



**FERMENTE SUCUKLARDA NİTRİT YERİNE
NİSİN KULLANIMININ BAZI GIDA
PATOJENLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dilek DEMİRKOL

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Gökhan AKARCA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Haziran 2019

Bu tez çalışması 17.FEN.BİL.30 numaralı proje ile BAP tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FERMENTE SUCUKLARDA NİTRİT YERİNE NİSİN
KULLANIMININ BAZI GIDA PATOJENLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dilek DEMİRKOL

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Gökhan AKARCA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Haziran 2019

TEZ ONAY SAYFASI

Dilek DEMİRKOL tarafından hazırlanan “Fermente Sucuklarda Nitrit Yerine Nisin Kullanımının Bazı Gıda Patojenleri Üzerine Etkisi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 21/06/2019 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 : Dr. Öğr. Üyesi Gökhan AKARCA

Başkan : Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi İbrahim GÜLSEREN
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi,
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Gökhan AKARCA
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

İmza

(Handwritten signatures of the jury members)

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.

21.06.2019


Dilek DEMİRKOL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FERMENTE SUCUKLARDA NİTRİT YERİNE NİSİN KULLANIMININ BAZI GIDA PATOJENLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Dilek DEMİRKOL

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Gökhan AKARCA

Bu araştırmada, farklı oranlarda nitrit ve nisin ilaveleriyle üretilen sucuk hamurlarına et ve et ürünlerinde gelişmesi muhtemel dört öncelikli gıda patojeni (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) inoküle edilmiş ve fermente edilerek olgunlaşması tamamlandıktan sonra kontrol numuneleriyle kıyaslanarak gıda patojenlerindeki sayıların logaritmik olarak değişimleri incelenmiştir.

7. gün sonunda incelenen patojen sayılarına göre inoküle edilen gıda patojenleri içerisinde nisin'in inhibe edici etkisinin en fazla olduğu patojenin *Staphylococcus aureus*, en az etkili olduğu patojenin ise *Salmonella* spp. olduğu gözlenmekle birlikte nitrit yerine nisin kullanımının genel olarak bu dört patojen üzerinde inhibe edici özelliğe sahip olduğu gözlenmiştir.

2019, xii + 82 sayfa

Anahtar Kelimeler: Fermente Sucuk, Nitrit, Nisin, Patojen Mikroorganizma

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

THE EFFECTS OF THE USE OF NITRITE IN FERMENTED SUCKS ON SOME FOOD PATHOGENES

Dilek DEMİRKOL

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Gökhan AKARCA

In this study, four primary food pathogens (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*), which are likely to develop in meat and meat products with different ratios of nitrite and nisin additions, were inoculated and fermented and compared with the control samples. logarithmic changes were investigated.

At the end of the 7th day, the pathogen in which the inhibitory effect of nisin was the most abundant in the inoculated food pathogens according to the number of pathogens examined was *Staphylococcus aureus*, and the least effective pathogen was *Salmonella* spp. It has been observed that the use of nisine instead of nitrite has an inhibitory property on these four pathogens.

2019, xii + 82 pages

Keywords: Fermented Sausage, Nitrite, Nisin, Pathogenic Microorganism

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasını 17.FEN.BİL.30 numaralı proje ile destekleyen üniversitemiz Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve yönetim kuruluna teşekkürlerimi sunarım. Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda yardım ve tecrübeleriyle desteğini hiç esirgemeyen ve bu tez çalışmamın planlanması, araştırılması, deneysel çalışmaların yönlendirilmesi, sonuçların değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında da ilgisini esirgemeyip yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı saygıdeğer bölüm hocam ve tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Gökhan AKARCA' ya, araştırma ve yazım süresince destek ve yardımlarını esirgemeyen bölüm hocalarım Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR' a ve Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli yüksek lisans ve doktora öğrencilerinden İlknur GÜNEY, Sena ERDUR, Bilge ŞENGÜL, Gizem ÇAPAN, Sedef AYDIN, Gamze YILDIRIM, Elif BAŞPINAR'a ve yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda destek ve motivasyonunu eksik etmeyen değerli meslektaşım dostum Mehtap ÇEVİK' e teşekkürlerimi borç bilirim. Tüm hayatım boyunca her konuda yanımda olan bana güç veren kıymetli aileme de ayrıca teşekkür ederim.

Dilek DEMİRKOL
AFYONKARAHİSAR, 2019

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1 Etin İnsan Beslenmesindeki Önemi	3
2.2 Fermente Et Ürünleri	3
2.3 Sucuğun Tanımı ve Sucuk Çeşitleri.....	5
2.3.1 Fermente Sucuğun Nitelikleri	5
2.3.2 Fermente Sucuk Teknolojisi	7
2.3.3 Fermente Sucuklarda Olgunlaşma Sürecinde Meydana Gelen Değişimler ..	8
2.4 Fermente Sucuklarda Gelişen Patojenler	10
2.4.1 <i>Escherichia coli</i>	10
2.4.2 <i>Salmonella</i> spp.	12
2.4.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.4.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	18
2.5 Sucukta Kullanılan Katkı Maddeleri	20
2.5.1 Nitrat ve Nitrit Tuzları	20
2.5.1.1 Nitritin Etki Mekanizması ve Antimikrobiyal Etkisi	21
2.5.1.2 Nitrit'in Zararları ve Nitrit'e Alternatif Katkı Maddesi Arayışı	23
2.6 Bakteriyosinlerin Tanımı ve Sınıflandırması.....	25
2.6.1 Bakteriyosin Üreten Starter Kültürler	27
2.6.2 Nisin'in Tanımı ve Kimyasal Yapısı.....	27
2.6.3 Nisin'in Etki Mekanizması ve Antimikrobiyal Etkisi.....	30
2.6.4 Nisin'in Gıdalarda Kullanımı ve Yasal Düzenlemeler	31

3. MATERYAL ve METOT	32
3.1 Materyal	32
3.2 Metod	32
3.2.1 Nisin Solüsyonunun Hazırlanması	32
3.2.2 Fermente Sucukların Üretimi	32
3.2.3 Fizikokimyasal Analizler	35
3.2.3.1 pH Değeri	35
3.2.3.2 a_w Değeri	35
3.2.4 Mikrobiyolojik Analizler	35
3.2.4.1 Ön Hazırlık ve Dilüsyon Hazırlama	35
3.2.4.2 <i>Escherichia coli</i> Türü Bakterilerin Sayımı	36
3.2.4.3 <i>Salmonella</i> spp. Türü Bakterilerin Sayımı ve Dilüsyon Hazırlama	36
3.2.4.4 <i>Staphylococcus aureus</i> Türü Bakterilerin Sayımı	37
3.2.4.5 <i>Listeria monocytogenes</i> Türü Bakterilerin Sayımı	38
3.2.5 İstatistiksel Analizler	39
4. BULGULAR	40
4.1 Farklı Katkı Maddesi Uygulanmış <i>Escherichia coli</i> İnoküle Edilmiş Sucukların Özellikleri ve <i>Escherichia coli</i> Sayımı	40
4.2 <i>Salmonella</i> spp. Sayımı	44
4.3 <i>Staphylococcus aureus</i> Sayımı	47
4.4 <i>Listeria monocytogenes</i> Sayımı	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	57
5.1 <i>Escherichia coli</i> İnoküle Edilmiş Örneklerle Ait Tartışma	57
5.1.1 <i>Escherichia coli</i> Sayımı	57
5.1.2 pH Değeri	58
5.1.3 a_w Değeri	58
5.2 <i>Salmonella</i> spp. İnoküle Edilmiş Örneklerle Ait Tartışma	59
5.2.1 <i>Salmonella</i> spp. Sayımı	59
5.2.2 pH Değeri	61
5.2.3 a_w Değeri	61
5.3 <i>Staphylococcus aureus</i> İnoküle Edilmiş Örneklerle Ait Tartışma	62
5.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i> Sayımı	62

5.3.2 pH Değeri	63
5.3.3 a _w Değeri	63
5.4 <i>Listeria monocytogenes</i> İnoküle Edilmiş Örneklere Ait Tartışma	64
5.4.1 <i>Listeria monocytogenes</i> Sayımı	64
5.4.2 pH Değeri	65
5.4.3 a _w Değeri	65
5.5 Sonuç	66
6. KAYNAKLAR.....	68
ÖZGEÇMİŞ.....	82



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

a_w	Su Aktivitesi
B ₃	Niasin
B ₆	Pridoksin
B ₁₂	Kobalamin
CO ₂	Karbondioksit
Fe	Demir
G	Gram
H	Hidrojen
HCl	Hidroklorik Asit
L	Litre
ml	mililitre
mm	Milimetre
N	Normalite
N ₂	Azot
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NaNO ₂	Sodyum Nitrit
NO	Azot oksit
N ₂ O ₃	Dinitrojen trioksit
NH ₃	Amonyak
nm	Nanometre
pH	Power of Hydrogen
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
Zn	Çinko

Kısaltmalar

ATP	Adenozin trifosfat
BPLS	Brilliant Green Phenol Red Lactose Sucrose
CLA	Konjuge Linolik Yağ Asidi
DEC	Diyarejenik <i>Escherichia coli</i>
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EPEC	Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
GRAS	Generally Recognised as Safe
HUS	Hemolitik Üremik Sendrom
Kcal	Kilo kalori
Kj	Kilo jul
Kob	Koloni Oluşturma Birimi
LAB	Laktik asit bakterileri
Log	Logaritmik
NKT	Nitritli Kütleme Tuzu
RVS	Rappaport Vassiliadis Salmonella
VRB	Violet Red Bile

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1	Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Escherichia coli</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	40
Şekil 4.2	Sucuk örneklerinin <i>Escherichia coli</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.....	41
Şekil 4.3	Sucuk örneklerinin <i>Escherichia coli</i> sayıları üzerine depolama zamanının etkisi maddelerin etkisi.	41
Şekil 4.4	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Escherichia coli</i> inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.	43
Şekil 4.5	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Escherichia coli</i> inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.....	43
Şekil 4.6	Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Salmonella</i> spp. sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	44
Şekil 4.7	Sucuk örneklerinin <i>Salmonella</i> spp. sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.....	45
Şekil 4.8	Sucuk örneklerinin <i>Salmonella</i> spp. sayıları üzerine depolama zamanının etkisi maddelerin etkisi.	45
Şekil 4.9	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Salmonella</i> spp. inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.	46
Şekil 4.10	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Salmonella</i> spp. inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.	47
Şekil 4.11	Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Staphylococcus aureus</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	48
Şekil 4.12	Sucuk örneklerinin <i>Staphylococcus aureus</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.....	48
Şekil 4.13	Sucuk örneklerinin <i>Staphylococcus aureus</i> sayıları üzerine depolama zamanının etkisi maddelerin etkisi.	49
Şekil 4.14	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Staphylococcus aureus</i> edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.	50
Şekil 4.15	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Staphylococcus aureus</i> inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.....	51

Şekil 4.16	Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Listeria monocytogenes</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	52
Şekil 4.17	Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Listeria monocytogenes</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	52
Şekil 4.18	Sucuk örneklerinin <i>Listeria monocytogenes</i> sayıları üzerine depolama zamanının etkisi maddelerin etkisi.	53
Şekil 4.19	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Listeria monocytogenes</i> edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.	54
Şekil 4.20	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Listeria monocytogenes</i> inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.	55
Şekil 4.21	Farklı katkı maddelerinin depolama sonunda sucuklara inoküle edilen bakterilere etkisi.	55
Şekil 4.22	Alternatif.	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1	Sucuğun duyuşal ve fiziksel özellikleri.	6
Çizelge 2.2	Sucuğun kimyasal özellikleri.	6
Çizelge 2.3	Sucuğun mikrobiyolojik özellikleri.	7
Çizelge 2.4	Sucuğun sınıf özellikleri.	7
Çizelge 2.5	Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması.	26
Çizelge 2.6	Bakteriyosin Üreten Starter Kùltürler.	27
Çizelge 3.1	Fermente sucuk formùlasyonu.	33
Çizelge 3.2	Sucuk numunelerine ilave edilen katkı maddeleri ve oranları.	33
Çizelge 4.1	Sucuk örneklerinin <i>Escherichia coli</i> sayımlarının varyans analiz çizelgesi.	40
Çizelge 4.2	Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Escherichia coli</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	40
Çizelge 4.3	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Escherichia coli</i> inokùle edilmiş sucukların pH analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.	42
Çizelge 4.4	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Escherichia coli</i> inokùle edilmiş sucukların a_w analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.	42
Çizelge 4.5	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Escherichia coli</i> inokùle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değeri.	42
Çizelge 4.6	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Escherichia coli</i> inokùle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değeri.	43
Çizelge 4.7	Sucuk örneklerinin <i>Salmonella</i> spp. sayımlarının varyans analiz çizelgesi.	44
Çizelge 4.8	Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Salmonella</i> spp. sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	44
Çizelge 4.9	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Salmonella</i> spp. inokùle edilmiş sucukların pH analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.	45
Çizelge 4.10	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Salmonella</i> spp. inokùle edilmiş sucukların a_w analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.	46
Çizelge 4.11	Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Salmonella</i> spp. inokùle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değeri.	46

Çizelge 4.12 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Salmonella</i> spp. inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.	47
Çizelge 4.13 Sucuk örneklerinin <i>Staphylococcus aureus</i> sayımlarının varyans analiz çizelgesi.	47
Çizelge 4.14 Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Staphylococcus aureus</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	48
Çizelge 4.15 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Staphylococcus aureus</i> inoküle edilmiş sucukların pH analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.	49
Çizelge 4.16 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Staphylococcus aureus</i> inoküle edilmiş sucukların a_w analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.	49
Çizelge 4.17 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Staphylococcus aureus</i> inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.	50
Çizelge 4.18 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Staphylococcus aureus</i> inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.	50
Çizelge 4.19 Sucuk örneklerinin <i>Listeria monocytogenes</i> sayımlarının varyans analiz çizelgesi.	51
Çizelge 4.20 Sucuk örneklerinin depolama boyunca <i>Listeria monocytogenes</i> sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.	51
Çizelge 4.21 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Listeria monocytogenes</i> inoküle edilmiş sucukların pH analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.	53
Çizelge 4.22 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Listeria monocytogenes</i> inoküle edilmiş sucukların a_w analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.	53
Çizelge 4.23 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Listeria monocytogenes</i> inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.	54
Çizelge 4.24 Farklı katkı maddesi uygulanmış <i>Listeria monocytogenes</i> inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.	54

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 2.1 Fermente Sucuk Üretim Akım Şeması.	8
Resim 2.2 <i>Salmonella</i> spp.'nin bulaşma döngüsü.....	13
Resim 2.3 Nitrozamin oluşumundaki kimyasal reaksiyonlar.	24
Resim 2.4 Nisinin kimyasal formülü.	29
Resim 3.1 Fermente sucuk üretimi akış şeması.	34



1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun gittikçe çoğalmasıyla, gıdaya olan ihtiyaç gün geçtikçe giderek artmaktadır. Et, insan sağlığı ve dengeli beslenmede zamanla en önemli gıda maddesi haline gelmiş, bu durum et ve et ürünlerine olan talebin de gittikçe artmasına sebep olmuştur. Nüfusun hızla arttığı Türkiye’de de sağlıklı ve dengeli beslenmenin gerçekleşebilmesi için kırmızı et ve et mamülleri tüketimi ve üretimi son derece önemlidir. (Lorcu ve Bolat 2012, Tosun ve Demirbaş 2012).

Hayvansal protein tüketiminin gelişmişlik göstergesi olarak görüldüğü günümüzde, önemli bir gıda kaynağı olan kırmızı et, taze haliyle tüketildiği gibi tat ve aromaları geliştirilerek ve farklı teknolojik işlemlerle elde edilen mamüller olarak da tüketime sunulmaktadır. Bilim ve teknoloji alanındaki gelişmelerle birlikte et sanayisinde de ilerlemeler kaydedilmiştir. Tüm bunlarla birlikte et tüketimi fazlalaşmış ve üretilen etin çoğunluğu et mamülleri yapımı için değerlendirilmeye başlanmıştır. Ülkemizde ilk sırada fermente sucuk olmakla birlikte sosis ve salam tüketilen et ürünlerinin başında gelmektedir (Erdoğan ve Ergün 2005).

Besleyicilik özelliği yüksek olan et ve et ürünlerinin üretim aşamalarında ve muhafazasında hijyen koşullarına yeterince dikkat edilmemesi doğrudan insan sağlığını olumsuz etkileyebilecek patojen mikroorganizmaların kontaminasyonlarına ve üremelerine, dolayısıyla gıda kaynaklı enfeksiyon ya da intoksikasyonlara sebebiyet verebilmektedir. Bu nedenle enfeksiyon ve intoksikasyonlarda et ve et ürünleri büyük ölçüde önemlidir (Sezgin 2013).

Mikrobiyal kontaminasyon et endüstrisinde ciddi güvenlik ve kalite sorunlarına neden olmaktadır. Et ve et ürünleri, mikrobiyal büyümeyi desteklemek için yeterli miktarda su aktivitesine (a_w), protein içeriğine ve uygun pH değerine sahip besinlerdir. Et ürünlerinde bulunan mikroorganizmalar ürünlerin türüne bağlı olarak bakterilerden mayalara, küflere ve virüslere kadar geniş bir yelpazededir. Bugüne kadar et endüstrisindeki mikrobiyal problemler çoğunlukla bakterilerden kaynaklanmaktadır (Hui 2012, Woraprayote *et al.* 2016).

Et ve et ürünlerinde mikrobiyal riskleri en aza indirmek ya da yok ederek raf ömürlerini uzatmak, organoleptik özelliklerinin ve kalite özelliklerinin iyileştirilmesi ve geliştirilmesi için üretimin farklı aşamalarında tuz, sorbat, nitrat ve nitrit gibi kimyasal maddeler, CO₂ ve N₂ gibi gazlar, starter kültürler, bakteriyosin ve antibiyotik gibi değişik katkı maddeleri günümüzde sıkça kullanım alanına sahiptir (Hampikyan 2006, Boğa ve Binokay 2010).

Yapılan çalışmalarda et ve et ürünlerinde kullanılan nitrat ve nitritin alım sıklığı, dozu ve şekline bağlı olarak akut ve kronik zehirlenmelere sebep olması ve insan sağlığı açısından risk oluşturduğu bunun yanında pişirme ve sindirim sırasında diğer bileşenlerle girdikleri reaksiyonlar sonucu kanserojenik form oluşturma potansiyellerinin olduğu ortaya çıkmıştır. Tüm dünyada kullanımları ile ilgili yasal sınırlamalar bulunan bu katkı maddelerinin insan sağlığı üzerine etkileri tüketicilerde olumsuz algıya sebep olmakta, doğal katkılı et ürünlerine olan taleplerin arttığı ortaya çıkmıştır (Yıldız Turp ve Sucu 2016)

Laktik asit bakterileri (LAB) bakteriyosinleri, bakteriyosin üreten LAB'ın çoğunun gıda kökenlerinden izole edilmesi ve GRAS (generally recognised as safe/ genel olarak güvenilir) olarak kabul edilmeleri sebebiyle doğal ve güvenilir antimikrobiyal katkı maddesi olarak üzerinde en çok durulanıdır (Deegan *et al.* 2006, Woraprayote *et al.* 2016).

Bu çalışmada, fermente sucuklarda kullanılan ve olumsuz etkilere sahip olduğu bilinen nitrit yerine insan sağlığı açısından güvenilir olduğu kabul edilmiş bir bakteriyosin olan nisin kullanımının gıda patojenlerinden *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* üzerine etkileri incelenmiştir.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Etin İnsan Beslenmesindeki Önemi

Et, B grubu vitaminlerin, yüksek biyolojik değerli protein ve minerallerin önemli bir kaynağı olması ve besleyicilik özelliği ile sağlıklı bir beslenmenin önemli bir parçasıdır. Bu sebeple et ürünlerinin tüketimi sağlık açısından son derece önemlidir (Toldra and Milagro 2011, Özbay Doğu ve Sarıçoban 2015).

%75'i su olan kırmızı etin %20'si protein, %3'lük kısmı yağ, %1'i karbonhidrat, %1'i ise vitamin ve mineral madde ihtiva etmektedir. 100 gram kırmızı etin tüketilmesi halinde yaklaşık 119 kcal'lık (500 kj) bir enerji vermektedir. İnsan beslenmesinde tüketilen 100 gr kırmızı et, günlük alınması tavsiye edilen kobalaminin (B₁₂) %37'sini, demirin (Fe) %12'sini, niasinin (B₃) %25'ini, pridoksinin (B₆) %18'ini, selenyumun %24'ünü ve çinkonun (Zn) %32'sini karşılayabilmektedir. Bunların dışında insan beslenmesinde önemi yüksek olan omega-3, A ve E vitaminlerini, bunların yanında bağışıklık sisteminini düzenleyici ve antioksidan etkisi olan ve obezite takibinde önemli bir rolü olan bir yağ asidi olan konjuge linoleik yağ asidi (CLA) de yapısında bulundurmaktadır (Şireli ve Artık 2014).

2.2 Fermente Et Ürünleri

Bilim ve teknoloji alanlarındaki ilerlemelerle birlikte et sektöründe de ilerlemeler gerçekleşmiştir. Bununla birlikte et üretimi ve tüketimi artmış, et üretiminin çoğunluğu et mamülleri olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Et ürünü; soğutma ve dondurma gibi fiziksel işlemlerle raf ömrü arttırılan taze etler dışında farklı teknolojik işlemlerden geçirilerek dayanıklılığı arttırılmış yeni tat, renk, koku ve dış görünüş kazandırılmış ürün olarak tarif edilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliğine göre de et ürünü; “etin işlenmesinden veya işlenmiş ürünlerin daha ileri düzeyde işlenmesiyle elde edilen ve kesit yüzeyi çiğ etin karakteristik özelliklerini göstermeyen ürünler” olarak tanımlanmaktadır (Erdoğan ve Ergün 2005, Bilge 2010, Anonim 2019).

Önemli bir gıda kaynağı olan et, taze haliyle tüketilebildiği gibi çeşitli yöntem ve teknolojik işlemlerle farklı aroma ve lezzet kazandırılmak amacıyla dayanıklılığı arttırılmak suretiyle üretilen ürünler olarak da tüketilebilmektedir. Ülkemizde fermente sucuk olmak başta olmak üzere pastırma, salam ve sosis de tüketimi yüksek olan et ürünleri arasındadır (Erdoğan ve Ergün 2005, Bilge 2010).

Fermente et mamülleri; kıyılmış et ile hayvansal yağın, nitrit ya da nitrat, tuz, şeker, değişik baharatlar ve/veya starter kültürlerle karıştırılmak suretiyle oluşturulan hamurun tabii ya da suni kılıflara doldurulması, ardından kuruması ve fermentasyon işlemi uygulanmasıyla yapılmaktadır (Hugas ve Monfort 1997, Soyer 2002, Bilge 2010).

Gıdalara uygulanan fermentasyon ve kurutma işlemleri en eski koruma yöntemleri arasında yer almaktadır. Fermentasyonun M.Ö. 2500 ve daha eski yıllarda kullanıldığı bilinmektedir. Kıyılmış etin ve çeşitli çeşni maddelerinin karıştırılarak hayvan bağırsağı içine doldurulması ve kurutulmasının ilk olarak Orta Asya'da yaşayan Türk kavimlerinde görüldüğü ileri sürülmektedir. Doğu toplumlarındaki zengin kaynakların ve kültürün batı toplumlarına göç, savaş gibi sosyolojik ve diğer faktörler yoluyla geçişi sonucunda Avrupa toplumlarının fermente gıdalar ile karşılaştığı tahmin edilmektedir (Cebirbay 2014).

Uzun senelerdir kullanılan gıda koruma ve üretim yollarından biri olan fermentasyon, vitamin ve elzem amino asitlerin senteziyle gıda maddelerinin besin değerini yükselten ve bozulmadan korunmasını sağlayan doğal bir metottur. Fermentasyon işlemiyle gıdaların sindirilebilme özelliği arttırılırken, pişmemiş gıdalarda var olan tanen, fitat ve polifenol gibi arzu edilmeyen maddelerin yıkımı ve detoksifikasyonu da gerçekleştirilmektedir (Kabak ve Dobson 2011, Karaçıl ve Acar Tek 2013).

Besleyicilik oranı yüksek ve proteince zengin olan kırmızı et, hijyen eksikliğinde ve/veya doğru muhafaza koşullarında saklanmadığında kolaylıkla bozulabilir yapıdadır dolayısıyla raf ömrü kısa olan bir gıda maddesidir. Etin dayanıklılığını arttırabilmek amacıyla uygulanan fermentasyon işlemi, su aktivitesini düşürmek için yapılan işlemler ve tuz eklenmesi gibi yöntemlerle birlikte gerçekleştirildiğinde etkili bir koruma sağlamaktadır (Campbell-Platt and Cook 1995, Bilge 2010).

2.3 Sucuğun Tanımı ve Sucuk Çeşitleri

Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et ürünleri Tebliğine göre; sucuk tanımı “Büyükbaş ve/veya küçükbaş hayvan karkas etlerinin ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermantasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıtılmış işlem uygulanmamış fermente et ürünüdür.” şeklinde tanımlanmaktadır (Anonim 2019)

Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et ürünleri Tebliğine göre ısıtılmış işlem görmüş sucuk ise; “Büyükbaş ve/veya küçükbaş hayvan karkas etlerinin ve yağlarının veya kanatlı hayvan karkas etleri ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermantasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıtılmış işlem uygulanmış et ürünü” şeklinde tanımlanmıştır (Anonim 2019).

Türk Standartlar Enstitüsü, TS-1070’e göre; “Türk sucuğu büyükbaş ve küçükbaş hayvan etlerinin, yağ, kemik, tendo, fasia, kıkırdak, lenf yumruları ile büyük sinir ve damarlarından ayrıldıktan sonra kıyma makinası veya kuterden çekilerek içine tuz, kırmızıbiber, karabiber, kimyon hâkim olmak üzere çeşitli baharat, çeşni maddeleri, starter kültürlerden bir veya birkaçı, gövde yağı, iç yağı, kuyruk yağı, böbrek yağı, böbrek etrafı yağı ile mevzuatında katılmasına izin verilen katkı maddelerinden bir veya bir kaçının karıştırılıp, kılıflara doldurularak fermantasyona tabi tutulan ısıtılmış işlem görmemiş geleneksel et ürünüdür.” şeklinde tanımlanmıştır.

2.3.1 Fermente Sucuğun Nitelikleri

Türk Standartlar Enstitüsü, TS-1070’e göre fermente sucuğun duyu ve fiziksel özellikleri Çizelge 2.1’ e uygun olmalıdır.

Çizelge 2.1 Sucuğun duyuşal ve fiziksel özellikleri.

Özellik	Değer
Renk	Kiremit renginden, koyu kahverengine kadar değişik ton ve renkte olabilir.
Tat ve Koku	Kendine özgü koku ve tatta olmalı, ekşime, küflenme, kokuşma ve bozulma olmamalı, yabancı tat ve koku bulunmamalıdır.
Görünüş ve Kesit Yüzeyi	Kılıf ile sucuk hamuru arasında hava boşluğu bulunmamalıdır. Kesit yüzeyi; sınıf 1’de mozaik görünüşte olmalı, hava boşluğu ve çatlak olmamalıdır. Sınıf 2’de Kesit yüzeyi mozaik görünüşte olmalı, hava boşluğu ve çatlak mevcudiyeti verilen toleranslar dâhilinde olabilir.
Yapışkanlaşma (likalanma)	Bulunmamalıdır.
Yabancı madde	Bulunmamalıdır.

Türk Standartlar Enstitüsü, TS-1070’e göre fermente sucuğun kimyasal özellikleri Çizelge 2.2’ de gösterilen verilere uygun olmalıdır.

Çizelge 2.2 Sucuğun kimyasal özellikleri.

Özellik	Değer
Rutubet, % (m/m), en çok	40
Tuz, (NaCl cinsinden) % (m/m), en çok	5
Nitrit (NaNO ₂ cinsinden) mg/kg, en çok	50
pH	4,7 – 5,4
Hidroksiprolin, mg/100 g, en çok	225
Boyar madde	Bulunmamalıdır

Türk Standartlar Enstitüsü, TS-1070’e göre fermente sucuğun mikrobiyolojik özellikleri Çizelge 2.3’ te gösterilen verilere uygun olmalıdır.

Çizelge 2.3 Sucuğun mikrobiyolojik özellikleri.

Özellik	Değer			
	N	c	m	M
<i>Salmonella</i> spp.	5	0	0/25 g-mL	
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	0/25 g-mL	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	5	0	0/25 g-mL	
n = Deney numunesi sayısı, c = (m) ile (M) arasındaki sayıda mikroorganizma ihtiva eden kabul edilebilir en fazla deney numunesi sayısı, m = (n-c) sayıdaki deney numunesinin 1 g'ında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla deney numunesi sayısı, M = (c) sayıdaki deney numunesinin 1 g'ında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı.				
1) Koloni oluşturan birim				

Türk Standartlar Enstitüsü, TS-1070'e göre fermente sucuğun sınıf özellikleri Çizelge 2.4'te gösterilen değerlere uygun olmalıdır.

Çizelge 2.4 Sucuğun sınıf özellikleri.

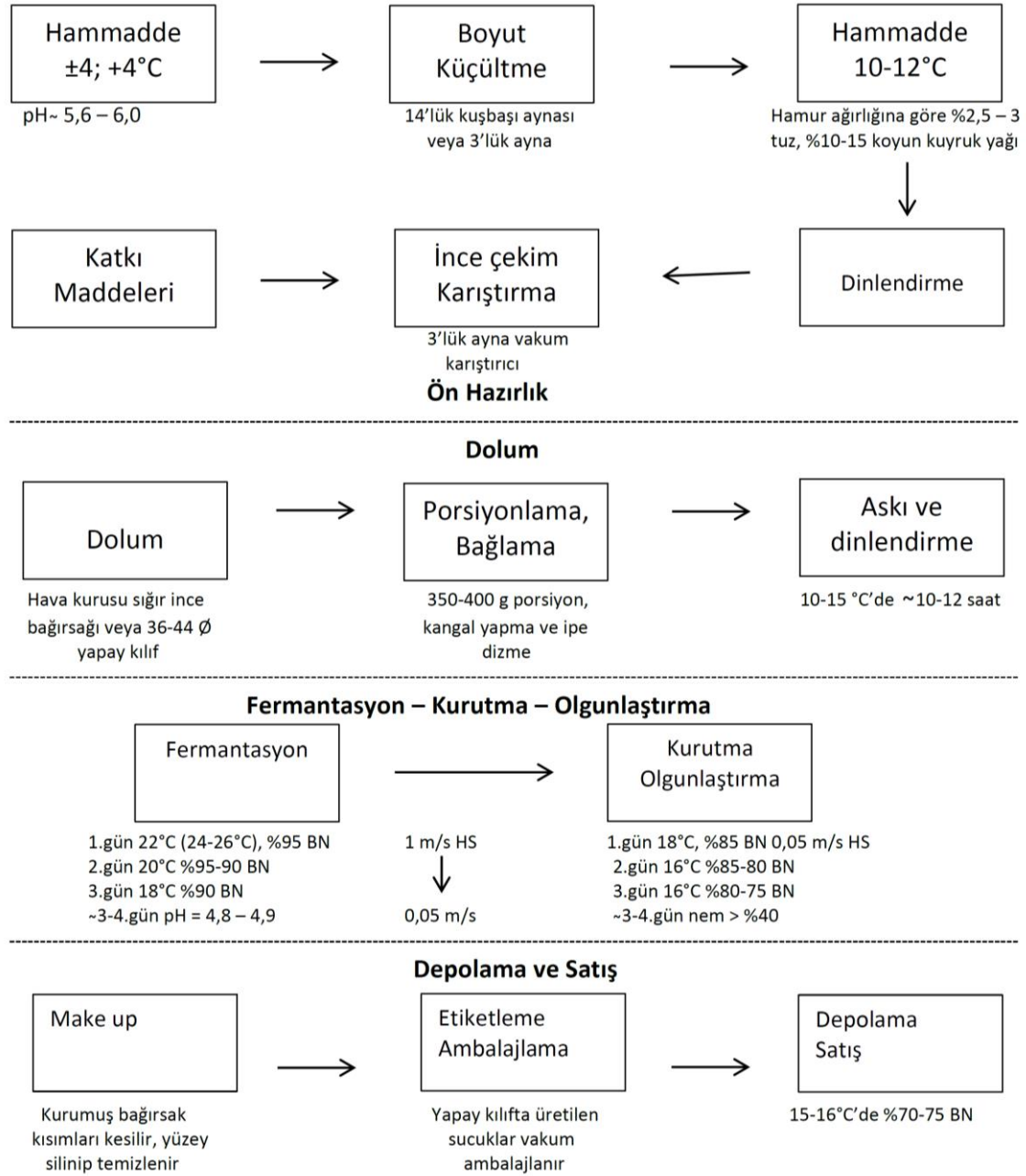
Özellik	Sınıf 1	Sınıf 2
Hava Boşluğu	Yok	5 dilimdeki kesit yüzeyinde toplam, 5 ve 5 mm'den daha küçük en çok 4 boşluk veya çatlak bulunabilir.
Protein (N x 6,25), % (m/m), en az	20	18
Yağ, % (m/m), en çok	30	40

2.3.2 Fermente Sucuk Teknolojisi

Fermente sucuk üretiminde kullanılacak olan başlıca ham maddeler; et, hayvansal yağ, baharatlar ve katkı maddeleridir. Üretimde kullanılacak olan hammaddenin temini sırasında dikkatli ve bilinçli olmak ürün kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesidir.

Sucuk üretim aşamaları sırasıyla genel olarak hammadde seçimi, hammaddenin hazırlanması, sucuk hamurunun hazırlanması, dolum, olgunlaştırma ve ambalajlamadır (Anonim 2016).

Öztan (2008)'a göre fermente sucuk üretim aşaması resim 2.1'deki gibi olmalıdır.



Resim 2.1 Fermente Sucuk Üretim Akım Şeması (Öztan 2008).

2.3.3 Fermente Sucuklarda Olgunlaşma Sürecinde Meydana Gelen Değişimler

Sucuk üretiminde fermantasyon ve olgunlaşma sürecinde karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasına bağlı olarak farklı birtakım metabolitler oluşmaktadır. Tüm metabolik reaksiyonların birbirleriyle olan tepkime düzeylerinin kontrol altında tutulması oldukça

güçtür. Bu bağlamda metabolik faaliyetlerin etkileşimleri oldukça önem arz etmektedir (Ercoşkun 2006).

Fermente et ürünlerinin karakteristik tat, aroma, renk ve tekstür gelişimleri üzerine etkili olan önemli biyokimyasal değişimler proteolizis, lipolizis ve glikolizis reaksiyonlarıdır. Bu reaksiyonlar, fermentasyon ve olgunlaşma periyodunda gelişen mikroorganizmaların veya endojen enzimlerinin aktiviteleri sonucu meydana gelmektedir. Glikolizis sonucu oluşan ürünler; birinci derecede ürünün pH düşüşünden sorumlu olmakla birlikte, oluşan volatil bileşenler dolayısı ile aroma üzerine de önemli etkide bulunmaktadır. Lipolizis sonucu oluşan bileşenler ise, ürünün tipik aroma oluşumunda temel görevi üstlenmektedir. Fermente ürünlerde oluşan volatil bileşenlerin % 60'ı lipolizis reaksiyonları sonucu meydana gelmektedir. Proteolizis ise, bu ürünlerde, düşük pH, düşük su aktivitesi ve yüksek tuz konsantrasyonu dolayısı ile sınırlı düzeyde cereyan etmekte ve volatil bileşenlerin ancak küçük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu nedenle, ürünün aromasından ziyade, oluşan genel lezzet üzerinde sorumlu olabilmektedir (Gökalp *et al.* 1998).

Fermente sucuklarda kalite özelliklerinin geliştirilip arttırılmasında bazı mikroorganizmaların teknolojik ve enzimatik etkilerinin önemi büyüktür. Bu mikroorganizmaların başında laktobasiller, stafilokoklar ve mikrokoklar yer almaktadır. Laktobasiller meydana getirdikleri laktik asit ile pH'ın düşmesi, aroma ve lezzet oluşturmada ve dolaylı olarak renk oluşturmada; stafilokoklar/ mikrokoklar da nitratı indirgeyerek aroma ve renk oluşturmada görev almaktadırlar (Dinçer *et al.* 1995, Yalçın ve Can 2013).

Fermente et ürünlerinin son ürün karakteristik özelliği, belirli sıcaklık ve bağıl nemde olgunlaşma esnasında et formülasyonunda oluşan kompleks mikrobiyel, fiziksel, duyuusal ve biyokimyasal değişiklikler neticesinde meydana gelmektedir. Bu değişiklikler pH düşüşü, fermentasyon, üründe mikroflora değişmesi, sarkoplazmik proteinler ve miyofibrillerin jelleşmesi ve çözünürlüğünün artması, nitratın nitrite yıkımı ile nitrozomiyoglobin oluşması, lipolitik, proteolitik ve oksidatif değişimler ile dehidre olması neticesinde asidifikasyon şeklinde tanımlanabilir (Ordenez, *et al.* 1999, Casaburi *et al.* 2007, Dalmış ve Soyer 2008, Bilge 2010).

2.4 Fermente Sucuklarda Gelişen Patojenler

Et ürünleri, üretimlerinin farklı aşamalarında çeşitli nedenlerle farklı kontaminasyonlar oluşabilmektedir. Bu kontaminasyonlardan mikrobiyal kökenli olanlar sağlık açısından büyük risk taşırlar. Üretimin eksik hijyen programları ile yapılması, üretimde kullanılan malzemelerin kalite açısından yetersizliği, üretimde bulunan personellerin hijyen kurallarına yeterince dikkat etmemesi ve üretimde kullanılan alet ve ekipmanın kötü şartlarda ve bakımsız olması gibi sebeplerle üretilen et ürünlerinde insan sağlığını tehdit eden gıda patojenlerine rastlamak mümkündür (Hampikyan 2006).

Gıda kaynaklı hastalıklar dünya çapında büyük endişe vericidir. Bugüne kadar yaklaşık 250 değişik besin kaynaklı hastalık tanımlanmıştır ve bakteriler besin kaynaklı hastalık salgınlarının üçte ikisinin etken maddeleridir (Le Loir *et al.* 2003).

2.4.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli, *Bacteria* alemi *Enterobacteriales* takımı, *Enterobacteriaceae* familyasından *Escherichiaceae* cinsi bakteri grubunda yer alan bir bakteri türüdür. Bu bakteriyi 1885 yılında ilk kez Theodor Escherich bebeklerin dışkılarından izole ederek bulmuştur. *Escherichia coli*, doğal ortamda sularda, toprakta, insan ve hayvanların gastrointestinal kanalında bulunmaktadır (Manning 2010).

Gram negatif, sporsuz çubuk şeklinde olan *Escherichia coli* nadiren kapsül oluşturan oksidaz negatif, katalaz pozitif, fermantatif ve mezofilik bir bakteridir (Dykes, 2004). Fakültatif anaerob olarak üreyebilmekte olup optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir. Oldukça dirençli bir bakteri olan *Escherichia coli*; 60°C sıcaklıkta 30 dakikada, 70°C sıcaklıkta 2 dakikada inaktive olmakta, oda sıcaklığında uygun ortam koşullarında uzunca bir süre canlı kalabilmekte, sıcaklığı 8°C'ye kadar ortam koşullarında da hayati faaliyetlerini devam ettirebilmektedir. pH 5-8 aralığında daha yavaş üremekle birlikte optimal üreme nötral pH varlığında gerçekleşmektedir. *Escherichia coli*'nin çevresel faktörlere duyarlılık düzeyi diğer gram negatif bakterilerin özelliklerine benzerlik göstermektedir (Taşdemir 2009, Cebirbay 2014).

Glikozdan asit ve gaz oluşturabilen *Escherichia coli*; loktoz, D-mannitol, D-sorbitol, D-ksiloz, , D-mannoz, L-arabinoz, L-ramnoz, maltoz ve trehalozu fermente etmesine karşın adonitol, eritrol, sellobioz, inositol, ve D-arabitolü fermente edememekte, nitratı nitrite indirgeyebilmektedir (Cebirbay 2014).

Escherichia cinsine ait yedi tür bulunmaktadır. Bu türler; *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia blattae*, *Escherichia adecarboxylata*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia alberti* ve *Escherichia vulnaris*'tir. *Escherichia coli*'nin alt sınıflandırması bakterilerin yüzeyinde bulunan çeşitli antijenik yapıların varlığına dayanır. İlk kez Kaufmann'ın yaptığı serotiplendirmeye göre *Escherichia coli*'nin flagellar (H) , somatik (O), ve kapsül (K) antijenlerine göre çeşitlendirilmiştir. Hücre zarının dışını oluşturan lipopolisakarit yapıda ısıya karşı direnci olan O antijeni, beş ya da daha fazla farklı polisakarit grubu tarafından oluşturulmaktadır. 1945'de Kaufmann ve Vahlne tarafından kapsül antijenini göstermek amacıyla sembol olarak K antijeni söylemini ortaya atılmıştır. K antijeni depolisakarit yapıda olup toplamda 60 değişik K antijeninin varlığı kabul edilmektedir. H antijenleri flagellanın bir parçası olduğundan dolayı hareketli olan *Escherichia coli* suşlarında bulunmaktadır. Bu güne kadar 56 adet H antijeni bulunmuştur (Omerovic *et al.* 2017).

Patojenik özelliğe sahip *Escherichia coli*'ler sahip olduğu virölens özelliklerine göre ve oluşturduğu hastalığın türüne göre gruplandırılmaktadır. *Escherichia coli* suşları enterik kökenli enfeksiyonlara (intestinal) ve enterik kökenli olmayan enfeksiyonlara (ekstraintestinal) sebep olanlar şeklinde ikiye ayrılmaktadır (Gyles and Fairbrother 2010).

Bağırsak enfeksiyonlarına sebep olan *Escherichia coli* suşları, ishale sebep olan yani diyarejenik *Escherichia coli* (DEC) olarak isimlendirilmektedir. İntestinal patotipler; enteropatojenik *Escherichia coli* (EPEC), Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC), Vero- ya da Shiga-toksin üreten *Escherichia coli* (VTEC ya da STEC), enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC), enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC), diffuz aderent *Escherichia coli* (DAEC) ve enteroinvaziv *Escherichia coli* (EIEC)'dir (Gyles and Fairbrother 2010). Bu tipler içerisinde en önemlisi enterohemorajik *Escherichia coli*

(EHEC) olup bu bakteri sonucu ölüm olabilen çoğu besin kaynaklı enfeksiyonlarda sebep olan O157:H7 serotipini kapsamaktadır. *Escherichia coli* O157:H7 formu türün en tehlikelisi olup hemolitik üremik sendrom (HUS) denilen hayatı ciddi boyutta hayati risk taşımaktadır (Levinson 2008). Bu bakteri bu hastalıkların yanında; gastroenteritis, enteritis, yara enfeksiyonları, meningitis, ürogenital enfeksiyonlar, mastitis ve sepsis gibi hastalıkların da patojenik etkenleri arasında yer almaktadır (Wasteson 2001).

Escherichia coli, insan ve diğer sıcak kanlı hayvanların bağırsak florasının doğal bir parçası olmasına rağmen bu bakteriye ait bazı serotipleri gıda kaynaklı hastalıkların başlıca sebepleri arasında yer almaktadır (Peacock *et al.* 2001). Yararlı olmayan bakterilere karşı normal bağırsak flora dengesini korumakla birlikte bazı vitaminleri sentezlemekle görevli olan *Escherichia coli* pek çok bakteriyel enfeksiyona da sebep olabilmektedir. Bağırsak enfeksiyonu, üriner yol enfeksiyonları ile enterik kökenli olmayan enfeksiyonlar (menenjit, bakteriyemi, pnömoni) oluşturmaktadır (Turgut 2015).

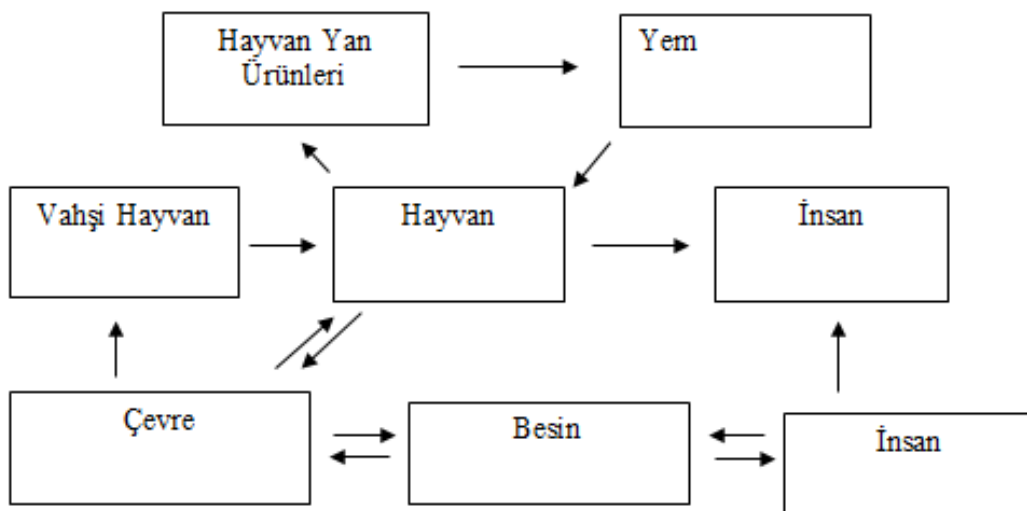
2.4.2 *Salmonella* spp.

Salmonella; *Enterobacteriaceae* familyasına mensup, spor oluşturmayan, kısa, küçük çubuk formunda flagellalı, katalaz pozitif, aerob ya da fakültatif anaerob, oksidaz negatif bir bakteridir. Gelişme gösterebildikleri optimum sıcaklık aralığı 6-37 °C'dir. 10-50 °C dışındaki sıcaklıklarda gelişmemekte, inhibe olmaktadır (Acun 2018).

Gram negatif özelliğe sahip olan *Salmonella*, glikoz başta olmakla birlikte monosakkaritleri fermente edebilmekte fakat sakaroz, laktoz ve salisini fermente edememektedir. Bu bakteriler azot kaynağı olarak amino asitleri kullanırken *S. typhimurim*; nitrit, nitrat ve NH₃ nitrojeni azot kaynağı olarak kullanır. Gelişebilmeleri için optimum pH değeri yaklaşık nötral olmakla birlikte pH 9,0'un üstünde ve 4,0'ın altında bakterisidal etkiye sahiptir. Stafilocokların aksine *Salmonellalar* yüksek tuz konsantrasyonlarına daha duyarlıdır, %9'un üzerindeki tuz konsantrasyonlarında inaktive olmaktadır (Al-Shadefat 2011)

İlk kez 1886’ da Salmon tarafından izole edilen *Salmonella* cinsi içerisinde insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturan bir çok tür bulunmaktadır (Al-Shadefat 2011).

Salmonella spp.'nin tüm serotipleri insanlarda ve omurgalı hayvanlarda oluşturdukları bir zoonoz olan salmonellozis çoğunlukla hayvansal gıdalardan insanlara bulaşmaktadır. İnsanlardan insanlara, hayvanlardan insanlara ya da insanlardan hayvanlara da bulaşabilen salmonellozis, *Salmonella* bakterisinin bağırsaklarda gelişmesi ile meydana gelen ateşli bir gastroenteritistir (Al-Shadefat 2011).



Resim 2.2 *Salmonella* spp.'nin bulaşma döngüsü (Al-Shadefat 2011)

Salmonellozis, yaşlılar, çocuklar ve bağışıklık sistemi güçsüz olan kişilerde daha fazla risk teşkil etmekle birlikte genellikle antimikrobiyal bir müdahale gerektirmeyen bir enfeksiyon çeşididir. Gerekli önlemler alınmadığı takdirde bakteri kan yoluyla organlara yayılabilmekte ve etkisini arttırabilmektedir (Grant *et al.* 2016).

Bu bakterinin yaygın olarak bulunabildiği besin kaynakları kanatlı etleri başta olmak üzere, çiğ et, balık, süt ve süt ürünleri ve bunlara ek bulaşma kaynağı fekal yollarla kirlenmiş sulardır. *Salmonella* spp.'nin insanlarda gastroenterit, tifo ve paratifo olmak üzere üç çeşit hastalığa sebep olmaktadır (Townsend 2006).

Salmonella insan sağlığını önemli düzeyde etkileyen enteropatojenik bir basildir ve lokalize enfeksiyondan sistematik enfeksiyona kadar farklı enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Bu enfeksiyonlar gastroenterit (ishal, ateş, kramp tarzında karın ağrısı)

ve ciddi antibiyotik tedavisi elzem olan hayatı tehdit edici enfeksiyonlar olabilir (Duksal *et al.* 2013).

Dünya genelinde özellikle gelişmekte olan toplumlarda halk sağlığı için tehdit olmakla birlikte her sene *Salmonella*'nın sebep olduğu 1,3 milyon gastroenterit, 19 milyon tifoid ateş ve 3 milyon ölüm olmak üzere yılda 1,3 milyar insanı etkilediği belirtilmektedir (Duksal *et al.* 2013).

2.4.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, *Staphylococcaceae* familyasına mensup, gram pozitif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen hareketsiz bakteri türüdür. İlk kez, Sir Alexander Ogston tarafından 1882 yılında izole edilmiştir. 1884 yılında ise Rosenbach, saf kültür izole etmiş ve düzensiz kümeler halinde üzüm salkımına benzeyen üreme şekilleri nedeniyle Yunanca'da üzüm salkımı anlamında olan "staphyle" den esinlenerek *Staphylococcus aureus* adını vermiştir (Turgay 2013).

Enfeksiyonlara sebep olmasındaki patojenitesi ve gıda zehirlenmelerine neden olmasından dolayı bu bakteri üzerine birçok araştırma yapılmaya devam etmektedir (Gülbandılar 2009).

Gıda kaynaklı hastalıklarda rol oynayan baskın bakteriler arasında *Staphylococcus aureus*, kontamine gıda tüketiminden kaynaklanan gastroenteritlerin önde gelen bir nedenidir. Stafilokokal gıda zehirlenmesi, gıdada önceden oluşturulmuş stafilokok enterotoksinlerin emiliminden kaynaklanır (Le Loir *et al.* 2003).

İntoksikasyon tipinde gıda zehirlenmelerine sebep olan *Staphylococcus aureus* enterotoksinlerinden en toksik olanı enterotoksin A, ısıya dayanıklılığı en fazla olanı enterotoksin B' dir. A toksininin 1 µg hatta 0,1-0,2 µg alınması, B toksini için 20-25 µg alınması istoksikasyona sebep olmak için yeterlidir. Ayrıca *Staphylococcus aureus* 'un sebep olduğu intoksikasyonların meydana gelmesi için mikroorganizmanın gıda üstünde çoğalarak hücre sayısının 6 log kob/g seviyesinde veya daha fazla olması gerekir (Konaç 2006).

Stafilokoklar, yaşı kültürlerde gram negatif özellik göstermeleriyle birlikte çoğunlukla gram pozitifler. Antibiyotiklere, cıva klorür ve sodyum azid tellürit gibi kimyasal maddelere karşı çok çabuk direnç gösterebilmekte; kültürlerde 4 C sıcaklıkta 2-3 ay süre, -20 C sıcaklıkta ise 3 ila 6 ay dayanabilme yeteneğine sahip olan stafilokoklar 60 C'lik ısıl işlem uygulanmasında 30 dakika canlı kalabilme yeteneğine sahiptirler (Kahraman 2016).

Stafilokok suşlarının çoğu mannitol ve karbonhidratları fermente edebilmekte ve koagülaz, termon kleaz ve hemolizin üretebilmektedir. Ayrıca hücre dışı proteolitik enzimler tarafından proteolize neden olabilirler. Fakültatif anaerob olan *Staphylococcus aureus*, aerobik koşullar altında hızla büyüyebilmektedir. 20-37 C arasında hızlı b y yebilmekte olup 7-48 C'lik bir büyüme sıcaklığına sahip mezofil bir bakteri olan *Staphylococcus aureus*, 66 C'de 12 dakikada ve 72 C'de 15 saniye içinde canlılığını yitirir. Optimum su aktivitesi >0,99 ve optimum pH değeri 7-7,5 olmakla birlikte nispeten düşük a_w (0,86) ve pH 4,8'de hayati fonksiyonlarını devam ettirebilen bu bakteri yüksek tuz, %15 şeker ve NO₂ varlığında da büyüyebilmektedir (Ray 2004).

Normal şartlar altında gıdalarda bulunan diğer birçok mikroorganizma için zayıf rakipler olmasına rağmen olumsuz ortam koşullarında gelişebilme yeteneklerinden dolayı *Staphylococcus aureus* bir çok gıdada  o alabilmektedir (Ray 2004).

Enterotoksin  reten *Staphylococcus aureus* suşları genellikle stafilokokal gıda zehirlenmeleri ile ilişkilendirilmiştir. *Staphylococcus aureus*, diğer birçok stafilokoklarla birlikte sağlıklı insan ve hayvanların boğaz, burun, cilt ve saçlarında (tüylerinde) doğal olarak bulunmaktadır. *Staphylococcus aureus*, derideki kesiklerde, insanlarda ve hayvanlarda apse ve akne gibi enfeksiyonlarda bulunabilir ve gıdalarda meydana gelen mikrobiyal kirliliğin bu kaynaklardan geldiği bilinmektedir (Ray 2004).

Stafilokoklar arasında enterotoksin oluşturduğu bilinen suşlar; *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus intermedius* ve *Staphylococcus lentus*'dur. Enterotoksin

üreticisi olan bu suşların gıda zehirlenmelerinde etkileri olup olmadığı henüz tam olarak bilinmemektedir. *Staphylococcus aureus*'u diğer türlerden ayıran nitelikleri ise, K-toksin oluşturmaları ve anaerobik ortam koşullarında glikozu fermente edebilmesidir. (Ray 2004, Kahraman 2016).

Gıdaların tüketilmesiyle oluşan enfeksiyon ve intoksikasyonlar günümüzde en önemli sağlık problemlerinden biridir. Stafilocok enterotoksinleri dünyada en sık meydana gelen besin kaynaklı mikrobiyal intoksikasyonların sebebidir. Enterotoksin oluşturan stafilocok türleri arasında halk sağlığını tehdit eden en önemli tür *Staphylococcus aureus* olduğu için familya içerisinde en fazla araştırması yapılan bakteri de bu türdür. Yapılan bazı çalışmalarda *Staphylococcus aureus* suşlarının %99'unun termonükleaz ürettiği görülmüştür. Termonükleaz aktivitesi ve enterotoksin oluşturma özelliklerine ilaveten yumurta sarısı (lesitinaz) ve koagülaz reaksiyonları da bu bakterinin patojenite özellikleri arasında yer almaktadır (Alişarlı ve Solmaz 2003).

Besin zehirlenmelerine toplum sağlığı açısından bakıldığında stafilocoklar, toksin tipi gıda zehirlenmesine sebep olmakta ve bu tip zehirlenmelerde zehirlenmeye sebep olan toksin gıdada hissedilebilir bir değişiklik meydana getirmemekte, dolayısıyla tüketici gıdada toksin varlığını tespit edememektedir (Konaç 2006).

Staphylococcus aureus enterotoksijenik suşları A, B, C1, C2, C3, D ve E olmak üzere 7 farklı türde enterotoksin üretmektedir. Gıda intoksikasyonlarına en fazla A tipi toksini sebep olmakta ve bu toksini sırasıyla B ve D toksinleri izlemektedir (Kahraman 2016).

Staphylococcus aureus'a bağlı gıda intoksikasyonlarında, intoksikasyonun şiddeti alınan toksin miktarına bağlı olmakla birlikte intoksikasyonun gerçekleşebilmesi için gıda üzerinde bakteri sayısının en az 6 log kob/g seviyesinde olması gerekmektedir. *Staphylococcus aureus* toksin üretimi oranı suşların büyüme hızları, hücre konsantrasyonları ile doğrudan bağlantılı olmakla birlikte a_w , atmosfer şartları, pH ve ortamdaki diğer mikroorganizmaların varlığından da etkilenmektedir. Sağlıklı bir insanın gram veya mililitresinde bulundurduğu 10^{6-7} hücre tarafından üretilen 100-200 ng toksin içeren bir besinden 30 gram veya mililitre tüketilmesi besin zehirlenmesi

yaşanması için yeterlidir ve bu miktar yaşlılarda, çocuklarda ve hasta bireylerde daha azdır (Ray, 2004). Ayrıca bir gıdada *Staphylococcus aureus*' un bulunmaması ya da düşük seviyede bulunması besin zehirlenmelerine kesin olarak sebep olmayacağına anlamına gelmemektedir. Çünkü *Staphylococcus aureus*, gıdaların üretimi ve muhafazası sırasında uygulanan ısıl işlemle yok edilebilir fakat bu bakterinin oluşturduğu insanlarda zehirlenmeye sebep olan enterotoksinler ısıl işlemle yok edilememektedir (Küçükçetin ve Milci 2008).

Stafilokokal besin zehirlenmeleri, enterotoksijenik olan stafilokok türlerinin besinlerde çoğalmaları esnasında sentezledikleri ve sindirim sistemi üzerinde etkili olan enterotoksinlerin oluşturduğu gıda kaynaklı intoksikasyonlardır. Değişik ülkelerdeki rastlanma sıklığı beslenme alışkanlıkları ve coğrafi koşulların da etkisiyle değişmekte olup en sık görülen intoksikasyonlardan biridir ve büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Günşen *et al.* 2003).

Özellikle nişasta ve protein içeriği fazla olan gıdalarda gelişen *Staphylococcus aureus*, genellikle et ve süt ürünlerinde yaygın olarak görülmekte, üretimi ve muhafazası yeterince hijyenik koşullarda yapılmayan, açıkta muhafaza edilen besinler stafilokokal zehirlenme bakımından tehlike oluşturmaktadır (Küçükçetin ve Milci 2008). Türkiye'de besin zehirlenmeleriyle ilgili resmi kayıtların yetersiz olmasına rağmen, farklı ülkelerde yapılan araştırmalar besin zehirlenme vakalarının yaklaşık üçte birinin enterotoksijenik *Staphylococcus aureus*' lar ile kontamine olmuş besinlerden kaynaklandığını göstermektedir (Mutluer *et al.* 1993)

Enterik toksinler vasıtasıyla gerçekleşen gıda zehirlenmeleri; protein yapısında, bağırsak bölgesi ve sinir sistemi üzerinde etkilidir (Yücel ve Anıl 2011). Stafilokok toksinler enterik toksinler olup gastroenterit sebebidir ve kaslarda irritasyon sonucu kasılmalar, bölgesel ödem, mukozalarda hiperemi ve erozyona sebep olur. Gıda zehirlenmesinin yanı sıra deride iltihaplı yaralara, menenjit ve sepsise miye neden olur. Semptomlar, besin ile birlikte alınan toksin miktarı ve etki gücüne, bireyin direnci, yaş ve kilosuna bağlı olarak 30 dakika ile 8 saat arasında meydana gelmektedir. Görülen birinci semptomlar toksinler tarafından otonom sinir sisteminin uyarılması, karın

krampları, mide bulantısı, ishal ve kusmadır. Bazı ikincil semptomlar terleme, titreme, baş ağrısı ve dehidratasyon olmakla birlikte 1-4 gün süren ve nadiren ölümle sonuçlanan hastalıkta semptomlar ve şiddeti kişiler arasında farklılık göstermektedir (Kahraman 2016).

2.4.4 *Listeria monocytogenes*

Listeria cinsi 6 türe sahiptir. Bu türler; *Listeria monocytogenes*, *Listeria welshimeri* , *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria grayi* ve *Listeria ivanovii*'dir. Bu türler içerisinde sadece *Listeria monocytogenes* insanlarda hastalık yapıcıdır (Yavuz ve Korukoğlu 2010).

Listeria monocytogenes, gram-pozitif, fakültatif anaerobik, kapsülsüz ve sporsuz bir mikroorganizmadır. Hücreler yuvarlak uçlu kısa çubuk ya da kokobasil formundadır. Optimum gelişim sıcaklıkları 35-37°C'dir ve suşları 1-45°C aralığında çoğalabilmektedirler. Halotolerant olmaları sebebiyle %10-12 gibi yüksek NaCl konsantrasyonlarında bile gelişebilmektedirler. Gelişmesi için optimum pH değerleri 6.0 ila 8.0 aralığında olup, 4.1-9.6 gibi geniş bir pH aralığında da çoğalabilmektedirler. Karbonhidratlardan asit oluştururlar fakat gaz oluşturmazlar (Yavuz ve Korukoğlu 2010).

Listeria monocytogenes' in oluşumu fermente sucuklar dahil olmak üzere et ve et ürünlerinde yaygın olarak gelişebilen bir patojendir (Hugas *et al.* 2002).

Listeria monocytogenes, insanlarda ve birçok hayvan türünde yüksek ölüm olasılığı taşıyan listeriyoz (listeriozis) olarak bilinen hastalığa neden olmaktadır (Hugas *et al.* 2002, Magalhaes *et al.* 2014). Listeriyoz, en sık gebelikte uterusu, merkezi sinir sistemini veya kan dolaşımını etkilemektedir (Wagner and McLauchlin 2008). Listeriyoz yaklaşık %20' lik bir ölüm oranına sebep olabilmektedir. Bu yüksek ölüm oranı gıda kaynaklı bir hastalık olan listeriyoz ve *Listeria monocytogenes* konusundaki farkındalığı arttırmıştır (Slutsker and Schuchat 1999).

Listeriozis etkeni olarak bilinen *Listeria monocytogenes*, dünyada yılda yaklaşık 2500 kişinin hastalanmasına ve bu kişilerden de 500 kişinin ölümüne sebep olduğu bilinmektedir. Bu bakteri düşük ve yüksek pH, su aktivitesi oranı düşük ortamlarda ve düşük sıcaklıklarda canlılığını devam ettirebilen ve çoğalabilen psikrotrofik bir bakteridir. Gıda kaynaklı olan bu patojen gıda üretiminde kullanılan hayvanların mide ve bağırsak sistemlerinde bulunabilmekte ve bu bakteriyi taşıyan sağlıklı hayvanlar kesim ve işleme sırasında *Listeria monocytogenes* kaynağı olabilmektedir. Tüm bu özelliklerinden dolayı *Listeria monocytogenes*'in gıdalarda kontrol edilmesi oldukça güç ve bu sebeple bulaşmalarda yüksek risk faktörüdür (Muratoğlu *et al.* 2015).

Listeria monocytogenes genellikle doğal çevre ortamlarında yaygın olarak bulunmaktadır. Toprakta, çürümüş bitki örtüsünden, akarsulardan, kanalizasyondan, kentsel ortamlardan, insan ve hayvan dışkılarından sıklıkla izole edilebilmektedir. Doğal çevre ortamında yaygın olarak bulunması, zor koşullara adapte olması ve hayatta kalma kabiliyeti *Listeria monocytogenes* gıda işleme ortamındaki kontrolü ve yok edilmesi açısından gıda endüstrisi için büyük bir endişe kaynağı haline getirmektedir. (Magalhaes *et al.* 2014). Fermente sucuklarda *Listeria* cinsi bakterilerin gelişmesi; pH, NaCl, NaNO₂ ve starter kültürler gibi farklı iç ve dış faktörlerle kontrol altında tutulabilmektedir (Hugas *et al.* 2002).

Listeria monocytogenes, kesim, işleme ve üretim esnasında et ve et ürünlerine bulaşabilmektedir. Bu mikroorganizma düşük ve yüksek pH değerlerinde, düşük su aktivitesinde ve düşük depolama sıcaklıklarında bile büyümeye devam edebilmektedir (Lahti *et al.* 2001).

Fermente sucukların *Listeria monocytogenes* ile kontaminasyonu, ham madde (mezbaa ortamı dahil), çalışma yüzeyleri, kesme tahtaları, bıçakları, personel, üretim sürecindeki ekipmanlar ve personeller sebebiyle gerçekleşebilmektedir. Bu bulaşma kaynaklarını önleyebilmek için temizlik ve dezenfeksiyon prosedürleri eksiksiz uygulanmalıdır (Çolak *et al.* 2007).

2.5 Sucukta Kullanılan Katkı Maddeleri

Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğine göre katkı maddesi; “besleyici değeri olsun veya olmasın, tek başına gıda olarak tüketilmeyen ve gıdanın karakteristik bileşeni olarak kullanılmayan, teknolojik bir amaç doğrultusunda üretim, muamele, işleme, hazırlama, ambalajlama, taşıma veya depolama aşamalarında gıdaya ilave edilmesi sonucu kendisinin ya da yan ürünlerinin, doğrudan ya da dolaylı olarak o gıdanın bileşeni olması beklenen maddeleri” olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2013).

Et ürünlerine ilave edilen tuz, nitrit ya da nitrat gibi katkı maddeleri ve çeşitli baharatların eklenmesiyle ürünün tat, renk, aroma, lezzet ve doku gibi özelliklerinin iyileştirilmesi ve etin su aktivitesi oranına bağlı olarak bozulmaya elverişli bir gıda maddesi olmasından dolayı bu gibi katkı maddelerinin kullanımıyla dayanıklılığının artırılması amaçlanmaktadır (Toldra and Milagro 2011, Yıldız Turp ve Sucu 2016).

2.5.1 Nitrat ve Nitrit Tuzları

Doğal olarak fermente olup olgunlaşan Türk tipi sucuk ve pastırma ülkemizde tüketimi yaygın olan gelenekselleşmiş et ürünlerindendir. Kürleme işlemi ürünün raf ömrünü uzatmak amacıyla fermente edilerek kurutulmuş et ürünlerinde bir hazırlama metodudur. Nitrit ve nitrat gibi katkı maddeleri üründe istenen aroma ve rengin oluşmasını sağlarken bunun yanında antimikrobiyal özelliklerinden dolayı bazı bakterilerin yok edilmesi amacıyla da kullanılır. Bu tuzların sağladığı faydalara rağmen fermentasyon işlemi uygulanmış et ürünlerinde limit değerlerinden fazla kullanımları ve kontrol edilmemeleri sağlığı tehlikeye sokabilecek risklere sebep olabilir (Büyükcinal *et al.* 2016).

Et ürünleri üretiminde nitritin birçok işlevi vardır. Bunlar arasında nitrik okside indirgenmesi ve iyileştirilmiş lezzet gelişmesiyle renk gelişimi tüketici tarafından kabul edilebilirlik açısından en önemli unsurlardır (Sindelar and Milkowski 2011).

Nitritin kurutulmuş et ürünlerinde *Clostridium botulinum* sporlarının gelişimini bastırdığı ve botulizmi engellediği, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Clostridium perfringens* gibi bazı patojenlerin büyümesini kontrol etmeye katkıda bulunduğu bilinmektedir (Pradhan *et al.* 2009, Parthasarathy and Bryan 2012).

Gıdalarda patojen mikroorganizmaların kontaminasyonunu önlemek amacıyla çeşitli antimikrobiyal katkı maddelerinden yararlanılsa da, et ve et ürünlerinde nitrit ve nitrat gibi antimikrobiyal katkı maddelerinin müsaade edilen ölçülerin üstünde kullanılması insan sağlığı üzerindeki negatif etkileri bunun gibi katkı maddelerinin serbestçe kullanımını engellemektedir (Hampikyan ve Çolak 2007).

Nitrit oldukça reaktif bir bileşik olduğundan dolayı et sistemleri içerisinde birçok bileşenle reaksiyona girebilir veya bu bileşenlere bağlanabilir. Isıl işlem uygulanmış et ürünlerinde ısı ile reaktivitesi artar. Özellikle pH<7 deki nitrit iyonu oldukça reaktiftir; aminler, amino asitler, sülfürhidril, fenolik bileşikler ve miyogloblin gibi etin çeşitli bileşenleri ve askorbik asit ile indirgeyiciler ile etkileşime girebilir. Bunların yanında nitrit, lipid oksidasyonunu önleyerek oksidatif stabiliteyi kontrol edebilir (Alahakoon *et al.* 2015, Berardo *et al.* 2016).

Nitrit ve öncüsü nitrat, kurutulmuş etlerin görünüşünü, karakteristik pembe rengin oluşmasını, lezzetini, kalitesini ve *Clostridium botulinum* gibi mikroorganizmaların gelişmesini engelleyerek et ürünlerinin güvenliğini olumlu yönde etkiler (Bedale *et al.* 2016).

Nitrit tüketiciler tarafından en çok korkulan gıda katkı maddeleri içinde yer almaktadır (İnt. Kyn. 1). Ancak nitritle en yaygın şekilde ilişkili olan pastırmaya yönelik satışlar yıllık %10 büyümeye devam etmektedir (Bedale *et al.* 2016).

2.5.1.1 Nitritin Etki Mekanizması ve Antimikrobiyal Etkisi

Taze et kesimlerine tuz, nitrit ve nitrat eklenmesiyle yapılan et kürlenmesi işlemi nemi giderip etin su aktivitesini azaltarak muhafaza edilmesinde faydalı olan çok fonksiyonlu gıda katkı maddeleri olarak bilinmektedir (Archer 2002, Parthasarathy and Bryan 2012).

Nitrit, k rlenmiş et ürünlerinin karakteristik olan lezzet ve renk özelliklerinin oluşmasını sağlamakta, lipid oksidasyonunu kontrol altına almakta ve başta *Clostridium botulinum* olmak üzere patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiye sahiptir (Horsch *et al.* 2014, Sucu 2018).

Pasif bir k rleme maddesi olan nitratin et ürünlerinde k rleme reaksiyonları gerçekleştirebilmesi için nitrite indirgenmesi gerekmektedir. Nitratin nitrite indirgenmesi ette doğal olarak bulunan bakteriler ya da et ürünlerine sonradan eklenen nitrat redüktaz aktivitesine sahip bakteriler tarafından gerçekleştirilir (Terns *et al.* 2011, Horsch *et al.* 2014, Sucu 2018)

Gerçek k rleme bileşeni olan nitrit, kürlenme işlemi sırasında nitrik oksit oluşturan çok işlevli bir gıda katkı maddesi olarak kabul edilir. Ara bileşiklerden olan nitrik oksidin oluşumu askorbat gibi indirgeyiciler ile kolaylaştırılır. Nitröz asidin (HNO_2), postmortem kaslarda olduğu gibi asidik koşullar altında nitritten oluştuğu kabul edilmiştir. Dinitrojen trioksit (N_2O_3) nitröz asitten oluşur ve daha sonra nitrik oksit oluşturur veya etteki diğer substratlarla reaksiyona girer. Nitrik oksit, k rlenmiş renk elde etmek için hem miyoglobin (Fe^{+2}) hem de metmyoglobin (Fe^{+3}) demiri ile reaksiyona girer. Kıyılmış et, metmyoglobin oluşumundan dolayı nitrit ilavesiyle hızlı bir şekilde kahverengi renge dönüşür, çünkü nitit g   l  bir hem pigment oksidan görevi görür ve sırasıyla nitrik okside indirgenir (Alahakoon *et al.* 2015)

Nitrit, yalnız başına ya da diğer tuzlarla kombinasyon halinde aerobik ve anaerobik bakterilerin büyümesini inhibe edebilir ve k rlenmiş et ürünlerinde bakteriostatik ve bakterisidal etki göstermektedir (Sebranek and Bacus 2007, Alahakoon *et al.* 2015).

Nitritin et ürünlerinde kullanılmasının en önemli sebebi *Clostridium botulinum* sporlarının gelişimini önlemesi ve botulizmi kontrol altına almasıdır. Bunun yanında *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* gibi patojenlerin ve *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* ve *Pseudomonas* gibi balık kökenli bakterilerin gelişimlerini de kontrol altına almaktadır (Archer 2002, Pradhan *et al.* 2009, Sindelar and Milkowski 2011, Parthasarathy and Bryan 2012, Sucu 2018).

Nitrit metabolik enzimleri inhibe ederek, oksijen alımını sınırlandırarak ve proton değişimlerini bozarak bakterileri hedef alır. Ek olarak, nitritin k rlenmiş etlerdeki antimikrobiyal etkisinin önemli bir parçası NO içeren reaksiyon dizilerinden kaynaklanmaktadır. NO'ın demire bağlanması ile enzim işlevselliği ve bakteri metabolizması ve büyümesi için gerekli olan demir kullanılabilirliğini sınırlar (Tompkin 2005, Sebranek and Bacus 2007). Nitrit, canlı kalan sporlardan vejetatif hücrenin ortaya çıkmasını engeller ve vejetatif hücrelerdeki hücre bölünmesine engel olarak antibotulinal etki göstermektedir (Pierson and Smoot 1982, Archer 2002, Sucu 2018).

2.5.1.2 Nitrit'in Zararları ve Nitrit'e Alternatif Katkı Maddesi Arayışı

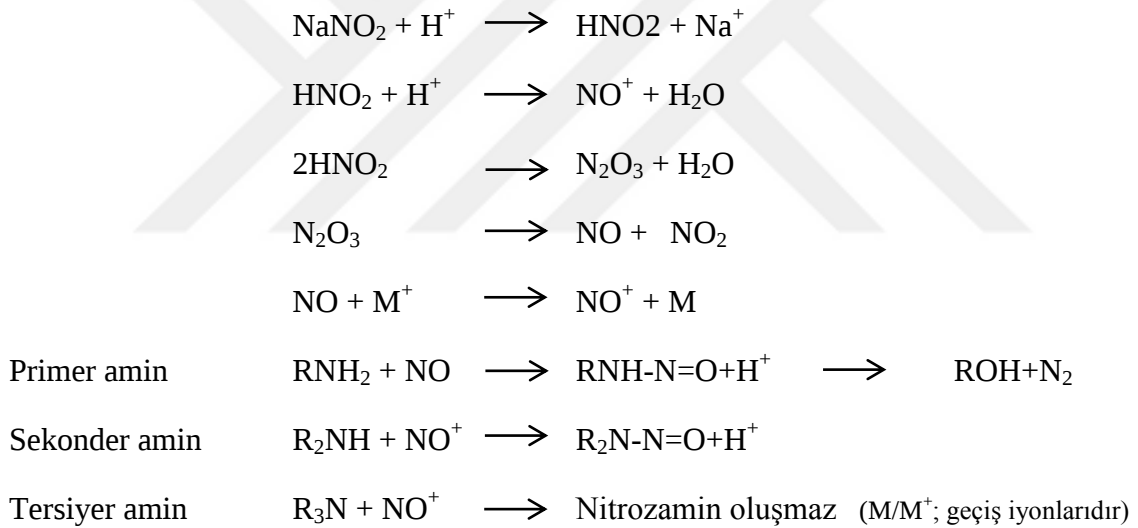
Gıda endüstrisinde gıda katkı maddelerinin kullanımı birçok sorunu ortadan kaldırmakla birlikte bazı sağlık endişelerini de beraberinde getirmiştir. Bu sebeple kullanılan gıda katkı maddelerinin insan sağlığı üzerindeki çalışmalar artmış ve kullanımlarına sınırlamalar getirilmiştir. Kullanılan katkı maddelerin belirlenen sınırlar ölçüsünde kullanımlarına dikkat edilmesi, üretici ve tüketicilerin bilinç düzeyinin arttırılması ve buna paralel olarak, tamamen doğal ve temiz etiketli yeni konseptlerle güvenli ve kaliteli gıda ürünlerine olan işteği de arttırmıştır (Jayasena and Jo 2013, şen *et al.* 2017)

Son dönemlerdeki bilimsel araştırmalar neticesinde nitrat ve nitritin olumsuz etkileri ortaya çıkmaya başlamıştır. Et ve et ürünleri teknolojisinde üretilen son mam lde meydana gelen kalıntı nitrit miktarları, aminlerle ve amidlerle reaksiyona girerek karsinojenik bir tehlike oluşturmaktadır. Bu sebeple tüm dünyada nitrat ve nitrit kullanımı yasalar çerçevesinde sınırlandırılmıştır (Ruiz-Capillas *et al.* 2007, Candan ve Bağdatlı 2018).

Et  r nlerinde nitritlerden elde edilen nitrozat ajanları ile protein ve lipid bozunmasından türetilen sekonder aminler arasındaki reaksiyonlar yoluyla nitrozaminlerin üretilmesi kanserojen potansiyelleri nedeniyle güvenlik açısından endişe duyulmaktadır (De Mey *et al.* 2017).

Bu endişe, araştırmacıların nitrozamin oluşumu riskini azaltmanın yollarını aramaya ve potansiyel insan sağlığı sorunlarını hafifletmeye yöneltmiştir. Bu yollardan biri, nitritin herhangi bir sağlık tehlikesine neden olmadan, benzer özelliklere sahip alternatif bileşenlerle ikame edilmesidir. Geçtiğimiz yıllarda bu amaçla çalışmalar yapılmış ancak bu girişimler nitritin tüm özelliklerine sahip olan etkili bir malzemenin tanımlanmasında başarısız olmuştur (Sindelar and Milkowski 2011).

Nitrit ve aminler tarafından oluşturulan nitrozaminlerin meydana gelmesi için yüksek sıcaklık ve düşük pH değerli bir ortama ihtiyaç vardır. Nitrozaminler, insan vücudunda karaciğer, akciğer, pankreas, mesane, böbrek, yemek borusu ve dil gibi çeşitli organlarda tümör oluşumuna neden olabilmektedir. (Ahn *et al.* 2006). Resim 2.3’de nitrozamin oluşumu sırasındaki kimyasal reaksiyonlar verilmiştir.



Resim 2.3 Nitrozamin oluşumundaki kimyasal reaksiyonlar (Honnikel 2008).

Nitrozamin oluşumunda eklenen nitrit miktarının yanı sıra et kalitesi, yağ içeriği, uygulanan ısıtma işlemi, katkı maddeleri, ambalaj şekilleri, depolama ve olgunlaştırma koşulları da etkili faktörlerdir (Herrmann *et al.* 2015). Bunların yanında nitrozamin oluşumu ortamda var olan bileşik ve iyonlardan da etkilenebilmektedir. Örneğin; askorbik asit, alfa tokoferol ve eritorbik asitin nitrozamin oluşumunu engellediği, tiyosiyanat iyonunun ise oluşumu hızlandırdığı belirtilmiştir (Parthasarathy and Bryan 2012, Sucu 2018)

Nitrit, farklı et ürünlerinde temel olarak mikrobiyal kalite, lezzet ve mevcut rengi korumak ve lipit oksidasyonunu önlemek için kullanılmıştır. Organik veya doğal et ürünlerine yönelik tüketici talebi, sentetik katkı maddelerinin sağlık riski nedeniyle oluşan kaygılardan dolayı et endüstrisi şu anda nitrit alternatiflerinin geliştirilmesine odaklanmaktadır (Alahakoon *et al.* 2015).

Nitrite alternatif arayışı ile baharat ve meyvelerin kullanımına odaklanılmıştır. Ancak bunların hiç biri renk, lezzet, mikrobiyolojik güvenlik ve antioksidan aktivite açısından ihtiyaçları karşılamamaktadır. Bu sebeple asıl eğilim et ürünlerindeki nitrit ve nitrat miktarını azaltmaya yöneliktir (Perea-Sanz *et al.* 2018).

Nitrat ve nitritin sağlık üzerine olumsuz etkilerinin bilinmesi kimyasal koruyucularla formüle edilmiş gıda tüketimi tüketici endişesini arttırmıştır. Bu talep doğrultusunda nitrite alternatif olarak daha sağlıklı kabul edilen daha doğal ve asgari düzeyde işlenmiş gıdalara yönelik çalışmalar artmış, doğal olarak üretilen antimikrobiyal ajanlara ilgi artmıştır (Olasupo *et al.* 2003, Sebranek and Bacus 2007).

Nitritin et ürünlerinde göstermiş olduğu geniş çaplı aktiviteyi gerçekleştirebilecek bir katkı maddesi henüz keşfedilememiştir. Bu sebeple et ürünlerinde nitrit yerine kullanılabilecek daha doğal katkı maddelerinin, organik asitlerin ve mikrobiyal katkıların kullanılması ve güncel teknolojik çalışmaların uygulanması araştırılan potansiyel yöntemlerdir (Yıldız Turp ve Sucu 2016, Sucu 2018).

2.6 Bakteriyosinlerin Tanımı ve Sınıflandırması

Bakteriyosinler, diğer bakterilerin canlılığını sona erdiren veya büyümesini engelleyen bakteriler tarafından üretilen antibakteriyel proteinlerdir. Bir başka tanımla bakteriyosinler, bakteri ribozomları tarafından üretilen ve yakın ilişkili olduğu başka bir bakterinin ölmesine sebep olan ya da gelişimini inhibe eden antimikrobiyal protein veya peptitlerdir. Pek çok laktik asit bakterisi (LAB) farklı çeşitlerde bakteriyosin üretmektedir. Bu bakteriyosinlerden biri olan nisin, günümüzde gıda koruyucusu olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Szabo and Cahill 1998, Cleveland *et al.* 2001, Rodriguez *et al.* 2003, Hampikyan 2006).

Bakteriyosinler, normalde laktik asit bakterileri içeren et ve süt ürünleri gibi gıdalardan izole edildiklerinden yüzyıllardır bilinmeden tüketilmektedir. Çalışmalarda 40 farklı tip *Lactococcus lactis* suşunun 35'inin nisin ürettiği belirlenmiştir. Nisin kullanımı 40'tan fazla ülkede onaylanmış olup 50 yıldan fazla bir süredir gıda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Olasupo *et al.* 2003).

Bakteriyosin üzerinde yapılan çalışmalar nisin için yapılan araştırmalarla birlikte 1930'larda başlamıştır. Günümüzde aralarında büyük farklılıklar olduğu saptanan çok sayıda bakteriyosin tanımlanmıştır. Bu farklılıklara rağmen sahip oldukları bazı ortak özelliklerinden dolayı birkaç sınıflandırmaya tabi tutulmuşlardır (Cleveland *et al.* 2001, Hampikyan 2006). Bakteriyosinlerin genel olarak sınıflandırılması Çizelge 2.4'de verilmiştir.

Çizelge 2.5 Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması.

I.SINIF BAKTERİYOSİNLER (Lantibiotikler)	
Tip A	→ Nisin A, Nisin Z, Lacticin 481, Lacticin 3147
Tip B	→ Mercacidin, Actagardin, Cinnamicin
Diğer	→ Gallidermin, PEP5 Lantibiocin, Mutacin BNY266, Epidermin, Epilancin K7, Cytolicin L1, Cytolicin L2, Subtilin, Salivarcin A
II.SINIF BAKTERİYOSİNLER	
Alt Grup II a	→ <i>İki Peptidli Bakteriyosinler:</i> Lactococcin G, Plantaricin S, Plantaricin JK, Plantaricin EF, Lactacin F
Alt Grup II b	→ <i>Kuvvetli Anti-listerial Aktiviteli Pediocin Benzeri Bakteriyosinler:</i> Pediocin PA-1, Pediocin AcH, Sakacin A, Sakacin P, Eterocin A
Alt Grup II c	→ <i>Bağımlı Bakteriyosinler:</i> Divergicin A, Diver4gicin 750, Acidicin B, Enterocin P
Alt Grup II d	→ <i>Bağımsız Bakteriyosinler:</i> Enterocin L50
Alt Grup II e	→ <i>Yukarıdaki Hiçbir Alt Gruba Girmeyen Bakteriyosinler:</i> Lactococcin A, Lactococcin B, Enterocin B
Diğer	→ Pisilocin 126, Mesenterecin Y105, Catnocin B2, Beviricin MN
III.SINIF BAKTERİYOSİNLER	
Heveticin J	→ Bu sınıfta bulunan tek bakteriyosindir.

2.6.1 Bakteriyosin Üreten Starter Kültürler

Biyokoruma, mikroorganizmaların ya da bu mikroorganizmaların antimikrobiyal ürünlerinin kullanılmasıyla besinlerin raf ömrünü uzatan bir metottur. Bakteriyosin üreten starter kültürlerden laktik asit bakterilerinin biyokorumaya yönelik doğal bir yetenekleri mevcuttur. Gıdaların fermentasyonunda büyük rol oynayan laktik asit bakterileri bu fermente gıdaların raf ömürlerini çiğ ve fermente olmamış gıdalara kıyasla uzatmaktadır. Zararlı bakterilere karşı etkileri; karbonhidratı fermente etmek suretiyle organik asit üretmeleri, besin maddeleri için diğer bakterilere rakip konumunda olmaları, hidrojen peroksit üretmeleri ve bazı türleri için bakteriyosin üretebilmelerine dayandırılabilir (Hugas 1998, Messens *et al.* 2003, Gill and Holley 2003, Hampikyan 2006). Bakteriyosin üreten bazı starter kültürler Çizelge 2.6'da verilmiştir.

Çizelge 2.6 Bakteriyosin Üreten Starter Kültürler (Hampikyan 2006).

<i>Lactococcus lactis</i>	Nisin A, Nisin Z, Lacticin 481
<i>Lactobacillus sakei</i>	Lactocin S, Sakacin P, Sakacin A, Baviricin MN
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Epidermin, Epilancin K7, PEP5, Gallidermin
<i>Staphylococcus gallinorum</i>	Gallidermin
<i>Streptococcus salivarius</i>	Salivaricin A
<i>Streptococcus mutans</i>	Mutacin
<i>Pediococcus acidilactis</i>	Pediocin PA-1, Pediocin AcH
<i>Bacillus subtilis</i>	Subtilin
<i>Enterococcus faecalis</i>	Ctolycin L1, Ctolycin L2
<i>Enterococcus faecium</i>	Enterocin A
<i>Carnobacterium piscicola</i>	Pisciocin 126, Carnocin B2
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Mesenteriocin Y105
<i>Leuconostoc gelidum</i>	Leucocin A
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Helveticin J

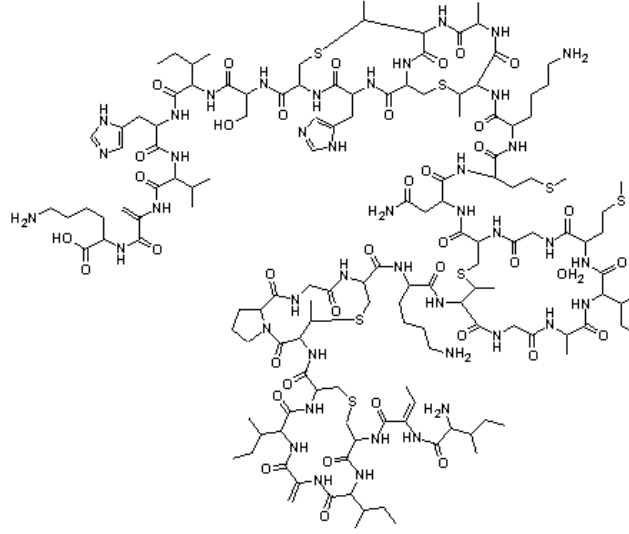
2.6.2 Nisin'in Tanımı ve Kimyasal Yapısı

1928'de Rogers tarafından keşfedilen nisinin gıdalarda ilk kullanımı 1951'de gerçekleşmiş olup, WHO (World Health Organization / Dünya Sağlık Örgütü) ve FAO (

Food and Agriculture Organization / Gıda ve Tarım Örgütü) tarafından 1969'da gıda koruyucu maddeleri arasına alınmıştır. Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi tarafından “Generally Recognized as Safe (GRAS)” statüsünde olduğu kabul edilen nisin (Millette *et al.* 2007) yapılan araştırmalar neticesinde insan sağlığı açısından tamamen güvenilir bulunması sebebiyle antimikrobiyal etkisinden dolayı çeşitli gıdalarda kullanım alanı bulmaktadır (Turgay 2013, İnt. Kyn. 2)

Nisin, doğal, toksikolojik olarak güvenli antibakteriyel bir gıda koruyucudur. Doğal olarak kabul edilir çünkü gıda sınıfı laktik asit bakterisi *Lactococcus lactis*' in bazı suşları tarafından üretilen bir polipeptittir. Nisin geniş bir gram pozitif bakteri aralığına karşı antimikrobiyal aktivite sergiler ve özellikle sporlara karşı etkilidir. Gram negatif bakteri, maya ve küflere karşı çok az aktivite gösterir veya hiç göstermez (Broughton 2005). Ancak nisin, EDTA tuzları (etilen diamin tetra asetik asit) ile kombinasyonu şeklinde kullanıldığında gram negatif bakterileri de inhibe edebildiği bilinmektedir (Economou *et al.* 2009).

34 amino asitten oluşan nisinin ($C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$) molekül ağırlığı 3353 daltondur. Özellikle asitliği yüksek olan gıdalarda *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* ve *Bacillus* sporları dahil bir çok gram pozitif bakterinin gelişmesini engellediği bilinen nisin bir antibiyotik olarak kullanılmak üzere kabul edilmiş olup tedavi yelpazesi çok geniş olmadığı için tedavi amaçlı kullanımı pek uygun değildir. Nisin sindirim sisteminde parçalandığı için güvenli bir şekilde gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir. Nisin ürün güvenliğini arttırmak amacıyla diğer koruyucu yöntemler ile birlikte kullanılmakta; asetik asit, laktik asit ve sitrik asit ile birlikte kullanıldığında haşlama ve pastörizasyon uygulamalarının etkinliğini arttırmaktadır (Akarca *et al.* 2014).



Resim 2.4 Nisinin kimyasal formülü (İnt. Kyn. 2).

Kimyasal bileşim ve gıdanın fiziksel koşulları, bakteriyosinin etkinliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Kuru formda yıllarca özelliğini yitirmeden kalabilen nisin, pH 2’de pH’ın 8 olduğu ortama göre 228 kat daha çok çözünür (nisinin pH 2’de çözünürlüğü 57 mg/ml, pH 8-12 aralığında 0,25 mg/ml’ dir) (Liu and Hansen 1990, Kurt ve Zorba 2005).

Gıdaların güncel muhafaza yöntemlerinden biri olan bakteriyosinler, bakteriyel patojenleri kontrol altında tutmak amacıyla gıdalarda tek başına ya da diğer fiziksel ve kimyasal engellerle kombinasyon halinde kullanımı yapılan araştırmalara konu olmaktadır. Nisin, *Lactococcus lactis*’in bazı suşları tarafından üretilen düşük molekül ağırlıklı bir bakteriyosin olup kullanımı en yaygın olan bakteriyosindir. Birçok çalışmada et ürünleri yapımında kullanılan nitrit miktarını azaltmak amacıyla nisin kullanılmış olup nitrit ve nisin kombinasyonlarının *Clostridium perfringens* ve *Clostridium sporogenes* sporlarını inaktive ettiği görülmüştür.

Antimikrobiyal olma özelliği nedeniyle nisin son yıllarda süt ve süt ürünleri, et, kanatlı ve deniz ürünleri gibi çeşitli gıda maddelerinde ve bira ve şarap sanayinde kullanılmaya başlanmış ve birçok ülke tarafından onaylanmış güvenilir bir gıda katkı maddesi olarak gıda endüstrisinde yerini almaya başlamıştır.

2.6.3 Nisin'in Etki Mekanizması ve Antimikrobiyal Etkisi

Geniş bir yelpazede gram pozitif bakterilere etkili olan nisin ayrıca *Clostridium* ve *Bacillus* türlerinin sporlarına karşı bakterisidal etkiye sahipken gram negatif bakterilere, maya ve küflere karşı etkisiz olduğu ya da az etkili olduğu bilinmektedir (Chen and Hoover 2006)

Gram negatif bakterilerin nisin direnci, bazı hidrofobik çözünenlere ve makromoleküllere karşı etkili bir bariyer görevi gören hücre zarının en dış tabakasını oluşturan koruyucu dış zardan kaynaklanmaktadır (Olasupo *et al.* 2003).

Nisin, duyarlı hücrelerin membranlarını etkilemek suretiyle bakterisidal etkisini gösterir. Nisin molekülünün pozitif yüklü N- ve C-terminal uçları ile hücre membranında bulunan negatif yüklü fosfolipitler reaksiyona girer ve membran fonksiyonlarını 2-2,5 nm çaplarında porlar oluşturmak suretiyle bozar. Oluşan bu porlardan hücre içinde bulunan çeşitli aminoasitler, ATP ve monovalent katyonlar hızlı bir şekilde dışarı çıkar, dolayısıyla hücre membran potansiyelinin hızlı bir şekilde azalmasına ve hücre lipozomlarında pH değerinin düşmesine sebep olur (Breukink *et al.* 1998, Borch and Arinder 2002, Wiedemann *et al.* 2004, Hampikyan 2006).

Nisinin farklı bir por oluşturma mekanizması ise lipozomal membranların fosfolipid kompozisyonuyla ilgilidir. Nisin, fosfolipid komponentlerinden hücre duvarı sentezinde bir prekursor olan Lipid II molekülüne bağlanarak etkisini göstermektedir. Nisin, fosfatidilgliserol lipozomlarının anyonik yüzeyleriyle birleşir ve fosfolipit gruplarındaki lipitleri olumsuz yönde etkiler (Wiedemann *et al.* 2001, Hampikyan 2006)

Sonuç olarak nisinin iki önemli etki mekanizması vardır. Birincisi membranlarda porlar oluşturmak suretiyle hücre içindeki organellerin ve diğer maddelerin dışarı çıkmasını sağlaması, ikincisi ise membranlarda Lipid II molekülünün, peptidoglikan zincirine birleşmesini önlemek suretiyle hücre duvarının sentezini engellemesidir (Breukink *et al.* 1998, Wiedemann *et al.* 2001, Borch and Arinder 2002, Hampikyan 2006).

Nisin, duyarlı hücrelerin spor oluşturmalarını engellerken, oluşmuş olan sporlara da yapısında bulunmakta olan bir ya da daha çok dehidro residüllerinin spor membranında bulunan sülfidril gruplarıyla kovalent şekilde bağlanarak etki eder (Koponen 2004, Hampikyan 2006).

Bazı bakteriyosin üreten laktobasillerin, ette fermentasyon işlemi sırasında *Listeria* cinsi bakterilerin büyümesi üzerindeki inhibitör etkisi bilinmektedir (Hugas *et al.* 2002).

2.6.4 Nisin'in Gıdalarda Kullanımı ve Yasal Düzenlemeler

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından da gıda katkı maddesi olarak onaylanmış bir bakteriyosin olan ve Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi tarafından “GRAS” olarak kabul edilen nisin, son yıllarda et, süt, kanatlı ve deniz ürünleri endüstrisinde geniş çapta güvenle kullanılmaya başlanmıştır (Bouttefroy *et al.* 2000, Nattress *et al.* 2001, Hampikyan 2006).

Nisin, pastörize peynirde *Clostridium*'un gelişmesini kontrol altında tutmak için ve ayrıca salata sosları, konserve ve et ürünlerinde koruyucu olarak kullanılmaktadır (Millette *et al.* 2007).

Diğer çalışmalar, nisinin belirli koşullar altında ette kullanılabileceğini göstermektedir. Yaygın olarak incelenen alan nisinin sucukta kullanılmasıdır çünkü sucukta meydana gelen bozulmalar genellikle bakteriyosinler tarafından inhibe edilen laktik asit bakterilerinden kaynaklanmaktadır (Cleveland *et al.* 2001).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

Çalışmamızda kullanılan fermente sucukların üretiminde kullanılacak olan kıyma ve baharatlar Afyonkarahisar piyasasından temin edilmiştir.

Fermente sucuk üretimi ve nisin solüsyonunun hazırlanması Afyon Kocatepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Analizlerde kullanılan bakteriler; *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* 'dir.

3.2 Metod

3.2.1 Nisin Solüsyonunun Hazırlanması

2,5 gr nisin (Sigma – N5764) 200 ml 0,02 N HCl içerisinde çözüldü ve ardından 0,22 µm membran filtreden geçirilip sterilize edilmiştir (Schillinger *et al.* 2001).

3.2.2 Fermente Sucukların Üretimi

Çalışmada kullanılan sucukların üretimi için çekilmiş yağsız sığır eti (%90) ve çekilmiş sığır et yağından (%10) oluşan karışım 24 saat 4°C’de muhafaza edildi. Süre sonunda Öztan (2008)’in formülasyonuna göre sucuk hamuru hazırlanmıştır (Çizelge 3.1). Hazırlanan sucuk hamurlarına farklı oranlarda nitrit ve nisin ilaveleri yapılarak (Çizelge 3.2) 300’er gramlık parçalara ayrılıp ayrı ayrı *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* bakterileri inoküle edilip suni bağırsak kullanılarak dolum işlemi gerçekleştirilmiştir. Dolum işleminden sonra ilk dört gün 20°C’de, üç gün 17°C’de olmak üzere 7 gün olgunlaştırma sürecinden sonra mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir.

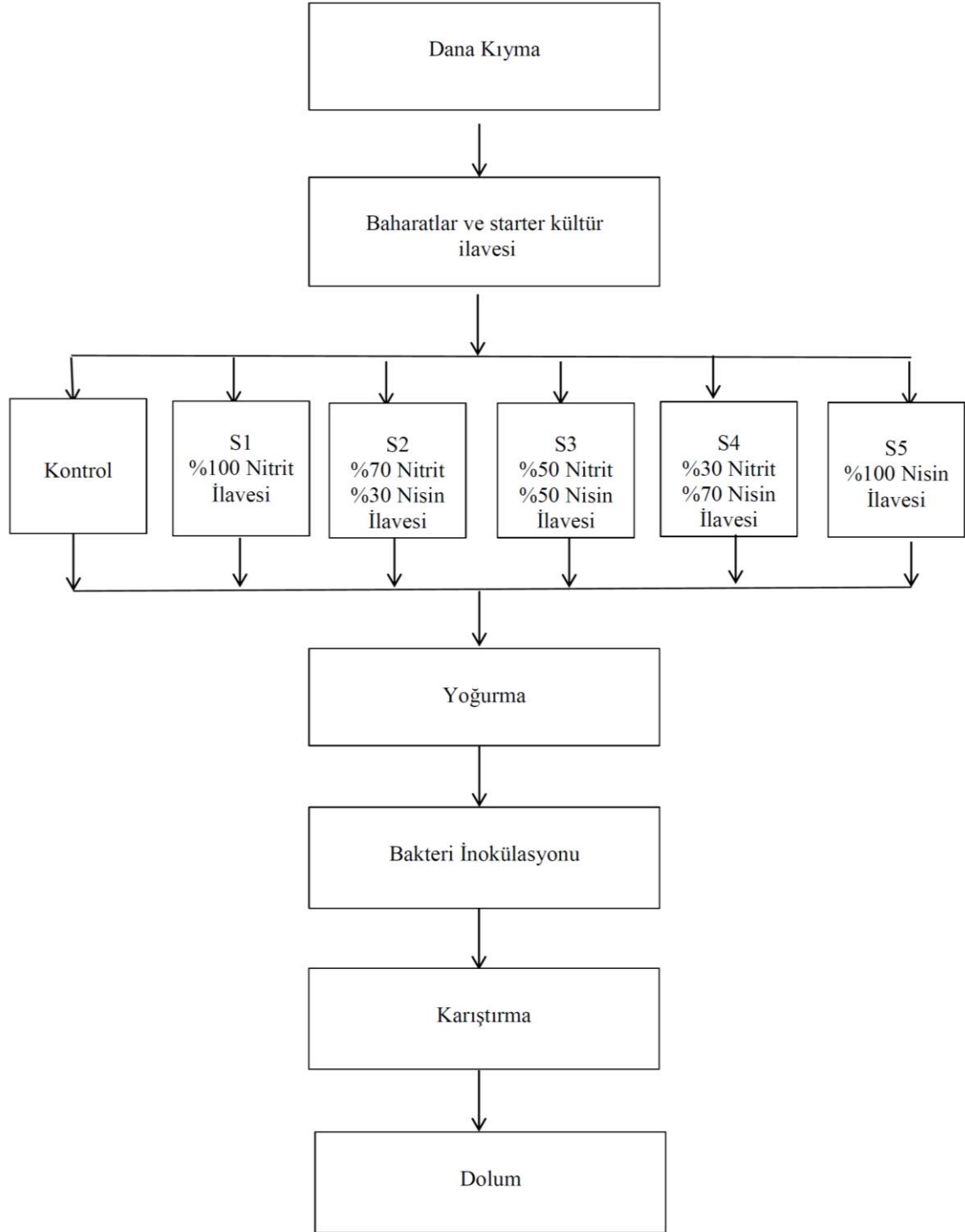
Çizelge 3.1 Fermente sucuk formülasyonu (100 kg sucuk hamuru için) (Öztan 2008).

Bileşenler	Miktarı (gr)
NKT (%0,05 NaNO ₂ katkılı)	2000-3000 g
Karabiber	300-500 g
Kırmızı Biber	300-500 g
Kimyon	200-400 g
Yenibahar	200-400 g
Soyulmuş Sarımsak	400-1000 g
Şeker	500-1000 g

Numuneler; Kontrol, S1, S2, S3, S4 ve S5 olarak numaralandırılmış olup S1 numunesine %100 Nitrit (%0,05 NaNO₂ katkılı NKT), S2 numunesine %70 Nitrit ve %30 Nisin, S3 numunesine %50 nitrit ve %50 nisin, S4 numunesine %30 Nitrit ve %70 Nisin, S5 numunesine %100 Nisin (100 µg) eklenmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2 Sucuk numunelerine ilave edilen katkı maddeleri ve oranları.

Numune	Nitrit Oranı	Nisin Oranı
K (Kontrol Numunesi)	0	0
S1	%100	0
S2	%70	%30 (30 µg)
S3	%50	%50 (50 µg)
S4	%30	%70 (70 µg)
S5	0	%100 (100 µg)



Resim 3.1 Fermente sucuk üretimi akış şeması.

Escherichia coli bakterisi için uygulanan bu proses aşamalarının tamamı çalışmada kullanılan tüm patojen bakterileri için de ayrı ayrı uygulanmıştır.

Numunelerde karışıklığın önüne geçmek amacıyla Kontrol, S1, S2, S3, S4 ve S5

kodlamalarına ek olarak *Escherichia coli* inoküle edilen numuneler SEC, *Salmonella* spp. inoküle edilen numuneler SSL, *Staphylococcus aureus* inoküle edilmiş numuneler SSA ve *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş numuneler ise SLM harfleriyle tanımlanmıştır.

Sucuk numunelerinin hazırlanması ve bakteri inokülasyonlardan sonra 0. gün ve olgunlaşma sonrası 7. günlerde örnekler alınarak fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Fizikokimyasal Analizler

3.2.3.1 pH Değeri

Hazırlanan sucuk numunelerinin pH değerlerine Ohaus (ST 5000) cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.3.2 a_w Değeri

Örneklerimizin a_w değerleri; Novasina LabTou- a_w (Novasina AG, Lachen İsviçre) cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.4 Mikrobiyolojik Analizler

3.2.4.1 Ön Hazırlık ve Dilüsyon Hazırlama

Sucuk numunelerinin her birinden steril ortam koşullarında 10'ar gr numune alınarak steril stomacher torbalarına konulmuştur. Steril ringer çözeltisinden 90 ml ilave edilip stomacher (BagMixer® 400 P-080921247) de 1 dakika karıştırılarak homojenize edilmiştir. Ardından her numuneden ayrı ayrı 1'er ml'lik örnekler alınıp içerisinde 9 ml steril ringer çözeltisi bulunan tüpler içerisine ilave edilip 10^{-2} 'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır.

3.2.4.2 *Escherichia coli* Türü Bakterilerin Sayımı

Analizde kullanılacak (VRB) Agar (Merck 1.01406.0500), 39,5 gr besiyeri 1000 ml damıtılmış suda çözündürülerek ve sterilize edilerek hazırlanmış sonrasında 45°C'ye soğutulmuştur. Soğuyan besiyeri, steril petri kaplarına en az 2 mm kalınlıkta olacak şekilde yaklaşık 12-15 ml çift paralelli olarak dökülmüştür. Besiyerinin soğuyup katılaşmasından sonra hazırlanan dilüsyonlardan steril pipet yardımıyla 1'er ml petri kaplarına eklenmiş ardından %80'lik etil alkolde bekletilerek sterilizasyonu sağlanmış drigalski spatülü yardımıyla homojen bir şekilde yayma işlemi yapılmıştır. Numunenin besiyeri tarafından emilmesinden sonra VRB besiyerinden yaklaşık 5 ml olacak şekilde ikinci kez donmuş besiyerinin üzerine ilave edilerek karıştırılmıştır. Besi yerinin katılaşmasının ardından petri kapları ters çevrilerek 24-48 saat süre 37°C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kaplarında oluşan pembe renkli koloniler işaretlenerek sayımı yapılmıştır (Halkman 2005, Akarca 2013, Anonim 2015, Ceran 2018).

3.2.4.3 *Salmonella* spp. Türü Bakterilerin Sayımı ve Dilüsyon Hazırlama

Öncelikle analizde kullanılacak olan Nutrient Broth (1.05443.0500), Rappaport Vassiliadis Salmonella (RVS) Broth (Merck 1.07700) ve Brilliant Green Phenol Red Lactose Sucrose(BPLS) Agar (1.10747.0500) hazırlanmıştır.

Nutrient Broth, 8,0 gr tartılarak 1 litre damıtık suda çözülmüş ve 121°C sıcaklıkta 15 dakika; Rappaport Vassiliadis Salmonella (RVS) Broth 41,8 g/L olacak şekilde damıtılmış su içerisinde çözündürülüp 115°C'de 15 dakika sterilize edilerek hazırlanmıştır. Brilliant Green Phenol Red Lactose Sucrose (BPLS) Agar 51,5 g tartılarak 1 litre damıtılmış su içerisinde tamamen çözülünceye kadar kaynar su banyosunda karıştırılmak suretiyle eritilerek sterilize edilmiş ardından 45°C'ye kadar soğutulup steril petri kaplarına dökülmüş ve analize hazır hale getirilmiştir (Halkman 2005, Anonim 2014, Anonim 2017).

Analizi yapılacak sucuk örneklerinden 10'ar gram numune alınarak steril stomacher torbalarına koyulmuş ve üzerine 90 ml Nutrient Broth ilave edilip stomacherde karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Elde edilen bu ön zenginleştirme kültürleri 24 saat 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda numune ve nutrient broth karışımlarından 1'er ml alınarak içerisinde steril 9 ml Rappaport Vassiliadis Salmonella (RVS) Broth bulunan tüpler içerisine aktararak 10⁻⁵'e kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlar 24 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edilip ekimleri yapılmış sonrasında petri kapları ters çevrilerek 37°C sıcaklıkta 24 saat süre inkübasyona bırakılmıştır. Ekimler Brilliant Green Phenol Red Lactose Sucrose (BPLS) Agar yüzeylerine çift paralel çift tekerrür olacak şekilde yapılmıştır. İnkübasyon sonunda petri kutularında oluşan kırmızı zonlu pembe koloniler sayılmıştır (Halkman 2005, Kahraman 2016, Ceran 2018).

3.2.4.4 *Staphylococcus aureus* Türü Bakterilerin Sayımı

Öncelikle Baird-Parker Agar hazırlamak için 58,0 gr besiyeri tartılarak 950 ml damıtılmış su içerisinde çözündürülmüştür. Hazırlanan besiyeri 15 dakika 121°C sıcaklıkta otoklavda sterilizasyonu yapılmış ve sonrasında 45°C sıcaklığa kadar soğutulmuştur. Soğutulmuş besiyeri üzerine oda sıcaklığındaki yumurta sarısı-tellürit (Merck 1.03785) emülsiyonundan 50 ml manyetik karıştırıcıda karıştırılırken eklenmiştir. Karışımın homojen hale gelmesinden sonra besiyeri steril petri kaplarına yaklaşık 12-15 ml en az 2 mm olacak şekilde çift paralelli olarak dökülmüştür (Anonim 2001, Halkman 2005, Akarca 2013, Ceran 2018).

Besiyeri, petri kaplarına düzgün bir şekilde yayıldıktan sonra katılaşması beklenmiş ardından hazırlanan dilüsyonlardan steril pipet yardımıyla 1'er ml alınıp petri kaplarına eklenmiştir. %80'lik etil alkolde bekletilmiş drigalski spatülü bunzen beki alevinde yakılarak sterilizasyonu sağlanmış ardından petrilere ilave edilen dilüsyon besiyerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Besiyeri tarafından numunenin emilimi sağlandıktan sonra petriler ters çevrilerek 37°C sıcaklıkta 24-48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda oluşan 1-1,5 mm çapındaki parlak siyah renkli koloniler işaretlenerek sayımı yapılmıştır. Koloniler işaretlendikten sonra petri kapları

18 saat süre ile ikinci bir inkübasyona tabi tutulmuştur. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda temiz zonlu koloniler ile temiz zon oluşturmeyen parlak siyah koloniler ayrı ayrı sayılmış, her iki tip koloniden 5'er tanesine kolagülaz testi uygulanmıştır. Her iki tip popülasyondaki kolagülaz pozitif *Staphylococcus* sayısı bulunup numunedeki kolagülaz pozitif *Staphylococcus* sayısı hesaplanmıştır (Ceran 2018, Halkman 2005).

3.2.4.5 *Listeria monocytogenes* Türü Bakterilerin Sayımı

Öncelikle analizde kullanılmak üzere Fraser *Listeria* selective enrichment Broth (Merck 1.10398) ve Oxford *Listeria* selective Agar (Merck 1.07004) hazırlanmıştır. Fraser *Listeria* selective enrichment Broth hazırlamak için sterilize edilmiş 1 litre Fraser Broth besiyerine 1'er ml steril damıtılmış suda çözülmüş 1 şişe amonyum sitrat katkısı (Fraser *Listeria* Ammonium Iron(III) Supplement) ve 2 şişe selektif katkı (Fraser *Listeria* Selective Supplement) eklenerek iyice karıştırılmıştır (Halkman 2005).

Oxford *Listeria* selective Agar hazırlamak için 29,25 gr besiyeri 500 ml damıtık su içerisinde ısıtılarak çözülmüş ve karıştırıcı yardımıyla 15 dakika 121°C'de sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası 45°C'ye soğutulduktan üstüne 5 ml 1:1 oranında sterilize damıtık su ve alkol karışımı içerisinde çözülmüş 1 şişe selektif katkı (Oxford *Listeria* Selective Supplement) ilave edilip, ilave edilen selektif katkı manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen bir şekilde dağıtılmış ardından petri kaplarına yaklaşık 12-15 ml olacak şekilde dökülerek analize hazır hale getirilmiştir (Halkman 2005, Anonim 2017a).

Her bir numuneden alınan 10'ar gramlık örnekler steril stomacher torbalarına konulup üzerine 90 ml steril Fraser *Listeria* selective enrichment Broth ilave edilmiş ve stomacherde karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Elde edilen ön zenginleştirme kültürleri 24 saat süreyle 37°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından fraser broth ve numune karışımlarından 1'er ml alınıp içerisinde 9 ml steril fraser broth konulmuş tüplere alınmış ve 10⁻⁵'e kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Ekimler ekim kabininde Oxford *Listeria* selective Agar yüzeylerine 1 ml çift paralel ve çift tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Ekimleri yapılan petri kapları 37°C'de 48 saat

süreyle inkübe edilmiş, inkübasyon sonucunda Oxford Agarda oluşan yuvarlak siyah zonlu koloniler sayılmıştır (Ceran 2018).

3.2.5 İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda kontrol ve farklı oranlarda nitrit ve nisin ilaveleriyle hazırlanan ve 4 farklı patojen bakteri inoküle edilen fermente sucukların, mikrobiyolojik değerlerinin istatistiksel değerlendirmesi Duncan çoklu yaklaşım testi, IBM SPSS ver.23.0 (2015) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



4. BULGULAR

4.1 Farklı Katkı Maddesi Uygulanmış *Escherichia coli* İnoküle Edilmiş Sucukların Özellikleri ve *Escherichia coli* Sayımı

Çizelge 4.1 Sucuk örneklerinin *Escherichia coli* sayımlarının varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	17,289	1965,594***
Katkı Çeşidi	5	1,375	156,287***
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	1,353	153,803***
Hata	12	,009	

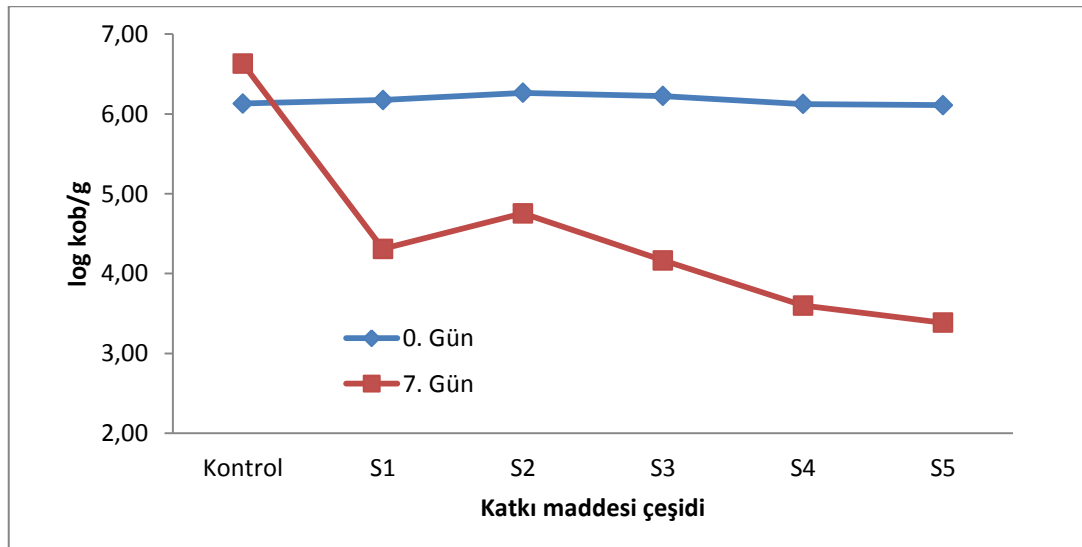
*** p<0,001: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.2 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Escherichia coli* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.

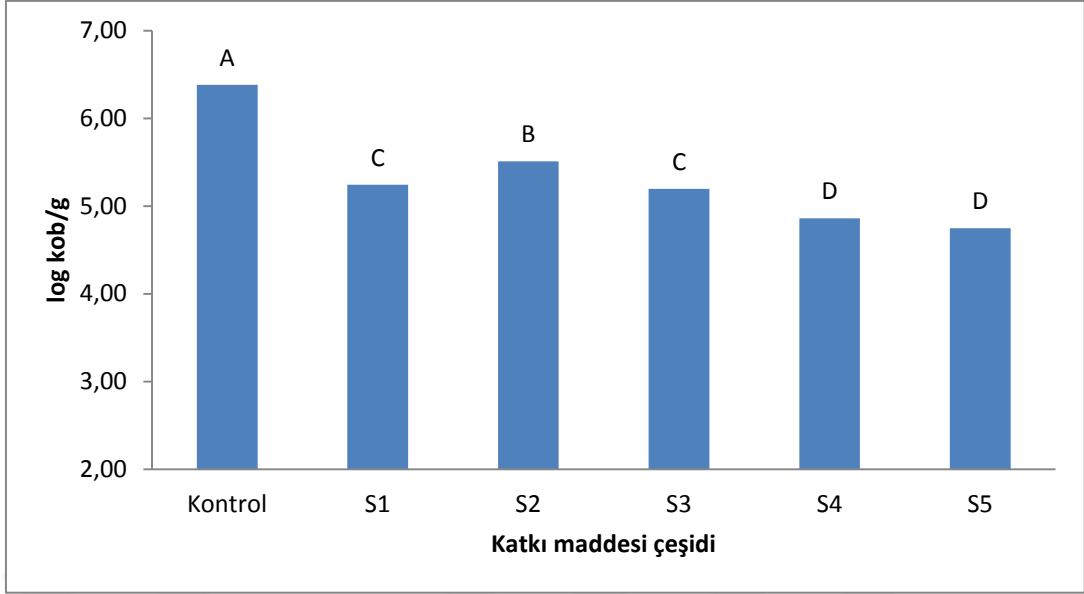
Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	6,13Aa	6,63Aa
S1	6,18Aa	4,31Cb
S2	6,27Aa	4,76Bb
S3	6,23Aa	4,17Cb
S4	6,13Aa	3,60Db
S5	6,11Aa	3,39Db

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05).

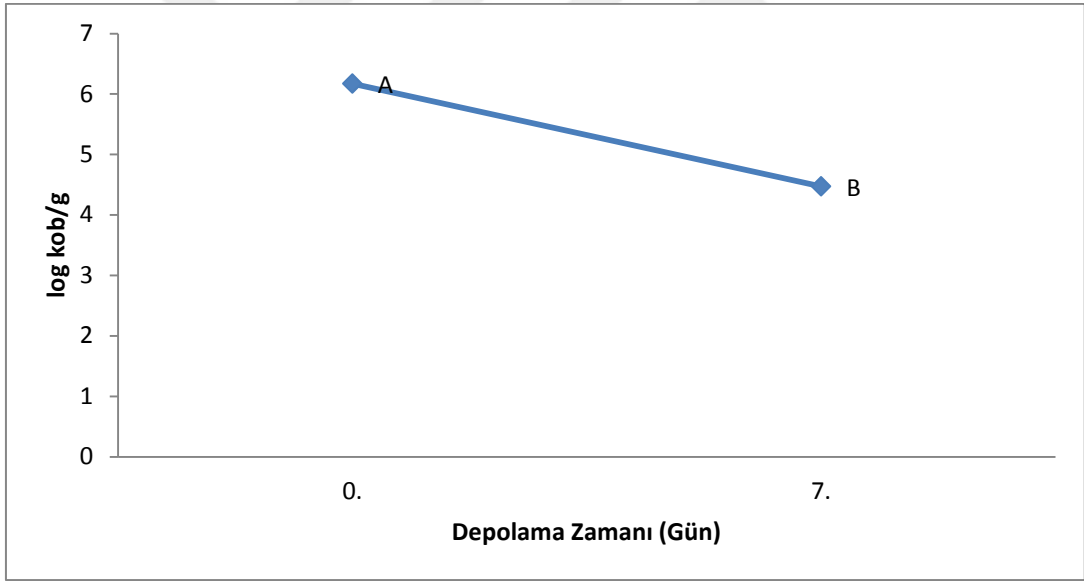
A-D (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05).



Şekil 4.1 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Escherichia coli* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.



Şekil 4.2 Sucuk örneklerinin *Escherichia coli* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi
A-D Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).



Şekil 4.3 Sucuk örneklerinin *Escherichia coli* sayıları üzerine depolama zamanının etkisi maddelerin etkisi.

A-B Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

Çizelge 4.3 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Escherichia coli* inoküle edilmiş sucukların pH analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	,725	721,531***
Katkı Çeşidi	5	,009	8,798**
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	,009	9,329**
Hata	12	,001	

*** p<0,001: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

** p<0,01: Yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.4 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Escherichia coli* inoküle edilmiş sucukların a_w analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	0,003	368,989***
Katkı Çeşidi	5	,0001	1,923ns
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	0,0001	2,406ns
Hata	12	,00007	

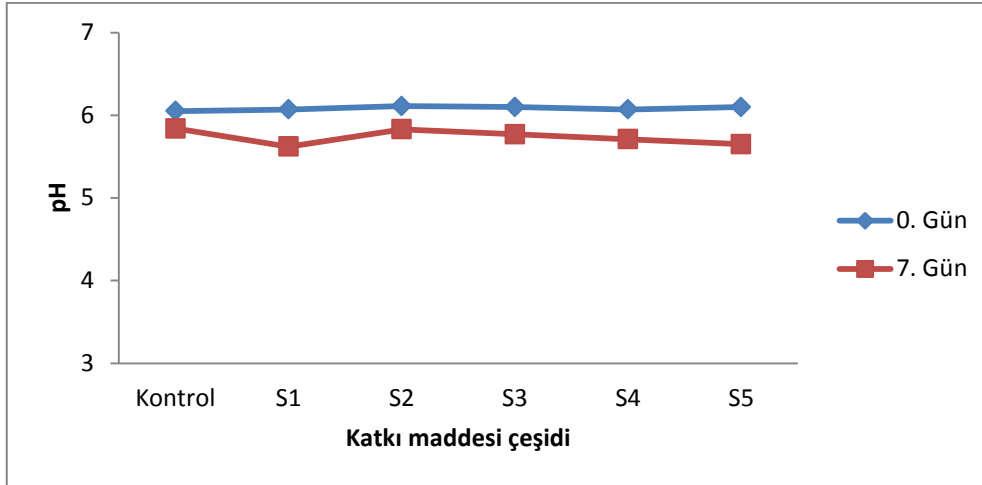
*** p<0,001: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı, ns: İstatistiksel olarak önemli değil

Çizelge 4.5 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Escherichia coli* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.

Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	6,05Aa	5,84Ab
S1	6,07Aa	5,62Cb
S2	6,11Aa	5,83Ab
S3	6,10Aa	5,77ABb
S4	6,07Aa	5,71Bb
S5	6,10Aa	5,65Cb

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05).

A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05).

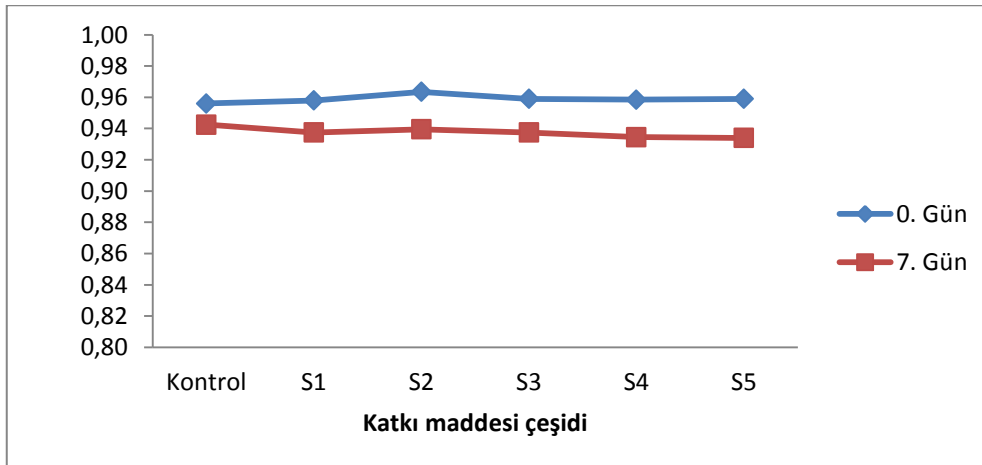


Şekil 4.4 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Escherichia coli* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.

Çizelge 4.6 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Escherichia coli* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.

Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	0,9560Aa	0,9425Aa
S1	0,9580Aa	0,9375Ab
S2	0,9635Aa	0,9395Ab
S3	0,9590Aa	0,9375Ab
S4	0,9585Aa	0,9345Ab
S5	0,9590Aa	0,9340Ab

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).
A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).



Şekil 4.5 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Escherichia coli* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri

A-D Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

4.2 *Salmonella* spp. Sayımı

Çizelge 4.7 Sucuk örneklerinin *Salmonella* spp. sayımlarının varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi (df)	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	28,123	5208,028****
Katkı Çeşidi	5	1,506	278,937***
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	1,259	233,198***
Depolama Zamanı	12	,005	,005

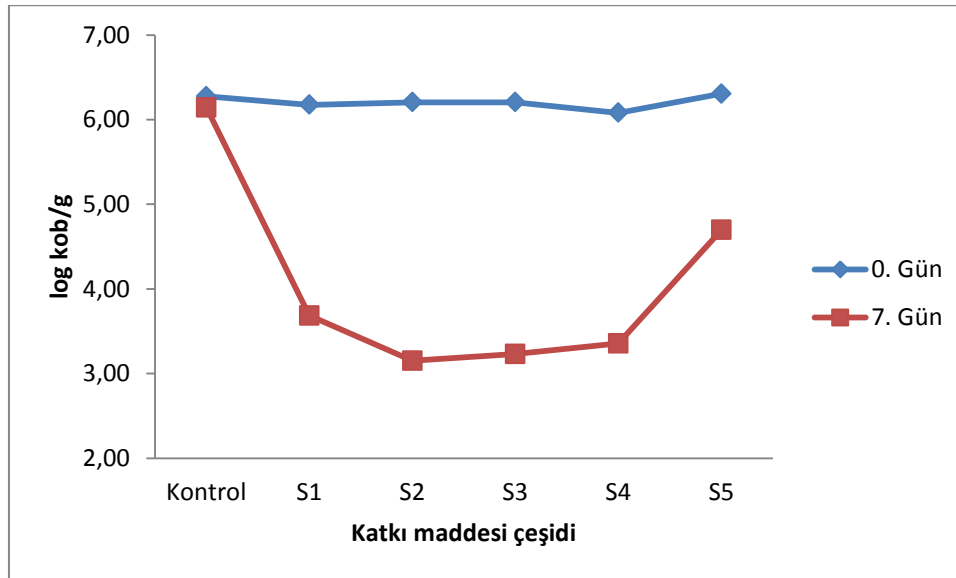
p<0,001: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.8 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Salmonella* spp. sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.

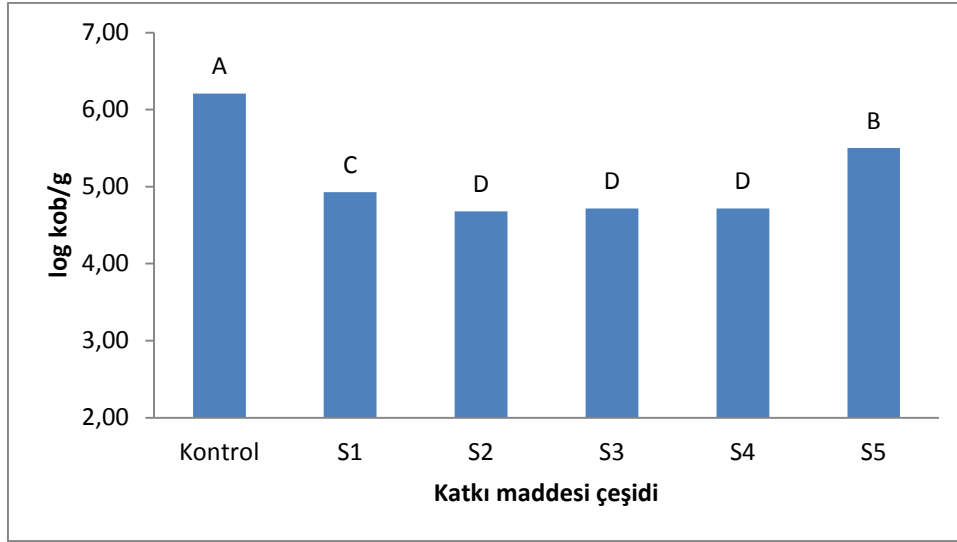
Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	6,28Aa	6,14Aa
S1	6,18Aa	3,69Cb
S2	6,21Aa	3,15Eb
S3	6,21Aa	3,23Eb
S4	6,08Aa	3,36Db
S5	6,31Aa	4,70Bb

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05).

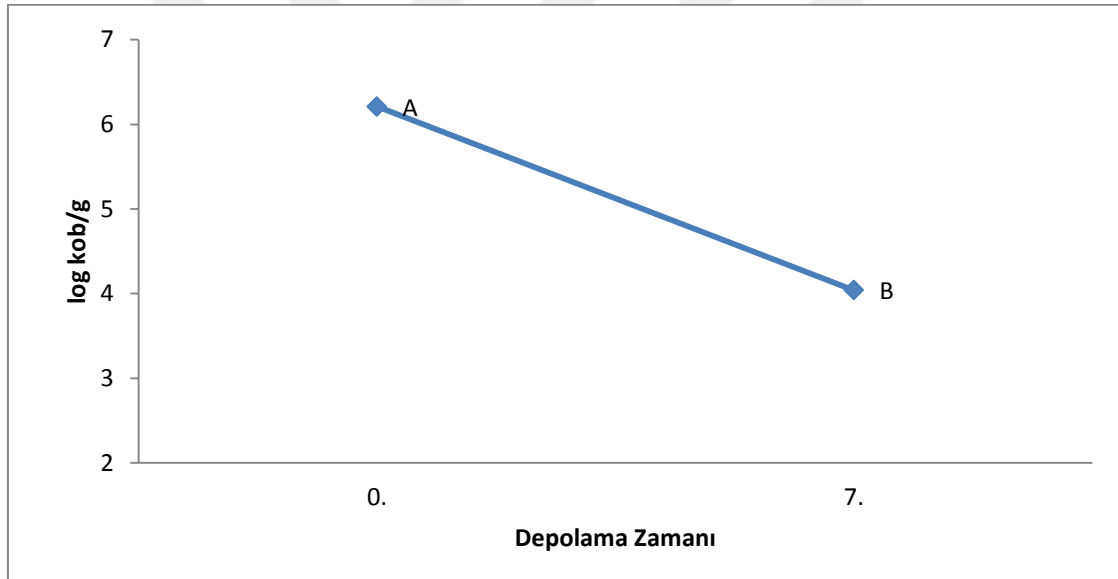
A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05)



Şekil 4.6 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Salmonella* spp. sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.



Şekil 4.7 Sucuk örneklerinin *Salmonella* spp. sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi. A-D Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).



Şekil 4.8 Sucuk örneklerinin *Salmonella* spp. sayıları üzerine depolama zamanının etkisi. A-B Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

Çizelge 4.9 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Salmonella* spp. inoküle edilmiş sucukların pH analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.

Kaynak pH	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	1,490	1216,340***
Katkı Çeşidi	5	0,042	34,147***
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	,047	38,552***
Hata	12	,001	

*** $p<0,001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.10 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Salmonella* spp. inoküle edilmiş sucukların a_w analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	0,002	544,00***
Katkı Çeşidi	5	0,00002	5,061*
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	0,0004	9,404**
Hata	12	,000004	

*** $p < 0,001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı,

*** $p < 0,01$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı,

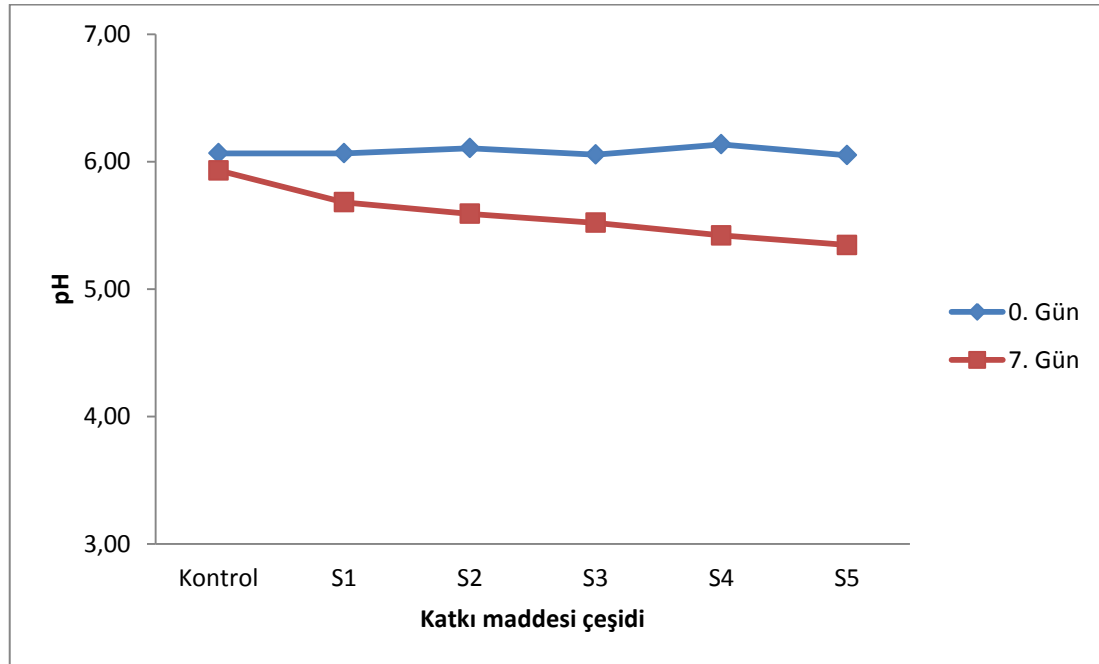
*** $p < 0,05$: İstatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.11 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Salmonella* spp. inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.

Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	6,07Aa	5,93Ab
S1	6,07Aa	5,68Bb
S2	6,11Aa	5,59Cb
S3	6,06Aa	5,52Cb
S4	6,14Aa	5,42Db
S5	6,05Aa	5,35Eb

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).



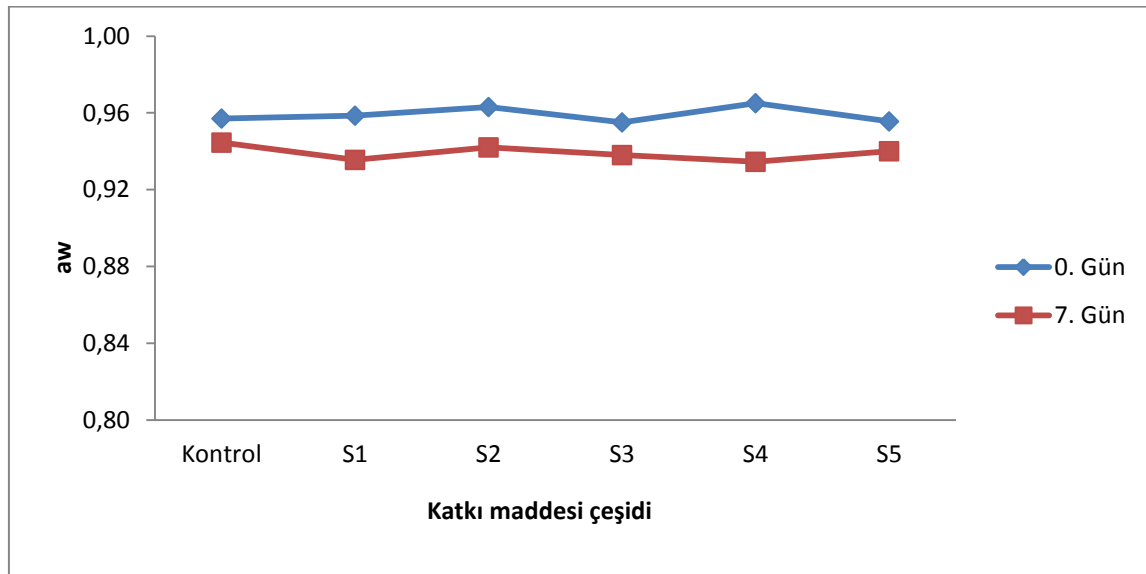
Şekil 4.9 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Salmonella* spp. inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.

Çizelge 4.12 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Salmonella* spp. inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.

Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	,9570Ca	,9445Ab
S1	,9585CBa	,9355Cb
S2	,9630Aba	,9420ABb
S3	,9550Ca	,9380BCb
S4	,9650Aa	,9345Cb
S5	,9555Ca	,9400ABCb

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).



Şekil 4.10 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Salmonella* spp. inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.

4.3 *Staphylococcus aureus* Sayımı

Çizelge 4.13 Sucuk örneklerinin *Staphylococcus aureus* sayımlarının varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi (df)	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	22,601	2803,225***
Katkı Çeşidi	5	1,898	235,435***
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	1,675	207,783***
Hata	12	0,08	

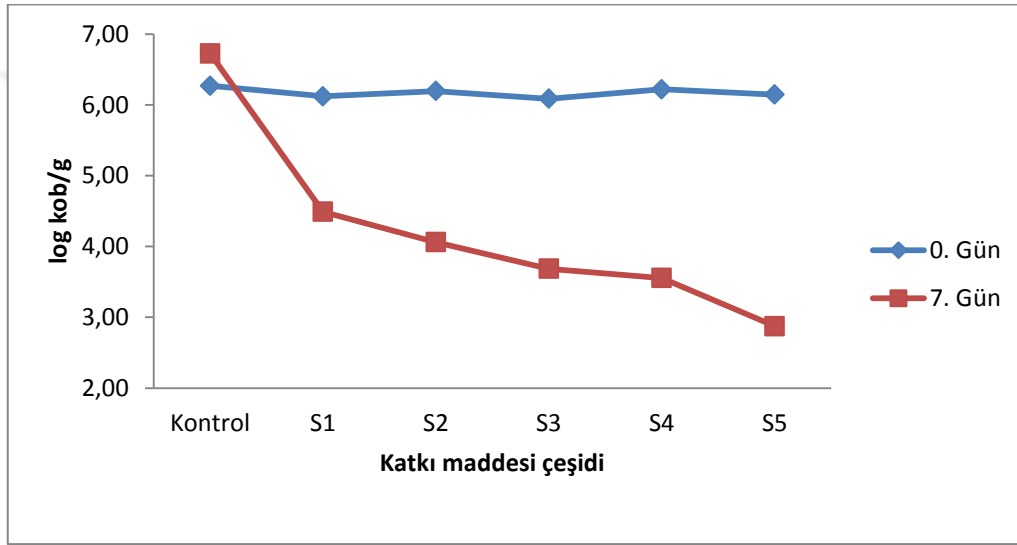
$p<0,001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.14 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Staphylococcus aureus* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi (log kob/g).

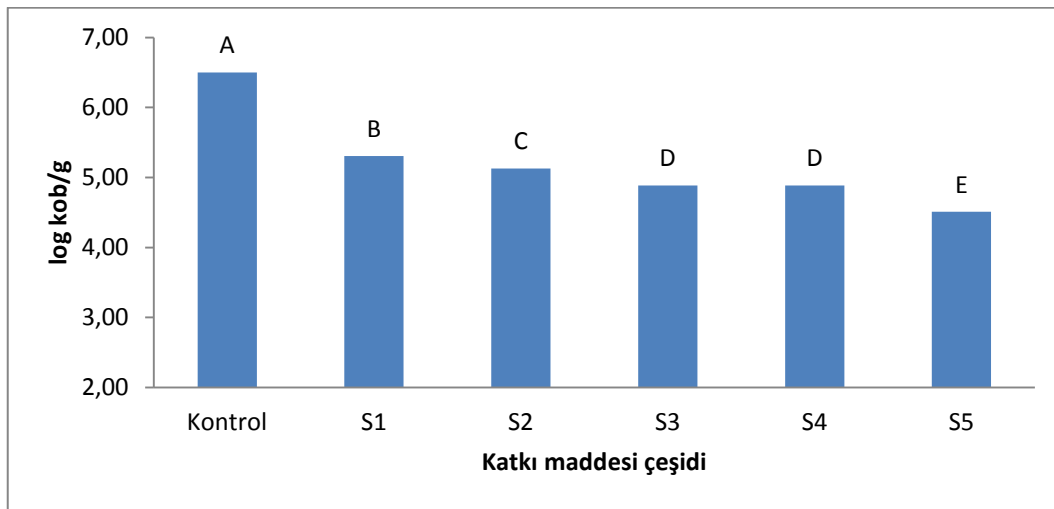
Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	6,27Ab	6,73Aa
S1	6,12Aa	4,49Bb
S2	6,20Aa	4,06Cb
S3	6,09Aa	3,69Db
S4	6,22Aa	3,56Db
S5	6,15Aa	2,88Eb

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

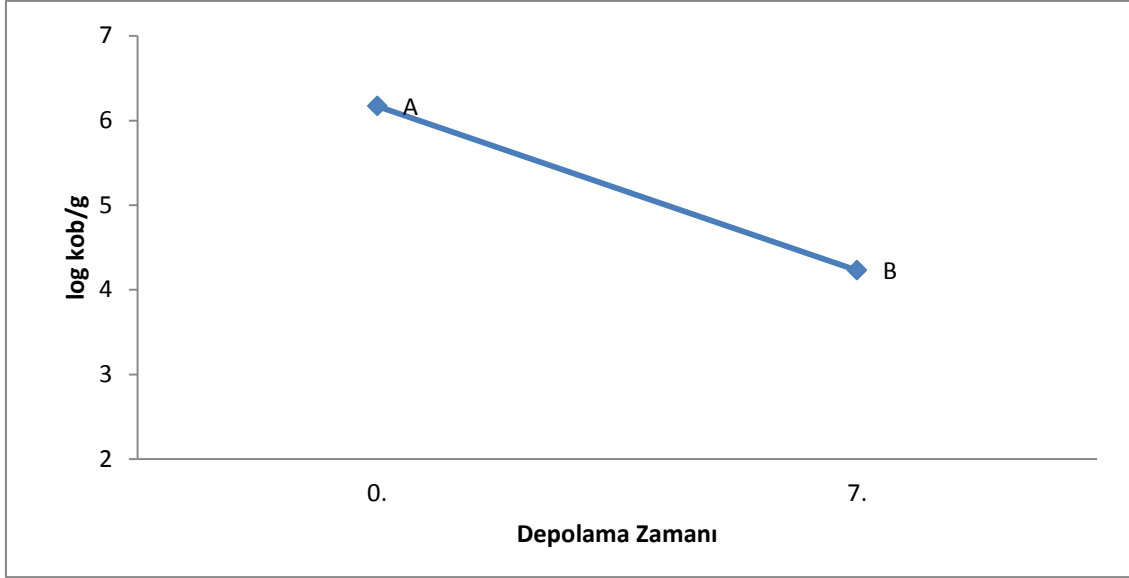


Şekil 4.11 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Staphylococcus aureus* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.



Şekil 4.12 Sucuk örneklerinin *Staphylococcus aureus* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.

A-D Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$)



Şekil 4.13 Sucuk örneklerinin *Staphylococcus aureus* sayıları üzerine depolama zamanının etkisi maddelerin etkisi.

A-B Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.15 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Staphylococcus aureus* inoküle edilmiş sucukların pH analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	1,316	1169,793***
Katkı Çeşidi	5	,018	16,201***
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	,032	28,788***
Hata	12	,001	

*** $p < 0,001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.16 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Staphylococcus aureus* inoküle edilmiş sucukların a_w analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	0,002	667,98***
Katkı Çeşidi	5	0,00002	6,78***
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	0,00008	24,68***
Hata	12	0,000004	

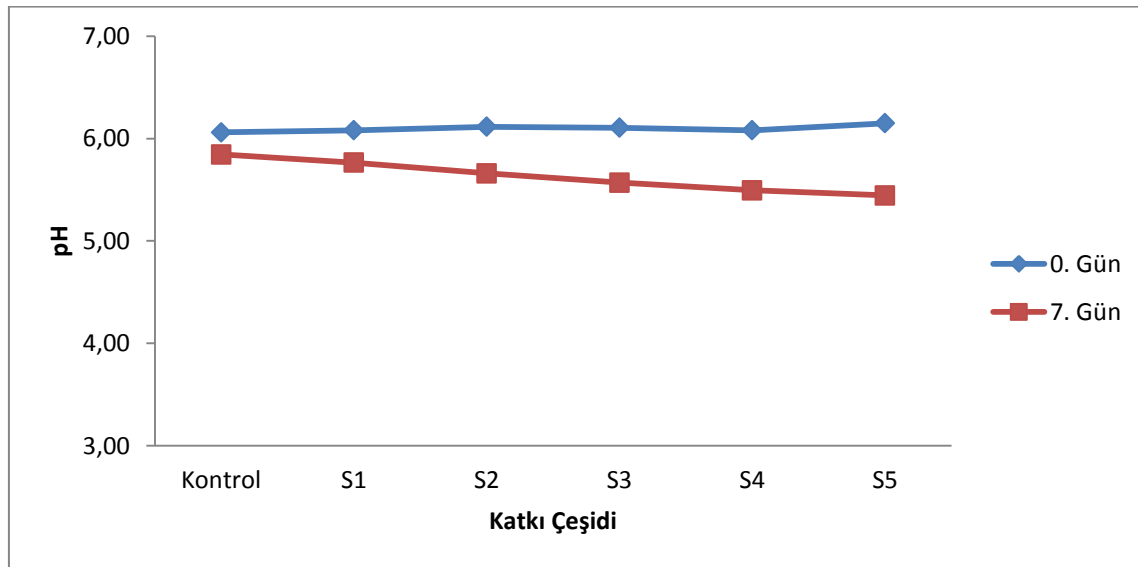
*** $p < 0,001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.17 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Staphylococcus aureus* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.

Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	6,06Aa	5,85Ab
S1	6,08Aa	5,77Ab
S2	6,12Aa	5,66Bb
S3	6,11Aa	5,57Cb
S4	6,08Aa	5,50CDb
S5	6,15Aa	5,45Db

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).



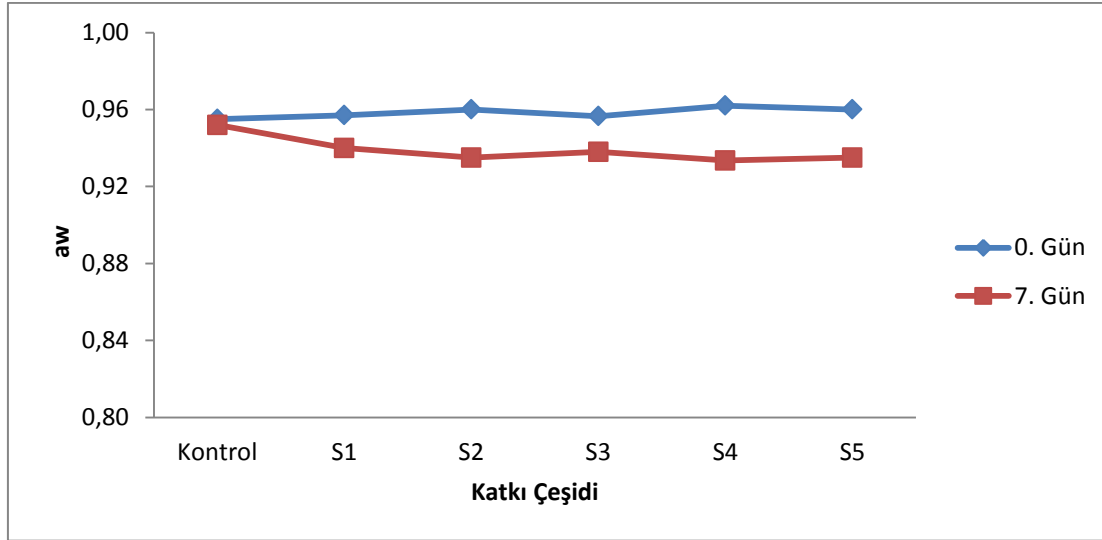
Şekil 4.14 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Staphylococcus aureus* edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.

Çizelge 4.18 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Staphylococcus aureus* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.

Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	,9550Aa	,9520Aa
S1	,9570Aa	,9400Bb
S2	,9600Aa	,9350Cb
S3	,9565Aa	,9380BCb
S4	,9620Aa	,9335Cb
S5	,9600Aa	,9350Cb

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).



Şekil 4.15 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Staphylococcus aureus* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.

4.4 *Listeria monocytogenes* Sayımı

Çizelge 4.19 Sucuk örneklerinin *Listeria monocytogenes* sayımlarının varyans analiz çizelgesi

Kaynak	Serbestlik Derecesi (df)	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	13,771	758,752***
Katkı Çeşidi	5	1,166	64,230***
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	1,087	59,878***
Hata	12	0,18	

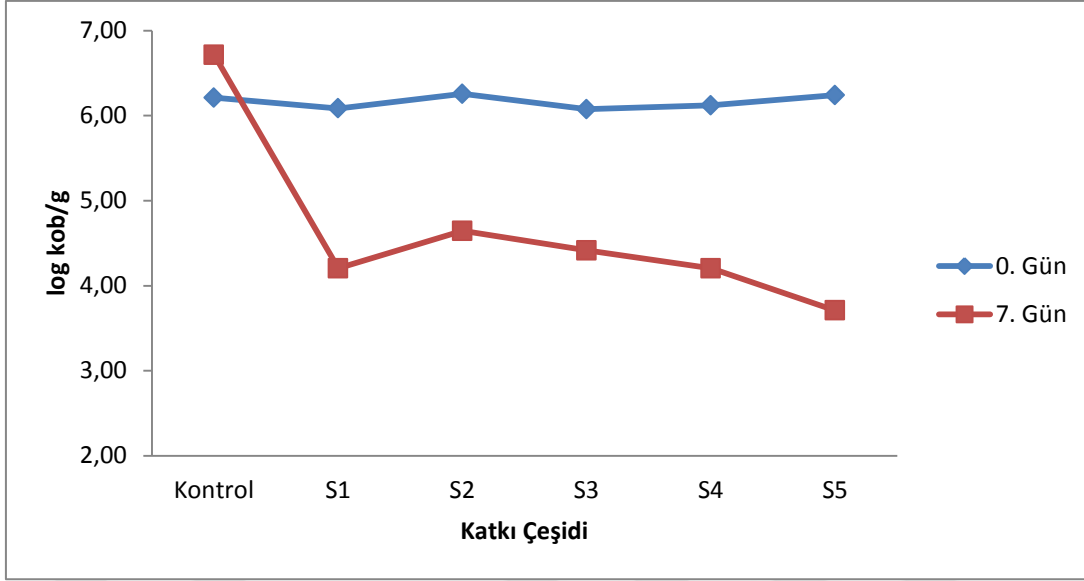
$p < 0,001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.20 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Listeria monocytogenes* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.

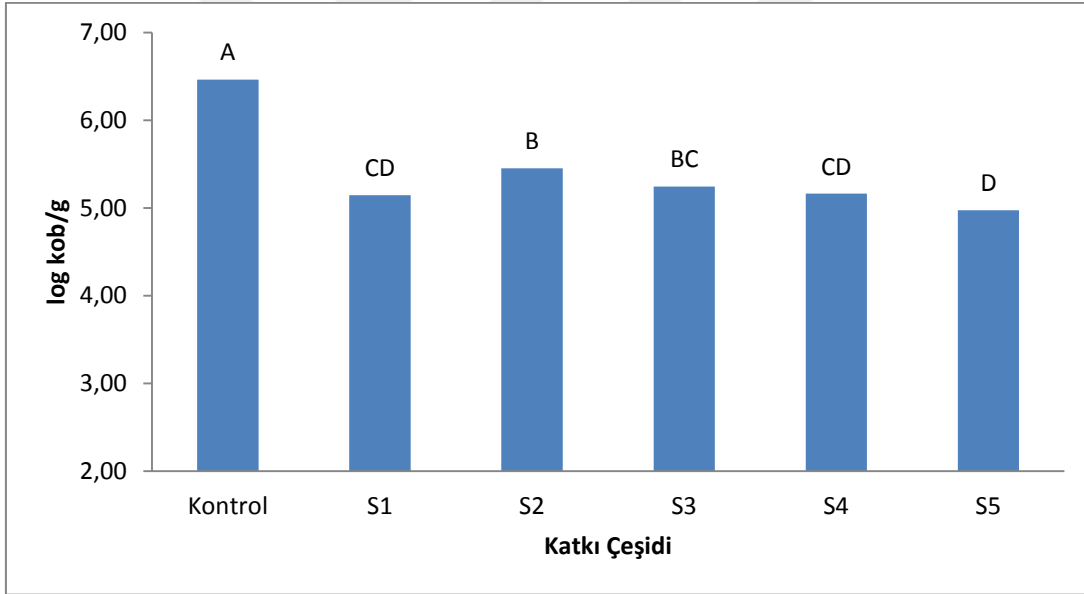
Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	6,21Ab	6,72Aa
S1	6,09Aa	4,21Cb
S2	6,26Aa	4,65Bb
S3	6,08Aa	4,42BCb
S4	6,12Aa	4,21Cb
S5	6,24Aa	3,71Db

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

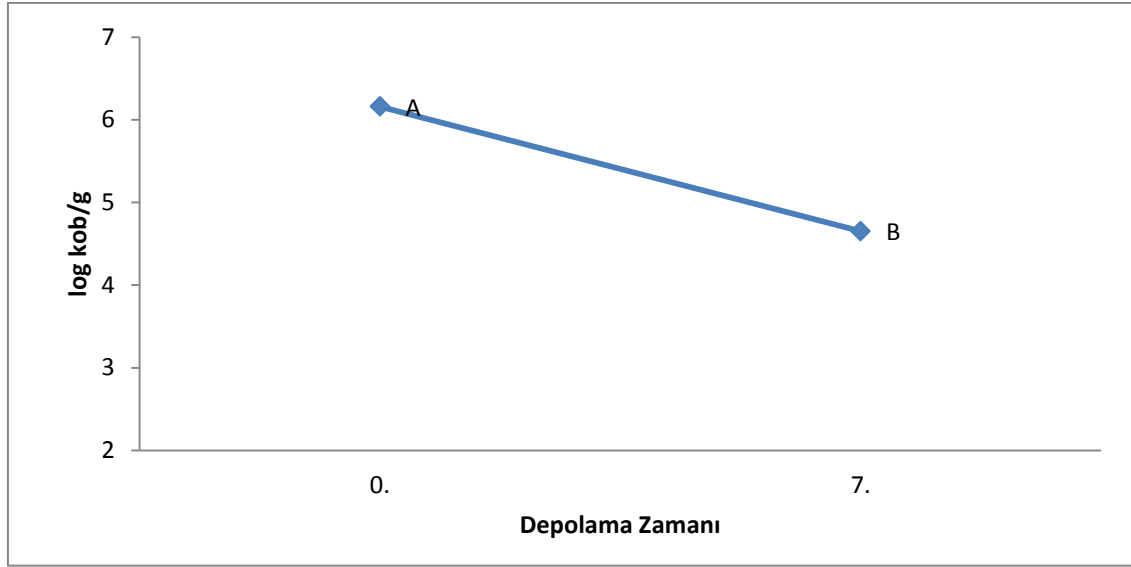


Şekil 4.16 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Listeria monocytogenes* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.



Şekil 4.17 Sucuk örneklerinin depolama boyunca *Listeria monocytogenes* sayıları üzerine uygulanan katkı maddelerin etkisi.

A-D Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$)



Şekil 4.18 Sucuk örneklerinin *Listeria monocytogenes* sayıları üzerine depolama zamanının etkisi maddelerin etkisi.

A-B Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

Çizelge 4.21 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş sucukların pH analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	1,118	1277,733***
Katkı Çeşidi	5	,016	18,114***
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	,024	27,573***
Hata	12	,001	

*** $p<0,001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.22 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş sucukların a_w analizi özellikleri varyans analiz çizelgesi.

Kaynak	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Depolama Zamanı	1	,002	512,000***
Katkı Çeşidi	5	0,00002	4,424*
Depolama Zamanı x Katkı Çeşidi	5	0,00003	7,020**
Hata	12	0,000006	

*** $p<0,001$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı,

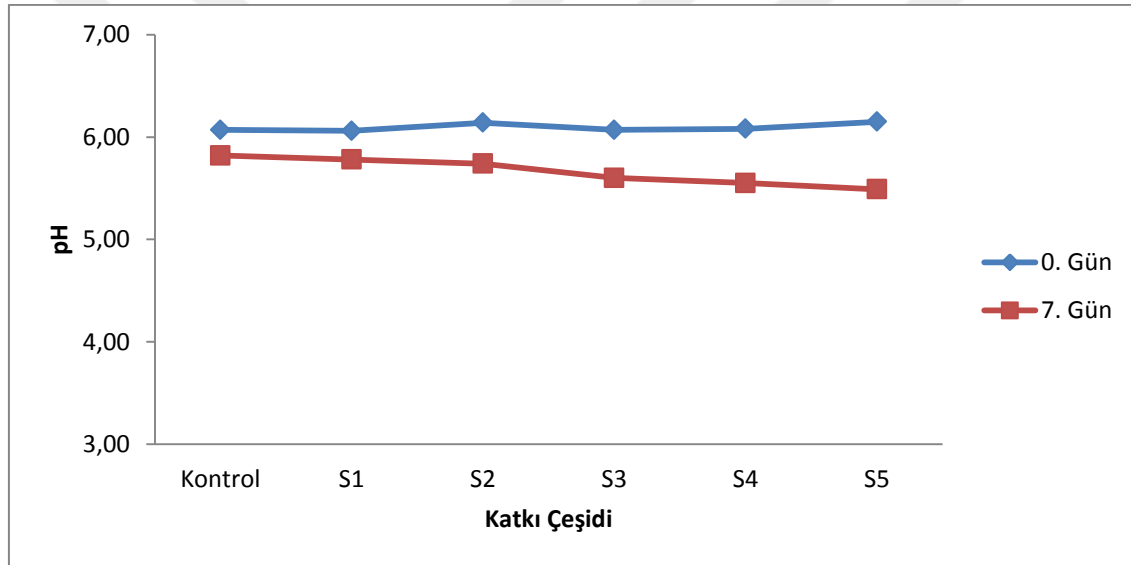
*** $p<0,01$: Çok yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı,

*** $p<0,05$: İstatistiksel olarak anlamlı

Çizelge 4.23 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.

Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	6,07Ca	5,82Ab
S1	6,06Ca	5,78ABb
S2	6,14Aba	5,74Bb
S3	6,07Ca	5,60Cb
S4	6,08BCa	5,55CDb
S5	6,15Aa	5,49Db

a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).
A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).

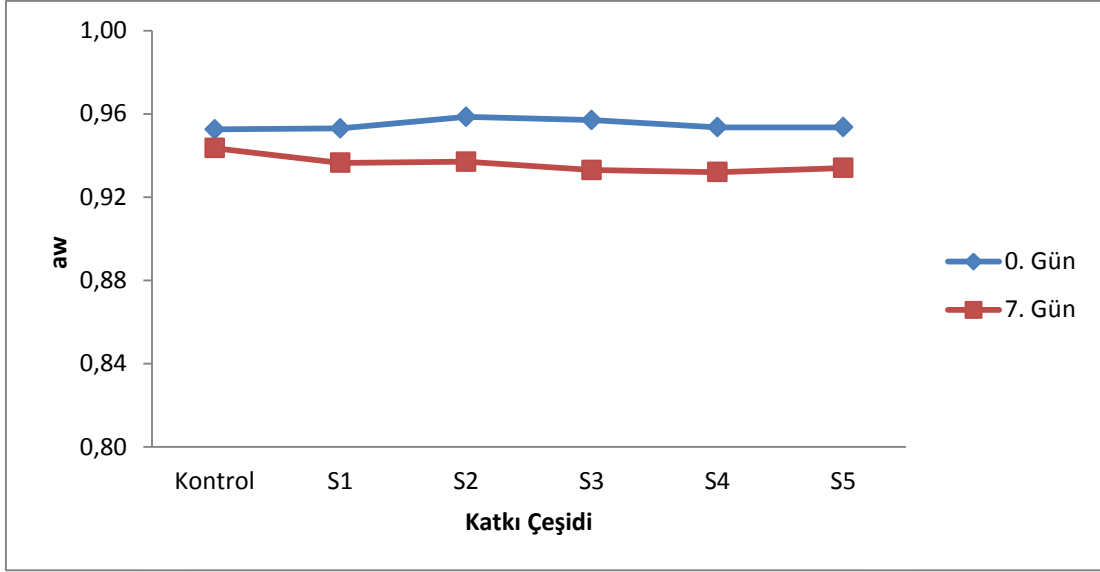


Şekil 4.19 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Listeria monocytogenes* edilmiş sucukların depolama boyunca pH değerleri.

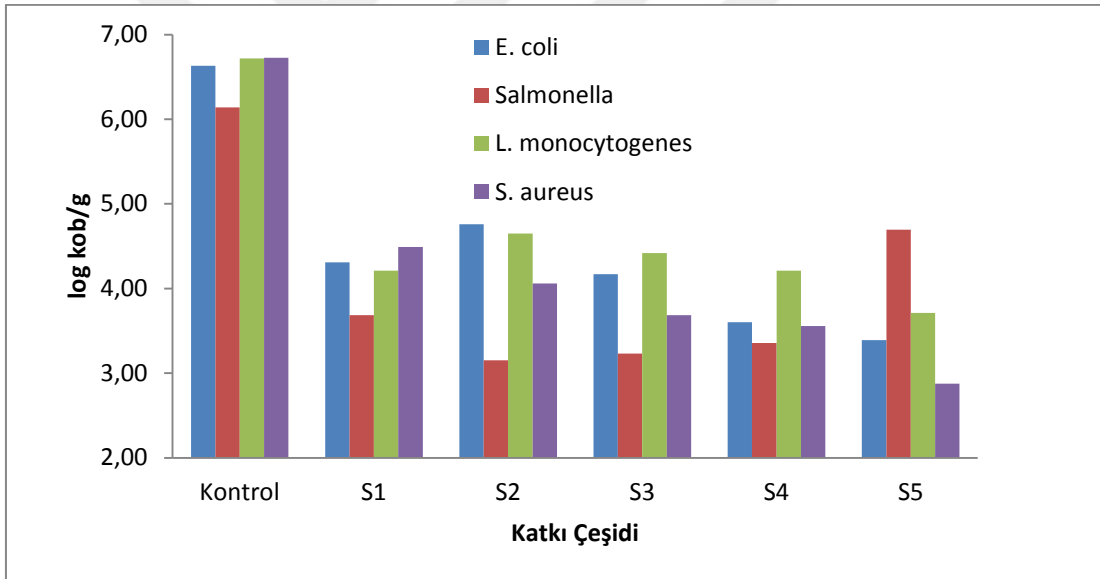
Çizelge 4.24 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.

Uygulama	Depolama Zamanı (Gün)	
	0.	7.
Kontrol	,9525Aa	,9435Ab
S1	,9530Aa	,9365Bb
S2	,9585Aa	,9370Bb
S3	,9570Aa	,9330BCb
S4	,9535Aa	,9320Db
S5	,9535Aa	,9340BCb

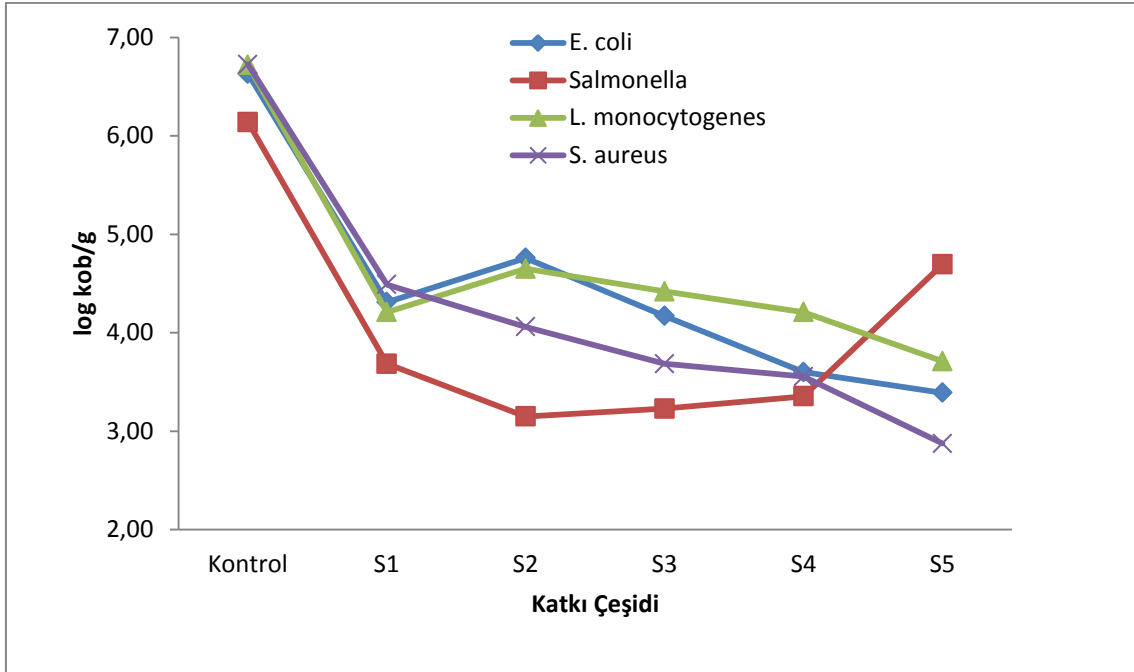
a-b (→) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).
A-c (↓) Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir ($p>0,05$).



Şekil 4.20 Farklı katkı maddesi uygulanmış *Listeria monocytogenes* inoküle edilmiş sucukların depolama boyunca a_w değerleri.



Şekil 4.21 Farklı katkı maddelerinin depolama sonunda sucuklara inoküle edilen bakterilere etkisi.



Şekil 4.22 Alternatif.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1 *Escherichia coli* İnoküle Edilmiş Örneklerle Ait Tartışma

5.1.1 *Escherichia coli* Sayımı

Sucuk örneklerinin *Escherichia coli* sayımları üzerine depolama zamanının ($P<0,001$), kullanılan katkı maddesi çeşidinin ($P<0,001$) ve depolama zamanı x katkı maddesi çeşidi ($P<0,001$) interaksiyonunun önemli etkisi olduğu (Çizelge 4.1) tespit edilmiştir. Kullanılan katkı maddelerin, sucuklara inoküle edilen çeşitli patojenlere karşı etkisinin incelendiği bu çalışmada örneklerin başlangıç *Escherichia coli* sayıları 6,11-6,27 log kob/g arasında sayılmıştır (Çizelge 4.2). 1 haftalık depolama boyunca örneklerin *Escherichia coli* sayıları kontrol örneği hariç düşüş göstermiştir ($P<0,001$). Depolama sonunda örneklerin *Escherichia coli* sayıları 3,39 – 6,63 log kob/g arasında saptanmıştır.

Kullanılan katkı maddeleri örneklerin bakteri sayılarını önemli derecede düşürmüştür ($P<0,001$) ve depolama sonunda en düşük *Escherichia coli* sayıları sırasıyla 3,39 log kob/g ve 3,60 log kob/g ile %100 Nisin içeren S6 örneğinde ve %30 Nitrit ve %70 Nisin içeren S5 örneğinde ($P<0,05$) tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Kullanılan tüm katkı maddeleri örneklerin *Escherichia coli* sayılarını önemli düzeyde düşürmüştür ($P<0,05$) (Şekil 4.1) ve en büyük düşüş S4 ve S5 örneklerinde, en az düşüş ise S1 örneğinde belirlenmiştir ($P<0,05$). Özellikle örneklerle nisin ilavesi *Escherichia coli* sayısını önemli oranda düşürmüştür ($P<0,05$). %100 nisin katkılı örneklerde *Escherichia coli* sayısı 2.72 log olarak en yüksek oranda düşüş göstermiştir ($P<0,05$).

Turgay (2013), yaptığı bir çalışmada nisin ve EDTA tuzlarının Türk tipi köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus* varlığı üzerine etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla, ayrı ayrı ve kombinasyonlar halinde nisin ve EDTA tuzları ilave edilerek üretilen köftelerin farklı günlerdeki mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre nisinin gram negatif bir bakteri olan *Escherichia coli* O157:H7 sayısında önemli bir düşüş sağlamadığı fakat üremeyi yavaşlattığı tespit

edilmiştir. EDTA ve nisinin birlikte kullanıldığı örneklerde ise sadece EDTA kullanılan örneklerle göre *Escherichia coli* O157:H7 sayılarının azalmasında daha fazla etkili olduğu saptanmıştır.

Fang ve Tsai (2003), kıymada çeşitli antimikrobiyal maddeler kullanarak *Escherichia coli* O157:H7 üzerine etkilerini test etmek amacıyla farklı oranlarda nisin ve EDTA kullanmışlardır. Araştırmaları sonucunda, nisin ve EDTA'nın birlikte kullanılmasının *Escherichia coli* O157:H7 sayısı üzerine etkisinin sadece EDTA ya da sadece nisin kullanılmasından daha fazla olduğu ortaya çıkmıştır.

5.1.2 pH Değeri

Çeşitli katkı maddesi ilave edilmiş ve *Escherichia coli* inoküle edilmiş örneklerin 7 günlük depolama boyunca ölçülen pH değerleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Sucuk örneklerinde en düşük pH değerleri (5,62-5,65) depolamanın 7. gününde %100 nitrit içeren S1 ve %100 nisin içeren S6 örneklerinde ($P<0,05$), en yüksek pH değeri ise (6,11) depolama başlangıcında %70 Nitrit ve %30 Nisin katkılı S2 örneğinde tespit edilmekle beraber (Şekil 4.4) depolama başlangıcında örneklerin pH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P<0,05$). Varyans analiz sonuçlarına göre, sucuk örneklerinin pH değerleri üzerine depolama zamanının etkisi $P<0,001$ düzeyinde çok önemli, katkı maddesi çeşidinin etkisi ise $P<0,01$ düzeyinde önemli ve depolama zamanı x katkı maddesi çeşidi etkileşiminin ise $P<0,01$ düzeyinde etkisinin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). 7 günlük depolama süresince örneklerin pH değerlerinde düşüş olduğu görülmüştür ($P<0,05$) (Şekil 4.4). En büyük düşüş 0,45 birimle S1 ve S5 örneklerinde saptanmıştır ($P<0,05$).

5.1.3 a_w Değeri

Escherichia coli inoküle edilen ve farklı oranlarda nitrit ve nisin içeren sucuk örneklerine ait a_w değerleri Çizelge 4.6'ta gösterilmiştir. Örneklerin a_w değerleri üzerine depolama zamanının çok önemli etkisi olmuştur ($P<0,001$). Bununla beraber örneklerin a_w değerlerine kullanılan katkı maddelerinin istatistiksel olarak önemli bir etkisi

olmamıştır ($P>0,05$). Benzer şekilde depolama zamanı x katlı maddesi çeşidi etkileşiminin de örneklerin a_w değerlerine önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$). Sucuk örneklerin başlangıç a_w değerleri 0,956-0,959 arasında ($P>0,05$) (Çizelge 4.6) olmakla beraber aralarında önemli bir fark yoktur. 7. günlük depolama sonunda örneklerin su aktivitesi değerleri düşürerek 0,943-0,934 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5). Söz konusu düşüş kontrol örneği hariç ($P>0,05$) diğer örneklerde istatistiksel olarak önemli olmuştur ($P<0,05$). Örneklerdeki a_w değerlerindeki düşüş çok düşük değerlerde olduğu için pratik bir öneminin olmadığı düşünülmektedir.

5.2 *Salmonella* spp. İnoküle Edilmiş Örneklerle Ait Tartışma

5.2.1 *Salmonella* spp. Sayımı

Çeşitli oranda nitrit ve nisin ilave edilmiş sucuk örneklerine ait *Salmonella* spp. sayısı Çizelge 4.8’de verilmiştir. Sucuk örneklerine ait en yüksek *Salmonella* spp. sayısı (6,08 log kob/g) depolama başlangıcında %30 Nitrit ve %70 Nisin içeren S4 örneğinde tespit edilmişken ($P<0,05$), en düşük *Salmonella* spp. sayısı ise (3,15 log kob/g) depolamanın 7. gününde %70 Nitrit ve %30 Nisin içeren S2 örneğinde tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Sucuk örneklerinin *Salmonella* spp. sayıları üzerine depolama zamanının ($P<0,001$), kullanılan katkı maddesi çeşidinin ($P<0,001$) ve depolama zamanı x katlı maddesi çeşidi ($P<0,001$) interaksiyonunun önemli etkisi olduğu (Çizelge 4.7) tespit edilmiştir. Katkı maddesi katılımı örneklerin *Salmonella* spp. sayılarını etkilemiş ve en yüksek kontrol örneğinde ($P<0,05$) en düşük ise %70 Nitrit ve %30 Nisin katkılı S2 örneği ve %50 Nitrit ve %50 Nisin katkılı S3 örneğinde tespit edilmiştir (Şekil 4.6) ($P<0,05$). Depolama süresi boyunca örneklerin *Salmonella* spp. sayıları düşüş göstermiş ve bu düşüş kontrol örneği hariç istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Sucuk örneklerine inoküle edilen *Salmonella* spp. patojenleri ilave edilen katkı maddelerinde önemli derecede düşürmüştür (Şekil 4.7) ($P<0,05$). %70 Nitrit ve %30 Nisin katkılı S2 örneğinde *Salmonella* spp. sayısı 3,06 log’luk düşüş göstermişken, %50 Nitrit ve %50 Nisin katkılı S3 örneğinde 2,98 log’luk göstermiştir (Şekil 4,6). Nitrit ve

nisin *Salmonella* spp. üzerinde antipatojenik etki göstermekler beraber her ikisinin karışımları daha yüksek antipatojenik etki göstermiştir.

Ceylan (2014), yaptığı çalışmada nisin ve ışınlama uygulamalarını birlikte kullanarak soğukta depolanan levrek balığı filetolarının raf ömürlerine olan etkisini incelemiştir. Araştırmaları sonucunda ışınlama teknolojisinin nisin ile kombine edildiğinde mezofilik aerobik ve psikrofilik aerobik bakteriyel gelişimi inhibe ettiğini ve duyuşsal olarak da daha kaliteli bir ürün elde edildiğini tespit etmiştir.

Stevens vd. (1991), yaptıkları çalışmada içerisinde *Salmonella* türlerinin de bulunduğu gram negatif bakterileri 1 saat 37°C’de 50 µg/ml nisin ve 20 mM disodyum EDTA kombinasyonuna maruz bırakmışlar ve neticesinde test edilen bakterilerin sayısında 3.2 ila 6,9 log arasında düşüşler gözlemlemişlerdir. Aynı araştırmacılar nisin ve disodyum EDTA’nın tek başına uygulandığı durumlarda gram negatif bakteriler üzerinde önemli etkiye sahip olmadıklarını fakat bu maddelerin kombine edilip ve nisin miktarının da 50 µg/ml’nin üzerine çıkılıp kullanılması durumunda *Salmonella* türleri de dahil olmak üzere diğer gram negatif bakterilerin üremeleri üzerine etkisinin önemli düzeyde olduğunu belirtmişlerdir.

Ay (2013), yaptığı bir çalışmada 4 ve 37°C’de, farklı konsantrasyonlarda nisin, karvakrol ve EDTA’nın tekli ve çoklu kombinasyonlarının *Salmonella enterica* serotip Typhimurum üzerine antimikrobiyal etkisini araştırmıştır. Tekli antimikrobiyal uygulamalarda en etkili kimyasalın karvakrol olduğu belirlenirken, ikili ve üçlü kombinasyonlardan en etkili uygulamaların nisin, karvakrol ve EDTA içeren üçlü kombinasyonlar olduğu tespit edilmiş ve bu üçlü uygulamalarda nisin konsantrasyonunun arttırılmasına bağlı olarak *Salmonella enterica* serotip Typhimurum inhibisyonunun da arttığı gözlemlenmiştir.

Duru (2000), yaptığı bir çalışmada, sıvı tüm yumurtada EDTA birleşimiyle birlikte nisinin ve hidrojen peroksidin *Salmonella enteritidis* üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışmaları neticesinde EDTA birleşimiyle nisinin önemli ölçüde bakterisidal etkisinin olmadığı fakat nisinin bakteristatik etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. Ortaya çıkan

sonuçlara göre nisin ve EDTA'nın pastörize edilmiş sıvı tüm yumurtada raf ömrünü uzatmak için koruyucu olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

5.2.2 pH Değeri

Farklı oranda nitrit ve nisin ilave edildikten sonra *Salmonella* spp. izole edilmiş sucukların pH değerleri Çizelge 4.11'de verilmiştir. Örneklerin pH değerleri depolama başlangıcında 6,06-6,14 arasında iken, 7. günlük depolama periyodu boyunca artmış ve bu artışın istatistiksel olarak önemli ($p < 0,0001$) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.10). Örneklerin pH değerleri üzerine katılan katkı maddesi çeşidinin ($P < 0,001$) ve depolama zamanı x katlı maddesi çeşidi ($P < 0,001$) etkileşiminin önemli etkisi olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Depolama başlangıcında örneklerin pH değerleri 6,06-6,14 arasında ölçülmüş ve örnekler arası farkın önemli olmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır (Şekil 4.9). Depolamanın 7. Gününde örneklerdeki pH artışının 0,14-0,72 birim olduğu ve en büyük artışın S4 ve S5 örneğinde en düşük artışın ise kontrol örneğinde olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$).

5.2.3 a_w Değeri

Salmonella spp. inoküle edilen sucuk örneklerine ait su aktivesi değerleri Çizelge 4.12'te gösterilmiştir. Sucukların a_w değerleri üzerine depolama zamanının ($P < 0,001$), kullanılan katkı maddesi çeşidinin ($P < 0,05$) ve depolama zamanı x katlı maddesi çeşidi ($P < 0,01$) interaksiyonunun önemli etkisi olduğu (Çizelge 4.1) tespit edilmiştir. Depolama başlangıcında örneklerin a_w değerleri 0,963-0,955 arasında ölçülmüştür ($P < 0,05$). 7 günlük depolama sonunda tüm örneklerin a_w değerleri azalarak ($P < 0,05$) (Şekil 4.10) 0,934-0,945'e düşmüştür. En düşük a_w değeri S1 ve S4 örneklerinde, en yüksek a_w değeri ise kontrol örneğinde saptanmıştır.

5.3 *Staphylococcus aureus* İnoküle Edilmiş Örneklerle Ait Tartışma

5.3.1 *Staphylococcus aureus* Sayımı

Farklı oranda nitrit ve nisin içeren sucuklara ait *Staphylococcus aureus* sayım sonuçları Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Örneklerin *Staphylococcus aureus* sayılarının depolama aşamasındaki zamana karşı değişiminin istatistiksel olarak önemli olduğu ($p<0,001$) görülmüştür (Çizelge 4.13). Ayrıca sucuklara ilave edilen katkı maddelerinin sucukların *Staphylococcus aureus* sayılarına etkisinin de önemli olduğu ($p<0,001$) benzer şekilde depolama zamanı x katkı maddesi çeşidi ($P<0,001$) interaksiyonunun önemli etkisi olduğu belirlenmiştir. Depolama başlangıcında örneklerin *Staphylococcus aureus* sayıları 6,12-6,27 log kob/g olmakla beraber örnekler arasında herhangi bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Depolamayla birlikte sucukların *Staphylococcus aureus* sayılarında kontrol örneği hariç düşüş saptanmıştır (Şekil 4.11). Belirlenen bu düşüşün istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Depolama sonunda örneklerin *Staphylococcus aureus* sayıları 2,88-6,73 log kob/g arasında değiştiği görülmüştür. Örnekler arasında *Staphylococcus aureus* sayıları farkının önemli olduğu ($p<0,01$) tespit edilmiştir. En yüksek bakteri sayısı kontrol örneğinde, en düşük sayı ise %100 Nisin katkılı S5 örneğinde tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Sucuk örneklerine ilave edilen katkı maddeleri *Staphylococcus aureus* sayılarını 0,46-3,27 log düşürmüştür. En büyük düşüş %100 nisin katkılı S5 örneğinde bulunmuştur ($p<0,05$)(Şekil 4.12). Elde edilen sonuçlar ışığında nisin *Staphylococcus aureus* üzerinde önemli düzeyde bakterisit özellik gösterdiği söylene bilinir.

Gönül (2017), yaptığı çalışmasında nisin ve lizozimin kremaların mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla kremaya ayrı ayrı ve kombinasyonlar halinde 12,5 mg/L oranında nisin ve 500 mg/L oranında lizozim ilave etmiş, nisin ve nisin içeren kombinasyonların ilave edildiği örneklerde farklı sıcaklıklarda muhafazası sırasında başta *Staphylococcus aureus* ve aerob sporlu bakteriler olmak üzere aerob

mezofil toplam bakteri, laktik asit bakterileri, *Staphylococcus-Micrococcus* ve *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* gelişimini önemli düzeyde yavaşlattığını, bununla birlikte koliformlar ile küf-maya gelişimi üzerine inhibe edici bir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur.

Türk tipi köftelerde nisin ve EDTA tuzları kullanımının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üzerine etkilerini araştıran Turgay (2013), yaptığı çalışmada EDTA'nın tek başına *Staphylococcus aureus* sayısında önemli bir düşüşe sebep olmadığı, nisin ve nisin içeren kombinasyonlarla üretilen köftelerde *Staphylococcus aureus* sayısında önemli düşüşler meydana geldiğini ortaya koymuştur.

Hampikyan (2009), yaptığı araştırmada deneysel olarak kirlenmiş fermente sucuklarda nisinin *Staphylococcus aureus* üzerine etkisini araştırmış ve çalışması sonucunda 150 µg/g ya da daha fazla miktarda nisinin sucuk hamuruna katılması suretiyle fermentasyon ve depolama süresince bu bakterinin gelişimini engellemek amacıyla kullanılabileceği ortaya çıkmıştır.

5.3.2 pH Değeri

Staphylococcus aureus inoküle edilen ucuk örneklerinin pH değerleri Çizelge 4.17'de görülmektedir. En düşük pH değeri depolama başlangıcında 6.15 ile S5 örneğinde, en düşük pH değeri ise kontrol örneğinde belirlenmiştir. Depolamayla birlikte örneklerin pH değerinde düşüş saptanmış ve düşüşün istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). Sucuk örneklerinin pH değerleri üzerine depolamanın zamanının ($P<0,001$), katkı maddesi çeşidinin ve depolama zamanı x katkı maddesi çeşidi ($P<0,001$) interaksiyonunun etkisinin önemli etkileri olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.15). Depolama sonunda en düşük pH değeri S5 (5,45) en yüksek değer ise kontrol örneğinde saptanmıştır ($P<0,05$) (Şekil 4.14).

5.3.3 a_w Değeri

Sucuk örneklerine ait su aktivitesi değerleri Çizelge 4.18'de görülmektedir. Sucuk

örneklerinde en düşük a_w değeri (0,9335) depolamanın 7. gününde %30 Nitrit ve %70 Nisin katkılı S4 örneklerinde, en yüksek a_w değeri ise (0,9620) ile benzer şekilde S4 örneklerinde saptanmıştır. Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre, sucuk örneklerinin a_w değerleri üzerine depolama zamanının ($P<0,0001$), katkı maddesi çeşidinin ve depolama zamanı x katkı maddesi çeşidi ($P<0,001$) interaksyonunun etkisinin önemli etkileri olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.16). Depolama başlangıcında örneklerin a_w değerleri arasında önemli bir fark olmamakla beraber ($P>0,05$), depolama sonunda örneklerin a_w değerleri düşüş göstermiştir (Şekil 4.15). Bu düşüşlerin kontrol örneği hariç ($P>0,05$) istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$).

5.4 *Listeria monocytogenes* İnoküle Edilmiş Örneklerle Ait Tartışma

5.4.1 *Listeria monocytogenes* Sayımı

Sucuk örneklerine katılan nitrit, nisin ve farklı oranlarda karışımlarının *Listeria monocytogenes* sayısı üzerine etkisi Çizelge 4.20’de verilmiştir. Sucuk örneklerinin depolama başlangıcında *Listeria monocytogenes* sayıları 6,08-6,24 log kob/g olarak değişmekle beraber sayılar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P>0,05$). Sucuk örneklerinin *Listeria monocytogenes* sayılarına depolama zamanının ($P<0,001$), katkı maddesi çeşidinin ($P<0,001$) ve depolama zamanının x katkı maddesi çeşidi etkileşiminin ($P<0,001$) istatistiksel olarak önemli etkisi olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.19). 7 günlük depolama boyunca sucuk örneklerinin *Listeria monocytogenes* sayıları kontrol örneği hariç azalmıştır ($P<0,05$) (Çizelge 4.20) (Şekil 4.16)..

Sucuk örneklerine nitrit, nisin ve nitrit + nisin karışımlarının ilavesi örneklerin *Listeria monocytogenes* sayılarını önemli düzeyde azaltmıştır ($P<0,05$)(Şekil 4.17). Kontrol örneğinde *Listeria monocytogenes* sayıları 0, 51 log oranında artış saptanmışken ($P>0,05$), katkı madde içeren örneklerde ise *Listeria monocytogenes* sayıları 1,61-2,53 log arasında azalmıştır ($P<0,05$). *Listeria monocytogenes* sayılarında en az düşüş %50 Nitrit ve %50 Nisin katkılı S3 örneğinde saptanmışken en yüksek azalış ise %100 Nisin içeren S5 örneğinde saptanmıştır.

5.4.2 pH Değeri

Listeria monocytogenes inoküle edilmiş örneklerin pH değerleri üzerine depolamanın zamanının ($P<0,001$), katkı maddesi çeşidinin ve depolama zamanı x katkı maddesi çeşidi ($P<0,001$) interaksiyonunun etkisinin önemli etkileri olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.21). Depolama başlangıcında örneklerin pH değerleri 6,06-6,15 arasında değişmekle beraber örneklerin pH değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P>0,05$). Depolamayla beraber örneklerin pH değerleri düşüş göstermiştir ($P>0,05$). Depolama sonunda en düşük pH değeri S5 örneğinde, en yüksek değer ise kontrol örneğinde saptanmıştır ($P<0,05$) (Şekil 4.19)

5.4.3 a_w Değeri

Listeria monocytogenes inoküle edilen ve farklı oranlarda nitrit ve nisin içeren sucuk örneklerine ait a_w değerleri Çizelge 4.23'te gösterilmiştir. Örneklerin a_w değerleri üzerine depolama zamanının çok önemli etkisi olmuştur ($P<0,001$). Benzer şekilde sucuk örneklerine ilave edilen katkı maddeleri de örneklerin a_w değerlerini etkilemiştir ($P<0,05$). Depolama başlangıcında 0,9525-0,9585 arasında değişen ($P>0,05$) değerler depolama sonunda 0,9320-0,9435'e düşmüşlerdir ($P<0,05$) (Şekil 4.20).

Nilsson vd (1997), nisin ve CO₂ uygulamaları sonucu dumanlanmış somon balıklarında 2 log oranında *Listeria monocytogenes* miktarının azaldığını tespit etmişlerdir.

Aktürkoğlu ve Erol (1998), nisin kullanılarak üretilen beyaz peynirlerde *Listeria monocytogenes*'in inhibisyonu üzerine bir araştırma yapmışlar ve çalışmalarını neticesinde beyaz peynirlerde 30µg/ml oranında nisin kullanımının muhafaza süresinin 60. gününde etkenin tamamen inhibe olduğunu belirtmişlerdir.

Bhatti vd. (2004), yaptıkları bir çalışmada 10⁴ kob/ml oranında *Listeria monocytogenes* ile kontamine edilmiş çiğ, homojenize ve pastörize sültere farklı dozlarda nisin ilave etmiş ve yaptıkları analizler sonucunda *Listeria monocytogenes* sayısında önemli oranda azalmalar olduğunu kaydetmişlerdir.

Bir diğerk çalışmada, Rajkoviç vd.(2005), *Bacillus cereus* ve *Bacillus circulans* ile kontamine edilmiş patates pürelerine farklı konsantrasyonlarda nisin ve corvacrol ilave edip vakum paketleme yapmışlardır. Yaptıkları gözlemler neticesinde mikroorganizma sayılarında belirgin azalmalar olduğu ortaya çıkmıştır.

Hampikyan (2006), yaptığı çalışmada farklı konsantrasyonlarda nisin ilave ederek üretilen fermente sucuklarda nisinin *Listeria monocytogenes* üzerine etkilerini incelemiştir. Araştırma sonucunda 100 µg/g nisin içeren sucuk örneğinde 20. günde *Listeria monocytogenes* ' in tamamen inhibe olduğu görölmüştür.

5.5 Sonuç

Kırmızı et günümüzde insan sağlığı açısından beslenmenin önemli bir parçasıdır. Fermente sucuk ise ölkemizde tüketim miktarı bakımından oldukça fazla tercih edildiği görölen ve tüketilen bir et ürünüdür. Günümüzde işlenmiş et ve et ürünlerinin üretiminde kullanılan katkı maddeleri sebebiyle sağlığa zararlarına ilişkin yapılan çalışmalar, tüketicilerin kimyasal katkı maddesi içermeyen daha doğal yollarla üretilmiş ürünlere olan taleplerini arttırmış buna paralel olarak et ürünlerinde nitrit ve nitrat kullanımına alternatif madde ve yöntemlerin araştırılmasına yönelik çalışmalar artmıştır. Tüketilen gıdalarda kullanılmış katkı maddelerinin olumsuz etkileri sonucu sağlığın olumsuz etkilenmesine sebebiyet verebilecek koşulların ortadan kaldırılmasına yönelik yapılan çalışmalar insan sağlığı açısından son derece önem arz etmektedir.

Yapılan çalışmalarda ağırlıklı olarak et ürünlerinde nitrit ya da nitrat yerine genellikle kereviz, pancar, ıspanak ve maydanoz gibi kendisi de bir nitrat kaynağı olan bitkiler üzerinde durulmuştur. Bu tür bitkisel katkıların kullanımı sonucunda son üründeki kalıntı nitrit miktarında azalma gerçekleşebilmekte fakat ürünün bazı kalite özelliklerinde istenmeyen yönde değişimler meydana gelebilmektedir. Et ürünlerinde nitrite alternatif kullanılabilecek katkı maddelerine yönelik yapılan çalışmalardaki diğerk bir yaklaşım ise nitritin et ürünlerindeki göstermiş olduğu fonksiyonları; antimikrobiyal özellikteki organik asitler, antibakteriyel özellikteki bakteriyosinler ve nitrozomyogloblin oluşumunu sağlayan mikrobiyal kaynaklar yardımıyla üründe

istenilen özelliklere ulaşabilmektedir.

Yapılan bu çalışmada fermente sucuk üretiminde sağlığa olan zararları bilinen ve tüketiciler tarafından endişeye sebep olan nitrit kullanımı yerine güvenilirliği konusunda onay almış bir bakteriyosin olan nisin kullanılarak nisinin fermente sucukta gelişmesi muhtemel dört gıda patojeni üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Nitrit ve nisin tekli ve farklı oranlardaki kombinasyonları şeklinde sucuk hamurlarına eklenerek sucuk üretimi gerçekleştirilmiştir. Deneysel olarak sucuk hamurlarına iki adet gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes*), iki adet gram negatif (*Salmonella* spp. ve *Escherichia coli*) patojen bakteri inoküle edilmiş nisinin farklı oranlardaki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

Yapılan mikrobiyolojik analizler neticesine göre; inoküle edilen *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* üzerine %100 nisin katılımı en büyük bakterisit etki gösterirken, *Escherichia coli* ve *Salmonella* spp. üzerine ise %70 Nitrit ve %30 Nisin katılımı en büyük bakterisit etki göstermiştir (Şekil 4.21).

Sonuç olarak bu çalışma ile elde edilen bulgulara göre; dünyada ve Türkiye’de sıklıkla tüketilen fermente sucuklarda mikrobiyolojik kalitenin korunabilmesi için nisinin, gram pozitif bakteriler için kullanılabileceği, gram negatif bakteriler için ise nitrit ile kombine edilmiş haliyle kullanılabileceği görülmüştür. Bu durum nitritin mevcut kullanılmakta olan dozundan daha az miktarlarda kullanılabilirliğinin mümkün olması açısından önemlidir.

6. KAYNAKLAR

- Acun, A. (2018). İstanbul'da Toplu Yemek Üretimi Yapan İşletmelerden Alınan Yemek Örneklerinin *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp. ve *Escherichia coli* O157:H7 Bakımından İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Ahn, H., Kim, J., Lee, C., and Byun, M. (2006). Reduction of Carcinogenic N-Nitrosamines and Residual Nitrite in Model System Sausage by Irradiation. *Journal of Food Science*, **67**: 1370-1373.
- Akarca, G. (2013). Kılıflanmış Sade ve Baharatlı Mozzarella Peynirinin Olgunlaşma Süresinde Değişimlerin İncelenmesi. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Akarca, G., Gök, V. ve Tomar, O. (2014). Gıda Muhafasında Kullanılan Bazı Doğal Antimikrobiyaller . *Kocatepe Veteriner Dergisi*, **7**: 59-68.
- Aktürkoğlu, E. ve Erol, İ. (1999). Beyaz Peynir Üretiminde Nisin Kullanımı ile *Listeria monocytogenes*'in inhibisyonu. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **23**: 785-792.
- Alahakoon, A. U., Jayasena, D., Sisitha , R. and Jo, C. (2015). Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. *Trends in Food Science & Techonology* , **45**: 37-49.
- Alişarlı, M. ve Solmaz, H. (2003). Sağmal İneklerin Meme Başı Derileri ve Çiğ Sütlerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus*'ların Patojenite Özellikleri ile Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları . *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **34**: 333-339.
- Al-Shadefat, B. (2011). Tüketim Sürecinde Döner Kebaplarda *Salmonella* spp. Varlığının Araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Anonim, (2001). Gıda ve hayvan yemlerinin-Mikrobiyolojisi-Koagulaz-Pozitif stafilokokların (*Staphylococcus aureus* ve diğer türler) sayımı için yatay metot-Bölüm 1: Baird-Parker agar besiyeri kullanarak. Türk Standardı TS 6582-1 EN ISO. Ankara.

- Anonim, (2013). Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği.
- Anonim, (2014). Gıda zincir mikrobiyolojisi - *Salmonella*'nın tespiti, sayılması ve serotiplendirilmesi için yatay yöntem - Bölüm 3: *Salmonella* türlerinin serotiplendirilmesi için kılavuz (ISO/TR 6579-3:2014). Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
- Anonim, (2015) , Ekim. Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi - Muhtemel *Escherichia coli*'nin belirlenmesi ve sayımı için yatay yöntem - En muhtemel sayı tekniği (ISO 7251:2005). Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
- Anonim, (2016). T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Gıda Teknolojisi Et ve Et Ürünleri Teknolojisi. Ankara.
- Anonim (2017), Nisan. Besin Zincirinin Mikrobiyolojisi - *Salmonella*'nın tespiti, sayımı ve serotiplendirmesi için yatay yöntem - Bölüm 1: *Salmonella* spp. (ISO 6579-1:2017. TSE Standard Hazırlama Merkezi Başkanlığı. Ankara.
- Anonim, (2017a.) Gıda zinciri mikrobiyolojisi- *Listeria* spp. ve *Listeria monocytogenes*'in aranması ve sayımı için yatay metot bölüm 2: Sayım metodu. Türk Standardı TS EN ISO 11290-2. Ankara.
- Anonim, (2019). Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2018/52).
- Archer, D. (2002). Evidence that Ingested Nitrate and Nitrite Are Beneficial to Health. *Journal of Food Protection*, **65**: 872-875.
- Ay, Z. (2013). Nisin, karvakrol ve etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)'in *Salmonella enterica* serotip Typhimurium' a karşı kombine antimikrobiyel etkisinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Bedale, W., Sindelar, J. and Milkowski, A. (2016). Dietary nirtate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions . *Meat Science*, **12**: 85-92.
- Berardo, A., Maere , H., Stavropoulou, D., Rysman, T., Leroy, F. and Smet, S. (2016). Effect of sodium ascorbate and sodium nitrite on protein and lipid oxidation in dry fermented sausages. *Meat Science*, **121**: 359-364.

- Bhatti, M., Veeramachaneni, A. and Shelef, L. (2004). Factors affecting the antilisterial effects of nisin in milk. *International Journal Of Food Microbiology*, **97**: 215-219.
- Bilge, G. (2010). Sucukta Üretim Sırasında Meydana Gelen Mikrobiyolojik ve Biyokimyasal Değişmelere Üretim Sıcaklığının ve Starter Kültürün Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Boğa, A. ve Binokay, S. (2010). Gıda Katkı Maddeleri ve Sağlığımıza Etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, **19**: 141-154.
- Borch, E. and Arinder, P. (2002). Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. *Meat Science*, **62**: 381-390.
- Bouttefroy, A., Mansour, M., Linder, M. and Milliere, J.-B. (2000). Inhibitory combinations of nisin, sodium chloride, and pH on *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 in broth by an experimental design approach. *International Journal of Food Microbiology*, **54**: 109-115.
- Breukink, E., Kraaij, C., Dalen, A., Demel, R., Siezen, R., Kruijff, B. and Kuipers, O. (1998). The Orientation of Nisin in Membranes. *Biochemistry*, **37**: 8153-8162.
- Broughton, J. (2005). Nisin as a food preservative. *Food Australia*, **57**: 525-527.
- Büyükcinal, S., Şakar, F., Turhan, İ., Erginbaş, Ç., Sandıkçı Altunatmaz, S., Yılmaz Aksu, F., Yılmaz Eker, F. and Kahraman, T. (2016). Presence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 and Nitrate-Nitrite Residue Levels in Turkish Traditional Fermented Meat Products (Sucuk and Pastırma). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **22**: 233-236.
- Campbell-Platt, G. and Cook, P. (1995). Fermented Meats. London: Blackie Academic & Professional.
- Candan, T. ve Bağdatlı, A. (2018). Et ürünlerinde nitrit / nitrat azaltılmasına yönelik doğal uygulamalar. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **24**: 1382-1387.

- Casaburi, A., Aristoy, M.-C., Cavella, S., Monaco, R., Ercolini, D. and Toldra, F. (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science*, **76**: 295-0-307.
- Cebirbay, M. (2014). Fermente ve Isıl İşlem Uygulanmış Sucuklarda Bazı *Lactobacillus* ve Patojen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Ceran, N. (2018). Değişik Konsantrasyonlarda İlave edilen Tarhun ve Mercanköşk Ekstraktlarının, Hamburger Köftesinde Bulunması Muhtemel Bazı Gıda Patojenleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonlarahisar.
- Ceylan, Z. (2014). Nisin ve ışınlama uygulamalarının birlikte kullanılmasının soğukta depolanan balığın raf ömrüne etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Chen, H. and Hoover, D. (2006). Bacteriocins and their Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2**: 82-100.
- Chen, Y. and Rosazza, J. (1995). Purification and characterization of nitric oxide synthase (NOSNoc) from a Nocardia species. *Journal of Bacteriology*, **177**: 5122-5128.
- Cleveland, J., Montville, T., Nes, I. and Chikindas, M. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, **71**: 1-20.
- Çolak, H., Hampikyan, H., Ulusoy, B. and Bingöl, E. (2007). Presence of *Listeria monocytogenes* in Turkish style fermented sausage (sucuk). *Food Control*, **18**: 30-32.
- Dalmış, Ü. and Soyer, A. (2008). Effect of processing methods and starter culture (*Staphylococcus xylosus* and *Pediococcus pentosaceus*) on proteolytic changes in Turkish sausages (sucuk) during ripening and storage. *Meat Science*, **80**: 345-354.

- De Mey, E., De Maere, H., Paelinck, H. and Fraeye, I. (2017). Volatile N-nitrosamines in meat products: Potential precursors, influence of processing, and mitigation strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **57**: 2909-2923.
- Deegan, L., Cotter, P., Hill, C. and Ross, P. (2006). Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *International Dairy Journal*, **16**: 1058-1071.
- Diñçer, B., Mutluer, B., Erol, İ., Özdemir, H., Yağlı, Ö. ve Akgün, S. (1995). Türk Fermente Sucuğuna Özgü Starter Kültür Bakterilerinin İzolasyon, İdentifikasyon ve Üretimleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **42**: 285-293.
- Duksal, F., Aygüneş, U., Bolat, F., Oflaz, M. ve Cevit, Ö. (2013). *Salmonella* ishali olan immün yetmezlikli bir olguda oral İmmünoglobulin tedavisi. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, **35**: 600-604.
- Duru, H. (2000). The Effects of nisin combined with EDTA and hydrogen peroxide on *Salmonella enteritidis* in liquid whole egg. Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Dykes, G. (2004). *Escherichia coli* O157:H7. W. Jensen, C. Devine, and M. Dikeman In: *Encyclopedia of Meat Sciences*. 781-786.
- Economou, T., Pournis, N., Ntzimani, A. and Savvaidis, I. (2009). Nisin-EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food Chemistry*, **114**: 1470-1476.
- Ercoşkun, H. (2006). Isıl İşlem Uygulanarak Üretilen Sucukların Bazı Kalite Özelliklerine Fermentasyon Süresinin Etkileri. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Erdoğrul, Ö. ve Ergün, Ö. (2005). Kahramanmaraş Piyasasında Tüketilen Sucukların Bazı Fiziksel, Kimyasal, Duyusal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* **31**: 55-65
- Fang, T. and Tsai, H.-C. (2003). Growth patterns of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef treated with nisin, chelators, organic acids and their combinations immobilized in calcium alginate gels. *Food Microbiology*, **20**: 243-253.

- Gill, A. and Holley, R. (2003). Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24 degrees C. *International Journal of Food Microbiology*, **80**: 251-259.
- Gökalp, H., Ercoşkun, H. ve Çon, A. (1998). Fermente Et Ürünlerinde Bazı Biyokimyasal Reaksiyonlar ve Aroma Üzerine Etkileri. *Journal of Engineering Science*, **4**: 805-811.
- Gönül, Ö. (2017). Kremaların Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Nisin ve Lisozimin Etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Grant, A., Hashem, F. and Parveen, S. (2016). *Salmonella* and *Campylobacter*: Antimicrobial Resistance and Bacteriophage Control in Poultry. *Food Microbiology*, **53**: 104-109.
- Gülbandılar, A. (2009). Kütahya Yöresinde Burun Mukozasındaki *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığının ve Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılması. *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* **18**
- Günşen, U., Yaroğlu, T. ve Yılmaz, C. (2003). Çeşitli hayvansal Gıda Ürünlerinde Stafilokokal Enterotoksin Varlığının Belirlenmesi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi* **4**: 28-34.
- Gyles, C. and Fairbrother, J. (2010). *Escherichia coli*. In: C. Gyles, J. Prescott, G. Songer, and C. Thoen *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. 267-307.
- Halkman, A. (2005). MERCK Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ankara.
- Hampikyan, H. (2006). Fermente sucuklarda nisin kullanımının *Listeria monocytogenes* üzerine etkileri. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Hampikyan, H. (2009). Efficacy of Nisin against *Staphylococcus aureus* in Experimentally Contaminated Sucuk, a Turkish-Type Fermented Sausage. *Journal of Food Protection*, **72**: 1739-1743.
- Hampikyan, H. ve Çolak, H. (2007). Nisin ve Gıdalardaki Antimikrobiyal Etkisi. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, **6**.

- Herrmann, S., Grandby, K. and Duedahl-Olesen, L. (2015). Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages. *Food Chemistry*, **174**: 516-526.
- Honnikel, K. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, **78**: 68-76.
- Horsch, A., Sebranek, J., Dickson, J., Niebuhr, S., Larson, E. and Lavieri, N. (2014). The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice concentrate compared with conventional sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. *Meat Science*, **96**: 453-454.
- Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, **49**: 139-150.
- Hugas, M. and Monfort, J. (1997). Bacterial starter cultures for meat fermentation . *Food Chemistry*, **59**: 547-554.
- Hugas, M., Garriga, M., Pascual, M., Aymerich , M. and Monfort, J. (2002). Enhancement of sakacin K activity against *Listeria monocytogenes* in fermented sausages with pepper or manganese as ingredients. *Food Microbiology*, **19**: 519-528.
- Hui, Y. (2012). Handbook of Meat and Meat Processing. Taylor & Francis Group.
- Jayasena, D. and Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products. A review. *Trends in Food Science & Techonology*, **34**: 96-108.
- Kabak, B. and Dobson, A. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **51**: 248-260.
- Kahraman, A. (2016). Mercanköşk ve Tarçın İlave Edilmiş Beyaz Peynirlerde Bazı Gıda Patojenlerinin Üreme ve Canlı Kalma Yeteneklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.

- Karaçıl, M. ve Acar Tek, N. (2013). Dünyada üretilen Fermente Ürünler: Tarihsel Süreç ve Sağlık ile İlişkileri. *Journal of Agriculturel Faculty of Uludağ University*, **27**: 163-173.
- Konaç, Y. (2006). Beyaz Peynir Örneklerinde *Staphylococcus aureus*' un Farklı Selektif Besiyerlerinde Sayımı ve Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Koponen, O. (2004). Studies of producer self-protection and nisin biosynthesis of *Lactococcus lactis*. Institute of Biotechnology and Department of Applied Chemistry and Microbiology. Helsinki/ Finland.
- Kurt, Ş. ve Zorba, Ö. (2005). Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları. *Yeni Yüzyıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fakültesi Dergisi*, **16**: 77-83.
- Küçükçetin, A. and Milci, S. (2008). Food Poisonings by Cheese Contaminated with *Staphylococcus aureus*. *Gıda*, **33**: 129-135.
- Lahti, E., Johansson, T., Honkanen-Buzalski, T., Hill, P. and Nurmi, E. (2001). Survival and detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during the manufacture of dry sausage using two different starter cultures. *Food Microbiology*, **18**: 75-85.
- Le Loir, Y., Baron, F. and Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and Food Poisoning. *Genetics and Molecular Research*, **2**: 63-76.
- Levinson, W. (2008). Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji.
- Li, P., Kong, B., Chen, Q., Zheng, D. and Liu, N. (2013). Formation and identification of nitrosylmyoglobin by *Staphylococcus xylosus* in raw meat batters: a potential solution for nitrite substitution in meat products. *Meat Science*, **93**: 67-72.
- Liu, W. and Hansen, J. (1990). Some chemical and physical properties of nisin, a small-protein antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. *Applied and Enviromental Microbiology*, **56**: 2551-2558.
- Lorcu, F. and Bolat, B. (2012). Edirne İlinde Kırmızı Et Tüketim Tercihlerinin İncelenmesi. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, **9**: 71-85.

- Magalhaes, R., Mena, C., Ferreira, V., Silva, J., Almeida, G. and Gibbs, P. (2014). Bacteria - *Listeria monocytogenes*. In: Y. Motarjemi, G. Moy, and E. Todd Encyclopedia of Food Safety 450-461.
- Manning, S. (2010). *Escherichia coli* Infections.
- Messens, W., Verluyten, J. and De Vuyst, L. (2003). Modelling growth and bacteriocin production by *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 in response to temperature and pH values used for European sausage fermentation processes. *International Journal of Food Microbiology*, **81**: 41-52.
- Millette, M., Le Tien, C., Smoragiewicz, W. and Lacroix, M. (2007). Inhibition of *Staphylococcus aureus* on beef by nisin-containing modified alginate films and beads. *Food Control*, **18**: 878-884.
- Muratoğlu, K., Çetin, Ö. ve Çolak, H. (2015). Besin Kaynaklı Hastalıkların Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics*, **1**: 1-8.
- Mutluer, B., Kaymaz, Ş., Erol, İ. ve Akgün, S. (1993). Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* Suşlarının Beyaz Peynirde Üretim ve Olgunlaşma Sırasındaki Üreme ve Enterotoksin Oluşturma Yetenekleri. *A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, **40**: 413-426.
- Nattress, F., Yost, C. and Baker, L. (2001). Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **70**: 111-119.
- Nilsson, L., Huss, H. and Gram, L. (1997). Inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon by nisin and carbon dioxide atmosphere. *International Journal of Food Microbiology*, **38**: 217-227.
- Olasupo, N., Fitzgerald, D., Gasson, M. and Narbad, A. (2003). Activity of natural antimicrobial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Letters in Applied Microbiology*, **36**: 448-451.
- Omerovic, M., Müştak, H. ve Kaya, İ. (2017). *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri. *Etlik Vet Mikrobiyol Dergisi*, **28**: 1-6.

- Ordenez, J., Hierro, E., Bruna, J. and Hoz, L. (1999). Changes in the Components of Dry-Fermented Sausages during Ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* , **39**: 329-367.
- Özbay Doğu, S. ve Sarıçoban, C. (2015). Et Kurutma Teknolojisi ve Dünyada Tüketilen Bazı Kurutulmuş Et Ürünleri. *Journal of Food and Health Science*, **1**: 109-123.
- Öztan, A. (2008). Et Bilimi ve Teknolojisi, Ankara. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi Yayın No:1.
- Pantel, I., Lindgren, P., Neubauer, H. and Götz F. (1998). Identification and characterization of the *Staphylococcus carnosus* nitrate reductase operon. *Molecular & General Genetics: MGG*, **259**: 105-114.
- Parthasarathy, D. and Bryan, N. (2012). Sodium nitrite: The "cure" for nitric oxide insufficiency. *Meat Science*, **92**: 274-279.
- Peacock, E., Jacob, V. and Fallone, S. (2001). *Escherichia coli* O157:H7: Etiology, clinical features, complications, and treatment. *Nephrology nursing journal: journal of the American Nephrology Nurses' Association*, **28**: 547-50, 553-5; quiz 556-7.
- Perea-Sanz, L., Montero, R., Belloch, C. and Flores, M. (2018). Nitrate reduction in the fermentatiton process of salt reduced dry sausages: Impact on microbial and physicochemical parametres and aroma profile. *International Journal of Food Microbiology*, **282**: 84-91.
- Pierson, M. and Smoot, L. (1982). Nitrite, nitrite alternatives, and the control of *Clostridium botulinum* in cured meats. *Critical Reviews in Food*, **17**: 141-187.
- Pradhan, A., Ivanek, R., Gröhn , Y., Geornaras, I., Sofos, J. and Wiedmann, M. (2009). Quantitative risk assessment for *Listeria monocytogenes* in selected categories of deli meats: impact of lactate and diacetate on listeriosis cases and deaths. *Journal of Food Protection*, **72**: 978-989.
- Pradhan, A., Ivanek, R., Gröhn, Y., Geornaras, I., Sofos, J. and Wiedmann, M. (2009). Quantitave Risk Assessment for *Listeria monocytogenes* in Selected Categories of Deli Meats: Impact of Lactate and Diacetate on Listeriosis Cases and Deaths. *Journal of Food Protection*, **72**: 978-989.

- Rajkovic, A., Uyttendaele, M., Courtens, T. and Debevere, J. (2005). Antimicrobial effect of nisin and carvacrol and competition between *Bacillus cereus* and *Bacillus circulans* in vacuum-packed potato puree. *Food Microbiology*, **22**: 189-197.
- Ray, B. (2004). *Fundamental Food Microbiology*. CRC PRESS Boca Raton London New York Washington, D.C.
- Rodriguez, J., Martinez, M., Horn, N. and Dobb, H. (2003). Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **80**: 101-116.
- Ruiz-Capillas, C., Aller- Guiote, P. and Jimenez-Colmenero, F. (2007). Application of flow injection analysis to determine protein- bound nitrite in meat products. *Food Chemistry*, 812-816.
- Schillinger , U., Becker , B., Vignolo, G. and Holzapfel, W. (2001). Efficacy of nisin in combination with protective cultures against *Listeria monocytogenes* Scott A in tofu. *International Journal of Food Microbiology*, **71**: 159-68.
- Sebranek, J. and Bacus, J. (2007). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science*, **77**: 136-147.
- Sezgin, E. (2013). Aydın'da Tüketime Sunulan Kıyma ve Hamburger Köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Sindelar, J. and Milkowski, A. (2011). Sodium Nitrite in Prcessed Meat and Poultry Meats: A review of Curing and Examining the Risk / Benefit of Its Use. *American Meat Science Association White Paper Series*, 3.
- Slutsker, L. and Schuchat, A. (1999). Listeriosis in Humans. In: E. Ryser, & E. Marth *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, 75-76.
- Soyer, A. (2002). Fermente Et Ürünlerinde Kaliteyi Etkileyen İç Faktörler. *Gıda*, **27**: 15-19.
- Stevens, K., Sheldon, B., Klapes, N. and Klaenhammer, T. (1991). Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria. *Applied*

And Environmental Microbiology, **57**: 3613-3615.

- Sucu, Ç. (2018). Sucuk Üretiminde Nitrit Laternatifi Olarak Sebze Unlarının Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Szabo, E. and Cahill, M. (1998). The combined affects of modified atmosphere, temperature, nisin and ALTA (TM) on the growth of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, **43**: 21-31.
- Şen, S., Aksoy, H. ve Yılmaz, S. (2017). Gıda katkı maddelerinin genotoksik, karsinojenik potansiyeli ve insan sağlığı üzerindeki diğer etkileri. *International Journal of Human Sciences*, **14**: 3093-3108.
- Şenol, A. (1996). Fermente Sucuklarda Bozulmalara Neden Olan Faktörlerin Tesbiti Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Şireli, T. ve Artık, N. (2014). Kırmızı Et Hakkında Bazı Bilgiler ve Bilimsel Gerçekler. Ankara Üniversitesi Gıda Güvenliği Enstitüsü. Ankara.
- Taşdemir, C. (2009). Toplum ve Hastane Kaynaklı İnfeksiyonlardan İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Fenotiplerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul.
- Terns, M., Milkowski, A., Claus, J. and Sindelar, J. (2011). Investigating the effect of incubation time and starter culture addition level on quality attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Science*, **88**: 454-461.
- Toldra, F. and Milagro, R. (2011). Innovations for healtier processed meats. *Trends in Food Science & Techonology* **22**: 517- 522.
- Tompkin, R. B. (2005). Nitrite. In: P. M. Davidson, J. Sofos, and A. Branen *Antimicrobials in Food*, 169-236. Taylor & Francis Group.
- Tosun , D. ve Demirbaş, N. (2012). Türkiye'de Kırmızı Et ve Et ürünleri Sanayiinde Gıda Güvenliği Sorunları ve Öneriler. *Journal of Agricultural Faculty of Uludağ University*, **26**: 93-101.

- Townsend, J. (2006). Use of A Scald Additive to Reduce Levels of Salmonella During Poultry. *Degree of Master of Science*, Graduate Faculty of Auburn University.
- Turgay, S. (2013). Nisin ve ADTA Tuzlarının Türk Tipi Köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus* Varlığı Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Turgut, N. (2015). Aydın İlinde Tüketime Sunulan Marullarda *E. coli* O157-H7 varlığının araştırılması. Doktora Tezi, Andan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Wagner, M. and McLauchlin, J. (2008). Biology. In: D. Liu, Handbook of *Listeria monocytogenes*, CRC Press.
- Wasteson, Y. (2001). Zoonotic *Escherichia coli*. *Acta vet. scand.*, **95**: 79-84.
- Wiedemann, I., Benz, R. and Sahl, H. (2004). Lipid II-Mediated Pore Formation by the Peptide Antibiotic Nisin: a Black Lipid Membrane Study. *Journal of Bacteriology*, **186**: 3259-3261.
- Wiedemann, I., Breukink, E., Van Kraaij, C., Kuipers, O., Bierbaum, G. and De Kruijff, B. (2001). Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II combines pore formation and inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity. *The Journal of Biological Chemistry*, **276**: 1772-1779.
- Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwathana, A., Benjakul, S. and Visessanguan, W. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*, **120**: 118-132.
- Yalçın, H. ve Can, Ö. (2013). Geleneksel Yöntemle Üretilen Sucuklarda *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve Koliform Varlığının Araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **19**: 705-708.
- Yavuz, M. ve Korukoğlu, M. (2010). *Listeria monocytogenes*'in Gıdalardaki Önemi ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Journal of Agricultural Faculty of Uludağ University*, **24**: 1-10.
- Yıldız Turp, G. ve Sucu, Ç. (2016). Et Ürünlerinde Nitrat ve Nitrit Kullanımına Potansiyel Alternatif Yöntemler. *CBÜ Fen Bilimleri Dergisi*, **12**: 231-242.

- Yücel, N. and Anıl, Y. (2011). Identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and coagulase negative *staphylococci* isolated from raw milk and cheese samples. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* , **68**: 73-78.
- Zhang, X., Kong, B. and Xiong Y.L. (2007). Production of cured meat color in nitrite-free Harbin red sausage by *Lactobacillus fermentum* fermentation. *Meat Science*, **77**: 593-598.

İnternet Kaynakları

- 1- <https://www.webmd.com/diet/features/the-truth-about-seven-common-food-additives#1>, 31.03.2019
- 2- <http://www.sahgun.com/sayfalar.336.nisin.html>, 15.03.2019

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilek DEMİRKOL
Doğum Yeri ve Tarihi : Gediz / 02.05.1988
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) : 0505 608 81 83
demirkoldilek@hotmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Afyon Kocatepe Anadolu Lisesi, (2002-2006)
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü, (2007-2011)
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri
Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı,
(2016-2019)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Afyonkarahisar Kredi ve Yurtlar Kurumu Kız ve
Erkek Öğr. Yurtları: (2012-2013)
Afyon Kocatepe Üniversitesi Hastanesi: (2013-2017)
İstanbul Teknik Üniversitesi: (2017- Devam ediyor)