kaynağıdır. Kiyılmış et ve kümes hayvanlarından elde edilen et preparatlarından alınan numunelerin % 2.8'i 2010 yılında AB'de *Salmonella* için pozitif olarak test edilmiştir. Çiğ olarak tüketilmesi amaçlanan kiyılmış et ve et preparatları gibi yiyeceklerde, numunelerin % 1.8'i *Salmonella* pozitif çıkmıştır. Eşgüdümlü bir yaklaşım, son on yılda AB'de insanlarda görülen Salmonelloz vakalarında belirgin bir düşüşe yol açmıştır.

Yine de Salmonella, AB'de 2013 yılında bildirilen gıda kaynaklı salgınların en sık nedeni olan etkidir. Salmonella, bulaşmış et bileşenlerinin ortak bir kaynak olduğu fermente sucuk tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan birkaç salgında yer almıştır. Rapor edilen salgınlarda Salmonella bulaşmış domuz etinden üretilen fermente sucukların ağırlıkta olduğu görülmektedir. *Typhimurium*, diğer serovarlar (örneğin, montevideo, goldcoast) da etken salmonella türleridir. Çalışmalar Salmonella'nın *E. coli* L. *Monositogen*'lere nazaran bazı fermente üretim işlem parametrelerine karşı daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Diğer patojenlerin azaltılması ile ilgili olarak, başlangıç kültürlerinin kullanımı, örneğin Salmonellanın azaltılması üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir.

Salmonella azaltmalarında bildirilen farklılıklar, tariflerdeki, işlemlerdeki ve suşlardaki farklılıklar ile etkilenir ve çalışmalar arasındaki doğrudan karşılaştırmalar farklıdır. Daha yüksek bulaşma seviyelerinde, geleneksel işlemlerle tam olarak ortadan kaldırılması zordur (Holck and Axelsson *et al.* 2017).

2.3.2.3 Staphylococcus aureus

S. aureus insanların ciltlerinde ve mukozal zarlarında yaygın olarak bulunur. Tahminler i% 20–30 kalıcı, % 60 oranında da koloni oluşturmak için aralıklarla bulundukları yönündedir. Besi hayvanlarında da bu bakteri bulunur. *S. Aureus*'un, bazı türleri aktivite gösteren bir dizi Stafilokok enterotoksin (SE) üretir. SE'ler, tipik olarak bulaşmış ve *S. aureus*'un gelişim gösterdiği ve toksinler ürettiği yüksek sıcaklıklarda depolanan yiyeceklerin, özellikle et ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle oluşan başlıca gıda zehirlenmesinin bir nedenidir.

Belirtiler, gıdada oluşmuş toksinler nedeniyle hızlı bir şekilde başlar ve ishal veya ishal olmadan mide bulantısı ve şiddetli kusma ile devam eder. Hastalık genellikle 24-48 saat içinde çözülür. Stafilokok toksin (SEA) dünya çapında stafilokokal gıda zehirlenmesinin en yaygın nedenidir. SE'ler, üzerinde bulunan ana histo-uyumluluk kompleksi sınıf II molekülleri ile etkileşime girerek geleneksel antijen tanımayı atlayan bir grup süperjen

toksin grubunun üyesidirler. SE'ler ayrıca bağırsak astarını delip bağışıklık tepkilerini aktive edebilir ve böylece kusmaya neden olur

S. aureus yüksek miktarda tuzu tolere edebileceği ve $a_w = 0.86$ 'a kadar büyüyebileceği için kurutulmuş etlerde bulunması söz konusudur. *S. aureus*, optimum sıcaklık 6 ila 7 °C olan, optimum 37 °C ve pH (4 ila 10) ile geniş bir sıcaklık aralığında büyüyebilir. Bu özellikler *S. aureus*'un çok çeşitli yiyeceklerde yetişmesini sağlar.

S. aureus yüksek tuzu ve düşük pH'ı tolere edebilmesine ve et salgınlarına (jambon, domuz eti ve sosis) maruz kalmasına rağmen, fermente edilmiş sucuklardan kaynaklanan gıda zehirlenmesine dair birkaç olay bildirilmiştir. *S. aureus*, fermente edilmiş sucuklarda sıklıkla bulunur, ancak genellikle hastalığa neden olabilecek enterotoksin miktarları üretmek için çok düşük seviyelerdedir. *S. aureus*, tuzu ve nitriti tolere edebilmesine rağmen, anaerobik koşullar altında, düşük pH ve düşük sıcaklıklarda zayıftır. Sucuklar 2 ila 3 gün boyunca 25 °C'den yüksek olmayan bir ortamda fermente edilirse ve başlangıç *S. aureus* sayısı 10^4 kob / g'nin altındaysa, enterotoksin oluşma riski düşüktür (Holck and Axelsson *et al.* 2017).

2.3.2.4 *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes tarafından kirlenen yiyecekler listeryoza benzeri semptomlardan korunmasız popülasyonlarda yüksek ölüm oranlarına sahip ölümcül hastalıklara kadar değişen enfeksiyonlara neden olabilir. Önceden ısıtılma tabi tutulmadan tüketilen ve 100 hücre / g'den daha yüksek miktar içeren tüketime hazır ürünlerin insan sağlığı için doğrudan bir risk oluşturduğu düşünülmektedir. *L. monocytogenes* doğada her yerde bulunur ve fermente sucuklara bulaşması muhtemelen çiğ etlerle olur. Kirli işleme ekipmanlarının ve ortamların fermente sucuklar için bir *Listeria* kaynağı olarak önemli rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. *L. monocytogenes* yaygın olarak fermente sucuklarda da bulunur ve prevalansı; % 40'a kadar çıkar. Sığır eti prevalansı genellikle % 0-10 arasındadır. Ancak domuz etinde genel olarak daha yüksek prevalans bildirilmiştir.

Bununla birlikte, 1986/1987'de ABD'de Philadelphia'da fermente etle ilgili olası epidemiyolojik olarak ortaya çıkan tek bir salgın olduğu bilinmektedir.

Fermente sucukların *L. Monocytogenes* açısından hangi seviyede güvenli oldukları esas olarak fermentasyon ve kurutma işlemine bağlıdır.

Genel olarak, düşük pH ve düşük *aw* olan ürünlerde seviyeleri azdır. Fermente sucukların kurutulması sırasında *L. monositojenlerinin* azalması, hamur hazırlama ve işleme koşullarına, fermente sucuğun kendi özellikleriyle ilgili tolere ve ortama uyum kabiliyetlerine bağlıdır (Holck and Axelsson *et al.* 2017).

2.3.2.5 Clostridium botulinum

C. botulinum, anaerobik bir spor oluşturan bakteridir. *C. botulinum* sporları toprakta bulunur ve ete, bulaştığı derilerden girebilir. Büyüyen bitkisel hücrelerde botulinum nörotoksinler üretilir ve sporlar çimlenir. Toksinleri mide bulantısı, kusma, halsizlik, baş dönmesi, ağız ve boğazda kuruluk, kas felci, çift görme, solunum krizi yapabilir

Toksinler periferik sinir uçlarına geri dönüşümsüz olarak bağlanır ve nevrotransmitterlerin salınımını bloke eder. Bu da ölüme sebebiyet verebilir. Düşük pH, yüksek NaCl ve düşük kombinasyonu *C. botulinum*'un olgunlaşmış fermente edilmiş sucuklarda büyümemesini kolaylaştırır. Ek olarak, *C. botulinum* ve diğer patojenlerin büyümesini engellemek için sucuk hamuruna nitrat veya nitrit eklenir.

Nitritin *C. botulinum*'un fosforoklastik sistemini etkisizleştirdiği bildirilmiştir. Su aktivitesinin yüksek olduğu durumlarda, laktik asit bakterilerinin pH seviyesini düşürmeden önce, *C. botulinum*'u sucuk üretiminin ilk 2-3 gününde etkisizleştirmek önemlidir.

Fermente sucuklarda nitrit kullanımı, bakteri üremesine destek olmamaktadır, *C. botulinum* sporlarının sayısı genellikle çok düşüktür ve fermente sucukların üretilmeye

başlaması ile birlikte salgınlarının olmaması bu ürünlerden kaynaklanan *C. botulinum* kaynaklı gıda zehirlenmesi riskinin düşük olduğunu göstermektedir (Holck *et al.* 2017).

2.3.2.6 *Toxoplasma gondii*.

T. gondii dünyada yaygın olarak bulunan hücre içi bir parazittir. Geleneksel olarak kedilerin ve kedi kumlarının taşınması ile ilişkilidir. Bununla birlikte, ABD, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, şimdi, toksoplazmozun % 50'sinin gıda kaynaklı olduğunu ve gıda kaynaklı toksoplazmozisin yıllık 327 ölüme neden olduğunu ve ABD'de gıda kaynaklı patojenlerin bir *Salmonella*'dan sonra ölüme neden olan en ciddi faktör olduğunu tahmin etmektedir.

Az pişmiş et ürünlerinin tüketilmesi ana risk faktörü olarak kabul edilmiştir. Sağlıklı yetişkinlerin genellikle hiçbir semptomu yoktur; oysa enfekte olmuş fetüslerde, yenidoğanlarda, immünolojik olarak hassas olan bireylerde ve nakil hastalarında ciddi hastalıklar ortaya çıkabilir. Nitrit ve nitrat, baharatlar, düşük pH ve soğuk hava depolarının *T. gondii* kistlerinin canlılığı üzerinde etkisi yoktur. Kistler 4 saatten daha uzun süre donmaya maruz kalamazlar. Sucuk hamuru için dondurulmuş et kullanılması, enfeksiyon riskini azaltacaktır.

Fermente sucuk üretimi ile ilgili olarak, fermentasyonun süresi *T. gondii*'nin hayatta kalması için kritik öneme sahiptir. Doku kistleri,% 2 kür tuzu varlığında bile 12 saatlik bir tedaviden sonra fermente edilmiş sucuklarda canlı kalır. Deneysel olarak bu paraziti bulunan keçi eti içeren fermente edilmiş sucuklar üretildiğinde, son sucuklarda 12 gün sonra hiçbir kist saptanmamıştır. Bu ve diğer risk değerlendirmeleri, uzun dönemlerde fermentasyonun enfeksiyon riskini azalttığı sonucuna varmaktadır (Holck *et al.* 2017).

2.3.3 Sağlık ve Güvenlik İle İlgili Diğer Mikrobiyolojik Faktörler.

2.3.3.1 Biyojenik Aminler

Biyojenik aminler (BA'lar), örneğin sinir, mide ve bağırsak sistemleri ve kan basıncının düzenlenmesi gibi çeşitli fonksiyonları yerine getirdikleri canlı organizmalarda yaygın olan, uçucu olmayan düşük moleküler ağırlıklı azotlu bileşiklerdir (Collins ve Noerrung *et al.* 2011). İnsanlar, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalardaki normal metabolik aktivitelerin bir sonucu olarak, genellikle ilgili amino asitlerin dekarboksilasyonu yoluyla oluşurlar. BA'lar, çeşitli yiyeceklerde bulunabileceğinden, aşırı miktarda alındığında normal fizyolojik konsantrasyonları bozabileceklerinden ve hastalıklara veya hastalık benzeri rahatsızlıklara neden olabileceklerinden dolayı önemli gıda güvenliği sorunları taşır (Shalaby 1996).

Fermente gıdalar (et, süt ürünleri, bazı sebzeler, buralar ve şaraplar) da yüksek seviyelerde biyojenik aminler oluşabilir. Genel olarak, BA oluşumu potansiyeli, proteinlerin parçalanması, BA'ler gelişimi için amino asitler öncülük ettiğinden ham maddenin protein içeriği ile birlikte BA oluşumu da artar. Balık ve peynir, gıda kaynaklı BA zehirlenmesinde en baştaki ürünlerdir. BA zehirlenmesi, fermente sucuk zehirlenmesi vakalarının ana sebebi olarak tespit edilmemiştir. Ancak ölçümü yapılan bazı BA salgınlarında zehirlenmeye neden olabilecek seviyelere ulaşan toksik madde yoğunluğuna rastlanmıştır (Collins ve Noerrung *et al.* 2011).

Gıda güvenliği ile ilgili fermente sucuklarda bulunan en önemli BA'ler, tiramin, fenilelamin ve histamindir. Hammaddede bulunan kirletici Gram (-) enterobakteriler ve / veya Psödomonaslar fermentasyonun başlamasından önceki en önemli BA üreticileridir. Gıdaların yüksek BA içeriği, hammaddenin işlenmesinde bozulma veya hijyen yetersizliğinin bir göstergesi olarak kabul edilir. Etin hijyenik kalitesi ve sucuk üretim işleminin ilk aşamasındaki hızlı bir pH düşüşü, kirletici maddeler tarafından BA üretiminin engellenmesi ve kontrolü için esastır.

Fermente sucuklarda BA oluşumunu kontrol etmek ve en aza indirmek için çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Şarap veya bitki bazlı yağları et hamuruna spesifik inhibitör ajanları olarak eklemek buna bir örnektir. Bu tür eklemeler başlangıçtaki kirleticiyi azaltır, böylece BA oluşumunu azaltır, ancak aynı zamanda ürünün tadını ve görünümünü de değiştirebilir. BA'ların et hamurundan temizlenmesi için, amin oksidaz aktivitesi olan fermentatif bakteri kullanımı veya gama ışını kullanımı gibi yöntemler de önerilmiştir. Bununla birlikte, bu tür prosedürler, hijyenik yanlış uygulama ve/veya bozulma olaylarını gizleyebileceği için uygun görülmemektedir. Genel olarak fermente sucuklarda BA oluşumunu azaltmanın ve / veya kontrol etmenin tavsiye edilen ve en etkili yolu, aminojenik olmayan başlangıç kültürlerinin kullanılması gibi görünmektedir. Sucuk hamuru hazırlanırken starter kültürün kullanılması, hızlı bir pH düşüşüyle sonuçlanır. Bu sayede kirletici Gram (-) bakterileri ve dolayısıyla işlemin ilk aşamalarında BA oluşumu potansiyeli azaltılmış olur. Fermantasyon sırasında amino olmayan kültürlerin baskınlığı, minimum BA üretimi sağlar. Seçilen starter kültürlerin baskınlığını sağlamak için, otokort başlangıç kültürleri kullanılması önerilmektedir (Holck and Axelsson *et al.* 2017).

2.3.3.2 Mikotoksinler.

Kuru fermente sucukların küfler tarafından yüzey kolonizasyona maruz kalmaları neredeyse kaçınılmazdır. Tütsüleme işlemi küflerin büyümesini de bir dereceye kadar engelleyebilir. Bu önlemlerden biri veya birkaçı, Kuzey Avrupada, özellikle de İskandinavya'da, küf çoğalmasının istenmediği fermente sucuk üretimi geleneğinde kullanılmaktadır.

Bununla birlikte, bahsedildiği gibi, yüzeydeki küf gelişimi bazı ülkelerde birçok ürünün arzu edilen ve karakteristik bir özelliğidir. Fermente edilmiş sucuklarda küflerin yüzey büyümesiyle ilgili bir güvenlik sorunu da mikotoksin üremesidir. Çoğu *Penicillium* türü bir veya daha fazla mikotoksin üretme kabiliyetine sahiptir. En önemlisi okratoksin A (OTA), patulin, sitrinin, siklopiazonik asit ve rokforindir.

Fermente sucuklardan izole edilen küflerin incelenmesinde potansiyel olarak toksijenik *Penicillium* suşları yaygın olarak rastlanmıştır(Pitt and Leistner 1991).

2.3.3.3 Antibiyotik Direnci

Bakterilerde antibiyotiklere karşı artan direnç seviyesi, insan ve hayvan sağlığı için ciddi bir endişe kaynağıdır ve önemli maddi ve sosyal zararlara sebep olmaktadır. Gıdalardaki bakterilerin antibiyotik direnci endişe vericidir. Çünkü bu dirence sahip genlerin oluşumu için rezervuar görevi görmektedir. Belirli bir fermente gıdaki nispi antibiyotiğe dirençli bakteri miktarı düşük olsa bile, mutlak sayı yine de önemli olabilir. Çünkü gıda tüketildiğinde büyük miktarda canlı bakteri vücuda girer. Gıdalardaki bakteriler, gastrointestinal sistemdeki kommensal veya patojenik bakterilere aktarılabilen transfer edilebilen antibiyotik direncini taşıyabilir. Bu nedenle aktarılabilen antibiyotiğe dirençli genlerinin varlığı, starter kültürlerinin seçiminde önemli bir güvenlik kriteri olmalıdır. Enterokoklar genellikle fermente edilmiş sucuklar için starter kültür olarak kullanılmaz, ancak kendiliğinden fermentasyona katılabilir. Enterokok, antibiyotik direnci ile ilgili klinik bulguları nedeniyle ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Antibiyotik direncine aynı zamanda gıda enterokokları arasında da sıklıkla rastlanmaktadır.

Et üretiminin temeli olan hayvancılık faaliyetlerinde antibiyotiklerin yanlış kullanımı yıllarca et ve et ürünleri üretim sistemini etkileyebilir ve bu da mikrobiyal popülasyonda bulunan geniş bir “antibiyotik direnci gen havuzu” oluşmasına yol açarak gıda zincirindeki bakterilere de yayılabilir (Collins *et al.* 2011).

2.4 Fermente Et Ürünlerinde İzole Edilen Küf Türleri

Et ürünlerindeki küf oluşumu Avrupa’nın bazı ülkelerinde arzu edilen bir durum olmasına rağmen, üreticiye verdiği ekonomik zarar ve ürünlerdeki kötü görüntü meydana getirme nedenlerinden dolayı Avrupa’nın kuzey ülkelerinde istenilen bir durum değildir. Sucuklardaki küf ve maya oluşumu sektördeki en önemli sorunlar arasında bulunmaktadır.

Bunun yanında bazı Avrupa'nın ülkelerinde ise, küf ve maya gelişimi üretilen et ürünlerinde aroma ve görüntü oluşumuna sağladığı etkiden dolayı istenilen bir durumdur.

Avrupa'da işlenmiş et ve peynir ürünlerinde küf kullanımı oldukça yaygındır. Özellikle İtalya, İspanya, Fransa, Macaristan, Almanya gibi Avrupa ülkelerinin geleneksel et ürünlerinde kullanılmaktadır.

Örneğin İspanya'nın 'Chorizo de Cantimpalos' adlı özel fermente sucuğun üzerindeki küfler tarafından oluşturulan beyaz tabaka özellikle tercih edilmektedir. Penicillium türlerinin fermente sucukta starter olarak kullanılmasının başlıca nedenleri; (a) Antioksidatif etkisi (yüzey tabakasında rengin korumasını sağlar ve ransiditeye engel olur), (b) Yüzeydeki yapışkanlığın önüne geçer, (c) Karakteristik aroma sağlar, (d) Sucuğa tipik görüntüsünü verir.

Küflerin sucuk üzerinde aroma oluşturma, olgunlaşma sürecini kısaltma gibi olumlu etkileri olsa bile küf gelişimi, küf türlerinin toksik ikincil metabolitleri üretmelerine ortam yaratmaları açısından tercih edilen bir durum olarak görülmemektedir.

İstenmeyen küf türlerinin oluşumu sonunda ortamda meydana gelen penicillin bazı tüketicilerin sağlığı açısından risk teşkil etmektedir. Bunun yanında bazı araştırmacılar ise Penicillium cinsi küflerin diğer istenmeyen mikroorganizmaları öldürücü etkisinden dolayı tercih edilmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir.

Dünyada, Penicillium türlerinin starter kültür olarak kullanılması üzerine yapılmış birçok çalışma vardır. Düşük pH ve yüksek tuz toleransları sayesinde küf gelişimi sucuk üzerinde rahatlıkla görülebilmektedir.

Çoğu çalışmalar sonucunda kseroofilik türler olan Aspergillus, Eurotium, Penicillium sucuklarda en çok karşılaşılan türler olarak görülmüştür. Bu araştırmalar sonucunda et ürünlerinden izole edilen cinslerin çoğunun Penicillium'a ait olduğu görülmüştür.

Örneğin, İtalyan sucuklarında yapılan bir araştırmada alınan izolatların %86'sının *Penicillium*'a ait olduğu bulunmuştur. Yine benzer bir çalışmada salamlardan alınan örneklerden %68'inin, İspanyol sucuklarında yapılan bir araştırmada 54 küf izolatının 38'inin *Penicillium*'a ait olduğu bulunmuştur. Asefa ve ark.,2009)'nin Norveç sucuklarından elde ettiği 264 izolatın %88.3'ünün *Penicillium*'a ait olduğu görülmüştür.

Olgunlaşma ve paketlenme aşamalarında alınan 161 adet Norveç sucuk örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada, 20 türe ait 264 izolat tanımlanmıştır. Bunun %88,3'ü *Penicillium* türüne aittir. Tanımlanan türler arasında %38'i *P.nalgiovense* aittir. Türlerin %13'ünü *P.solitum*, %10'unu *P.commune* oluşturmaktadır.

Ayrıca tanımlanan türler arasında *Cladosporium* %6'lık paya sahiptir. İzole edilen *C.cladosporioides* sadece tütsülenmemiş sucuklarda oluşum göstermiştir. Bu durum tütsü uygulamasının *Cladosporium* üzerindeki inhibe edici etkisi olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu çalışma sonucunda bazı küf türlerinin sucuk üzerinde gelişmesi, sucuk aroma gelişimi üzerinde avantaj sağlamasına rağmen, izolatların büyük kısmının *P.nalgiovense* olmasının ve *P.nalgiovense*'nin potansiyel bir penicillin üreticisi olması nedeniyle allerjik tüketiciler için büyük bir risk taşıdığı sonucuna varılmıştır (Turhan 2010).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

Bu çalışmada materyal olarak kullanılmış olan sucuklar, Afyonkarahisar il genelinde bulunan, aile ve küçük çapta üretim yapan işletmeler ve endüstriyel (sucuk fabrikaları) anlamda üretim yapılan tesislerden temin edilmiştir. Afyonkarahisar’da üretimi yapılan 20 adet yaz florası için 20 adet kış florası için toplamda 40 adet farklı sucuk ile çalışılmıştır.

3.1.1 Numune ve Özellikleri

40 firmadan temin edilen 40 farklı sucuk örneği üzerinde çalışma yapılmıştır. Sucuk örneklerine ait özellikler;

- Yaz ve kış dönemleri için ayrı ayrı 20 adet Fermente sucuk kullanılmıştır.
- Yaz ve kış dönemleri için ayrı ayrı 20 adet Isıl işlem görmüş sucuk kullanılmıştır.
- 40 örnekte doğal kılıf (doğal bağırsak) olarak çalışılmıştır. Suni kılıf çalışılmamasının nedeni Afyonkarahisar’da sucuk üretimi yapan firmalar içerisinde suni kılıf kullanan firma sayısı az olmasından dolayıdır.
- Çalışmada kullanılan numune örneklerinin hepsi taze üründür (2-5 günlük). Depolanmış ürün kullanılmamıştır.
- Sucuk karışımı dana eti olan numune örneği kullanılmıştır

3.1.2 Besiyeri ve Çözeltiler

Bu çalışmada kullanılmış olan besiyerleri ve kullanım amaçları Çizelge 3.1 'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Araştırmada Kullanılan Besiyerleri.

BESİYERİ	MİKROORGANİZMA
Potato Dextrose Agar (PDA)	Maya-küf sayımı
Malt Extract Agar (MEA)	Küf gelişimi
Czapek Dox Agar (CDA)	Küf gelişimi
Rose Bengal (RB)	Maya-küf sayımı
Yeast Extract Agar (YEA)	Maya-Küf sayımı
Czapek Yeast Ekstrakt Agar (CYEA)	Küf gelişimi
Dichloran Glycerol Chloramphenical Agar (DG18)	Küf gelişimi

Çözeltiler

Ringer Çözeltisi: In vitro (canlı hücre dışında) yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde seyreltme çözeltisi olarak kullanılmıştır. 1 tablet 500 mL damıtık suya ilave edilip karıştırılır. Amaca uygun kaplara (tüp, erlen vb.) dağıtılıp, otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilir. Sterilizasyon sonrası 25 °C'da pH'sı 6,9±0,1'dir. Hazırlanmış çözelti berrak ve renksizdir.

3.2 Metot

3.2.1 Besiyeri ve Numunelerin Analize Hazırlanması

3.2.1.1 Besiyerlerin Analize Hazırlanması

Mikroorganizmaların gelişimi için gerekli olan ve gelişim koşullarına sahip olan ortama “besiyeri” denilmektedir. Besiyerinin bileşiminde mikroorganizmaların gelişmesini sağlayacak organik ve inorganik maddeler, gelişim unsurları ve su bulunur. Mikroorganizmalar gelişim özellikleri açısından oldukça farklılık gösterirler.

Bu nedenden dolayı laboratuvarda geliştirilebilmeleri için farklı bileşimlerde ortamların hazırlanması gereklidir. Besiyeri hazırlanmasında kullanılan suyun distile edilmiş yani saf halde olması gerekmektedir. Besiyeri ambalaj üzerinde belirtilen miktarı hazırlanması gereken hacime göre hesaplanıp ve tartımı ve yapılır erlen veya balona aktarılır. Hazırlanacak hacim kadar üzerine saf su ilave edilir ve sterilizasyon işlemine tabi tutulur. Otoklavda sterilizasyon genel olarak 1 atm basınçta 121 °C sıcaklıkta 15 – 20 dakika olarak uygulanır.

Sterilizasyonun amacı besi yerinin hazırlanması esnasında kullanılan camdan üretilmiş araç-gereç, hassas terazi, su, pamuk, vidalı kapak vb.den kaynaklanması muhtemel tüm mikroorganizmaları ortadan kaldırmaktır. Çalışmada 7 farklı besiyeri kullanılmıştır (Özçelik 2011).

3.2.1.2 Numunelerin Analize Hazırlanması

Piyasada temin edilen sucuk numuneleri steril koşullar altında 10 g alınarak, steril stomacher poşetlerine (Lp Italiana Spa-174538) aktarılmıştır. Üzerine 90 ml steril ringer (Merck- 115525) çözeltisinden ilave edilerek stomacher (Stomacher® 400 UK) de 120 sn süre ile orta hızda homojen hale getirilmiştir. Özellikle küf sayımı yapılacak örneklerde homojenizasyon işlemi çok uzun sürmemelidir. Elde edilen bu homojen karışım 10^{-1} dilusyon sayılır. Mikrobiyolojik analiz işlemleri bu 10^{-1} dilusyondan yapılmıştır (Sekin ve Karagözlü 2004).

3.2.2 K f İzolasyonu

Hazırlanan bu 10^{-1} dilusyondan alınan karışım steril pipet ve uçlar yardımıyla 1 ml alınarak daha önceden hazırlanan CYEA (Czapek Yeast Ekstrakt Agar), DG18 (Dichloran glycerol chloramphenical agar), PDA (Potato dextrose agar), YEA (Yeast extract agar), MEA (Malt extract agar), RB (Rose Bengal), CDA (Czapek Dox Agar) besiyerlerine inoküle edilmiştir. Bu işlemten sonra yayma plak yöntemi uygulanmıştır. (Halkman 2005). 9 cm çapındaki petri kaplarına 3 paralelli olarak ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi yapılan petriler 25  C de aerobik koşulda 5-7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Ink basyona petriler olabildiğince az hareket ettirerek ve ters çevrilmeden bırakılır.

Inkübasyon sonucu izole edilen koloniler tanılama aşamasına (identifikasyon) geçilene kadar 4 C'lik buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Kaydedilmiş özelliklere göre izolatların sınıflandırması için, Pitt ve Hockings 2009 (Pitt 2009) birincil referans olarak alınmış, *Alternaria*, *Penicillium* ve *Cladosporium* türleri için ise (Frisvad and Samson 2004; Bensch ve *et al.* 2012 and Woudenberg ve *et al.* 2013) diğ r referanslar olarak yararlanılmıştır (Pitt and Hocking 2004; Halkman 2005).

3.2.3 K f İdentifikasyonu

İzolasyonu tamamlanıp 4  C buzdolabında stoklanan petriler identifikasyon işlemi için açılır. Besiyerlerde gelişen k f kolonilerinden farklı olanların saf kültürleri elde edebilmek için saflaştırma işlemi yapılır. Saflaştırma işleminde oluşan her koloni daha önce hazırlanan Malt Extract Agar (MEA) ve Czapek Dox agar (CDA) besiyerlerine  ze aracılığı ile 3 nokta ekimleri yapılarak geçilmiştir. Geçilen koloniler 25 C'de 5-14 gün arasında petriler ters çevrilmeden ve olabildiğince az hareket ettirerek aerobik koşullarda inkübasyona bırakılır. Gelişmelerini tamamlamış olan k f kolonilerinin tanımlamaları, makroskopik ve mikroskopik özellikleri göz önünde bulundurularak yapılmıştır.

Makroskobik görünümde; koloni görünümü (düz, balmumu şeklinde, kadife, pamuk veya yün yığınları şeklinde görünüm), yayılma alanı, yüzünün basık, göbekli, kümelenmiş, çatlaklı, halkalı, olup olmadığı, örgüsünün tüylü, tozlu ve taneli, deri gibi olup olmadığı, petri kutusunun ön yüzden veya besiyerinin altından rengi incelenerek yapılmıştır.

Mikroskobik görünümde ise, hiflerin yapısı, septumlu olup olmadığı, şekli, uçlarında üreme ile görevli yapıların bulunup bulunmadığı, bulunuyorsa bunların ince yapısı mikroskop yardımıyla incelenmiştir. Küf tanıları (Alexopoulos 1966; Raper and Fennell 1977; Samson and *et al.* 1984; Pitt and Hasenekoğlu 1991) dan yararlanılarak yapılmıştır.

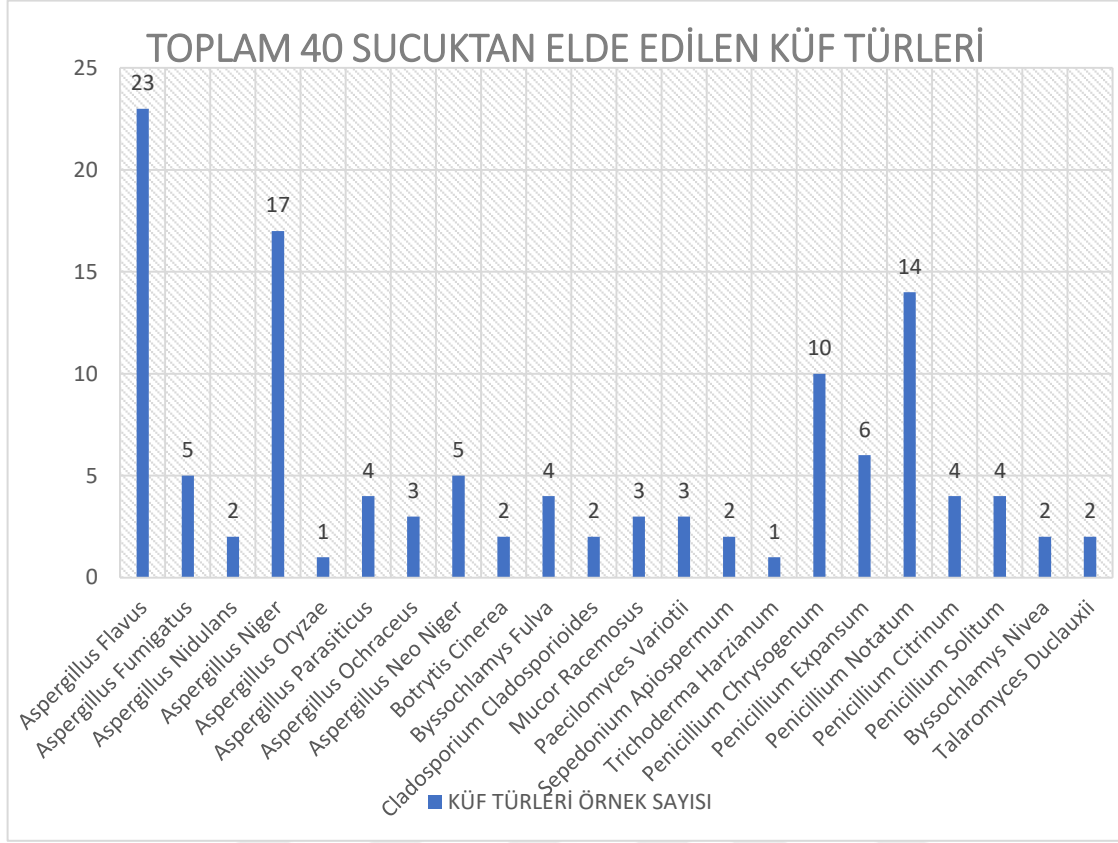


4. BULGULAR

Çizelge 4.1 Toplam 40 farklı sucuktan elde edilen küf türleri.

TOPLAM 40 SUCUKTAN ELDE EDİLEN KÜF TÜRLERİ		
SIRA	KÜF TÜRLERİ	ÖRNEK SAYISI
1	<i>Aspergillus flavus</i>	23
2	<i>Aspergillus fumigatus</i>	5
3	<i>Aspergillus nidulans</i>	2
4	<i>Aspergillus niger</i>	17
5	<i>Aspergillus oryzae</i>	1
6	<i>Aspergillus parasiticus</i>	4
7	<i>Aspergillus ochraceus</i>	3
8	<i>Aspergillus neo niger</i>	5
9	<i>Botrytis cinerea</i>	2
10	<i>Byssoschlamys fulva</i>	4
11	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2
12	<i>Mucor racemosus</i>	3
13	<i>Paecilomyces variotii</i>	3
14	<i>Sepedonium apiospermum</i>	2
15	<i>Trichoderma harzianum</i>	1
16	<i>Penicillium chrysogenum</i>	10
17	<i>Penicillium expansum</i>	6
18	<i>Penicillium notatum</i>	14
19	<i>Penicillium citrinum</i>	4
20	<i>Penicillium solitum</i>	4
21	<i>Byssoschlamys Nivea</i>	2
22	<i>Talaromyces duclauxii</i>	2

Yapılan analizlerin sonucunda küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan toplam 40 adet sucuk örneğinde yaz ve kış dönemlerinde alınan sucuklardan en çok tespit edilen küf türü *Aspergillus flavus*’ tur. 2. Sırada en çok tespit edilen küf türü ise *Aspergillus niger*’ dir. Analizlerde tespiti en az olan küfler ise *Trichoderma harzianum* ve *Aspergillus oryzae*’ dir.

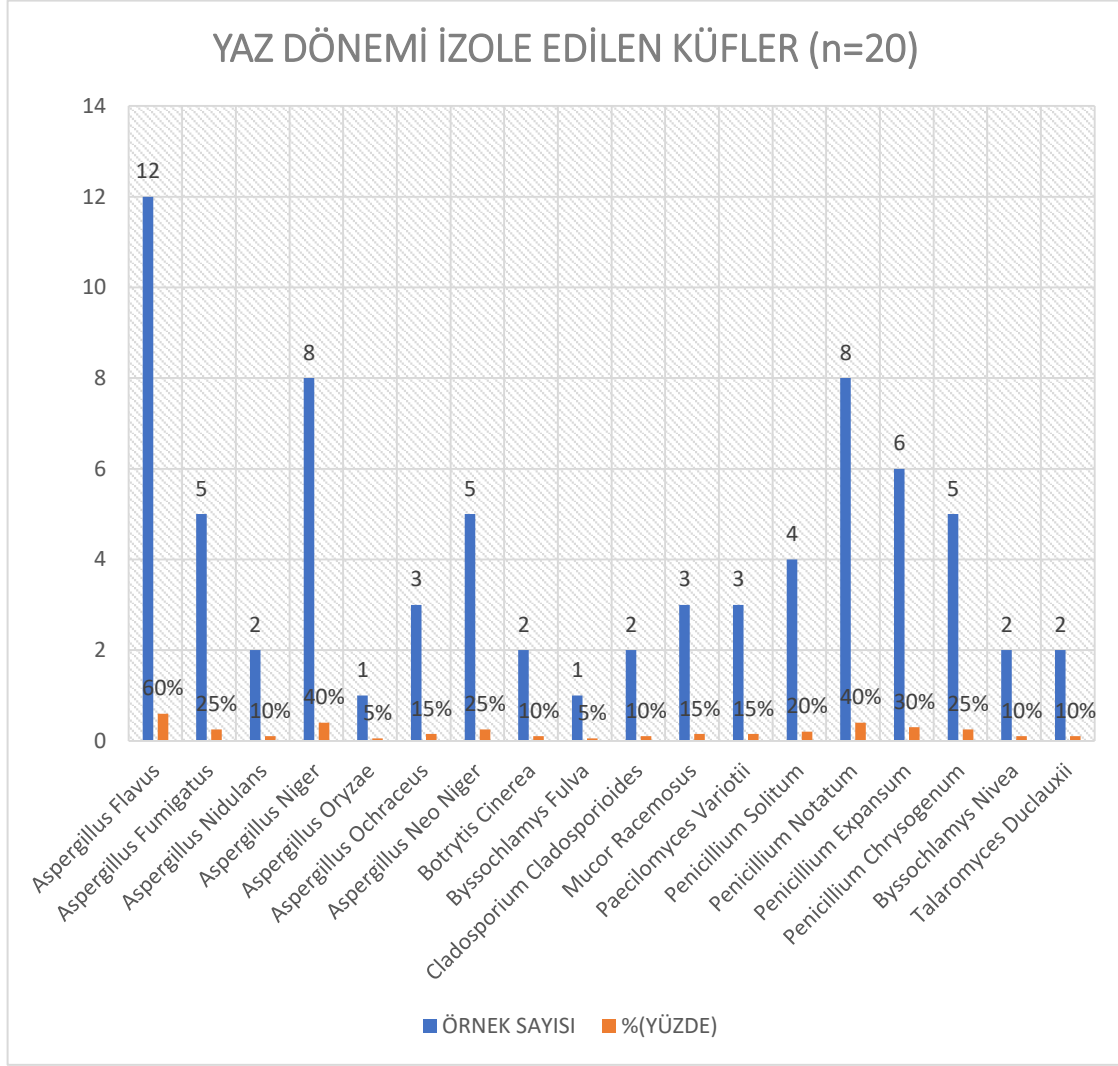


Şekil 4.1 Toplam 40 farklı sucuktan elde edilen küf türleri.

Çizelge 4.2 Yaz Dönemi 20 farklı sucuktan elde edilen küf türleri.

YAZ DÖNEMİ İZOLE EDİLEN KÜFLER (n=20)			
SIRA	KÜF TÜRLERİ	ÖRNEK SAYISI	%(YÜZDE)
1	<i>Aspergillus flavus</i>	12	60%
2	<i>Aspergillus fumigatus</i>	5	25%
3	<i>Aspergillus nidulans</i>	2	10%
4	<i>Aspergillus niger</i>	8	40%
5	<i>Aspergillus oryzae</i>	1	5%
6	<i>Aspergillus ochraceus</i>	3	15%
7	<i>Aspergillus neo niger</i>	5	25%
8	<i>Botrytis cinerea</i>	2	10%
9	<i>Byssoschlamys fulva</i>	1	5%
10	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	10%
11	<i>Mucor racemosus</i>	3	15%
12	<i>Paecilomyces variotii</i>	3	15%
13	<i>Penicillium solitum</i>	4	20%
14	<i>Penicillium notatum</i>	8	40%
15	<i>Penicillium expansum</i>	6	30%
16	<i>Penicillium chrysogenum</i>	5	25%
17	<i>Byssoschlamys nivea</i>	2	10%
18	<i>Talaromyces duclauxii</i>	2	10%

Yaz florası küf çeşitlerinin tespiti için yapılan analizlerde ise 20 farklı sucuk numunesinde 12 farklı sucukta *Aspergillus flavus* ve 8 farklı sucukta *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum* türü küf tespit edilmiştir. Yaz dönemi florasında en az tespit edilen küf çeşitleriye 20 farklı sucuk numunesin 1 tanesinde *Byssoschlamys fulva* ve farklı 1 tanesinde ise *Aspergillus oryzae*’ dir.



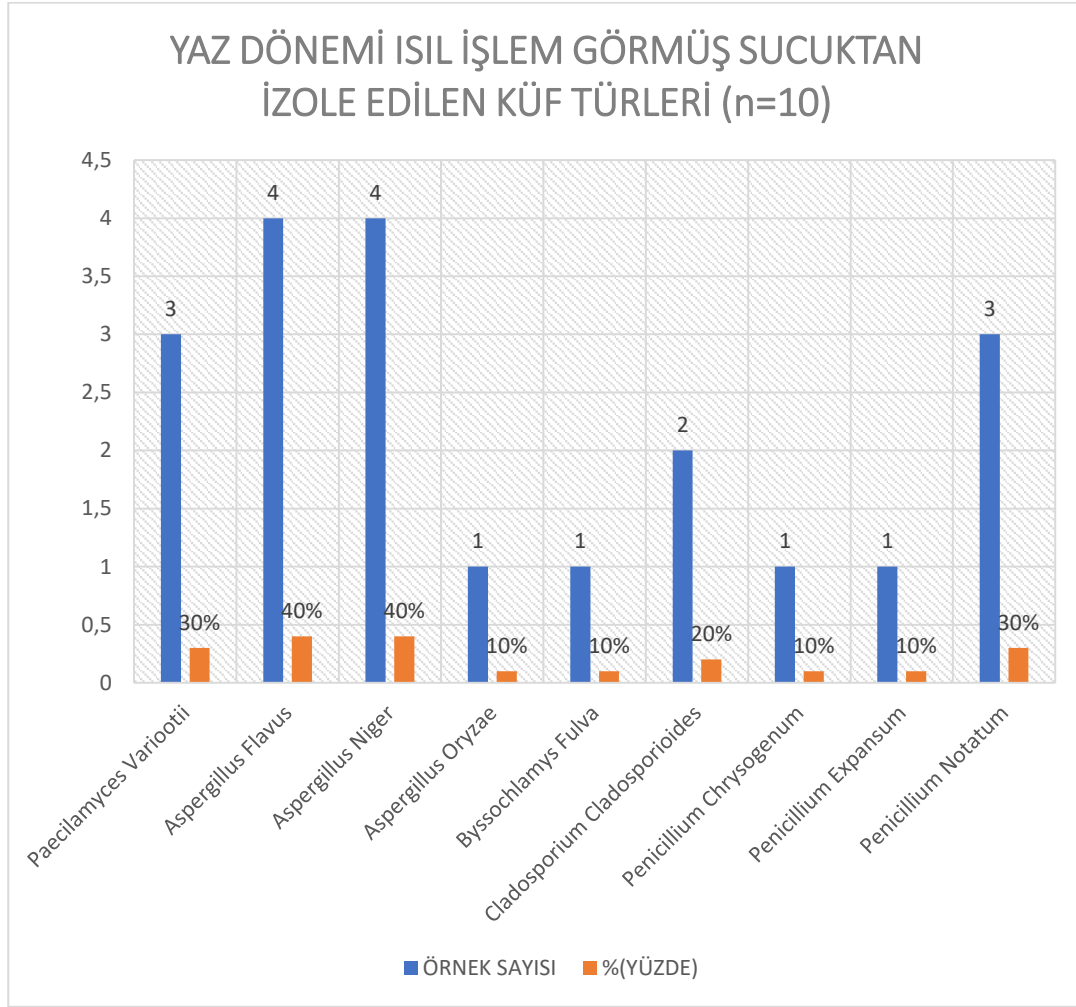
Şekil 4.2 20 Farklı sucuk numunesinde elde edilen küf türleri ve yüzdesi.

Yaz florası küf çeşitlerinin tespiti için yapılan analizlerde ise 20 farklı sucuk numunesinde %60 oranında *Aspergillus flavus* ve % 40 oranında *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum* türü küf tespit edilmiştir. Yaz dönemi florasında en az tespit edilen küf çeşitleri ise % 5 oranla *Byssoschlamys fulva* ve *Aspergillus oryzae* ' dir.

Çizelge 4.3 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.
YAZ DÖNEMİ ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUKTAN İZOLE EDİLEN KÜF TURLERİ (n=10)

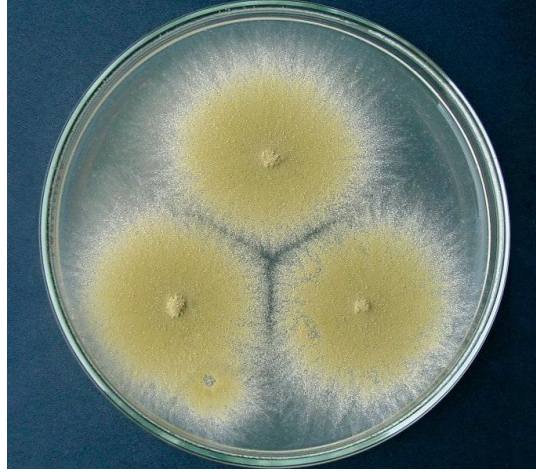
SIRA	KÜF TURLERİ	ÖRNEK SAYISI	%(YÜZDE)
1	<i>Paecilomyces variotii</i>	3	30%
2	<i>Aspergillus flavus</i>	4	40%
3	<i>Aspergillus niger</i>	4	40%
4	<i>Aspergillus oryzae</i>	1	10%
5	<i>Byssochlamys fulva</i>	1	10%
6	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	20%
7	<i>Penicillium chrysogenum</i>	1	10%
8	<i>Penicillium expansum</i>	1	10%
9	<i>Penicillium notatum</i>	3	30%

Yaz florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 farklı sucuk numunesi ısıt işlem görmüş sucuklardan oluşmaktadır. Isıt işlem görmüş sucuk numunelerinde yapılan analizler sonucu en çok 4 farklı sucuk numunesinde *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger* tespit edilmiştir.



Şekil 4.3 Yaz Dönemi 10 farklı ısıtılmış işlem görmüş sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.

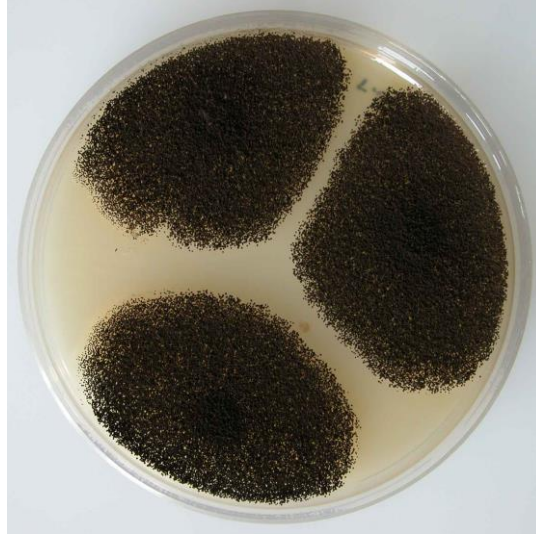
Yaz florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 farklı sucuk numunesi ısıtılmış işlem görmüş sucuklardır. Isıtılmış işlem görmüş sucuk numunelerinde yapılan analizler sonucu en çok %40 oranında *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger* tespit edilmiştir.



Resim 4.1 Yaz Dönemi 10 farklı ısı işlem görmüş sucuktan elde edilen *Paecilomyces variotii* küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.7).



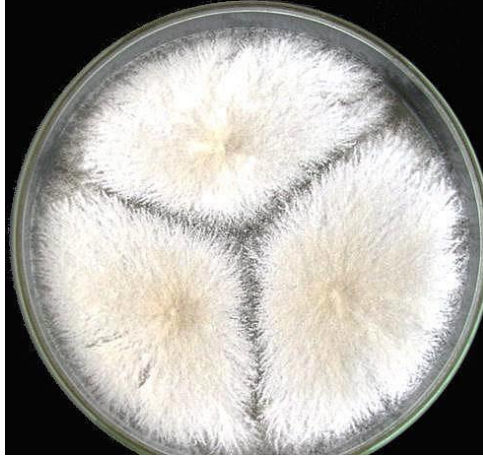
Resim 4.2 Yaz Dönemi 10 farklı ısı işlem görmüş sucuktan elde edilen *Aspergillus flavus* küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.8).



Resim 4.3 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen *Aspergillus niger* küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.9).



Resim 4.4 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen *Aspergillus oryzae* küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.10).



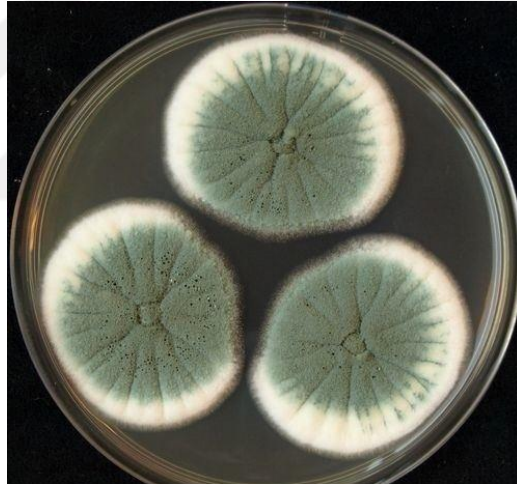
Resim 4.5 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen *Byssoschlamys fulva* küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.11).



Resim 4.6 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen *Cladosporium cladosporioides* küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.12).



Resim 4.7 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen *Penicillium chrysogenum* küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.13).



Resim 4.8 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen *Penicillium expansum* küf türünün görüntüsü (İnt. Kyn.14).

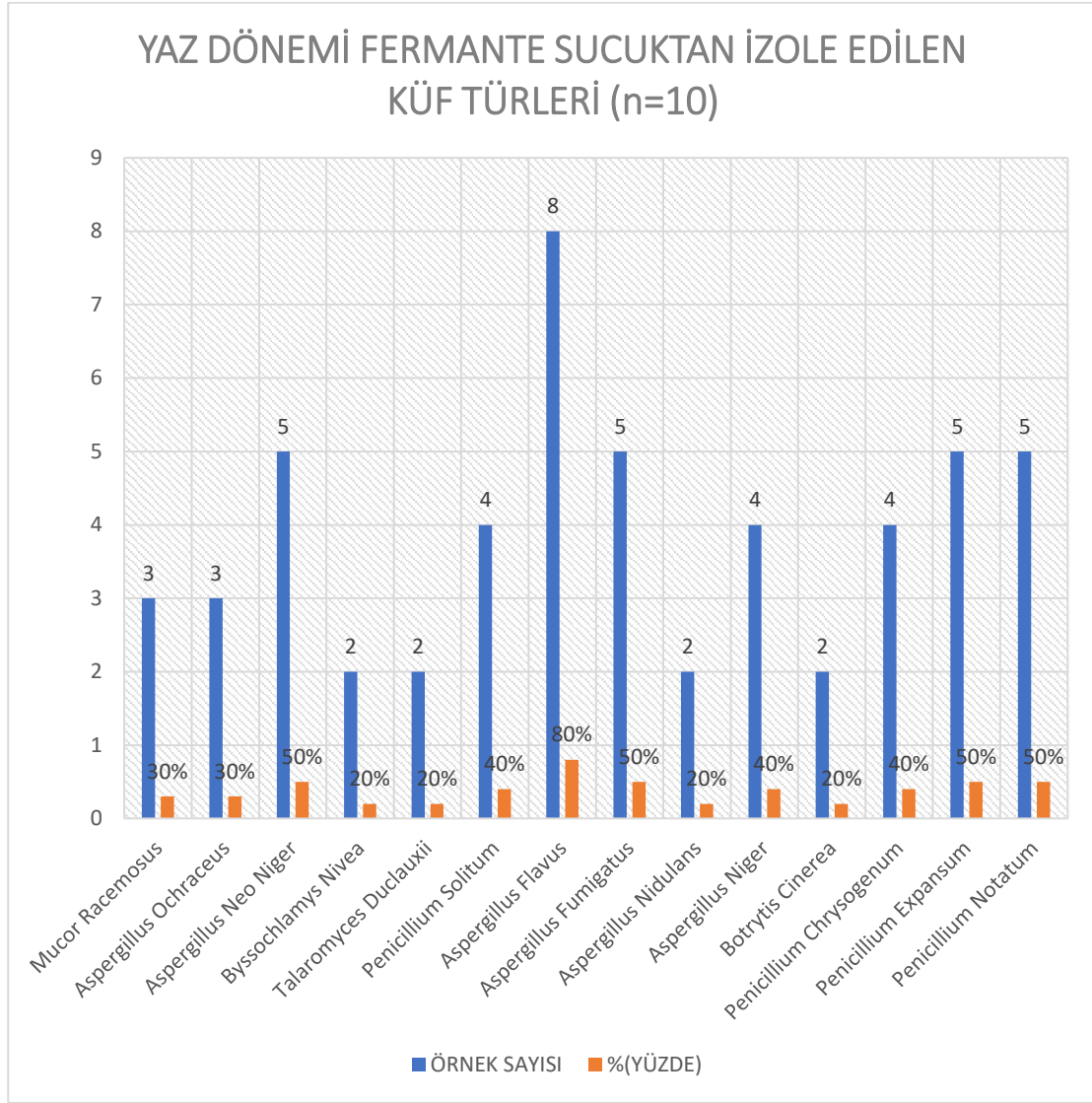


Resim 4.9 Yaz Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen *Penicillium notatum* küf türünün görüntüsü.

Çizelge 4.4 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.
YAZ DÖNEMİ FERMENTE SUCUKTAN İZOLE EDİLEN KÜF TÜRLERİ (n=10)

SIRA	KÜF TÜRLERİ	ÖRNEK SAYISI	%(YÜZDE)
1	<i>Mucor racemosus</i>	3	30%
2	<i>Aspergillus ochraceus</i>	3	30%
3	<i>Aspergillus neo niger</i>	5	50%
4	<i>Byssosclamyx nivea</i>	2	20%
5	<i>Talaromyces duclauxii</i>	2	20%
6	<i>Penicillium solitum</i>	4	40%
7	<i>Aspergillus flavus</i>	8	80%
8	<i>Aspergillus fumigatus</i>	5	50%
9	<i>Aspergillus nidulans</i>	2	20%
10	<i>Aspergillus niger</i>	4	40%
11	<i>Botrytis cinerea</i>	2	20%
12	<i>Penicillium chrysogenum</i>	4	40%
13	<i>Penicillium expansum</i>	5	50%
14	<i>Penicillium notatum</i>	5	50%

Yaz florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 farklı sucuk numunesi ise fermente sucuklardır. Fermente sucuk numunelerinde yapılan analizler sonucu en çok 8 tanesinde *Aspergillus flavus* tespit edilmiştir.



Şekil 4.4 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.

Yaz florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 farklı sucuk numunesi ise fermente sucuklardır. Fermente sucuk numunelerinde yapılan analizler sonucu en çok %80 oranında *Aspergillus flavus* tespit edilmiştir.



Resim 4.10 Yaz Dönemi 10 farklı fermentesucuktan elde edilen *Mucor Racemosus* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.15).



Resim 4.11 Yaz Dönemi 10 farklı fermentesucuktan elde edilen *Aspergillus ochraceus* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.16).



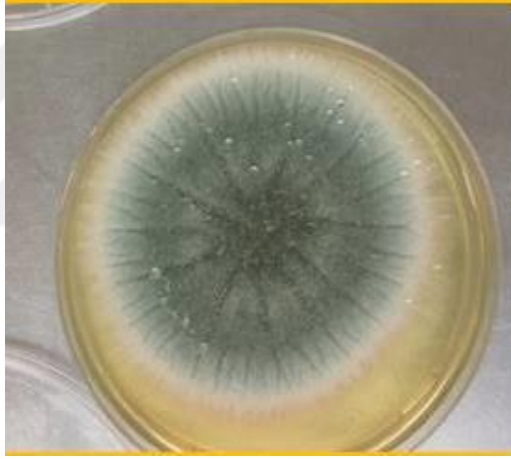
Resim 4.12 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen *Aspergillus neo niger* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.17).



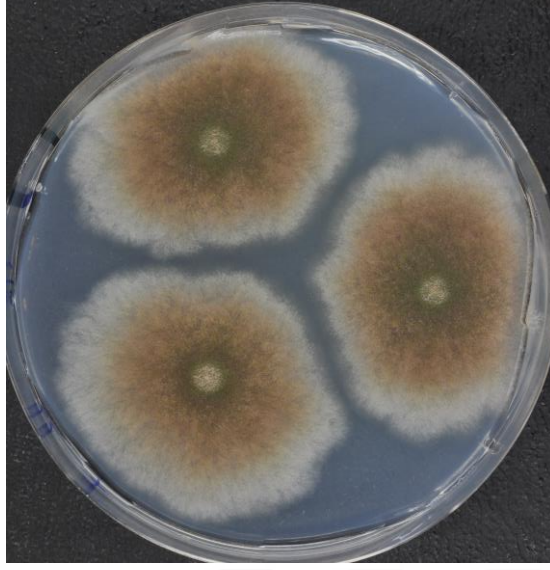
Resim 4.13 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen *Byssoschlamys nivea* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.18).



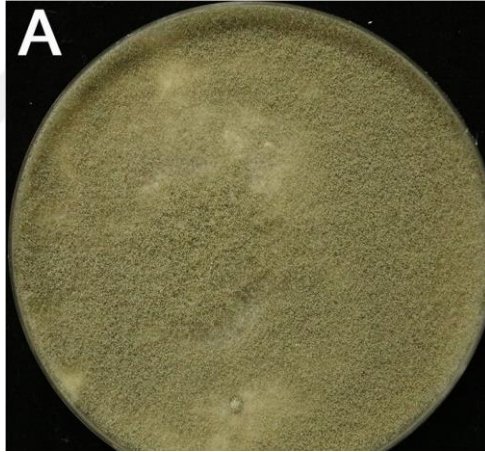
Resim 4.14 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen *Penicillium solitum* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.19).



Resim 4.15 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen *Aspergillus fumigatus* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.20).



Resim 4.16 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen *Aspergillus nidulans* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.21).



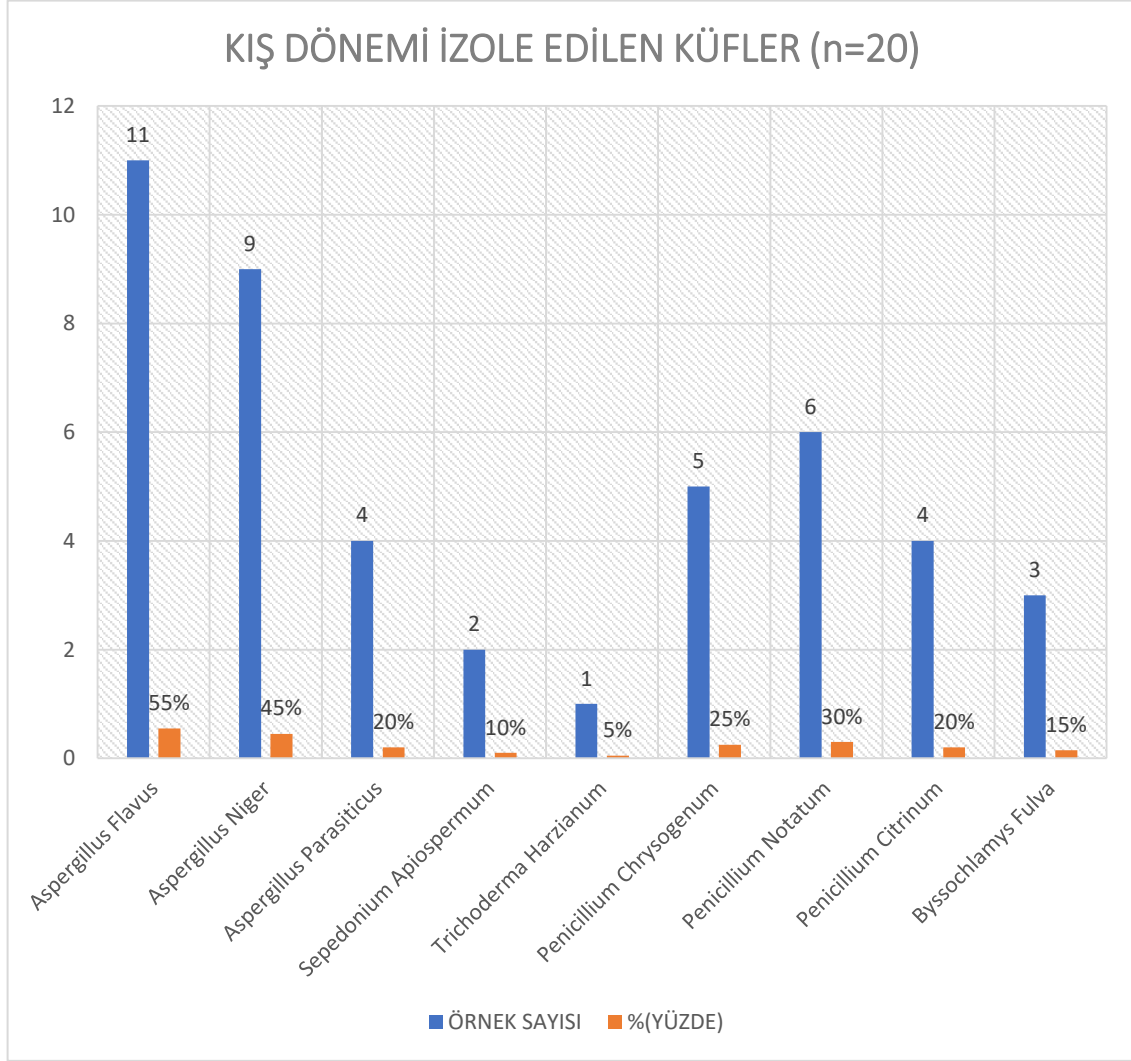
Resim 4.17 Yaz Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen *Botrytis cinerea* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.22).

Çizelge 4.5 Kış Dönemi 20 farklı sucuktan elde edilen küf türleri.

KIŞ DÖNEMİ İZOLE EDİLEN KÜFLER (n=20)

SIRA	KÜF TÜRLERİ	ÖRNEK SAYISI	%(YÜZDE)
1	<i>Aspergillus flavus</i>	11	55%
2	<i>Aspergillus niger</i>	9	45%
3	<i>Aspergillus parasiticus</i>	4	20%
4	<i>Sepedonium apiospermum</i>	2	10%
5	<i>Trichoderma harzianum</i>	1	5%
6	<i>Penicillium chrysogenum</i>	5	25%
7	<i>Penicillium notatum</i>	6	30%
8	<i>Penicillium citrinum</i>	4	20%
9	<i>Byssoschlamys fulva</i>	3	15%

Kış florası küf çeşitlerinin tespiti için yapılan analizlerde ise 20 farklı sucuk numunesinden 11 tane sucukta *Aspergillus flavus* ve 9 tanesinde *Aspergillus niger* türü küf tespit edilmiştir. Güz dönemi florasında en az tespit edilen küf çeşidiyse *Trichoderma harzianum*’ dur.



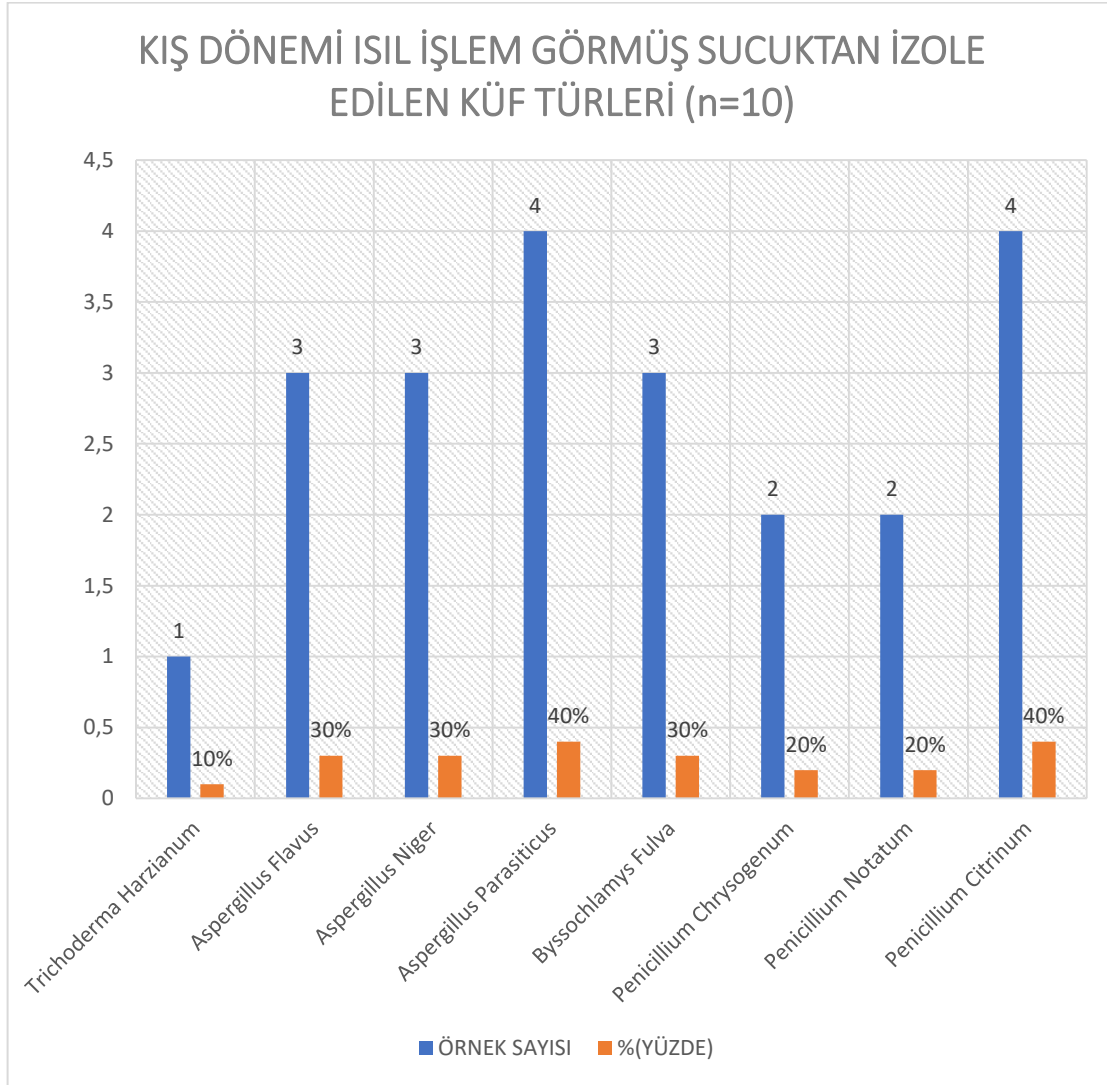
Şekil 4.5 Kış florası için 20 Farklı sucuk numunesinde elde edilen küf türleri ve yüzdesi.

Kış florası küf çeşitlerinin tespiti için yapılan analizlerde ise 20 farklı sucuk numunesinden %55 oranında sucukta *Aspergillus flavus* ve %45 oranında *Aspergillus niger* türü küf tespit edilmiştir. Güz dönemi florasında en az tespit edilen küf çeşidiyse %5 oranında *Trichoderma harzianum* 'dur.

Çizelge 4.6 Kış Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.
KIŞ DÖNEMİ ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUKTAN İZOLE EDİLEN KÜF TURLERİ (n=10)

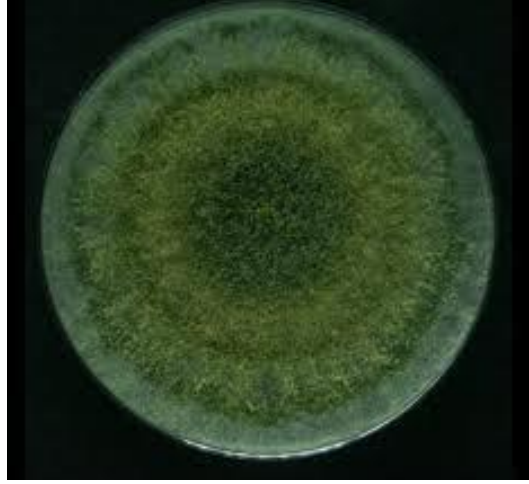
SIRA	KÜF TURLERİ	ÖRNEK SAYISI	%(YÜZDE)
1	<i>Trichoderma harzianum</i>	1	10%
2	<i>Aspergillus flavus</i>	3	30%
3	<i>Aspergillus niger</i>	3	30%
4	<i>Aspergillus parasiticus</i>	4	40%
5	<i>Byssosclamyces fulva</i>	3	30%
6	<i>Penicillium chrysogenum</i>	2	20%
7	<i>Penicillium notatum</i>	2	20%
8	<i>Penicillium citrinum</i>	4	40%

Kış florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 farklı sucuk numunesi ise ısıt işlem görmüş sucuklardır. Isıt işlem görmüş sucuk numunelerinde yapılan analizler sonucu en çok 4 tane sucuk numunesinde *Aspergillus parasiticus* ve *Penicillium chrysogenum* tespit edilmiştir.



Şekil 4.6 Kış Dönemi 10 farklı ısıtılmış işlem görmüş sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.

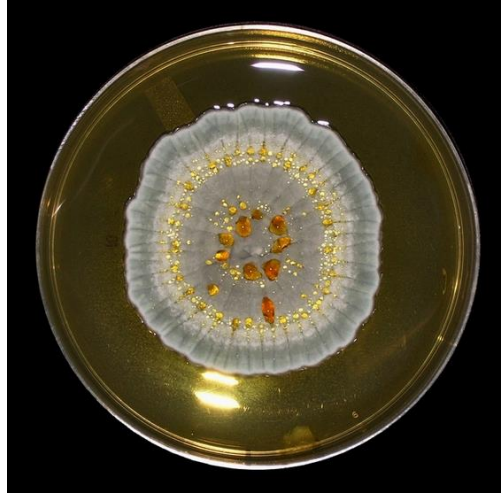
Kış florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 farklı sucuk numunesi ise ısıtılmış işlem görmüş sucuklardır. Isıtılmış işlem görmüş sucuk numunelerinde yapılan analizler sonucu en çok %40 oranında *Aspergillus parasiticus* ve *Penicillium chrysogenum* tespit edilmiştir.



Resim 4.18 Kış Dönemi 10 farklı ısı işlem görmüş sucuktan elde edilen *Trichoderma harzianum* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.23).



Resim 4.19 Kış Dönemi 10 farklı ısı işlem görmüş sucuktan elde edilen *Aspergillus parasiticus* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.24).



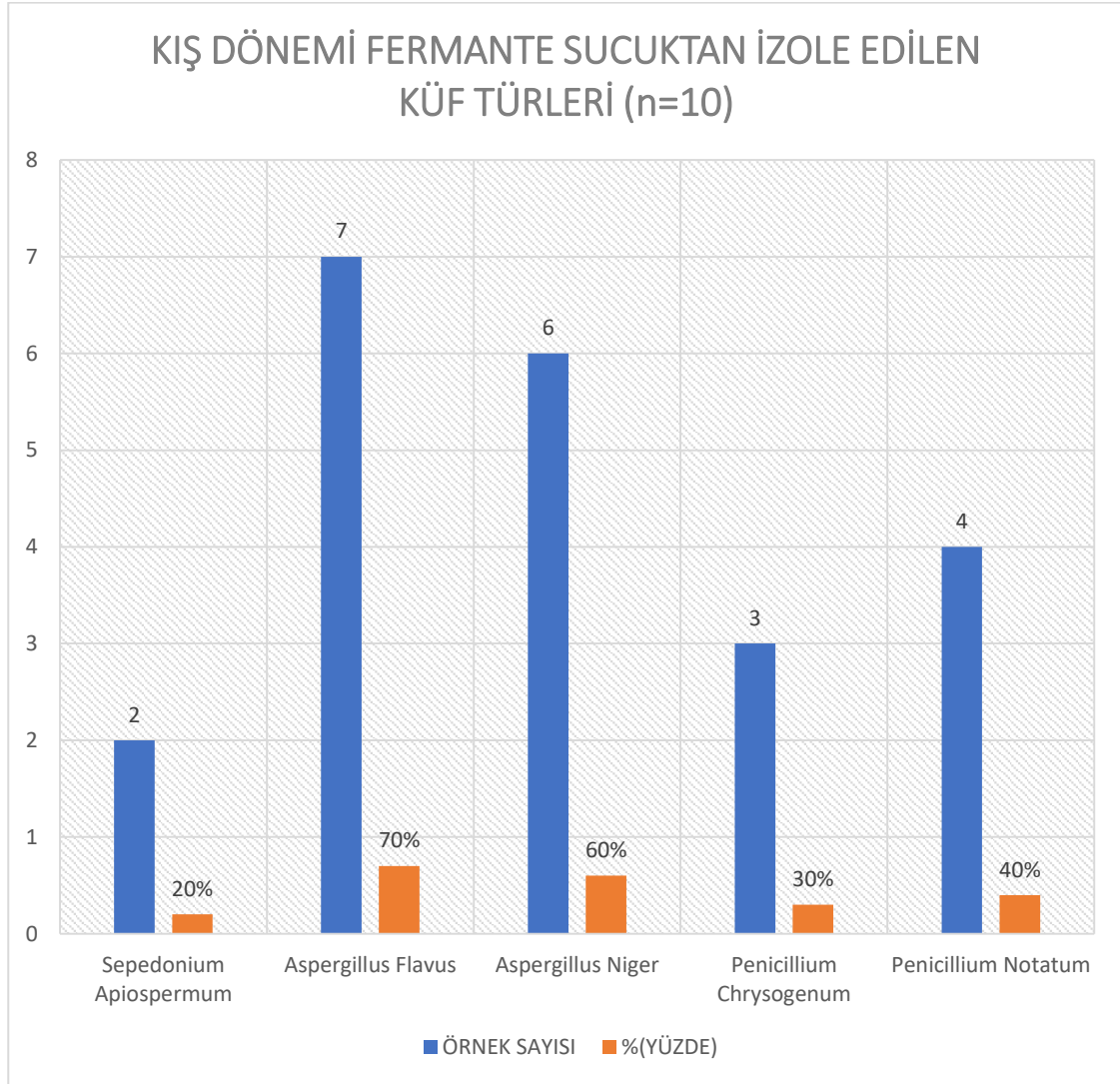
Resim 4.20 Kış Dönemi 10 farklı ısıt işlem görmüş sucuktan elde edilen *Penicillium citrinum* küf türünün görüntüsü (İnt.Kyn.25).

Kış florası ısıt işlem görmüş sucuklardan tespit edilen diğer küf türlerinin görselleri yaz florası bölümünde verilmiştir.

Çizelge 4.7 Kış Dönemi 10 farklı fermente sucuktan sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.
KİŞ DÖNEMİ FERMANTE SUCUKTAN İZOLE EDİLEN KÜF TÜRLEİ (n=10)

SIRA	KÜF TÜRLEİ	ÖRNEK SAYISI	%(YÜZDE)
1	<i>Sepedonium apiospermum</i>	2	20%
2	<i>Aspergillus flavus</i>	7	70%
3	<i>Aspergillus niger</i>	6	60%
4	<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	30%
5	<i>Penicillium notatum</i>	4	40%

Güz florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 farklı sucuk numunesi ise fermente sucuklardır. Fermente sucuk numunelerinde yapılan analizler sonucu en çok 7 tane sucuk numunesinden *Aspergillus flavus* tespit edilmiştir.



Şekil 4.7 Kış Dönemi 10 farklı fermente sucuktan elde edilen küf türleri ve yüzdeleri.

Güz florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 farklı sucuk numunesi ise fermente sucuklardır. Fermente sucuk numunelerinde yapılan analizler sonucu en çok %70 oranında *Aspergillus flavus* tespit edilmiştir.

Piyasada satılan Türk sucukları için yapılan analizler sonucunda yaz ve güz floralarında ısıtılmış işlem görmüş sucuklarda ve fermente sucuklarda tespiti en çok olan küf türü *Aspergillus flavus*' tur. Ve bu çalışmada *Aspergillus* türü küf çeşitleri *Penicillium* türü çeşitlerine göre daha fazla elde edilmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Et ve Et Ürünleri çeşitli mikroorganizmalardan üretim ve saklama koşullarına göre ve başlangıç hamurundaki mikroorganizma miktarına göre farklı şekillerde etkilenmektedir. Sucuklardaki küf türlerinin meydan getirdiği etkiler ise bazı ülkelerde tercih edilmekte, bazı ülkelerde ise zararlı bulunmaktadır. Bu çalışmada laboratuvar ortamında Türkiye’de üretilen 40 ayrı sucuktan alınan numuneler kış ve yaz koşullarına göre incelenmiş, bu sucuklardan genel olarak et ürünlerinde bulunan küf türleri izole edildiği gibi, genelde peynir, sebze ve meyve türlerinde bulunan bazı küfler izole edilmiş ve oranları tespit edilerek tablolar halinde gösterilmiştir.

Yaz florası için yapılan analizlerde *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus neo niger*, *Botrytis cinerea*, *Byssochlamys fulva*, *Cladosporium cladosporioides*, *Mucor racemosus*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium solitum*, *Penicillium notatum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium chrysogenum*, *Botryosphaeria nivea*, *Talaromyces duclauxii* küf türleri tespit edilmiştir. Yaz florasında alınan 20 farklı sucuk türünde en çok tespit edilen küf türü %60 oranında *Aspergillus flavus*’tur.

Yaz florası küf çeşitlerinin tespiti için kullanılan 20 farklı sucuk numunesinin 10 tanesi ısıtılmış işlem görmüş sucuktan diğer 10 tanesi ise fermente sucuktan oluşmaktadır.

10 farklı ısıtılmış işlem görmüş sucuklarda *Paecilomyces variotii*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Byssochlamys fulva*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium notatum* küf türleri tespit edilmiştir. 10 farklı ısıtılmış işlem görmüş sucuk numunesinde % 40 oranında en fazla *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* türü küf türleri tespit edilmiştir.

Geriye kalan 10 farklı fermente sucukta ise *Mucor racemosus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus neo niger*, *Botryosphaeria nivea*, *Talaromyces duclauxii*, *Penicillium solitum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium notatum*

küf türleri tespit edilmiştir. 10 farklı fermente sucuk numunesinde %80 oranında *Aspergillus flavus* 'tur.

Yaz florasında ısıt işlem görmüş sucuklara kıyasla fermente sucuk numunelerinde daha çok küf türü tespit edilmiştir.

Bunun nedeni yaz aylarında hava sıcaklıklarının artmasına ve iklim şartlarının daha uygun olmasına bağlı olarak küf çeşitlerinin hava su toprak gibi kaynaklarda artması ve bununla işletmeye ve ürüne buluşması olarak yorumlanmaktadır.

Yaz florası fermente sucuklarda *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus neo niger*, *Botrytis cinerea*, *Mucor racemosus*, *Penicillium solitum*, *Botryosphaeria nivea*, *Talaromyces duclauxii* küf türleri tespit edilirken bu küf türleri yaz florası için analiz edilen ısıt işlem görmüş sucuklarda tespit edilmemiştir.

Yaz florası ısıt işlem görmüş sucuklarda *Aspergillus oryzae*, *Byssochlamys fulva*, *Cladosporium cladosporioides* türü küfler tespit edilirken fermente sucuklarda bu küf türleri tespit edilmemiştir.

Kış florası için yapılan analizlerde ise *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Sepedonium apiospermum*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum*, *Penicillium citrinum*, *Byssochlamys fulva* küf türleri tespit edilmiştir.

Kış florası için yapılan çalışmalarda temin edilen 20 farklı sucuk numunesinin yaz florasında yapıldığı gibi 10 tanesi ısıt işlem görmüş ve 10 tanesinde fermente sucuktur.

Isıt işlem görmüş sucuklarda *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Byssochlamys fulva*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum*, *Penicillium citrinum* türleri tespit edilmiştir.

Kış florası fermente sucuklarda ise *Sepedonium apiospermum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum* küf türleri tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalara göre yaz florasında kış florasına oranla daha fazla küf türü elde edilmiş olup. Yaz ve kış florasında 5 farklı tür iki floradada tespit edilmiştir. Bu küf türleri *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Byssoschlamys fulva*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum* 'dur.

Kış florasında tespit edilen *Aspergillus parasiticus*, *Sepedonium apiospermum*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium citrinum* küf türleri yaz florası için yapılan analizlerde tespit edilmemiştir.

Yaz florası ısıtılmış sucuklarda 10 farklı numunede %40 oranında tespiti en çok yapılan küf türü *Aspergillus flavus* iken kış florası ısıtılmış sucuk numunesinde % 40 oranında en çok tespit edilen küf türüleri ise *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium citrinum* 'dur.

Yaz florası için kullanılan 10 farklı fermente sucuklarda %80 oranında en çok *Aspergillus flavus* tespit edilmiş olup yine kış florasının fermente sucuklarında da % 70 oranında en çok *Aspergillus flavus* tespit edilmiştir.

Yaz aylarında hem rakamsal hemde küf çeşidi oranı olarak fermente sucuklarda daha fazla bulunmasına rağmen kış aylarında ısıtılmış sucuklarda ki küf oranı sayısal olarak azalmasına rağmen küf türü çeşidi olarak artış göstermiştir.

İki dönemde yapılan analiz sonuçları karşılaştırıldığında *Aspergillus* türü küf çeşitleri *Penicillium* türü küf çeşitlerine göre daha fazla tespit edilmiştir.

Hedefimiz olan faydalı küf çeşitleri bulunamamış buna karşın bulduğumuz küf çeşitlerinin daha çok zararlı küf çeşitlerinden oluştuğu gözlemlenmiştir. Yine de sucuklarda bulunan küf çeşitlerinin belirlenmesi konusunda ciddi bir bilimsel çalışma sağlanmıştır.

Bu araştırma ile sektör ile ilgili kurumlara sucuk üretiminin iyileştirilmesine yönelik yapılacak işlemlere ilişkin fikir vermeye ve literatüre katkıda bulunulmaya çalışılmıştır.



6. KAYNAKÇA

- Alexopoulos, C.J. (1966) *Einführung in die mykologie*. 495pp. (Çeviri: M.L. Farr) Gustav Verlag. Stuttgart.
- Arıcı A. Ş. Demirci M. (2006). Margarinde Yüksek Sıcaklığa Dayanıklı Küflerin İzolasyonu, Tanımlanması ve Isıl Dirençlerinin Belirlenmesi. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3: 3.
- Cebirbay, M. A. (2014). Fermente ve ısıl işlem uygulanmış sucuklarda bazı lactobacillus ve patojen bakterilerin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Dönderici, Z. S. (2005). Çukurova Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Penicillium Cinsine Ait Cinsine Bazı Ait Küflerin Bazı Türk Küflerin Tipi Türk Tipi Fermente Sucuk Üretiminde Sucuk Koruyucu Üretiminde Kültür Koruyucu Olarak Kültür Kullanım Olarak Kullanım Olanaklarının Araştırılması s.16-19, Adana.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2011). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *Efsa Journal*, 9, 2393.
- Erdoğrul Ö, Ergün Ö. (2005). Kahramanmaraş piyasasında tüketilen sucukların bazı fiziksel, kimyasal, duyuşsal ve mikrobiyolojik özellikleri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 31: 55-65.
- Frisvad J. and Samson R.A. (2004). Polyphasic taxonomy of Penicillium subgenus Penicillium. A guide to identification of food and air-borne terverticillate Penicillia and their mycotoxins. *Studies in mycology*, 49, 1-173.
- Gökmen M. (2010). Türk Sucuğu Üretiminde Kitosin Kullanımı ve Kalite üzerine etkileri, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyen ve Teknolojisi Anabilim Dalı, s-4-7, Konya.
- Halkman K. Food Microbiology Applications (1991). Başak Printing Başak and Printing Promotionaland Services Promotional Services, Ankara, Turkey, 2005.

- Hasenekoğlu, D. i Toprak fungusları. Atatürk Üniversitesi Yayınları No.689. Cilt V.390s, Ankara.
- Haurbuken Jos, Verweij Paul E, Rijs Anthonius J. M. M, Borman Andrew M. Samson Robert A. (2010). American Society for Microbiology Journal Of Clinic Microbiology, Identification of *Paecilomyces variotii* in Clinical Samples and Settings, 2 June.
- Heperkan, D., & Sözen, M. (1988). Fermente et ürünleri üretimi ve mikrobiyal proseslerin kaliteye etkisi. GIDA, 13.
- Holck, A., Axelsson, L., McLeod, A., Rode, T. M., & Heir, E. (2017). Health and safety considerations of fermented sausages. *Journal of Food Quality*, 2017.
- Özçelik S, (2011). Genel Mikrobiyoloji Uygulama Kılavuzu Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayınları No:2, Isparta.
- Pitt J.I, Leistner (1991). “Toxigenic *Penicillium* species,” in *Myco- toxins and Animal Foods*, J. E. Smith and R. S. Henderson, Eds., pp. 91–99, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 1991.
- Pitt, J.I., Hocking A.D. (2004). *Fungi and Food Spoilage*. Springer 519, USA.
- Pitt, J.I. (1988). *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. Commonwealth Scientific and Industrial Research ORG. Division of Food Processing, 187pp. (CSIRO). North Ryde, Australia.
- Puel, O., Tadrist, S., Galtier, P., Oswald, I. P., & Delaforge, M. (2005). *Byssochlamys nivea* as a source of mycophenolic acid. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 550-553.
- Raper, K. B., & Fennell, D. I. (1977). *The genus Aspergillus* Robert E.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S. (1984). *Von Oor-Schot, Can., Introduction to Food Borne Fungi*. Centraalbureau voor Schimmelcultures. 248pp, Bearn, Delft, 1984.
- Sekin Y. and Karagözlü N. (2004). *Food Microbiology Basic Principles and Applications for Food*. Industry Klaus Pichhardt (Translate at volume 4) Literature Publication İstanbul, Turkey.
- Shalaby A.R, (1996). “Significance of biogenic amines to food safety and human health,” *Food Research International*, vol. 29, no. 7, pp. 675–690.

- Şanes A. (2006). Kalori ve Yağ Miktarı Azaltılmış Fonksiyonel Sucuk Üretimi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s.12-13, İstanbul.
- Tunail N. (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, ; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Genişletilmiş 2. Baskı. Sim Matbaası, Ankara 522 sayı, 03. Bölüm, 13. Kısım s.8-10, Ankara.
- Turhan Ö. (2010). Küflü Sucuklarda Mikrofloranın Belirlenmesi Ve Küf Gelişmesi Üzerine Maya İzolatları, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği, İstanbul Teknik Üniversitesi, s.11-14, İstanbul.
- Turhan Ö. (2010). Küflü Sucuklarda Mikrofloranın Belirlenmesi ve Küf Gelişmesi Üzerine Maya İzolatlarının Etkisi, Gıda Mühendisliği, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Williams, Wilkins, Baltimore, MD. Larone, Davise, (1995). Tıbbi Olarak Önemli Mantarlar, Amerikan Mikrobiyoloji Derneği, *Bir Tanımlama Rehberi*, 3. baskı. Washington, DC, Haziran.

İnternet Kaynakları

- 1) <https://www.moldbacteria.com/mold/mucor.html>, 21.04.2019
- 2) <https://www.britannica.com/science/Rhizopus>, 21.04.2019
- 3) https://wiki.bugwood.org/Botrytis_cinerea, 21.04.2019
- 4) <https://www.ivami.com/en/food-microbiology/4743-byssochlamys-fulva-and-nivea-thermistors-ascomycetes-qualitative-and-quantitative-culture-and-identification-from-preserved?tmpl=component&print=1&layout=default>, 21.04.2019
- 5) <https://alchetron.com/Cladosporium-cladosporioides>, 21.04.2019
- 6) <http://www.phadia.com/en/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-Allergen-Information/Molds-and-other-Microorganisms/Allergens/Mucor-racemosus/>, 21.04.2019
- 7) <https://www.chungvisinh.com/paecilomyces-variotii-nbrc-100534.html/#respond>, 08.05.2019
- 8) <http://fungi.myspecies.info/file-colorboxed/937>, 08.05.2019
- 9) <http://fungi.myspecies.info/all-fungi/aspergillus-niger> 08.05.2019
- 10) <http://www.agrotekno-lab.com/2013/06/aspergillus-oryzae.html> 08.05.2019
- 11) <https://alchetron.com/Byssochlamys> 08.05.2019
- 12) https://www.researchgate.net/figure/Cladosporium-cladosporioides-Cladosporium-is-a-common-fungus-frequently-encountered-in_fig1_224005627 08.05.2019
- 13) <https://www.bustmold.com/resources/mold-library/penicillium-chrysogenum/> 08.05.2019
- 14) <https://alchetron.com/Penicillium-expansum> 08.05.2019
- 15) <https://indiabiodiversity.org/species/show/257831> 08.05.2019
- 16) https://old.aspergillus.org.uk/indexhome.htm?secure/image_library/ochraceus/index.htm~main 08.05.2019
- 17) <https://www.sciencedaily.com/releases/2018/10/181022134452.htm> 08.05.2019
- 18) http://www.univ-brest.fr/digitalAssetsUBO/8/8999_Ph-Bnivea01.html 08.05.2019
- 19) https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_number?JCM=22847 08.05.2019

- 20) <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/pat%C3%B3genos-y-enfermedades/aspergillus-fumigatus> 08.05.2019
- 21) <http://fungi.myspecies.info/all-fungi/aspergillus-nidulans> 08.05.2019
- 22) <https://bio-protocol.org/e2810> 08.05.2019
- 23) <https://www.indiamart.com/proddetail/trichoderma-viride-trichoderma-harzianum-8656014855.html> Last Access 08.05.2019
- 24) <http://www.writeopinions.com/aspergillus-parasiticus> 08.05.2019
- 25) <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2015/08/penicillium-citrinum.html> Last Access 08.05.2019



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Selin ÇELİK
Doğum Yeri ve Tarihi : Gazipaşa- 15.03.1994
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : 05398502294

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Alanya Şükrü Kaptanoğlu Anadolu Lisesi (2008-2012)
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, (2012-2016)
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, (2016-2019)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Türkyıldızı Su ve Mineralli Su San. Tic. A.Ş.
(2017-2019)
İkbal Şekerleme A.Ş.
(2019- Devam ediyor.)