



**ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUKTA YEREL
LAKTİK ASİT BAKTERİ SUŞLARININ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN GELİŞİMİNE
ETKİLERİ**

Yağmur AKYOL

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mükerrerem KAYA

2021

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUKTA YEREL LAKTİK ASİT BAKTERİ SUŞLARININ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS'UN GELİŞİMİNE ETKİLERİ**

(The Effects of Autochthonous Lactic Acid Bacteria Strains on the Growth of *Staphylococcus aureus* in Heat Treated Sucuk)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yağmur AKYOL

Danışman: Prof. Dr. Mükerrrem KAYA

Erzurum
Haziran, 2021

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Yağmur AKYOL tarafından hazırlanan “*Isıl İşlem Görmüş Sucukta Yerel Laktik Asit Bakteri Suşlarının Staphylococcus aureus’un Gelişimine Etkileri*” başlıklı çalışması 05/07/2021 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gıda Mühendisliği Bilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Mükerrerem KAYA <i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Danışman:	Prof. Dr. Mükerrerem KAYA <i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Güzin KABAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Selen SALLAN <i>Bandırma Onyedi Eylül Üniversitesi</i>	

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2021-8940

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksel Lisans Tezi olarak *Prof. Dr. Mükerrerem KAYA* danışmanlığında sunulan “*Isıl İşlem Görmüş Sucukta Yerel Laktik Asit Bakteri Suşlarının Staphylococcus aureus’un Gelişimine Etkileri*” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	%5	30
Kuramsal Temeller	%4	30
Materyal ve Yöntem	%19	35
Bulgular	%12	20
Tartışma	%12	20
Tezin Geneli	%10	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5’den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Yağmur AKYOL	Prof. Dr. Mükerrerem KAYA
18.6.2021	18.6.2021
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın planlanmasında ve yürütülmesinde beni destekleyen, üstün bilgi ve tecrübelerini aktaran Saygıdeğer Hocam Sayın Prof. Dr. Mükerrerem KAYA'ya minnettarlığımı bildirir, şükran ve teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca araştırmanın, tüm safhalarında yine bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın Hocam Prof. Dr. Güzin KABAN'a ve uygulama aşamasında benden desteğini esirgemeyen Öğr. Gör. Zeynep Feyza YILMAZ ORAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Kayıtsız şartsız beni destekleyen kıymetli annem Nesrin AKYOL ve babam Bahri AKYOL'a, her daim yanımda olan sevgili kardeşlerim Burcu AKYOL ve Büşra AKYOL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yağmur AKYOL

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUKTA YEREL LAKTİK ASİT BAKTERİ SUŞLARININ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*'UN GELİŞİMİNE ETKİLERİ

Yağmur AKYOL

Danışman: Prof. Dr. Mükerrerem KAYA

Amaç: Araştırmada yerel laktik asit bakteri suşlarının (*Lactobacillus plantarum* S91, *Lactobacillus sakei* S15, *Pediococcus acidilactici* S147b) ısıt işlem görmüş sucukta fermantasyon süresince *Staphylococcus aureus*'un gelişimine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Yerel suşlar (Kontrol, *L. plantarum* S91, *L.sakei* S15, *P. acidilactici* S147b veya *L. plantarum* S91 + *L. sakei* S15 + *P. acidilactici* S147b) kullanılarak beş farklı ısıt işlem görmüş sucuk hamuru hazırlanmıştır. Sucuk hamurları 10^5 kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontamine edilmiştir. Fermantasyon (22°C'de 72 saat) ve ısıt işleminden (68°C'lik iç sıcaklık) sonra, ısıt işlem görmüş sucuk grupları 18°C'de kurutulmuştur. Fermantasyon süresince alınan örnekler (0, 24, 48 ve 72 saat) mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal analizlere tabi tutulmuştur. Ayrıca ısıt işlem ve kurutmadan sonra da örnekler analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiki analizlere de tabi tutulmuştur.

Bulgular: Fermantasyon aşamasında starter kültürsüz kontrol grubunda *S. aureus* sayısında önemli bir artış belirlenmiştir. Yerel suşların varlığında *S. aureus* sayısında önemli bir değişim olmamıştır. Suşlar fermantasyonda iyi bir gelişme göstermiş ve pH değerinde önemli düşüşe neden olmuştur. Tüm ısıt işlem görmüş sucuk gruplarında ısıt işleminden sonra *S. aureus*, laktik asit bakteri, *Micrococcus/Staphylococcus*, maya ve küf sayıları saptanabilir sınırın altında (<100 kob/g) bulunmuştur. Kurutma sonunda ısıt işlem görmüş sucuk gruplarının a_w değeri 0,927 ile 0,935 arasında değişmiştir. Ayrıca *S. aureus* inoküle edilen son ürünlerde enterotoksin belirlenmemiştir.

Sonuç: Yarı kuru bir fermente sosis çeşidi olan ısıt işlem görmüş sucukta fermantasyon sırasında yerel suşlar pH'yı düşürmekte ve böylelikle *S. aureus*'un gelişimini inhibe edilebilmektedir. Bununla birlikte 10^6 kob/g *S.aureus* seviyesinde dahi ısıt işlem görmüş sucuk üretim koşullarında enterotoksin oluşmamaktadır.

2021, 64 sayfa

Anahtar Kelimeler: *S.aureus*, Isıt işlem görmüş sucuk, Yerel suşlar, *L. sakei*, Stafilokokal enterotoksin

ABSTRACT

Ms Thesis

THE EFFECTS OF AUTOCHTHONOUS LACTIC ACID BACTERIA STRAINS ON THE GROWTH OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN HEAT TREATED SUCUK

Yağmur AKYOL

Supervisor: Prof. Dr. Mükerrerem KAYA

Aim: In this study, it was aimed to determine the effects of autochthonous lactic acid bacteria strains (*Lactobacillus plantarum* S91, *Lactobacillus sakei* S15, *Pediococcus acidilactici* S147b) on the growth of *Staphylococcus aureus* during fermentation in heat-treated sucuk.

Method: Five different heat-treated sucuk batters were prepared using autochthonous strains (Control, *L. plantarum* S91, *L.sakei* S15, *P. acidilactici* S147b or *L. plantarum* S91 + *L. sakei* S15 + *P. acidilactici* S147b) . Sucuk batters were contaminated with *S.aureus* at the level of 10⁵ cfu/g. After fermentation (72 hours at 22°C) and heat treatment (68°C internal temperature), the heat-treated sucuk groups were dried at 18°C. Samples taken during fermentation (0, 24, 48 and 72 hours) were analysed to microbiological and physico-chemical properties. In addition, samples were analyzed after heat treatment and drying. The results obtained were also subjected to statistical analysis.

Results: In the control group without starter culture, a significant increase in the count of *S. aureus* was determined during the fermentation stage. There were no significant changes in the count of *S. aureus* in the presence of autochthonous strains. The strains showed good growth during fermentation and caused a significant decrease in pH value. After heat treatment, the counts of *S. aureus*, lactic acid bacteria *Micrococcus/Staphylococcus*, yeast and mold were found below the detectable limit (<100 cfu/g) in all heat-treated sucuk groups. At the end of drying, the a_w value varied between 0.927 and 0.935 in heat-treated sucuk groups. In addition, enterotoxin was not detected in the final products inoculated with *S. aureus*.

Conclusion: Autochthonous strains decrease the pH during fermentation in heat-treated sucuk, which is a semi-dry fermented sausage type, and thus the growth of *S. aureus* can be inhibited. However, even at the level of 10⁶ cfu/g *S.aureus*, no enterotoxin is formed under heat treated sucuk production conditions.

2021, 65 Pages

Keywords: *S.aureus*, Heat treated sucuk, Autochthonous strains, *L. sakei*, Staphylococcal enterotoxin

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
GİRİŞ.....	1
KAYNAK ÖZETLERİ.....	7
MATERYAL ve YÖNTEM	17
Materyal	17
Yöntem.....	17
Sucuk üretimi	17
Örneklerin alınması ve analizlere hazırlanması	19
Analizler.....	19
ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	21
<i>Staphylococcus aureus</i>	21
Laktik Asit Bakteri.....	25
<i>Micrococcus/Staphylococcus</i>	30
Enterobacteriaceae	33
Maya ve Küf.....	33
pH.....	35
Su Aktivitesi (a_w)	39
Enterotoksin Oluşumu.....	41
SONUÇ.....	42
KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	52

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Deneme (Blok) planı	18
Tablo 2. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucuklarda üretim süresince <i>S. aureus</i> sayısının değişimi (log kob/g).....	22
Tablo 3. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen <i>S. aureus</i> sayılarına ait varyans analiz sonuçları	23
Tablo 4. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucukların <i>S.aureus</i> sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)	25
Tablo 5. Isıt işleml görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen <i>S.aureus</i> sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)	25
Tablo 6. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucuklarda üretim süresince laktik asit bakteri sayısının değişimi (log kob/g).....	26
Tablo 7. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen laktik asit bakteri sayılarına ait varyans analiz sonuçları	27
Tablo 8. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucukların laktik asit bakteri sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları	28
Tablo 9. Isıt işleml görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen laktik asit bakteri sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)	29
Tablo 10. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucuklarda üretim süresince <i>Micrococcus/Staphylococcus</i> sayısının değişimi (log kob/g).....	30
Tablo 11. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen <i>Micrococcus/Staphylococcus</i> sayılarına ait varyans analiz sonuçları	31
Tablo 12. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucukların <i>Micrococcus/Staphylococcus</i> sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları	31
Tablo 13. Isıt işleml görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen <i>Micrococcus/Staphylococcus</i> sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları	32
Tablo 14. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucuklarda üretim süresince maya ve küf sayısının değişimi (log kob/g).....	33
Tablo 15. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işleml görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen maya ve küf sayılarına ait varyans analiz sonuçları	34

Tablo 16. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucukların maya ve küf sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları	34
Tablo 17. Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen maya ve küf sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları	35
Tablo 18. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucukta üretim süresince belirlenen pH değerleri	36
Tablo 19. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları	36
Tablo 20. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucukların pH değerlerine ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)	37
Tablo 21. Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)	38
Tablo 22. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucukta üretim süresince belirlenen su aktivitesi değerleri	39
Tablo 23. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen a_w değerlerine ait varyans analiz sonuçları	40
Tablo 24. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucukların a_w değerlerine ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları	40
Tablo 25. Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen a_w değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksyonunun ısıtma işlemi görmüş sucukta laktik asit bakterilerinin gelişimine etkisi	29
Şekil 2. Yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksyonunun ısıtma işlemi görmüş sucukta <i>Micrococcus/Staphylococcus</i> gelişimine etkisi.....	32
Şekil 3. Yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksyonunun ısıtma işlemi görmüş sucuğun pH değerlerine etkisi	38



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
kg	Kilogram
mg	Miligram
ng	Nanogram
g	Gram
kDa	Kilo Dalton
kob	Koloni Oluşturan Birim
a _w	Su Aktivitesi
TBARS	Thiobarbutirik Asit Reaktif Maddeler
SE	Stafilokokal Enterotoksinler
SEA	Stafilokokal Enterotoksin A
SEB	Stafilokokal Enterotoksin B
SEC	Stafilokokal Enterotoksin C
SED	Stafilokokal Enterotoksin D
SEE	Stafilokokal Enterotoksin E
MPN	En Olası Sayı
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SET-RPLA	Stafilokokal Enterotoksin Ters Pasif Lateks Aglütinasyonu
GDL	Glukono Delta Lakton

GİRİŞ

Staphylococcus aureus, spor oluşturmayan, hareketsiz, kok formunda, Gram (+) ve katalaz (+) bir mikroorganizmadır. Bu mikroorganizma genellikle insan ağız ve burun mukozasında yer almaktadır (Bhatia and Zahoor 2007). *S. aureus* önceki sınıflandırmada Micrococcaceae üyesinde iken yeni sınıflandırmada Staphylococcaceae familyasına dahil edilmektedir (De Vos *et al.* 2009). Stafilokokal hücre duvarı lizozime dirençli, lizostafine duyarlıdır (Loir *et al.* 2003). Koagülaz (+) özellik gösteren bu bakteri termonükleaz, hemoliz, hyaluronidaz, lipaz ve penisilinaz gibi enzimlere de sahiptir. Aerobik ve anaerobik koşullarda laktoz, glukoz ve mannitolden asit oluşturabilmektedir (Kaban 2004). *S. aureus* suşları, antibiyotiklere duyarlılık ya da dirençlilik açısından ise farklı özellikler gösterebilmektedir (Bhatia and Zahoor 2007).

S. aureus'un optimum gelişme sıcaklığı 30-37°C olup 7-48,5°C aralığında da gelişebilmektedir (Bhatia and Zahoor 2007; Kadariya *et al.* 2014). Ayrıca bu bakteri pH 7,0 ile 7,5 arasında optimum gelişme gösterebilmekte, pH 4,0-9,3 arasında ise canlılığını sürdürebilmektedir (Loir *et al.* 2003). İnsanların ağız ve burun mukozası, deri, apseli yaralar bu mikroorganizma için önemli kontaminasyon kaynaklarıdır. İşletme alet ve ekipmanları da diğer bulaşma kaynakları olarak değerlendirilmektedir (İşeri ve Erol 2009).

S. aureus, %15 sodyum klorür varlığında dahi gelişebilmektedir (Bhatia and Zahoor 2007). Tuz ve nitrite dayanıklı olduğundan farklı ortamlarda gelişip uygun şartlar oluştuğunda toksin üretebilmektedir (Marcy *et al.* 1985). *S. aureus*'un aerobik şartlarda gelişebilmesi için minimum su aktivitesi değeri ise 0,83-0,86 aralığında değişmektedir. Bununla birlikte toksin üretimi daha yüksek su aktivitesi değerlerinde gerçekleşmektedir (Yörük 2012). *S. aureus* ısıya duyarlı bir mikroorganizmadır. Bu mikroorganizmanın D değeri 65°C'de yaklaşık 1 dakika olarak verilmektedir. *S. aureus* anaerobik şartlarda çoğalabilmesine karşın, anaerobik şartlarda aerobik şartlara göre daha az rekabet edebilme özelliğine sahiptir. Diğer bir ifadeyle aerob şartlarda pH, sıcaklık, tuz gibi faktörlere daha dayanıklıdır (Lücke 1998).

S. aureus, insanlar ve hayvanlar için önemli bir patojendir. Stafilokokal enfeksiyonların yanı sıra *S. aureus* ürettiği enterotoksinler nedeniyle stafilokokal intoksikasyonlara da neden olmaktadır (Titouche *et al.* 2020). Dünyada en sık rastlanan bakteriyel gıda zehirlenmesi olan stafilokokal intoksikasyonlar, stafilokokların enterotoksinlerinin (SE) gıda ile alınması sonucu sindirim sistemi üzerinde etkisi ile görülmektedir (Erol 2007; Akkaya *et al.* 2014). Stafilokokal

intoksikasyonlara neden olan enterotoksinler, stafilokokal hücreler tarafından salgılanmaktadır. Protein yapısındaki bu toksinler suda çözünmemekte ve yüksek ısı direnç göstermektedir. Enterotoksinler, birincil veya ikincil metabolitler olarak gelişme fazının farklı dönemlerinde oluşmaktadır (Skandamis and Nychas 2007).

Stafilokokal enterotoksinler, başta *S. aureus* olmak üzere bazı stafilokok türleri tarafından üretilen tekli polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Molekül ağırlıkları 27-34 kDa arasında değişmektedir (Bhatia and Zahoor 2007). Tripsin, rennin, papain gibi proteolitik enzimlere karşı oldukça dirençli olan enterotoksinler asparagin, glutamin, lisin ve valin ağırlıkta olmak üzere 18 farklı aminoasitten oluşmaktadır (Müller and Weber 1996). Bu toksinler kimyasal ve antijenik özelliklerine göre alfabetik sıralamaya göre adlandırılmaktadır. Enterotoksinlerin bugüne kadar A, B, C (C₁, C₂, C₃), D, E, G, H, I, J ve K tipleri tanımlanmıştır. Stafilokokal intoksikasyonların önemli bir kısmı A tipi toksinden (SEA) kaynaklanmaktadır (Barber and Deibel, 1972; Erol 2007). Bununla birlikte B, C, D ve E toksinlerinin de (SEA, SEB, SEC, SED ve SEE) stafilokokal gıda zehirlenmelerinde önemli bir paya sahip olduğu literatürde yer almaktadır (Titouche *et al.* 2020). Diğer taraftan 21 stafilokokal enterotoksin ve enterotoksin benzeri toksinlerin tanımlanmış olduğu belirtilmektedir. Bu toksinler içerisinde A, B, C ve D tipi toksinler sıklıkla kırmızı et ve kanatlı et ürünlerinde tespit edilmiştir (Akkaya *et al.* 2014).

Stafilokokal enterotoksinler ısıya stabil ve proteolitik enzimlere karşı dirençli proteinlerdir (Müller and Weber, 1996; Erol 2007; Akkaya *et al.* 2014). Gıdalarda 20-100 ng kadar düşük bir oranda dahi stafilokokal enterotoksinin bulunması gıda zehirlenmesine neden olabilmektedir (Bang *et al.* 2008; Schelin *et al.* 2011; Gunvig *et al.* 2018). Enterotoksinlerin ısı dirençleri enterotoksinin tipine bağlı olarak değişmektedir. Bununla birlikte gıda maddelerinde *S. aureus*'un oluşturduğu enterotoksinlerin 95°C'de 30 dakikalık bir ısı işlem sonucunda tamamen inaktive olmadığı ve hatta tamamen inaktivasyon için 121,1°C'de 20 dakikalık bir uygulamanın dahi yeterli olmadığı rapor edilmiştir. *S. aureus*'un gıda maddesinde 10⁵ -10⁶ kob/g seviyesine kadar çoğalması durumunda o gıda maddesinde zehirlenmeye sebep olacak kadar enterotoksin bulunabileceği bildirilmektedir (Müller and Weber 1996). Enterotoksinlerin geniş bir sıcaklık (10-48°C), pH (4-10), a_w (0,87-0,99) ve tuz (%1,7-17) aralığında oluşabildiği rapor edilmiştir. Enterotoksin üretimi için sıcaklık, pH, su aktivitesi ve tuz konsantrasyonu açısından optimum koşulların ise sırasıyla 37°C, 6-7, 0,98 ve %3,7 olduğu bildirilmiştir (Bang *et al.* 2008).

Gıda maddelerinde *S. aureus*'un gelişiminin engellenmesi stafilokokal gıda zehirlenmelerinin önlenmesi açısından önem arz etmektedir. Araştırmalar stafilokokal gıda

zehirlenmelerinde farklı fermente sosis çeşitlerinin de rol aldığını göstermiştir (Atanassova *et al.* 2001; Akkaya *et al.* 2014).

Fermente sosislerde *S. aureus*'un yanı sıra *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* de önemli gıda kaynaklı patojenlerdir (Messier *et al.* 1989; Lücke 1994; Lücke 1998; Sameshima *et al.* 1998; Yalçın ve Can 2013; Rajkovic *et al.* 2017; Gürbüz and Çelikel Güngör 2020).

Fermente sosisler, kıyılmış et ve yağın, tuz, şeker, baharat ve diğer katkı maddeleri ile karıştırılıp doğal veya suni kılıflara doldurulduktan sonra belirli bir sıcaklık derecesi, nispi rutubet ve hava cereyanında olgunlaştırılması ile elde edilen et ürünleridir (Leistner 1985; Gökalp vd 2012). Fermente sosisler su aktivitesine göre genellikle kuru veya yarı kuru fermente sosisler olmak üzere iki grup altında toplanmaktadır. Kuru fermente sosislerde su aktivitesi değeri 0,90'ın altında olup üretimde genellikle tütsüleme işlemi uygulanmamaktadır. Yarı kuru fermente sosislerde ise su aktivitesi değeri 0,90-0,95 aralığında değişmekte ve genellikle bu ürünlere ısıtma işlemi (60-68°C) de uygulanmaktadır. Fermantasyon sıcaklığı ürün tipine bağlı olmakla birlikte kuru sosislerde 22°C'den daha düşüktür. Yarı kuru çeşitlerde ise fermantasyon sıcaklığı 22-26°C arasında değişiklik göstermektedir (Caplice and Fitzgerald 1999).

Gıda kaynaklı patojenler dünya çapında tüketiciler ve gıda güvenliği otoriteleri için önemli sosyal bir sorun haline gelmiştir. Gıda kaynaklı patojenler içerisinde en yaygın olan *S. aureus* olup enterotoksin üreterek intoksikasyonlara neden olmaktadır (Gao *et al.* 2019). Stafilokokal intoksikasyonlarda fermente sosisler de dahil et ve et ürünleri önemli bir paya sahiptir (Ananou *et al.* 2005). Fermente sosisler başlangıç pH ve a_w değerleri ile *S. aureus* için iyi bir ortam oluşturabilmektedir (Lücke 1998; Sameshima *et al.* 1998; Hampikyan 2009). Olgunlaştırmanın ilk fazını oluşturan fermantasyon ise bu patojen bakterinin gelişimi açısından en kritik aşamadır. Fermantasyon aşamasında asit oluşum hızı ve derecesi, hamura ilave edilen nitrit seviyesi, redoks potansiyeli, fermantasyon sıcaklığı, rekabet edici flora gibi iç ve dış faktörler patojen mikroorganizmaların inhibisyonu açısından oldukça önemlidir (Leistner 1985; Lücke 1998; Kaban and Kaya 2006; Kaya ve Kaban 2019). Bu ürünler, fermantasyon ve kurutma işlemleri sırasında pH ve a_w 'nin azalması nedeniyle güvenli gıdalar olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte olgunlaşma sırasında patojen mikroorganizmaların canlılığını sürdürebildiği belirtilmektedir (Ferreira *et al.* 2006). Nitekim önemli bir gıda kaynaklı patojen olan *S. aureus*'un fermente sosislerde, fermantasyonun ilk aşamalarında çoğalabildiği ve enterotoksin oluşturabildiği bildirilmektedir (Gonzalez-Fandos *et al.* 1999; Rajkovic *et al.* 2017; Paramithiotis and Drosinos 2017).

Ülkemizde sucuk ve ısıt işlem görmüş sucuk olmak üzere iki farklı fermente sosıs çeşidi üretilmektedir. Sucuk üzerinde yapılan araştırmalarda *S. aureus* sayısının 10^2 - 10^5 kob/g (ortalama 10^4 kob/g) arasında değıştiğı rapor edilmiştir (Gökalp *et al.* 1988; Sancak vd 1996; Çon vd 2002). Ayrıca konuyla ilgili bazı çalışmalarda sucuk örneklerinin %10 ile %17'si arasında değışen oranlarda *S. aureus* içerdğı de bildirilmiştir (Kök vd 2007; Öksüztepe vd 2011; Yalçın ve Can 2013; Gürbüz and Çelikel Güngör 2020). Diğer bir çalışmada ise sucuk örneklerinde ortalama *S. aureus* sayısı $1,84 \pm 0,34$ log kob/g olarak saptanmış, ısıt işlem görmüş sucuk örneklerinin ise *S. aureus* içermediğı rapor edilmiştir (Cebirbay 2004).

Yarı kuru bir fermente sosıs çeşidi olan ısıt işlem görmüş sucuk, 1980'li yıllarda geleneksel bir ürün olan sucuğun üretim prosesine ürün güvenliğı endişesiyle ısıt işlem prosesinin eklenmesiyle üreilmeye başlanmıştır (Tayar 1989; Kaban and Bayrak 2015). Bu ürünün üretimi fermentasyon, ısıt işlem ve kurutma olmak üzere üç önemli proses içermektedir. Isıt işlem genellikle 60-68°C'lik iç sıcaklık uygulaması esas alınarak uygulanmaktadır (Toptancı and Ercoşkun 2017; Dalmış and Soyer 2008; Ercoşkun *et al.* 2010; Kaya ve Kaban 2019; Armutçu *et al.* 2020). Isıt işlem uygulaması patojenlerin inaktivasyonu, raf ömrünün uzatılması ve üretim süresinin kısaltılması açısından önemli avantajlar sağlamaktadır (Toptancı and Ercoşkun 2017). Bununla birlikte stafilokokal enterotoksinlerin ısıt işlem görmüş sucukta uygulanan ısıt işlem koşullarında inaktive olması mümkün değildir (Müller and Weber 1996; Akkaya *et al.* 2014). Bu nedenle ısıt işlem görmüş sucukta fermentasyon aşamasında kullanılan laktik asit bakterilerinin aktiviteleri ile son ürünlerdeki enterotoksin varlığına yönelik araştırmalara ihtiyaç vardır.

Isıt işlem görmüş sucuk endüstriyel bir ürün olduğundan üretiminde genellikle starter kültür kullanılmaktadır. Ülkemizde yerli starter kültür üretimi söz konusu olmadığından bu ihtiyaç ticari kültür preparatları ile karşılanmaktadır. Bu preparatlarda *Lactobacillus plantarum*, *L. curvatus*, *L. pentosus*, *L. sakei*, *Pediococcus pentosaceus*, *P. acidilactici* gibi laktik asit bakterileri ile *S. carnosus*, *S. xylosus*, *Kocuria varians* gibi Gram (+) katalaz (+) koklar yer almaktadır. *Penicillium nalgiovense* ve *P. chrysogenum* ise küf ile olgunlaştırılan fermente sosıslarda starter kültür olarak kullanılmaktadır. Mayalardan ise *Debaryomyces hansenii* ve *Candida famata* fermente sosıs hamuruna starter kültür olarak ilave edilmektedir (Lücke 2000a; Kaban *et al.* 2010).

Laktik asit bakterileri fermente sosıslarda gıda kaynaklı patojenler ile bozulmaya neden olan mikroorganizmaların inhibisyonu, duyuşal özelliklerin iyileştirilmesi ve tekstürel özelliklerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Katalaz (+) koklar ise nitrat redüktaz aktiviteleri ile renk oluşumu, katalaz aktiviteleri ile oksidasyonun geciktirilmesi, proteolitik ve

lipolitik aktiviteleri ile de bu ürünlerin tipik karakteristik lezzetinin gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Lücke 1998; Lücke 2000a; Kaban and Kaya 2009). Starter kültür olarak kullanılan küfler ise ürün yüzeyini kaplayarak aşırı kurumayı önlemekte ve proteolitik ve lipolitik aktiviteleri ile ürün lezzetine katkıda bulunmaktadır (Dos Santos Cruxen *et al.* 2019). Ayrıca bu starter kültürler mikotoksijenik küfler de dahil olmak üzere diğer küflerin gelişimini engelleyerek ürün güvenliğini artırmaktadır. Mayalar ise katalaz aktivitesi ile renk stabilizasyonuna, proteolitik ve lipolitik aktiviteleri ile de aroma oluşumuna katkı sağlamaktadır (Kaya ve Kaban 2019).

Starter kültürlerin seçimi ürün tipine ve formülasyona bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Hızlı olgunlaştırılan ürünlerde ürün güvenliği açısından laktik asit bakterileri büyük bir öneme sahiptir. Fermantasyon aşamasında asit oluşumu gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunda önemli rol oynamaktadır (Lücke 2000a; Kaya ve Kaban 2019). Ülkemizde yaygın olarak üretilen ısıl işlem görmüş sucukta gıda kaynaklı patojenlerin gelişimi üzerine starter kültürlerin etkisine yönelik bugüne kadar herhangi bir çalışma yürütülmemiştir.

Sucuk (Turantaş 1991; Erol and Hildebrandt 1992; Kaban and Kaya 2006; Kaban *et al.* 2007; Kaban *et al.* 2008; Erkmen 2009; Hampikyan 2009; Akkaya *et al.* 2014), salami (Lee *et al.* 1977; Metaxopoulos *et al.* 1981a,b; Rajkovic *et al.* 2017), chorizo (Gonzalez-Fandos *et al.* 1999), pepperoni (Tatini *et al.* 1976), salchichon (Gonzalez-Fandos *et al.* 1999) ve diğer bazı fermente sosis çeşitlerinde (Marcy *et al.* 1985; Niskanen and Nurmi 1976; Smith and Palumbo 1978) *S. aureus*'un gelişimi, inhibisyonu ve enterotoksin üretme potansiyeli üzerine pek çok araştırma yürütülmüştür. Ülkemizde son yıllarda üretimi gittikçe artan yarı kuru bir fermente sosis çeşidi olan ısıl işlem görmüş sucuğun üretim koşullarında *S. aureus*'un gelişimi ve toksin üretimine yönelik bugüne kadar herhangi bir çalışma yürütülmemiştir. Isıl işlemde canlılığını sürdürebilen patojen bakteriler ve laktik asit bakterilerinin ısıl işlem sırasında önemli derecede redüksiyonu nedeniyle çoğalabilme ihtimali söz konusu olabilmektedir. Bu durum ise insan sağlığı açısından risk teşkil edebilmektedir. Bu nedenle ısıl işlem görmüş sucukta *S. aureus* da dahil olmak üzere patojen bakteriler üzerinde araştırmalara büyük ihtiyaç vardır. Isıl işlem görmüş sucukta starter kültür kullanılmaması, starter kültürlerin üretim koşullarına adapte olmaması veya sıklıkla da görülen yüksek fermantasyon sıcaklığı nedeniyle bu ürünün *S. aureus* açısından riskli olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca *S.aureus*'un oluşturduğu enterotoksinlerin ısıl dirençlerinin yüksek olması bu riski daha da artırmaktadır. Isıl işlem görmüş sucukta fermantasyon sırasında ortama iyi adapte olabilen ve yeterli bir asitleşmeye sebep olabilecek laktik asit bakteri suşlarının starter kültür olarak kullanılmasının bu patojen bakteri açısından önemli bir engel etken olabileceği düşünülmüştür. Bundan dolayı mevcut bu

araştırma sucuktan izole edilen ve genetik olarak tanımlanan *L. sakei* S15, *L. plantarum* S91 ve *P. acidilactici* S147b suşlarının ısııl işlem görmüş sucukta *S. aureus*'un gelişimine etkisi ve ayrıca ısııl işlem prosesinin *S. aureus*'un red ksiyonundaki rolünün belirlenmesi amacıyla kurulmuş ve yürütülmüştür. Ayrıca bu araştırmada starter kültürlü ve starter kültürsüz ısııl işlem görmüş sucuk örneklerinin enterotoksin varlığı yönünden de incelenmesi amaçlanmıştır.



KAYNAK ÖZETLERİ

Staphylococcus aureus, stafilokokal intoksikasyona neden olan önemli bir gıda kaynaklı patojen bakteridir. Enterotoksin üretiminden dolayı dünya çapında ciddi sağlık problemlerine neden olan *S. aureus*, fermente et ürünlerinde farklı düzeylerde tespit edilmiştir. Erzurum piyasasından temin edilen sucuk örneklerinde Gökalp *et al.* (1988) minimum, maksimum ve ortalama *S. aureus* sayısını sırasıyla, $1,1 \times 10^2$ kob/g, $1,5 \times 10^5$ kob/g ve $2,6 \times 10^4$ kob/g olarak tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar örneklerin sadece %40'ının 10^3 kob/g'dan daha az *S. aureus* içerdiğini de belirtmişlerdir. Sancak vd (1996) ise Van'da tüketime sunulan sucuklarda minimum, maksimum ve ortalama koagülaz (+) stafilokok sayısını sırasıyla 8×10^3 , 2×10^4 ve $1,9 \times 10^3$ kob/g olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada stafilokokların sayısı ise minimum 7×10^2 kob/g, maksimum 1×10^6 kob/g ve ortalama $6,7 \times 10^4$ kob/g olarak saptanmıştır.

Farklı firmalara ait sucuk örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerini belirlemek için yürütülen bir çalışmada incelenen sucuk örneklerinin, *S. aureus* sayısının 2×10^1 - $7,1 \times 10^5$ kob/g arasında değiştiği, ortalama *S. aureus* sayısının ise $3,8 \times 10^4$ kob/g olduğu saptanmış, ayrıca firmalar arasında bu gıda kaynaklı patojenin sayısı arasında farklılıkların olduğu da bildirilmiştir. Aynı çalışmada incelenen sucuk örneklerinin tümünde sayının 10^6 kob/g'dan daha az olduğu için stafilokokal intoksikasyon açısından risk arz etmediği de özellikle belirtilmiştir (Çon vd 2002).

Aydın ilinde farklı satış noktalarından temin edilen 100 sucuk örneği üzerinde yürütülen bir çalışmada incelenen örneklerin 12'sinde *S. aureus* izole ve identifiye edilmiştir (Kök vd 2007). Elazığ'da tüketime sunulan sucuklarda ise incelenen 100 örneğin 10'unun koagülaz (+) *S. aureus* içerdiği rapor edilmiştir. Örneklerin pH değeri ise minimum 4,75, maksimum 6,76 ve ortalama 5,18 olarak saptanmıştır (Öksüztepe vd 2011).

Geleneksel fermente et ürünleri karakteristik tat ve aroma özelliklerinden dolayı tüketiciler tarafından oldukça talep edilen ürünlerdir. Bununla birlikte bu ürünlerin ürün güvenliği sıklıkla gündeme gelmektedir. Yalçın ve Can (2013) yaptıkları çalışmada Mersin ve Adana illerine bağlı yaylalarda geleneksel yöntemlerle üretilen sucukları *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* ve koliform yönünden analiz etmişler ve 7 örnekte *L.monocytogenes*, 10 örnekte koagülaz (+) *S. aureus* ve 18 örnekte ise koliform grubu bakteri tespit etmişlerdir. Araştırmacılar kırsal alanda denetimlerin artırılması ve geleneksel yöntemle üretim yapan

Üreticilerin hijyen eğitimine tabi tutulmasının insan sağlığının korunmasına önemli katkıda bulunacağını da belirtmişlerdir.

Geleneksel yöntemle üretilen sucuklarda ürün güvenliğine yönelik yapılan diğer bir çalışmada sucuk örneklerinde *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157 ve *S. aureus* varlığı araştırılmış, ayrıca örneklerin nitrat ve nitrit içerikleri de tespit edilmiştir. Analizler sonucunda gerek geleneksel (32 örnek) gerekse endüstriyel (13 örnek) olarak üretilen sucuk örneklerinin hiçbirinin *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* O157 içermediği, geleneksel sucuklarda örneklerin %11,1'inin *S. aureus* içerdiği bildirilmiştir. Aynı araştırma nitrat içeriğinin 39 örnekte 4,30-62,59 mg/kg arasında, nitrit içeriğinin ise 8 örnekte 8,94 ve 55,95 mg/kg arasında değiştiği rapor edilmiştir (Gürbüz and elikel Güngör 2020).

Cebirbay (2014) hem sucuk hem de ısıl işlem görmüş sucukta yrttğu analizler sonucunda sucukta ortalama *S. aureus* sayısının 1,84 kob/g olduğunu, ısıl işlem görmüş sucuk örneklerinde *S. aureus*'a rastlanılmadığını rapor etmiştir. Araştırıcı ısıl işlem görmüş sucuk örneklerinde ortalama a_w değerini 0,95 ve ortalama pH değerini ise 5,59 olarak saptamıştır.

Nham olarak adlandırılan fermente bir üründe yapılan araştırmada, incelenen 155 örnekte ortalama pH değerinin 4,21 ile 5,99 arasında değiştiği, 61 rneğin (%39,35) *S. aureus* yönünden pozitif olduğu, sayının ise 2 ve 3500 MPN/g arasında değiştiği rapor edilmiştir. Aynı araştırmada *S. aureus*'un izolasyon oranının, pH değeri 4,6'dan yüksek olan örneklerde %56,4 (2-3500 MPN/g), 4,6 ve daha düşük pH değerlerinde ise %14,8 (2-17 MPN/g) olduğu, incelenen örneklerin enterotoksin içermediği rapor edilmiştir (Chokesajjawatee *et al.* 2009). Fermente bir sosis çeşidi olan chorizo üzerinde yürütülen bir çalışmada, *S. aureus* sayısının minimum <100 kob/g, maksimum $3,2 \times 10^5$ kob/g ve ortalama $2,4 \times 10^4$ kob/g olduğu bildirilmiştir (Torres-Vitela *et al.* 2011).

Çiğ domuz eti ile pişirilmemiş fme ham olarak adlandırılan parça halinde işlenen ürünü *S. aureus* ve enterotoksin yönünden değerlendirmek amacıyla yürütülen bir araştırmada, 135 domuz eti, tuzlanmış et ve tüketime hazır pişmemiş fme jambon rneği *S. aureus* ile A ve D enterotoksinlerinin varlığı yönünden analiz edilmiştir. Kültürel yöntemlerle incelenen örneklerin %25,9'unun *S. aureus* içerdiği, bu patojenin belirlenmesinde PCR yönteminin kullanılması durumunda pozitif örnek sayısının %51,1 seviyesine ulaştığı, incelenen 135 örneğin 24'nde PCR yöntemiyle 1 veya daha fazla stafilokokal enterotoksin geninin bulunduğu, bu sonucun PCR tekniği ile identifiye edilen stafilokokal suşların %34,8'inin enterotoksijenik olduğunu gösterdiği, lateks aglütinasyonu (SET-RPLA) ile izolasyon oranının daha düşük seviyede kaldığı (%28,6) ve PCR ile enterotoksin genleri bulunmasına rağmen

tüketime hazır ham örneklerinde aglütinasyon testi ile enterotoksin oluşumunun tespit edilemediği rapor edilmiştir (Atanassova *et al.* 2001).

Stafilokokal intoksikasyonlarda fermente sosisler de dahil et ürünleri önemli rol oynamaktadır. Fermantasyon sıcaklığı ile asit oluşum hızı ve derecesi *S. aureus*'un gelişimi açısından önemli faktörlerdir. Wood (2012) tarafından fermente sosisler üzerinde yürütülen bir çalışmada 25°C'lik fermantasyon sıcaklığı ve 2-3 günlük fermantasyon işlemi uygulanarak üretilen örneklerde inoküle edilen *S. aureus* sayısının 10⁴ kob/g altında olması durumunda tutsüleme işlemi uygulandığında dahi üründe enterotoksin oluşum riskinin çok düşük olduğu ancak hızlı bir pH düşüşünün 43°C'lik fermantasyon sıcaklığında dahi *S. aureus*'un inhibisyonunu açısından yeterli olduğu rapor edilmiştir.

Fermente sosislerde pH düşüşü glukono delta lakton (GDL) kullanılarak daha hızlı bir şekilde gerçekleştirebilmektedir. GDL sosis hamurunda glukonik aside hidrolize olmakta; glukonik asit pH'yı düşürmektedir (Gökalp vd 2012). Sucukta GDL ve sakkarozun, *S. aureus*'un gelişimi üzerine etkisini belirlemek üzere yürütülen bir çalışmada %0,03 GDL seviyesinin hem 24°C'lik hem de 35°C'lik fermantasyon sıcaklığında *S. aureus*'un inokülasyon düzeyinde kaldığı, %1 GDL kullanılması durumunda da iki günlük fermantasyon sonrasında *S. aureus* sayısının önemli bir değişim göstermediği ve starter kültür kullanılması durumunda (sakkaroz %1, fermantasyon sıcaklığı 24°C) 6. günden sonra sayının saptanabilir sınırın altına düştüğü rapor edilmiştir. Aynı araştırmada starter kültür kullanılmadan üretilen sucuk gruplarında *S.aureus*'un canlılığını 30 gün koruduğu da bildirilmiştir (Turantaş 1991).

Farklı starter kültür preparatlarının sucuk üretiminde gıda kaynaklı patojenler üzerine etkilerini fermantasyon sıcaklığı (20°C ve 25°C) da dikkate alınarak saptamak amacıyla yürütülen bir çalışmada, kontrol grubu ile *S. carnosus* kullanılarak üretilen örneklerde *S. aureus* sayısının 14 günlük olgunlaşma sırasında inokülasyon düzeyinde kaldığı, *S. carnosus* + *Lactobacillus plantarum* varlığında 20°C'lik fermantasyon sıcaklığında sayıda 1.5 logaritmik birimlik bir düşüş olduğu, 25°C'de kontrol grubu ile *S. carnosus* grubunda sayıda 1 logaritmik birime kadar değişen oranlarda artış görüldüğü ve karışık kültürün mevcudiyetinde ise *S. aureus* sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Araştırmada sonuç olarak asit oluşumunun *S. aureus*'un inhibisyonu açısından önemli bir engel etken olduğu ve bunun için sucuk üretiminde laktik starter kültürlerin kullanılması gerektiği de vurgulanmıştır (Erol and Hildebrandt 1992).

Kuru fermente bir sosis çeşidi olan sucuk üzerinde yapılan bir araştırmada farklı iki ticari kültür preparatının, (*Pediococcus acidilactici* + *L. curvatus* + *S. xylosus*; *L. sakei* + *S. carnosus*) olgunlaşma süresince *S.aureus*'un gelişimine etkileri incelenmiştir. Analizler sonucunda her iki starter kültür preparatının ve olgunlaşma süresinin hem *S. aureus* hem de

teknolojik açıdan önem arz eden mikroorganizmalar (laktik asit bakterileri ve *Micrococcus/Staphylococcus*) üzerinde önemli veya çok önemli etkilerinin olduğu, starter kültür olarak kullanılmadan üretilen kontrol grubunda fermantasyon aşamasında *S. aureus* sayısının yaklaşık 1 logaritmik birim civarında arttığı, starter kültürlerin mevcudiyetinde ise *S.aureus* sayısının azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca belirtilen üretim koşullarında (150 mg/kg nitrit, %0,4 nitrit ve 24°C'lik başlangıç fermantasyon sıcaklığı) sucukta *S. aureus*'un inhibisyonu açısından fermantasyon aşamasındaki pH düşüşünün önemli bir faktör olduğu da vurgulanmıştır (Kaban and Kaya 2006).

Fermente sosislerde başlangıç pH değeri gıda kaynaklı patojenlerin gelişimi açısından önemli bir faktördür (Kamenik 2017). Kaban *et al.* (2007) tarafından sucuk hamurunda farklı seviyelerde ısırgan otu (%1, %3 ve %5) kullanımının *S. aureus*'un gelişimi üzerine etkisi olgunlaşma süresince incelenmiş ve ısırgan otu seviyesi arttıkça sucuk hamurunun pH değeri artış gösterdiğinden fermantasyon aşamasında *S. aureus*'un geliştiği rapor edilmiştir. Aynı araştırmada yüksek pH değerinden dolayı 24°C'lik başlangıç fermantasyon sıcaklığında sucukta starter kültür kullanılmasının *S. aureus*'un inhibisyonu açısından yeterli olmadığı ve bundan dolayı sucuğun başlangıç pH değerinin önemli bir engel etken olduğu vurgulanmıştır. Kaban *et al.* (2008) tarafından yürütülen diğer bir çalışmada ise geleneksel yöntem uygulanarak üretilen sucukta *S. aureus*'un gelişimi üzerine farklı seviyelerde ısırgan otu (%0, %1, %3 ve %5) kullanımının etkisi incelenmiştir. Analizler sonucunda hem kontrol grubunda hem de ısırgan otu içeren sucuk örneklerinde fermantasyon sırasında *S. aureus* sayısının önemli ölçüde arttığı ve tüm sucuk gruplarında bu gıda kaynaklı patojenin inhibisyonu açısından hızlı bir pH düşüşünün gerekli olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca bu düşüşün ısırgan otu içeren örneklerde çok daha önemli olduğu da vurgulanmıştır.

Sucuk üretiminde *S. aureus*'un gelişimi üzerine *Thymra spicata* uçucu yağı ile starter kültür (*L. plantarum*, *P. acidilactici* ve *S. carnosus*) kullanımının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *S. aureus* sayısının üretimden sonra starter kültür varlığında 1,97 logaritmik birimlik, starter kültür/uçucu yağ kombinasyonunda ise 3,71 logaritmik birimlik bir azalma olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca aynı araştırmada 3 günlük fermantasyondan sonra pH değerinin starter kültür kullanılmadan üretilen kontrol grubu örneklerde 5,37, starter kültür kullanılan örneklerde ise 5,0'in altında olduğu ve *S. aureus*'un inhibisyonu açısından düşük pH, baharat ve nitratın yanı sıra söz konusu uçucu yağın ilave bir antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Erkmen 2009).

Fermente etlerde önemli bir patojen olan *S. aureus* fermantasyonda asitleşmenin yeterli olmaması durumunda gelişebilmektedir. Nitekim kuru fermente bir sosis çeşidi olan İtalyan tipi

salami üzerinde yapılan bir çalışmada ticari üretim koşulları ile starter kültür varlığında *S. aureus*'un gelişimi farklı inokülasyon seviyeleri (10^2 - 10^7 kob/g) de dikkate alınarak incelenmiştir. Yapılan analizler neticesinde fermente sosis hamurlarına inoküle edilen *S. aureus* suşlarının inokülasyon seviyesine bağlı olarak gelişme gösterdiği, bu fermente sosis çeşidinde *S. aureus*'un gelişimi üzerinde pek çok faktörün etkili olduğu ancak en önemli faktörün fermantasyon aşamasındaki asitleşmenin hızı ve derecesinin olduğu rapor edilmiştir (Metaxopoulos *et al.* 1981a). İtalyan tipi salami üzerinde yürütülen diğer bir çalışmada ise *S. aureus*'un gelişimi üzerine bu patojen bakterinin inokülasyon seviyesinin (10^4 - 10^5 kob/g) yanı sıra starter kültür inokülasyon seviyesi (kontrol, 10^5 kob/g, 10^6 kob/g) ve başlangıç pH değeri (6,1, 5,5 ve 6,8) faktör olarak alınmış ve denemeler iki farklı ticari üretim koşullarında yürütülmüştür. Araştırmada başlangıç pH değerinin ayarlanmasında GDL kullanılmıştır. Araştırma sonucunda sosis hamurunun başlangıç pH değeri, starter kültür inokülasyon seviyesi, fermantasyon süresi, patojen bakteri inokülasyon düzeyi ve bu faktörlerin tümünü içeren interaksiyonun *S. aureus*'un gelişimi üzerinde önemli etkiye sahip olduğu, düşük başlangıç pH değeri ve yüksek laktik asit bakteri sayısının *S. aureus*'un inhibisyonunda daha fazla etki gösterdiği rapor edilmiştir. *S. aureus* sayısının 10^7 kob/g düzeyinde olması durumunda dahi örneklerde enterotoksinin belirlenebilir düzeyde olmadığı da vurgulanmıştır (Metaxopoulos *et al.* 1981b).

Tuza ve nitrite dayanıklı patojen bir mikroorganizma olan *S. aureus*'un tuzu azaltılmış ürünlerde gelişme durumunu belirlemek üzere yapılan bir çalışmada sosislerin üretiminde ticari bir starter kültür kullanılmış ve üç farklı tuz seviyesi (%1,65, %2,415 ve %3,3) içeren sosis hamurları hazırlanarak iki farklı sıcaklıkta (24°C ve 38°C) fermantasyona tabi tutulmuştur. Her iki fermantasyon sıcaklığında da %1,65 tuz içeren sosis gruplarında *S. aureus* gelişiminin daha yavaş olduğu, bunu sırasıyla %2,415 ve %3,3 tuz seviyelerini içeren sosis gruplarının takip ettiğini bildirilmiştir (Marcy *et al.* 1985).

Kuru fermente bir sosis çeşidi olan pepperoni (nem/protein oranı; 1,6/1,0) üzerinde yapılan bir çalışmada enterotoksijenik *S. aureus*'un gelişimi ve toksin üretimi üzerine kütleme, tütsüleme ve kurutmanın etkisi üç farklı inokülasyon düzeyi (10^4 , 10^5 ve 10^6 kob/g) ve iki farklı üretim yöntemi (1 saat tütsüleme + 40°C 'de 5 saat süreyle ısıtma işlemi + 10 - 12°C 'de 4-5 hafta kurutma veya 1 saat tütsüleme + 49 - 50°C 'de 11 saat ısıtma işlemi + 10 - 12°C 'de 4-5 hafta kurutma) uygulanarak incelenmiştir. Araştırma sonucunda kütleme, tütsüleme ve kurutma aşamalarında *S. aureus*'un sayısında çok az veya hiç gelişme olmadığı, *S. aureus*'un inhibisyonunda tütsülenmenin önemli bir katkısının olduğu, tütsüleme uygulanmayan ürünlerde *S. aureus*'un 1-2 logaritmik birimlik artış gösterdiği ve tütsülenmemiş ürünlerde *S. aureus* sayısı 4×10^7 kob/g

düzeyine ulaşması durumunda dahi enterotoksin miktarının tespit edilebilir düzeyde olmadığı rapor edilmiştir (Tatini *et al.* 1976).

Termonükleaz ve enterotoksin üretimi *S. aureus*'un en tipik özelliklerindendir. Ticari bir yöntem uygulanarak üretilen kuru fermente bir sosis çeşidinde stafilokokal enterotoksin ve termonükleaz üretimine starter kültür kullanımının etkisinin incelendiği bir araştırmada, starter kültür olarak ticari bir preparat (*Micrococcus/Lactobacillus*, 1:1) kullanılmış ve sosis hamurları enterotoksin A, B ve C₁ üreten *S. aureus* suşları ile farklı seviyelerde kontamine edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda starter kültür kullanılmadığında enterotoksin A'nın 3. günde belirlenebilir seviyede olduğu, enterotoksin B'nin *S. aureus* sayısının 10⁸ kob/g'ın üzerinde olması durumunda dahi belirlenemediği, enterotoksin C₁'nin ise *S. aureus* sayısının 8x10⁷ kob/g olması durumunda tespit edilebildiği bildirilmiştir. Ayrıca enterotoksin üreten *S.aureus* ilave edilen sosis gruplarının tümünde ısıya stabil nükleazın gözlemlendiği ve örneklerin *S.aureus* sayısı ile termonükleaz aktivitesi arasında önemli bir korelasyonun olmadığı da rapor edilmiştir (Niskanen and Nurmi 1976).

Lee *et al.* (1977) tarafından kuru fermente bir sosis çeşidi olan ve Genoa salami olarak adlandırılan ürün üzerinde yapılan bir çalışmada, enterotoksin A üreten *S. aureus* 265 ve enterotoksin B üreten *S. aureus* 243 farklı seviyelerde (10³ kob/g, 10⁵ kob/g ve 10⁷ kob/g) sosis hamurlarına inoküle edilmiş ve *S. aureus*'un gelişme durumu ile sosis üretim koşullarında enterotoksin üretme potansiyeli araştırılmıştır. Sosis hamurlarına starter kültür ilave edilmeden yürütülen bu çalışmada, *S. aureus* sayısının olgunlaşma sırasında yaklaşık 10⁷ kob/g ile 5x10⁸ kob/g arasında varyasyon gösterdiği, enterotoksin A'nın ürün yüzeyinde belirlendiği ancak bu toksinin *S. aureus* 265 ile 10⁵ kob/g ve 10⁷ kob/g düzeyinde inoküle edilen örneklerin iç kısımlarında bulunmadığı, *S. aureus* 243 ile inoküle edilen sosis örneklerinde ise enterotoksin B'nin belirlenmediği ve bu suşun enterotoksin üretimi için nispeten yüksek a_w değerine ihtiyaç duyduğu bildirilmiştir.

İspanyol tipi kuru fermente sosislerde (chorizo ve salchichon) formülasyon, starter kültür ve fermantasyon sıcaklığının, fermantasyon ve kurutma sırasında *S.aureus*'un gelişimi ile enterotoksin A ve termonükleaz sentezine etkilerinin incelendiği bir araştırmada, düşük fermantasyon sıcaklığı ve starter kültür kullanımının stafilokokal gelişimi ve SEA oluşumunu düşürdüğü, besiyerinde enterotoksin üretimini inhibe edebilen faktörlerin 20 ve 30°C'de fermente edilen chorizo örneklerinde enterotoksin üretimini engelleyemediği, bazı formülasyonlarda termonükleazın stafilokokal gelişim ve SEA üretimi için iyi bir indikatör olduğu, salchichon formülasyonuna ilave edilen dekstrozun kurutma sırasında *S. aureus*'un gelişimini baskıladığı ve *L. curvatus* ve dekstrozu kombinasyonunun fermantasyon sırasında *S.*

aureus gelişimini engellemek için iyi bir uygulama olduğu bildirilmiştir (Gonzalez-Fandos *et al.* 1999).

Fermentasyon koşullarında mikroorganizmalar sublethal zarara maruz kalabilmektedir. Starter kültür ve glukoz (%0,5-2) içeren ve 35°C’de fermente edilen sığır sosislerine ilave edilen *S. aureus*’un gelişme durumunun incelendiği bir çalışmada, glukoz ve/veya starter kültürün yokluğunda herhangi bir sublethal zararın oluşmadığı, fermentasyon sırasında oluşan laktik asidin etkisinin düşük glukoz konsantrasyonlarında (daha az asitleşme) daha belirgin olduğu rapor edilmiştir (Smith and Palumbo 1978).

Gıda endüstrisinde gıda kaynaklı patojenlerin ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların kontrolü ve inhibisyonu amacıyla doğal antimikrobiyal koruyucuların kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Bu kapsamda bakteriyosinlerin et ürünlerinde koruyucu kültür olarak kullanımı sıklıkla gündeme gelmekte ve hatta uygulamaya konulmaktadır (Kaban *et al.* 2010; Kaya ve Kaban 2019). Sucuk üzerinde *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* suşları tarafından üretilen nisin bakteriyosininin sucukta *S. aureus*’un davranışı üzerine etkisini belirlemek üzere yürütülen bir çalışmada sucuk hamurları *S. aureus* ile 10⁶ kob/g düzeyinde inoküle edilmiş ve hamurlara farklı oranlarda nisin (0, 25, 50, 100, 150, 200 µg) ilave edilmiştir. Mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal analizler sonucunda *S. aureus* sayısının 200 veya 150 µg/g düzeyinde nisin içeren sucuk örneklerinde sırasıyla 30 ve 35 günlük fermentasyon ve depolamadan sonra saptanabilir sınırın altına düştüğü rapor edilmiştir. Buna karşın 45. günde 0, 25, 50 ve 100 mg/kg nisin içeren sucuk gruplarında *S. aureus* sayısı 5,36 kob/g, 5,68 kob/g, 4,10 kob/g ve 3,54 kob/g olarak sırasıyla belirlenmiştir. Araştırmada sonuç olarak 150 µg/g veya daha fazla nisinin sucuğun fermentasyonu ve depolanması sırasında *S. aureus*’un gelişimini önlemek amacıyla kullanılabileceği vurgulanmıştır (Hampikyan 2009).

Fermente sosislerde *S. aureus*’un kontrolü amacıyla model bir sistemde bakteriosin AS-48 olarak adlandırılan bakteriosini üreten *Enterococcus faecalis* A-48-32 suşu kullanılmış ve ayrıca bu bakteriosinin ham preparatı da faktör olarak denemeye dahil edilmiştir. Analizler sonucunda AS-48 bakteriosininin 30 veya 40 µg/g düzeyinde ilave edilmesi durumunda model sosis sisteminde *S. aureus*’un gelişimini inhibe ettiği, kullanılan bu bakteriosin seviyelerine ait redüksiyonların kontrol grubuna göre sırasıyla 2 ve 5,31 logaritmik birim olduğu, üretici suşun iyi bir gelişme göstererek *S. aureus*’un kontrolü için yeterli miktarda bakteriosin ürettiği ve en iyi sonuca bakteriosin üreten bu suşun 10⁷ kob/g seviyesi ilavesi durumunda erişildiği bildirilmiştir (Ananou *et al.* 2005).

Sameshima *et al.* (1998) intestinal *Lactobacillus* suşlarının fermente sosiste *S.aureus*’un gelişimine etkisini araştırmak amacıyla yürüttükleri çalışmada sosis hamurlarını 10⁴ kob/g

düzeyinde *S. aureus*, 10^7 kob/g düzeyinde ise *Lactobacillus* suşları (*L. rhamnosus* FERM P-15120, *L. paracasei* subsp. *paracasei* FERM P-15121 ve *L. acidophilus* FERM P-15119) ile inoküle etmişler ve fermentasyon süresince örnekleri pH analizi ile mikrobiyal sayımlara tabi tutmuşlardır. Araştırmacılar analizler neticesinde *Lactobacillus* suşları ilave edilmeyen kontrol grubu örneklerde her iki fermentasyon sıcaklığında da enterotoksin tespit edildiği, intestinal *Lactobacillus* suşlarından *L. rhamnosus* FERM P-15120 ve *L. paracasei* subsp. *paracasei* FERM P-15121'nin yine her iki fermentasyon sıcaklığında *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin üretilmesini fermentasyon boyunca inhibe ettiği, *L. acidophilus* FERM P-15119'un inhibisyonunun arzu edilen ölçüde olmadığını rapor etmişlerdir. Ayrıca *L. rhamnosus* FERM P-15120 ve *L. paracasei* subsp. *paracasei* FERM P-15121 suşlarının fermentasyon süresi, asit oluşumu ve *S. aureus* inhibisyonu açısından ticari kültür olarak kullanılan *L. sakei* ile aynı özellikleri gösterdiği ve bu sonuçlardan dolayı mikrobiyolojik açıdan güvenli fermente sosis üretimi için bu intestinal kaynaklı suşların starter kültür olarak kullanılabileceği de ifade edilmiştir.

Rajkovic *et al.* (2017) tarafından yapılan bir araştırmada, vurgulu ultraviyole ışık uygulamasının fermente sosislerde gıda kaynaklı patojenlerin redüksiyonuna etkisi incelenmiş ve uygulanan doza bağlı olarak *S. aureus* sayısında 4-5 logaritmik birim civarında bir redüksiyon olduğu bildirilmiştir.

Stafilokokal enterotoksinler ısıya stabil olduğundan pişirilmiş gıdalar da dahil gıda kaynaklı intoksikasyonlara neden olabilmektedir. SEA ve SED stafilokokal gıda zehirlenmelerinde en yaygın görülen enterotoksinlerdir (Bang *et al.* 2008). Havada kurutulmuş taze domuz sosislerinde *S. aureus*'un gelişimi ve toksin üretimine sodyum nitrit ve tuzun etkisi üzerine yapılan bir çalışmada sosis hamurları *S. aureus* ile 10^4 kob/g seviyesinde kontamine edildikten sonra 21°C'de 10 gün süre ile %60 nispi nemde kurutulmuştur. Analizler sonucunda kontrol grubu örneklerde (%1,76 tuz) toplam bakteri sayısının 10 günlük kurutma periyodu sonrasında 5,5 log kob/g, koliform grubu bakteri sayısının ise 4,8 log kob/g düzeyine eriştiği, sodyum nitrit ilavesinin (154 mg/kg nitrit ve %2,24 tuz) ve yüksek tuz seviyesinin (%3,64 tuz) koliform grubu bakteri sayısını sınırlandırdığı, *S. aureus* sayısının nitrit ve tuz seviyesinden bağımsız olarak kurutma aşamasında 2 logaritmik birimlik bir artış gösterdiği, *S. aureus*'un gelişimi üzerine tuz ve nitrit seviyesinin önemli etkisinin olmadığı, stafilokokal enterotoksinlerin havada kurutulmuş bu sosis üretiminin hiçbir aşamasında belirlenmediği ve uygulanan üretim koşullarının kuru fermente sosiste enterotoksin üretimini teşvik etmediği rapor edilmiştir (Bang *et al.* 2008).

S. aureus'un dört farklı referans suşunun (SEA 10652 FDA 196E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137 ve SED 10656 494) A, B, C ve D enterotoksinlerinin kuru bir sosis çeşidi olan sucukta oluşma potansiyeline yönelik olarak planlanan araştırmada, suşlar 10^5 kob/g seviyesinde hamurlara inoküle edilmiştir. Analizler neticesinde sucuk örneklerinin A, B ve C toksinlerinin tespit edilebilir sınırın altında olduğu, D tipi toksinin ise hem 24 saatlik fermentasyondan sonra hem de olgunlaşmanın 3, 7 ve 12. günlerinde tespit edildiği rapor edilmiştir. Sonuç olarak da geleneksel bir Türk et ürünü olan sucuğun *S.aureus* ile kontaminasyonunun insan sağlığı açısından risk arz edebileceği bildirilmiştir (Akkaya *et al.* 2014).

Şarap ile marine edilen etlerden üretilen chouriço de vinho olarak adlandırılan kuru fermente sosiste yapılan bir çalışmada, fermente sosisler açısından önem arz eden gıda kaynaklı patojenlerin (*Salmonella* spp., *L. monocytogenes* ve *S. aureus*) gelişimi üzerine yerel *L. sakei* suşunun kullanımı, fermente olabilir karbonhidratlar ve tuz seviyelerinin (%1,5 ve %3) etkileri incelenmiştir. Kurutma süresince analizler neticesinde, kurutmanın ilk aşamalarında Gram (+) patojenlerin *L. sakei* kültürü ve/veya karbonhidrat mevcudiyetinde daha düşük seviyeler gösterdiği, 15 günlük kurutmadan sonra her üç patojenin sayısında tüm örneklerde 2 logaritmik birimlik bir azalma olduğu, aynı örnekleme gününde kültür ve karbonhidrat içeren örneklerde *L. monocytogenes*'in saptanabilir düzeyde olmadığı, kurutmanın 15. gününden sonra ortalama *S. aureus* sayısının 1 log kob/g altında bir değer gösterdiği, 30 günlük kurutmadan sonra ise patojenlerin belirlenemediği bildirilmiştir (Garcia Diez and Patarata 2013).

Farklı et üretim proseslerinde *S. aureus*'un gelişimi ve ayrıca enterotoksin üretimi üzerinde etkili faktörlerin belirlenmesi amacıyla matematiksel model geliştirmeye yönelik bir çalışmada farklı sıcaklıklar, tuz ve sodyum nitrit seviyeleri faktör olarak seçilmiş ve inokülasyonda A ve D enterotoksinlerini üreten üç suş ve G, I, M, N, O ve U enterotoksinlerini üreten metisiline dirençli bir suş kullanılmıştır. Araştırma sonunda geliştirilen modelin et ürünlerinde *S.aureus*'un gelişimini tahmin etmek ve enterotoksin oluşumunu değerlendirmek açısından uygun olduğu ve söz konusu modelin üreticilerin kullanımına sunulduğu rapor edilmiştir (Gunvig *et al.* 2018).

Pediococcus sp. içeren ticari kültür preparatı ile inoküle edilen Genoa sosisi ve pepperoni olarak adlandırılan fermente sosisler üzerinde yapılan bir araştırmada, starter kültür içeren Genoa sosisinde *S.aureus* sayısının enterotoksin üretimi için gerekli minimum sayıdan 1000 kat daha düşük seviyede olduğu, bu sosis çeşidinde 21°C'de starter kültürün bakteriosidal etki göstererek *S. aureus* sayısında %42 oranında düşüşe neden olduğu, ticari kültür preparatının BHA ve BHT antioksidanları mevcudiyetinde Genoa sosisinde *S. aureus*'un

gelişiminde %67 oranında inhibisyona neden olduğu, 35°C’de fermantasyona tabi tutulan pepperonide ise ticari kültürün *S. aureus*’un sayısında 2 logaritmik birimden daha fazla olan artışı engelleyebildiği bildirilmiştir (Raccach 1981).



MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Isıl işlem görmüş sucuk üretiminde hammadde olarak sığır eti ve sığır et yağı kullanılmıştır. Sığır etinden kaba yağ ve bağ dokuları ayrılmış, küçük parçalara doğrandıktan sonra üretimde kullanılıncaya kadar -18°C’de muhafaza edilmiştir. Sığır et yağı da doğranmış ve -18°C’de üretime kadar muhafaza edilmiştir. Sucuk formülasyonunda yer alan tuz, sarımsak ve baharat ile sodyum nitrit, piyasadan temin edilmiştir. Sucuk hamurlarının dolumunda ise kolajen kılıf (38mm, Naturin Darm) kullanılmıştır.

Starter kültür olarak geleneksel sucuklardan izole edilen, genetik olarak tanımlanan ve aksesyon numaraları alınan *Lactobacillus sakei* S15 (KR025387), *Lactobacillus plantarum* S91 (KT327838) ve *Pediococcus acidilactici* S147b (KT275957) suşları kullanılmıştır.

Isıl işlem görmüş sucuk hamurlarının *Staphylococcus aureus* ile inokülasyonunda ise *S. aureus* ATCC 51740 suşu kullanılmıştır. *S. aureus* suşu, önce TSB (Tryptiz Sot Broth) (Merck) sıvı besiyerinde inoküle edilmiş ve 37°C’de 24 saat süreyle çoğaltılmıştır. Laktik asit bakteri suşları için de MRS (de Man Rogosa Sharpe Agar) (Merck) sıvı besiyeri kullanılmış ve 30°C’de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Laktik asit bakteri suşları türbidometrik yöntem esas alınarak 10⁷ kob/g, *S.aureus* ise 10⁵ kob/g düzeyinde kontrol 1 grubu (A grubu) hariç sucuk hamurlarına ilave edilmiştir.

Yöntem

Sucuk üretimi

Isıl işlem görmüş sucuk üretiminde Armutçu *et al.* (2020) tarafından verilen reçete esas alınmış ve her bir kg et–yağ karışımı için (%80 yağsız sığır eti + %20 et yağı); 20 g tuz, 10 g sarımsak, 4 g sakkaroz, 2,5 g yenibahar, 5 g karabiber, 7 g kırmızı biber, 9 g kimyon ve 0,15 g sodyum nitrit kullanılmıştır. Araştırmada bu formülasyon esas alınarak Tablo 1’de verilen deneme (blok) desenine uygun olarak 3 farklı zamanda 3 farklı hammadde kullanılarak üretimler yapılmıştır.

Tablo 1. Deneme (Blok) planı

Grup	Blok	Sucuk Hamuru	Fermantasyon			Isıl İşlem	Kurutma
			24 saat	48 saat	72 saat		
A	1						
	2						
	3						
B	1						
	2						
	3						
C	1						
	2						
	3						
D	1						
	2						
	3						
E	1						
	2						
	3						
F	1						
	2						
	3						

A: Kontrol 1, B: Kontrol 2, C: *L.plantarum* + *S.aureus* inokülasyonu, D: *L.sakei* + *S.aureus* inokülasyonu, E: *P.acidilactici* + *S.aureus* inokülasyonu, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus* inokülasyonu

Isıl işlem görmüş sucuk hamurunun hazırlanmasında laboratuvar tipi kuter (MADO Typ MTK 662, Dornhan /Schwarzwald) kullanılmıştır. Araştırmada altı farklı grup için ayrı ayrı sucuk hamurları hazırlanmıştır. Kontrol 1 grubunda starter kültür kullanılmamıştır. *S. aureus* ile kontamine edilmeyen bu grup A grubu olarak adlandırılmıştır. B grubu sucuk hamurları 10^5 kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontamine edilmiştir. C, D, E ve F gruplarına ise her bir suş 10^7 kob/g düzeyinde olacak şekilde sırasıyla *L. sakei* S15, *L. plantarum* S91, *P. acidilactici* S147b, *L. sakei* S15 + *L. plantarum* S91 + *P. acidilactici* S147b suşları inoküle edilmiştir. C, D, E ve F grupları ayrıca 10^5 kob/g düzeyinde *S. aureus* ile kontamine edilmiştir.

Sucuk hamurlarının doldurulmasında laboratuvar tipi pistonlu bir doldurucu (MADO Typ MTK 591, Dornhan/Schwarzwald) kullanılmıştır. Dolumu müteakiben her bir gruba ait sucuklar sıcaklığı, nispi rutubeti ve hava cereyanı otomatik olarak kontrol edilebilen klima ünitesinde (Reich, Germany) $22\pm1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ve 92 ± 2 bağıl nemde 3 gün süreyle

fermantasyona tabi tutulmuştur. Fermantasyonu müteakiben her bir grup 55°C'lik başlangıç sıcaklığı esas alınarak 68°C'lik iç sıcaklığa ulaşıncaya kadar pişirme fırınında (Mauting, Czech Republic) ısıtma işlemi tabi tutulmuştur. Isıtma işlemi görmüş sucuk grupları tekrar klima ünitesine alınarak 18±1°C'de ve %84±2 nispi rutubette kurutulmuştur.

Örneklerin alınması ve analizlere hazırlanması

Isıtma işlemi görmüş sucuk hamuru ile fermentasyon (24, 48 ve 72 saat), ısıtma işlemi ve kurutma aşamalarından sonra alınan örnekler mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal analizlere tabi tutulmuştur.

Mikrobiyolojik analizler için 25 g örnek steril stomacher torbalarına tartılmış ve üzerine 225 ml steril fizyolojik su (%0,85 NaCl) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Hazırlanan bu homojenizattan uygun dilüsyonlar hazırlanmış ve aşağıda belirtilen mikrobiyolojik özellikler incelenmiştir. Su aktivitesi tayini için özel plastik kaplara örnekler alınmıştır. pH analizi için ise özel kavanozlara tartım yapılmıştır.

Analizler

***S. aureus* sayımı**

S. aureus sayımı için Baird-Parker Agar besiyeri (Merck) kullanılmıştır. Bu besiyerine egg yolk tellürid emüsyonu (Merck) ilave edilmiştir. Uygun dilüsyonlardan ekim yapıldıktan sonra petri kutuları 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Baird-Parker Agar besiyerinde etrafı saydam zonlu 1-1,5 mm çaplı siyah parlak koloniler sayılmıştır. Doğrulama amacıyla seçilen kolonilere koagülaz testi (Bactident Coagulase, Rabbit Plasma with EDTA lyophilized (Merck)) uygulanmıştır (Kaban and Kaya 2006).

***Laktik asit bakteri* sayımı**

Sayının belirlenmesinde MRS Agar (Merck) kullanılmış ve yüzeye yayma yöntemiyle uygun dilüsyonlardan ekim yapıldıktan sonra 2 gün süre ile 30°C'de anaerobik inkübasyon (Anaerocult A, Merck) gerçekleştirilmiştir. Katalaz (-) koloniler dikkate alınarak laktik asit bakteri sayısı belirlenmiştir (Baumgart *et al.* 1993).

***Micrococcus /Staphylococcus* sayımı**

Micrococcus /Staphylococcus sayımı için MSA Agar (Mannitol Salt Phenol Red Agar (Merck)) kullanılmış ve uygun dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. Ekimi müteakiben plaklar 30°C'de 2 gün aerobik şartlarda inkübe edilerek, katalaz (+) koloniler dikkate alınarak sayı belirlenmiştir (Gökalep vd 2010).

Enterobacteriaceae sayımı

Enterobacteriaceae sayımında VRBD Agar (Violet Red Bile Dextrose Agar (Merck)) plaklarına yüzeye yayma yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra petri plakları 30°C'de 2 gün anaerobik şartlarda (Anaerocult A, Merck) inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 1 mm'den büyük koloniler sayılarak Enterobacteriaceae sayısı saptanmıştır (Baumgart *et al.* 1993).

Maya ve küf sayımı

Uygun dilüsyonlardan RBC Agar (Rose Bengal Chloroamphenicol) (Merck) içeren besiyerlerine yayma yöntemi ile ekim yapılmış ve 25°C'de 5 günlük inkübasyondan sonra sayım yapılmıştır (Gökalp vd 2010).

Su aktivitesi değerinin belirlenmesi

Örneklerin su aktivitesi değeri, su aktivitesi cihazı (NOVASINA) kullanılarak ölçülmüştür. Cihaz kullanılmadan önce farklı tuz çözeltileri ile kalibre edilmiştir. Örneklerin bulunduğu özel plastik kapların kapakları açılarak cihazın ölçme kabinine yerleştirilmiş ve a_w değerleri belirlenmiştir (Gökalp vd 2010).

pH değerinin belirlenmesi

Örneklerin pH değerlerinin belirlenmesi için 10 g örnek tartılmış, üzerine 100 ml saf su ilave edilmiş ve Ultra-Turrax (IKA T 25, Germany) kullanılarak 1 dakika süre ile homojenize edildikten sonra pH değerleri, pH-metre (Mettler Toledo, Switzerland) kullanılarak belirlenmiştir (Gökalp vd 2010).

Enterotoksin analizi

Stafilokokal enterotoksin analizinde VIDAS Staph enterotoksin II (SET2; Biomerieux. REF 30 705) ELFA (enzyme-linked fluorescent immunoassay) yöntemi uygulanmıştır (AOAC 070404/2007:06).

İstatistikî analizler

Araştırmada yerel suş kullanımı ve üretim aşaması faktör olarak seçilmiş ve denemeler şansa bağlı tam bloklar deneme planına göre üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. *S.aureus* ile kontamine edilen ısıtıl işlem görmüş sucukların, sucuk hamuru ve fermantasyon aşamalarına ait mikrobiyolojik sayım sonuçları ile örneklerin pH ve a_w değerleri istatistikî analizlere tabi tutulmuştur. Sonuçlara iki yönlü ANOVA uygulanmış ve önemli bulunan parametrelere ait ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Staphylococcus aureus

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıl işlem görmüş sucuklarda üretim süresince *Staphylococcus aureus* sayıları Tablo 2’de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere *S. aureus* ile inoküle edilmeyen kontrol 1 grubu (A grubu) örneklerde her 3 üretimde de son ürün de dahil *S. aureus* sayısı saptanabilir sınırın (<100 kob/g) altında bulunmuştur. *S. aureus* ile 10^5 kob/g düzeyinde inoküle edilen ısıl işlem görmüş sucuk grubunda (B grubu) ise 24 saatlik fermantasyon sırasında ikinci denemede daha fazla olmak üzere *S. aureus* sayısında belirli bir artış olmuştur. 48 saatlik fermantasyonda ise *S. aureus* sayısında artışlar olmuştur. 72 saatlik fermantasyondan sonra bu grupta birinci denemede artış olurken ikinci ve üçüncü denemede *S. aureus* sayısında azalma gözlenmiştir. *S. aureus*’un yanı sıra *Lactobacillus plantarum* S91 içeren grupta (C grubu) 24 ve 48 saatlik fermantasyonlardan sonra önemli bir değişim gözlenmezken 72 saatlik fermantasyon sonrasında da özellikle 3. denemede olmak üzere *S. aureus* sayısında bir azalma kaydedilmiştir. *L. sakei* S15 içeren D grubunda da 72 saatlik fermantasyon sonunda azalmalar kaydedilmiştir. E grubunda ise (*Pediococcus acidilactici* S147b + *S. aureus*) 72 saat sonunda daha az bir azalma kaydedilmiştir. Gruplar arasındaki bu farklılıklarda hammaddenin başlangıç pH değerinin de etkisi olmakla birlikte en önemli etkinin fermantasyon sırasındaki asitleşmenin hızı ve derecesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Isıl işlem uygulaması ile (iç sıcaklık 68°C) tüm gruplarda *S. aureus* sayısı saptanabilir sınırın altına düşmüştür. *S. aureus* ısıl işleme hassas bir mikroorganizmadır. Bu mikroorganizmanın D değeri 65°C ’de yaklaşık 1 dakikadır (Lücke and Troeger 1998). Bu araştırmada ısıl işlem görmüş sucuk üretiminde ısıl işlem programında 55°C ’lik başlangıç sıcaklığı kademeli olarak yükseltilmiş ve iç sıcaklık 68°C olduğunda soğutma aşamasına geçilmiştir. *S.aureus* sayısındaki redüksiyon bu şartlardan ileri gelmektedir.

Tablo 2. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucuklarda üretim süresince *S. aureus* sayısının değişimi (log kob/g)

Grup	Blok	Fermantasyon (saat)				Isıl İşlem	Kurutma
		0 saat	24 saat	48 saat	72 saat		
A	1	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
	3	<2	<2	<2	<2	<2	<2
B	1	5,27	5,58	5,77	6,65	<2	<2
	2	5,43	6,23	6,53	5,18	<2	<2
	3	5,50	5,83	6,36	6,15	<2	<2
C	1	5,44	5,77	5,48	5,11	<2	<2
	2	5,55	5,79	5,59	5,40	<2	<2
	3	5,66	5,67	5,18	4,97	<2	<2
D	1	5,56	5,43	5,15	5,45	<2	<2
	2	5,72	5,70	5,53	5,30	<2	<2
	3	5,74	5,58	5,98	5,41	<2	<2
E	1	5,67	5,74	5,41	5,18	<2	<2
	2	5,54	5,27	5,53	5,30	<2	<2
	3	5,85	5,87	5,54	5,78	<2	<2
F	1	5,47	5,68	5,04	5,00	<2	<2
	2	5,75	5,50	5,20	5,11	<2	<2
	3	5,46	5,28	5,90	5,30	<2	<2

A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen *S. aureus* sayılarına ait varyans analiz sonuçları Tablo 3’de verilmiştir. Ana varyasyon kaynaklarından yerel suş kullanımının *S.aureus* sayısı üzerinde çok önemli ($P<0,01$) etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Diğer bir ana varyasyon kaynağı olan fermantasyon süresi ise bu gıda kaynaklı patojen mikroorganizmanın üzerinde önemli bir etki göstermemiştir ($P>0,05$). Deneme sucuklarının *S. aureus* sayısı üzerinde yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksyonu da istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($P>0,05$) (Tablo 3).

Araştırmada 3 farklı deneme 3 farklı zamanda yürütülmüştür. Ancak Tablo 3’den de görüldüğü üzere blok faktörü *S. aureus* sayısı üzerinde önemli bir farklılığa neden olmamıştır ($P>0,05$).

Tablo 3. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen *S. aureus* sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F
Yerel Suş Kullanımı (YS)	4	0,406	4,950**
Fermantasyon süresi (FS)	3	0,164	2,002
Blok	2	0,126	1,538
YS x FS	12	0,141	1,718
Hata	38	0,82	-
Genel	60	-	-

**P<0,01

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucukların *S.aureus* sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 4’de verilmiştir. Buna göre yerel suş ilave edilmeyen kontrol 2 grubu (B grubu) en yüksek ortalama *S.aureus* sayısını vermiştir. Bu sayı diğer tüm gruplara ait ortalama *S.aureus* sayısından istatistiki olarak daha yüksek bulunmuştur. Yerel suşlara ait ortalamalar arasında ise istatistiki olarak önemli bir farklılık görülmemiştir ($P>0,05$). Bu sonuçlara göre her suş fermantasyon ortamına iyi adapte olmuş pH değerinde önemli düzeyde düşüşe neden olarak *S.aureus*’un gelişimini inhibe etmiştir. *S.aureus* aside hassas gıda kaynaklı patojen bir mikroorganizmadır. Bu patojen için fermantasyon aşaması oldukça kritik bir aşamadır. Isıtılmış işlem görmüş sucuk endüstriyel bir ürün olup üretiminde starter kültürler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu ürün kullanılan formülasyona ve başlangıç fermantasyon sıcaklığına göre 24-48 saatlik bir fermantasyondan sonra ısıtılmış işleme tabi tutulmaktadır (Armutçu *et al.* 2020). Bu çalışmada yerel suş içeren gruplarda 24 saatlik fermantasyondan sonra yeterli asitleşme olmasına karşın asitleşmenin yani pH düşüşünün *S.aureus*’un gelişimine etkisini ortaya çıkarmak için fermantasyon süresi uzatılmıştır. Kontrol grubu örneklerde pH’nın düşmemesi veya yavaş düşmesi nedeniyle *S.aureus* sayısında artış gözlenmiştir. Kaban and Kaya (2006) tarafından yapılan bir çalışmada kontrol grubu olarak adlandırılan starter kültürsüz sucuk örnekleri ticari starter kültür kullanılarak üretilen sucuk gruplarına göre daha yüksek bir ortalama *S. aureus* sayısı verdiği rapor edilmiştir. Mevcut araştırma sonuçları Kaban and Kaya (2006) tarafından verilen sonuçlara benzerlik göstermektedir. Diğer taraftan Kaban *et al.* (2008) tarafından sucuk üzerinde yapılan diğer çalışmada da pH düşüşünün hem sucuk hamurunun başlangıç değerinin hem de asit oluşum hızı ve derecesinin *S.aureus*’un gelişimi açısından önemli faktörler olduğu rapor edilmiştir. Sucuk üzerinde yapılan diğer bir çalışmada da *S.aureus* açısından fermantasyon aşamasındaki asitliğin önemli bir faktör olduğu ortaya konulmuştur (Kaban *et al.* 2007). Turantaş *et al.* (1991) tarafından GDL kullanılarak yapılan bir çalışmada hem 24°C’lik

hem de 35°C'lik fermentasyon sıcaklığında *S. aureus*'un gelişmediği, starter kültür kullanılması durumunda ise (sakkaroz %1, fermentasyon sıcaklığı 24°C) 6. günden sonra sayının saptanabilir sınırın altında olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada kontrol grubu örneklerde *S. aureus*'un 30 gün süreyle canlılığını koruduğu da rapor edilmiştir. Erol and Hildebrant (1992) da sucuk üretiminde starter kültür kullanımının *S.aureus*'un inhibisyonuna neden olduğunu bildirmiştir.

Fermente sosislerde fermentasyondaki pH düşüşü gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonu açısından önemli bir etkidir (Leistner 1985; Lücke 1998; Ferreira *et al.* 2006). Pepperoni ve Geno sosisi (Raccach 1981) ile diğer fermente sosis çeşitleri (Marcy *et al.* 1985; Gonzalez-Fandos *et al.* 1996; Sameshima *et al.* 1998; Gonzalez-Fandos *et al.* 1999) üzerinde yürütülen araştırmalarda da laktik starter kültürlerin *S. aureus*'un inhibisyonunda önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir.

S. aureus, fermente et ürünleri için önemli bir patojendir. Fermentasyonun yeterli olmaması durumunda bu mikroorganizma çoğalabilmekte ve hatta ısıl işleme dayanıklı enterotoksin üretebilmektedir (Metaxopoulos 1981a,b). Lücke (2000b) *S.aureus*'un kontrolünde formülasyon ve fermentasyonun önemli rol oynadığını ve bu patojen açısından hijyenik kalitesi yüksek hammadde kullanılması, 22°C'nin altındaki başlangıç fermentasyon sıcaklığında pH'nın 5,3'ün altına düşürülmesi, 0,93'ün altındaki a_w değerinde depolama sıcaklığının 15°C'nin altında tutulmasının bu patojenin inhibisyonu açısından önemli faktörler olduğunu vurgulamıştır.

Isıl işlem görmüş sucuk, yarı kuru fermente bir sosis çeşididir. Mevcut bu araştırma sonuçlarına göre fermentasyon aşamasındaki asitleşme *S.aureus*'un gelişimini engelleyebilmekte ve böylelikle bu asitleşmeden dolayı bu üründen kaynaklanabilecek risk ortadan kaldırılabilir. Isıl işlem görmüş sucuğun bu açıdan diğer bir avantajı fermentasyon aşamasından sonra uygulanan ısıl işlemde *S.aureus*'un önemli düzeyde inaktive olmasıdır. Tablo 2'de verilen sonuçlardan da görüleceği üzere hem starter kültürlü hem de starter kültürsüz örneklerde ısıl işlem uygulaması neticesinde *S.aureus* sayısı saptanabilir sınırın altında düşmüştür (<100 kob/g). Buna göre ısıl işlem görmüş sucukta uygulanan ısıl işlem ürün güvenliği açısından çok önemli bir engel etken olarak ortaya çıkmaktadır.

Tablo 4. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıl işlem görmüş sucukların *S. aureus* sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Grup (Suş)	n	<i>S.aureus</i> (kob/g)
B (Kontrol 2)	12	5,87±0,50a
C (<i>L. plantarum</i> S91)	12	5,47±0,26b
D (<i>L.sakei</i> S15)	12	5,55±0,22b
E (<i>P.acidilactici</i> S147b)	12	5,56±0,23b
F (<i>L.plantarum</i> S91+ <i>L.sakei</i> S15 + <i>P.acidilactici</i> S147b)	12	5,39±0,29b

a-b: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$)

Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen *S. aureus* sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 5’de verilmiştir. Fermantasyonun son gününde (72 saat) *S.aureus* sayısında az da olsa bir düşüş olmasına rağmen fermantasyon süresi istatistiki açıdan önemli bir farklılığa neden olmamıştır. Ayrıca *S.aureus* sayısı üzerinde yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi etkileşimini de önemli bir farklılığa neden olmamıştır.

Tablo 5. Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen *S.aureus* sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Fermantasyon Süresi (Saat)	n	<i>S.aureus</i> (kob/g)
0	15	5,57±0,15a
24	15	5,66±0,24a
48	15	5,61±0,43a
72	15	5,42±0,46a

Laktik Asit Bakteri

Isıl işlem görmüş sucuk gruplarında belirlenen laktik asit bakteri sayıları Tablo 6’da verilmiştir. A grubu olarak adlandırılan starter kültür ve *S.aureus* inoküle edilmeyen grupta spontan laktik asit bakteri sayısı kullanılan hammaddeye göre farklılık göstermektedir. Deneme 3’de ortalama laktik asit bakteri sayısı fermantasyonun başlangıcında (0. Saat) biraz daha yüksek bulunmuş ve 24 saatin sonunda 3 logaritmik birimden daha fazla bir artış göstermiştir. Tablo 18’de verilen sonuçlardan da görüldüğü üzere deneme 3’de pH düşüşü de laktik asit bakteri sayısına bağlı olarak daha fazla olmuştur. Benzer durum *S.aureus* ilave edilen ve B grubu olarak adlandırılan starter kültürsüz grupta da gözlenmiştir. Yerel suşları içeren gruplar ile bu suşların birlikte kullanıldığı grupta laktik asit bakteri sayısında 1 ile 1,5 logaritmik birim arasında değişen artışlar gözlenmiştir. Bu sonuç bu suşların ısıl işlem görmüş sucuk ortamına iyi adapte olduğunun iyi bir göstergesidir. Diğer taraftan tüm sucuk gruplarında 55°C’den

itibaren kademeli bir sıcaklık artışının olduğu ısıtma işlem programı neticesinde laktik asit bakteri sayısı saptanabilir sınırın altında bulunmuştur. Kurutma aşamasında yine sayı tüm gruplarda saptanabilir sınırın altında tespit edilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtma işlem görmüş sucuklarda üretim süresince laktik asit bakteri sayısının değişimi (log kob/g)

Grup	Blok	Fermantasyon				Isıl İşlem	Kurutma
		0 saat	24 saat	48 saat	72 saat		
A	1	2,00	5,25	6,54	7,69	<2	<2
	2	2,30	5,56	6,46	8,31	<2	<2
	3	3,38	6,75	7,91	8,16	<2	<2
B	1	2,78	4,95	6,47	7,71	<2	<2
	2	2,87	5,69	6,59	8,01	<2	<2
	3	3,62	5,83	7,40	8,23	<2	<2
C	1	7,80	8,70	8,73	9,18	<2	<2
	2	7,46	8,96	9,05	8,99	<2	<2
	3	7,40	9,04	8,87	9,00	<2	<2
D	1	7,24	9,15	9,31	9,14	<2	<2
	2	7,21	9,10	9,06	9,15	<2	<2
	3	7,22	9,07	9,11	9,30	<2	<2
E	1	7,88	8,74	8,71	8,71	<2	<2
	2	7,36	8,97	8,55	8,59	<2	<2
	3	7,56	9,10	8,93	9,16	<2	<2
F	1	7,95	8,89	9,19	9,04	<2	<2
	2	8,11	9,09	9,02	8,78	<2	<2
	3	7,84	9,21	9,25	9,02	<2	<2

A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*

Isıl işlem görmüş sucuk gruplarının laktik asit bakteri sayılarına ait varyans analiz sonuçları Tablo 7’de verilmiştir. Yerel suş kullanımı laktik asit bakteri sayısında çok önemli ($P<0,01$) bir değişikliğe sebep olmuştur. Fermantasyon süresi faktörünün de laktik asit bakteri sayısı üzerinde çok önemli ($P<0,01$) etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Tablo 7’de de görüldüğü üzere ısıtma işlem görmüş sucuk gruplarının laktik asit bakteri sayısı üzerinde yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi çok önemli ($P<0,01$) etkiye sahiptir.

Tablo 7. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen laktik asit bakteri sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F
Yerel Suş Kullanımı (YS)	4	18,896	366,574**
Fermantasyon Süresi (FS)	3	13,645	264,709**
Blok	2	0,232	4,502*
YS x FS	12	1,483	28,770**
Hata	38	0,052	-
Genel	60	-	-

*P<0,05; **P<0,01

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış sucukların laktik asit bakteri sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 8’de verilmiştir. En düşük ortalama laktik asit bakteri sayısı kontrol 2 grubunda (B grubu) belirlenmiştir. Yerel suş içeren gruplar arasında ise çoklu suş içeren grup *P. acidilactici* kullanılarak üretilen gruptan daha yüksek bir ortalama laktik asit bakteri sayısı vermiştir (Tablo 8).

Et endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri hamura 10^6 - 10^7 kob/g düzeyinde ilave edilmesi gerekmektedir (Lücke 1985). Mevcut bu araştırmada da yerel suşlar ısıtılmış sucuk hamurlarına 10^7 kob/g düzeyinde ilave edilmiştir. Fermantasyon aşamasında süre ilerledikçe laktik asit bakteri sayısı artış göstermiştir. En yüksek ortalama 72 saatlik fermantasyon sonunda erişilmiştir. Laktik asit bakterileri fermente sosislerde şekerlerden, başta laktik asit olmak üzere organik asitler oluşturarak ürün güvenliğini sağlamak ve ayrıca ürünün duyu ve tekstürel özelliklerinin gelişimine katkıda bulunmaktadır. Bu mikroorganizmaların başlangıç sıcaklığının yanı sıra fermantasyon sıcaklığı ve üretimde kullanılan şekerin cinsi ve miktarı, asit üretim hızı ve derecesi üzerinde önemli ölçüde rol oynamaktadır (Lücke 1985). Laktik asit bakterileri obligat homofermantatif, fakültatif heterofermantatif ve obligat heterofermantatif olmak üzere üç grup altında toplanmaktadır. Et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan laktobasiller fakültatif heterofermantatif olup glukozu EMP yolu üzerinden laktik aside dönüştürür. Bu ürünlerde *L. sakei*, 20-24°C’lik fermantasyon sıcaklığında iyi bir gelişme göstermekte ve olgunlaşma boyunca canlılıklarını önemli derecede koruyabilmektedir. *L. plantarum* ise daha yüksek sıcaklıklarda daha iyi gelişmektedir. Diğer taraftan *P.acidilactici*’nin optimum gelişme sıcaklığı 40°C’nin üzerindedir (Kaban *et al.* 2012; Kaya ve Kaban 2019). Tablo 8’de de görüldüğü üzere *L. sakei* istatistiki açıdan önemli olmasa da biraz daha yüksek bir ortalama değer vermiştir.

Spontan fermantasyonda grup A ve B’de olduğu gibi etten veya çevreden kaynaklanan laktik asit bakterileri etkili olmaktadır. Spontan floranın teknolojik açıdan önem arz eden laktik asit bakterilerini içermesi durumunda starter kültür kullanılmadan kaliteli ve duyuşal özellikler açısından arzu edilen ısı işlem görmüş sucuk üretmek mümkündür. Ancak bu şekilde bir mikrobiyatayı her zaman sağlamak mümkün olmadığından standart bir ürün üretilmemekte ve hatta ürün güvenliği açısından ciddi sıkıntılar ortaya çıkabilmektedir. Bundan dolayı starter kültür kullanımı özellikle de ısı işlem görmüş sucuk gibi 20°C’nin üzerinde olgunlaştırılan ürünlerde elzemdir. Mevcut bu çalışmada kullanılan suşlar 22°C’lik fermantasyon sıcaklığında 24 saat içerisinde pH değerinde önemli bir düşüş sağlamıştır. Bu sonuçlara göre ayrı ayrı kullanılan üç suş ve bu üç suşun karışımı ısı işlem görmüş sucuğun fermantasyonunda iyi bir gelişme göstermektedir. *L. plantarum* sucuk üretiminde de yaygın olarak kullanılan türlerden biridir (Kaban and Kaya 2009; Kamiloğlu *et al.* 2019) Bu tür geleneksel yöntemle üretilen sucuklardan da izole edilmiştir (Gürakan *et al.* 1995; Çon and Gökalp, 2000; Kaban and Kaya 2008; Çanakçı Adıgüzel and Atasever 2009). Bu araştırmada kullanılan *L.plantarum* S91’de sucuk izolatıdır. *L.sakei* S15 yine sucuktan izole edilen bir suştur. Bu suşun ısı işlem görmüş sucukta iyi bir gelişme gösterdiği diğer bir araştırmada da ortaya konulmuştur (Yılmaz Oral and Kaban 2021). ABD’de *L. plantarum*, *P. pentosaceus* ve *P.acidilactici* yaygın starter olarak kullanılmaktadır. Avrupa’da ise bu üç türe ilaveten *L. sakei* de ticari kültür preparatlarında yer almaktadır (Ockerman and Basu 2017). *P.acidilactici* ve *P. pentosaceus* ise sucuktan daha az sıklıkla izole edilen türlerdir (Kaban and Kaya 2009; Çanakçı Adıgüzel and Atasever 2009).

Tablo 8. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısı işlem görmüş sucukların laktik asit bakteri sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (P<0,05)

Grup (Suş)	n	Laktik asit bakterileri (kob/g)
B (Kontrol 2)	12	5,85±1,94c
C (<i>L. plantarum</i> S91)	12	8,60±0,65ab
D (<i>L.sakei</i> S15)	12	8,67±0,88ab
E (<i>P.acidilactici</i> S147b)	12	8,52±0,60b
F (<i>L.plantarum</i> + <i>L.sakei</i> + <i>P.acidilactici</i>)	12	8,78±0,51a

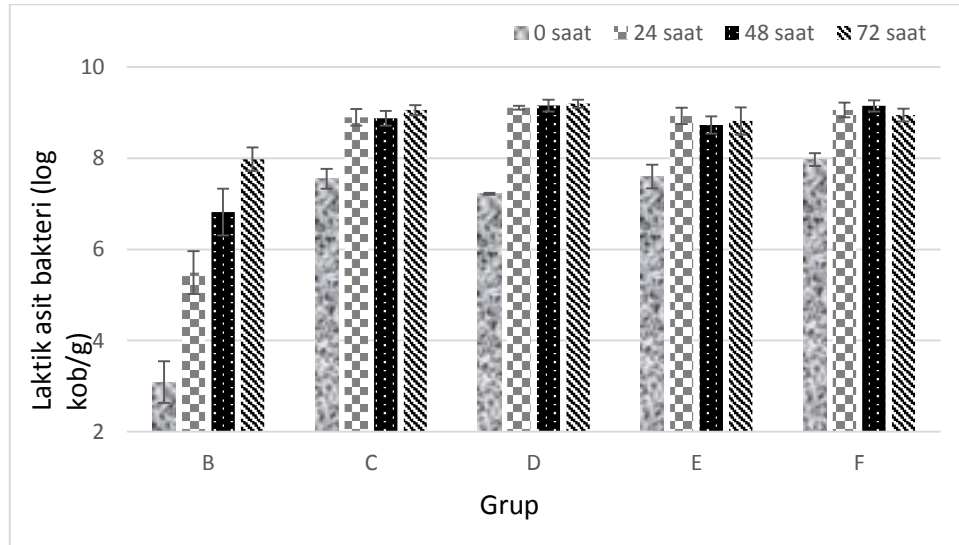
a-c: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P<0,05)

Tablo 9. Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen laktik asit bakteri sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Fermantasyon Süresi (Saat)	n	Laktik asit bakteri (kob/g)
0	15	6,69±1,89d
24	15	8,30±1,47c
48	15	8,55±0,94b
72	15	8,80±0,47a

a-d: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$)

Laktik asit bakteri sayısı üzerinde çok önemli etkisi saptanan yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksiyonu Şekil 1’de verilmiştir. Spontan laktik asit bakterileri (Grup B) ilk 24 saatte yerel suşlara göre daha yavaş bir gelişme göstermiş ve ortalama 2 logaritmik birim civarında bir artış olmuştur. 48 ve 72 saatlik fermantasyonlarda da gelişme devam etmiş ve 1 logaritmik birim civarında artışlar gözlenmiştir. Bu sonuçlar spontan laktik asit bakterilerinin 10^8 kob/g civarındaki bir laktik asit bakteri sayısına ancak 72 saatlik bir fermantasyondan sonra ulaştığını göstermektedir. Spontan laktik asit bakterilerinin başlangıç sayılarının düşük olmaları ve fermantasyon sırasında da yavaş bir gelişim göstermelerinden dolayı yeterli bir asitleşme olmamaktadır. Bunun sonucu olarak da bu grupta *S.aureus* sayısı artış gösterebilmektedir. Yerel suşların kullanıldığı gruplarda ise 24 saatlik fermantasyondan sonra 1×10^7 kob/g civarında olan başlangıç laktik asit bakteri sayısı 10^8 - 10^9 kob/g seviyesine kadar artmıştır. Daha sonraki aşamalarda ise bu gruplarda önemli bir değişim olmamıştır. Bu sonuçlara göre hem ürün güvenliği açısından hem de standart üretim açısından yerel suşların ilk 24 saat içerisinde hızlı bir asitleşmeye sebep olması büyük önem arz etmektedir.



Şekil 1. Yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksiyonunun ısıtılmış sucukta laktik asit bakterilerinin gelişimine etkisi

(A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*)

Micrococcus/Staphylococcus

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucuklarda üretim süresince *Micrococcus/Staphylococcus* sayısının değişimi Tablo 10'da verilmiştir. *S.aureus* inoküle edilmeyen (Grup A) grupta fermentasyon süresi ilerledikçe genellikle *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı artış göstermiştir. Isıtılmış işlem sırasında ise önemli bir reduksiyon olmuş ve sayı saptanabilir sınırın altına düşmüştür. Kurutma sonunda da sayı yine saptanabilir sınırın altında bulunmuştur. Mikrokok-stafilokoklar aside hassas mikroorganizmalardır (Lücke 1998). Spontan flora genellikle pH'da özellikle de ilk 24 saat içerisinde önemli bir değişime neden olmadığından bu mikroorganizmalar gelişme göstermiştir. Grup B'de ise (*S.aureus* inoküle edilen) benzer bir durum gözlemlenmiştir. *S.aureus* inokülasyonundan dolayı *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı grup A'ya göre daha yüksek tespit edilmiştir. Diğer taraftan yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucuk gruplarında (C, D, E ve F grubu) genellikle sayıda çok önemli bir değişim gözlenmemiştir (Tablo 10).

Tablo 10. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucuklarda üretim süresince *Micrococcus/Staphylococcus* sayısının değişimi (log kob/g)

Grup	Blok	Fermentasyon				Isıtılmış İşlem	Kurutma
		0 saat	24 saat	48 saat	72 saat		
A	1	3,85	4,05	4,94	6,66	<2	<2
	2	3,84	5,55	6,52	6,22	<2	<2
	3	4,17	5,62	5,61	6,31	<2	<2
B	1	5,13	5,74	5,96	6,85	<2	<2
	2	5,70	6,23	6,64	6,26	<2	<2
	3	5,56	5,92	6,89	6,87	<2	<2
C	1	5,61	5,94	5,64	5,36	<2	<2
	2	5,64	5,73	5,61	5,39	<2	<2
	3	5,67	5,60	5,22	5,44	<2	<2
D	1	5,55	5,61	5,06	5,11	<2	<2
	2	5,80	5,61	5,54	5,40	<2	<2
	3	5,68	5,55	5,15	5,46	<2	<2
E	1	5,64	5,71	5,25	5,33	<2	<2
	2	5,53	6,25	5,58	5,46	<2	<2
	3	5,83	5,44	5,77	5,93	<2	<2
F	1	5,67	5,75	4,97	5,16	<2	<2
	2	5,80	5,31	5,28	4,79	<2	<2
	3	5,43	5,27	5,13	5,11	<2	<2

A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen *Micrococcus/Staphylococcus* sayılarına ait varyans analiz sonuçları Tablo 11’de verilmiştir. Yerel suş kullanımı faktörünün *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı üzerinde çok önemli ($P<0,01$) etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. *S.aureus* sayısı üzerinde yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi faktörü de çok önemli ($P<0,01$) düzeyde etkili olmuştur.

Tablo 11. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen *Micrococcus/Staphylococcus* sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F
Yerel Suş Kullanımı (YS)	4	1,211	19,963**
Fermantasyon Süresi (FS)	3	0,052	0,859
Blok	2	0,085	1,406
YS x FS	12	0,330	5,438**
Hata	38	0,061	-
Genel	60	-	-

** $P<0,01$

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucukların *Micrococcus/Staphylococcus* sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 12’de verilmiştir. Kontrol 2 grubu (B grubu), inoküle edilen *S.aureus*’un gelişiminden dolayı daha yüksek bir *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı vermiştir. Aside hassas bu mikroorganizmalar yerel suşların asit üreterek pH’yı düşürmelerinden dolayı kontrol grubuna göre daha düşük *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı vermiştir. Yerel suşları içeren gruplara ait ortalama değerler arasında ise istatistiki açıdan bazı farklılıklar tespit edilmiştir ($P<0,05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış işlem görmüş sucukların *Micrococcus/Staphylococcus* sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Grup (Suş)	n	<i>Micrococcus/Staphylococcus</i> (kob/g)
B (Kontrol 2)	12	6,15±0,58a
C (<i>L. plantarum</i> S91)	12	5,57±0,19b
D (<i>L.sakei</i> S15)	12	5,46±0,24bc
E (<i>P.acidilactici</i> S147b)	12	5,64±0,28b
F (<i>L.plantarum</i> + <i>L.sakei</i> + <i>P.acidilactici</i>)	12	5,31±0,31c

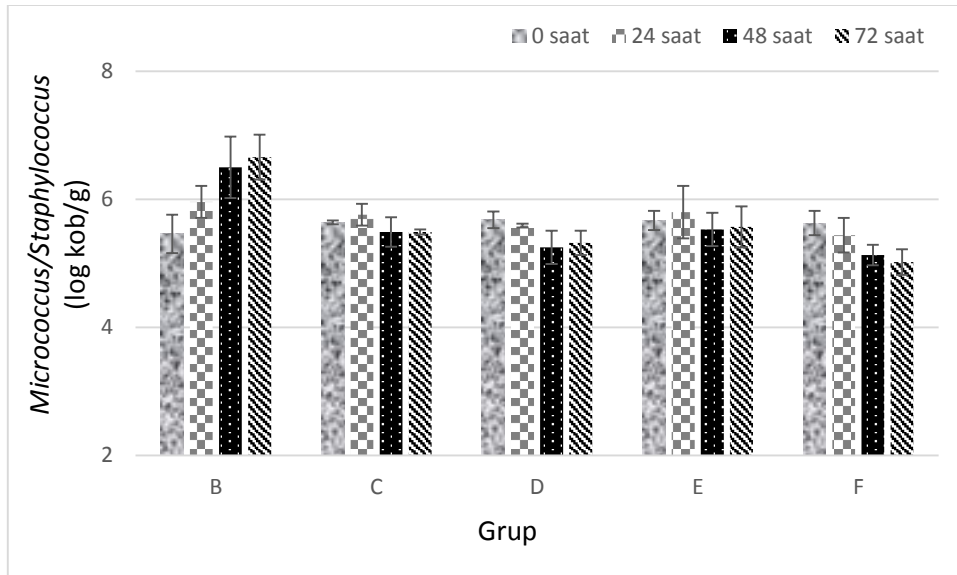
a-c: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$)

Isıtılmış işlem görmüş sucukların fermantasyon aşamasında belirlenen *Micrococcus/Staphylococcus* sayısına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma sonuçları

Tablo 13’de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere ortalamalar açısından önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Bununla birlikte *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı üzerinde çok önemli ($P<0,01$) etkisi saptanan yerel suş x fermantasyon süresi interaksiyonuna ait Şekil 2’den de görüldüğü üzere kontrol grubunda süre ilerledikçe *S. aureus* sayısı azalmıştır. *L.plantarum* S91, *L.sakei* S15 veya *P.acidilactici* S147b içeren gruplarda fermantasyon sırasında çok az değişiklik olurken bu suşlardan hazırlanan (*L.plantarum* S91 + *L.sakei* S15+ *P.acidilactici* S147b) grupta fermantasyon süresindeki ilerlemeye bağlı bir azalış kaydedilmiştir (Şekil 2). Bu sonuçların pH’daki farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir. Nitekim *Micrococcus* ve *Staphylococcus* cinslerine ait mikroorganizmalar aside hassas mikroorganizmalar olarak bilinmektedir (Lücke 1985).

Tablo 13. Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen *Micrococcus/Staphylococcus* sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Fermantasyon Süresi (Saat)	n	<i>Micrococcus/Staphylococcus</i> (kob/g)
0	15	5,62±0,17a
24	15	5,71±0,29a
48	15	5,58±0,56a
72	15	5,59±0,62a



Şekil 2. Yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksiyonunun ısıtılmış sucukta *Micrococcus/Staphylococcus* gelişimine etkisi
(A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*)

Enterobacteriaceae

Araştırmada tüm muamele gruplarında sucuk hamurunda Enterobacteriaceae sayısı saptanabilir sınırın altında bulunmuştur. Fermantasyon sırasında da Enterobacteriaceae sayısı yine saptanabilir sayının altında tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar Armutçu *et al.* (2020) ve Yılmaz Oral and Kaban (2021) tarafından ısıtılmış sucukta da tespit edilmiştir. Yarı kuru bir fermente sosis çeşidi olan ısıtılmış sucukta pH düşüşü (pH<5,3) bu mikroorganizmaların inhibisyonu açısından önemli bir faktördür. Enterobacteriaceae familyası üyeleri için diğer bir engel etken ise su aktivitesidir ($a_w < 0,96$) (Lücke 1985).

Maya ve Küf

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış sucuklarda üretim süresince belirlenen maya ve küf sayıları Tablo 14’de verilmiştir. Fermantasyon sırasında maya küf sayısı genellikle 10^2 - 10^3 kob/g düzeyinde değişmiştir. Bazı örneklerde 10^4 kob/g düzeyinde de sayı gözlenmiştir. Isıtılmış aşamasında ise tüm gruplarda sayı saptanabilir sınırın altında bulunmuştur. Kurutma aşamasında ise maya ve küf gelişimi gözlenmemiştir.

Tablo 14. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış sucuklarda üretim süresince maya ve küf sayısının değişimi (log kob/g)

Grup	Blok	Fermantasyon				Isıtılmış	Kurutma
		0 Saat	24 saat	48 saat	72 saat		
A	1	2,15	3,75	3,00	2,48	<2	<2
	2	3,90	4,45	4,22	4,12	<2	<2
	3	2,84	3,30	2,78	2,00	<2	<2
B	1	3,90	3,00	2,48	2,48	<2	<2
	2	3,96	4,22	4,33	3,63	<2	<2
	3	2,70	3,06	2,74	2,40	<2	<2
C	1	2,95	3,11	3,16	2,00	<2	<2
	2	3,87	4,22	3,81	2,98	<2	<2
	3	3,18	4,08	2,18	2,40	<2	<2
D	1	3,70	3,99	2,48	2,70	<2	<2
	2	4,10	4,18	2,56	3,10	<2	<2
	3	3,42	2,98	2,00	2,00	<2	<2
E	1	2,60	3,83	2,00	2,40	<2	<2
	2	4,34	4,44	3,68	3,22	<2	<2
	3	3,23	3,30	2,81	2,00	<2	<2
F	1	2,84	2,81	2,00	2,48	<2	<2
	2	3,79	3,65	3,45	2,65	<2	<2
	3	2,87	2,84	2,65	2,70	<2	<2

A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*

Deneme sucuklarında fermantasyon aşamasında belirlenen maya ve küf sayılarına ait varyans analiz sonuçları Tablo 15’de verilmiştir. Buna göre yerel suş kullanımı maya ve küf sayısı üzerinde önemli bir etki göstermemiştir ($P>0,05$). Fermantasyon süresi faktörü ise çok önemli ($P<0,01$) düzeyde etkili olmuştur. Yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksiyonu da maya ve küf sayısı açısından önemli bir farklılığa neden olmamıştır ($P>0,05$) (Tablo 15).

Tablo 15. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen maya ve küf sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F
Yerel Suş Kullanımı (YS)	4	0,206	1,419
Fermantasyon (FS)	3	3,288	22,644**
Blok	2	5,396	37,185**
YS x FS	12	0,203	1,398
Hata	38	0,145	-
Genel	60	-	-

** $P<0,01$

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış sucukların maya ve küf sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 16’da verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere kontrol grubu (B grubu) ile yerel suş içeren gruplar arasında ortalama maya ve küf sayısı açısından önemli bir farklılık gözlenmemiş ve sayı 2,89-3,24 kob/g arasında değişim göstermiştir. Buna karşı fermantasyonun ilk 24 saatinde sayı artmış, 48 saat sonra düşüş göstermiştir. Fermantasyonun sonunda ise önemli bir değişim gözlenmemiştir (Tablo 17).

Tablo 16. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıtılmış sucukların maya ve küf sayılarına ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Grup (Suş)	n	Maya ve Küf (kob/g)
B (Kontrol 2)	12	3,24 ± 0,72a
C (<i>L. plantarum</i> S91)	12	3,16 ± 0,73a
D (<i>L.sakei</i> S15)	12	3,10 ± 0,78a
E (<i>P.acidilactici</i> S147b)	12	3,15 ± 0,82a
F (<i>L.plantarum</i> + <i>L.sakei</i> + <i>P.acidilactici</i>)	12	2,89 ± 0,51a

Tablo 17. Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen maya ve küf sayılarına ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları (P<0,05)

Fermantasyon Süresi (Saat)	n	Maya ve Küf (kob/g)
0	15	3,43 ± 0,56a
24	15	3,58 ± 0,59a
48	15	2,82 ± 0,72b
72	15	2,61 ± 0,47b

a-b: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır (P<0,05)

pH

Isıl işlem görmüş deneme sucuklarında üretim aşamalarında belirlenen pH değerlerine ait sonuçlar Tablo 18’de verilmiştir. Sonuçlardan da görüleceği üzere A ve B gruplarında her üç denemede de 24 saatlik fermantasyondan sonra pH değerinde az da olsa bir artış gözlenmiştir. Yerel suşları içeren gruplarda ise 24 saatlik fermantasyon sonunda pH değerinde önemli düşüşler gözlemlenmiştir. Fermente sosislerde fermantasyon aşamasında gerçekleşen asitleşme, renk, lezzet ve tekstür gibi duysal özelliklerin ve ayrıca gıda kaynaklı patojenler ile bozulmaya neden olan mikroorganizmaların kontrolü açısından büyük önem arz etmektedir (Lücke 1985; Kaya ve Kaban 2019). Isıl işlem sırasında ise pH değerinde artış gözlemlenmiştir. Bu artış, ısıl işlem sırasında gerçekleşen protein denatürasyonundan kaynaklanmaktadır. Isıl işlemde sonra pH değerinde artış bu ürün üzerinde yapılan diğer araştırmalarda da tespit edilmiştir (Ercoşkun *et al.* 2010; Çakır *et al.* 2013; Kaban and Bayrak 2015). Kurutma aşamasında ise genellikle pH değerinde önemli bir değişim olmamıştır. Benzer sonuç Yılmaz Oral and Kaban (2021) tarafından ısıl işlem görmüş sucuk üzerine yapılan araştırmada da tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği’nde ısıl işlem görmüş sucuk için verilen maksimum pH değeri 5,6’dır. Buna göre A ve B sucuk grupları tebliğe uygun değildir. Benzer sonuçlar starter kültür kullanılmadan üretilen ısıl işlem görmüş sucukta Yılmaz Oral and Kaban (2021) tarafından da tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ısıl işlem görmüş sucuklarda starter kültür kullanımının gerekliliğini açık ve net bir şekilde ortaya koymaktadır. Isıl işlem görmüş sucuğun kanatlı etinden de üretildiği göz önüne alınırsa starter kültür kullanımının daha da önem arz ettiği söylenebilir (Kaban and Bayrak 2015).

Tablo 18. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucukta üretim süresince belirlenen pH değerleri

Grup	Blok	Fermantasyon				Isıl İşlem	Kurutma
		0 saat	24 saat	48 saat	72 saat		
A	1	5.83	5.82	5.96	5.84	6.03	6.05
	2	5.73	5.83	5.81	5.62	5.74	5.80
	3	5.72	5.77	5.15	4.81	4.85	4.90
B	1	5.76	5.83	5.89	5.85	6.07	6.07
	2	5.76	5.85	5.80	5.64	5.78	5.78
	3	5.77	5.81	5.12	4.78	4.86	4.90
C	1	5.82	5.52	4.65	4.64	4.60	4.57
	2	5.78	5.09	4.62	4.57	4.64	4.65
	3	5.73	5.29	4.59	4.55	4.60	4.65
D	1	5.78	5.37	4.80	4.75	4.81	4.75
	2	5.82	4.92	4.70	4.75	4.81	4.80
	3	5.73	5.10	4.76	4.66	4.76	4.77
E	1	5.74	5.49	4.92	4.72	4.78	4.66
	2	5.84	5.32	4.78	4.77	4.85	4.81
	3	5.74	5.37	4.68	4.67	4.70	4.71
F	1	5.69	5.20	4.73	4.51	4.58	4.53
	2	5.72	4.80	4.58	4.55	4.63	4.65
	3	5.66	4.94	4.60	4.52	4.60	4.61

A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 19’da verilmiştir. Isıl işlem görmüş sucukların pH değeri üzerinde hem yerel suş kullanımının hem de fermantasyon süresinin çok önemli ($P<0,01$) etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu iki faktöre ait interaksiyon da istatistiki açıdan çok önemli ($P<0,01$) bulunmuştur (Tablo 19).

Tablo 19. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F
Yerel Suş Kullanımı (YS)	4	0,895	32,489**
Fermantasyon (FS)	3	3,010	109,223**
Blok	2	0,188	6,809*
YS x FS	12	0,114	4,132**
Hata	38	0,028	-
Genel	60	-	-

* $P<0,05$; ** $P<0,01$

Yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıl işlem görmüş sucukların pH değeri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 20’de verilmiştir. En yüksek ortalama pH değeri 5,66 ile kontrol 2 grubunda (B grubu) belirlenmiştir. Diğer gruplarda ise ortalama pH değeri 4,96 ile 5,17 arasında değişmiştir. En düşük ortalama değer her üç suşu da içeren ısıl işlem görmüş sucuk grubunda (F grubu) belirlenmiştir. Ancak bu ortalama değer sadece *P. acidilactici* içeren gruptan istatistiki olarak farklılık göstermiştir. Sucuk ve ısıl işlem görmüş sucuk gibi kuru ve yarı kuru fermente sosislerde laktik starter kültürlerin laktik asit oluşturarak pH değerini önemli ölçüde düşürdüğü diğer araştırmalarda da rapor edilmiştir (Kaban and Kaya 2009; Kaban and Bayrak 2015; Yılmaz Oral and Kaban 2021).

Tablo 20. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıl işlem görmüş sucukların pH değerlerine ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Grup (Suş)	n	pH
B (Kontrol 2)	12	5,66 ± 0,34a
C (<i>L. plantarum</i> S91)	12	5,07 ± 0,53bc
D (<i>L.sakei</i> S15)	12	5,07 ± 0,48bc
E (<i>P.acidilactici</i> S147b)	12	5,17 ± 0,46b
F (<i>L.plantarum</i> + <i>L.sakei</i> + <i>P.acidilactici</i>)	12	4,96 ± 0,48c

a-c: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$)

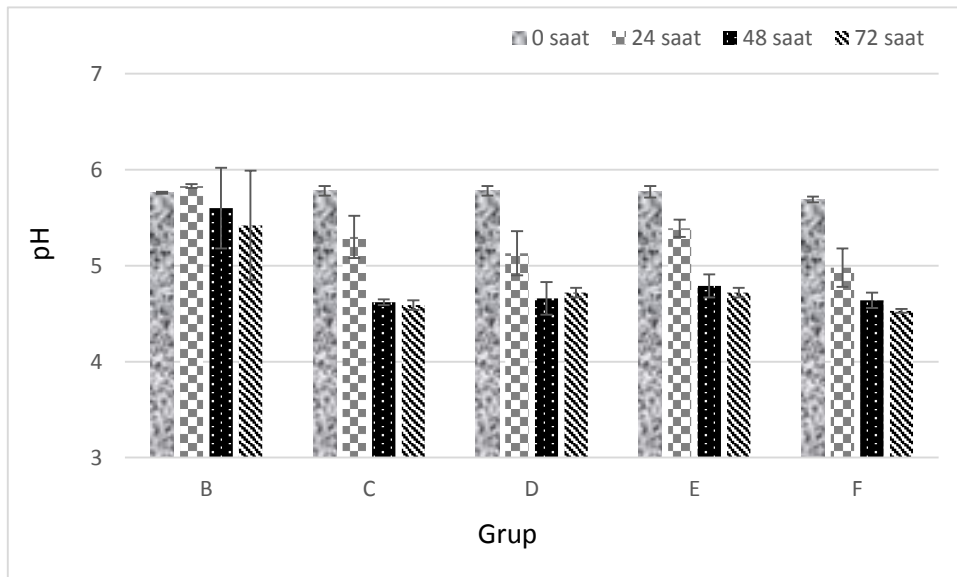
Deneme sucuklarında, fermentasyon süresi ilerledikçe pH değeri düşüş göstermiştir. En düşük ortalama değer 72 saatlik fermentasyonda gözlemlenmiştir. Ancak 48 ve 72 saatlik fermentasyonlarına ait ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farksız bulunmuştur. Diğer taraftan pH üzerinde çok önemli ($P<0,01$) etkisi saptanan yerel suş kullanımı x fermentasyon süresi interaksyonuna göre kontrol 2 grubunda ilk 24 saatte bir artış gözlenmiştir. Daha sonra ise pH süre ilerledikçe düşüş göstermiştir (Şekil 3). Fermentasyonun ilk 24 saatinde pH’da bir düşüş olmaması ve hatta artış olması ürün güvenliği açısından büyük bir risk teşkil etmektedir. Bu sonuç et veya çevreden kaynaklanan spontan laktik asit bakterilerinin fermentasyon koşullarına iyi adapte olmadığını ve bundan dolayı pH değerini düşürmediğini göstermektedir. Kontrol 2 grubunda fermentasyon sırasında az da olsa pH değerindeki artış Kaban and Kaya (2006) ve Yılmaz Oral ve Kaban (2021) tarafından da gözlenmiştir. Bu tip starter kültür kullanılmayan ürünlerde fermentasyon sıcaklığının daha yüksek olması durumunda riskin boyutunun daha fazla olacağı ihtimal dahilindedir. Bundan dolayı ısıl işlem görmüş sucuk gibi fermentasyon sıcaklığı 20°C’nin üzerinde olan fermente sosislerde laktik starter kültür kullanımı elzemdir. Şekil 3’den de görüldüğü üzere hem tekli kültürler hem de çoklu kültür kullanımı fermentasyon sırasında pH’da önemli düşüşlere neden olmuştur. pH daki düşüş ilk 24 saatte daha fazla olmuştur. 48 saatten sonra ise daha az düşüşler gözlenmiştir. Ancak ilk 24 saatte *P.acidilactici* içeren grupta pH 5,3’ün altına düşmemiştir. Daha sonraki aşamalarda düşüş gerçekleşmiştir. Bu sonuç *L.sakei* S15 ve *L.plantarum* S91’in 22°C’lik fermentasyon

sıcaklığında *P.acidilactici* S147b'ye göre daha iyi bir gelişme gösterdiğinin iyi bir işaretidir. *L.sakei* S15'de *L. plantarum*' a göre daha düşük bir pH değeri vermektedir. Nitekim literatürde de *L.sakei*'nin 20-22°C'lik fermantasyon sıcaklıklarında fermente sosislerde diğer laktik asit bakteri türlerine göre daha etkin olduğu rapor edilmiştir (Lücke 1985; Kaban *et al.* 2012). Bu araştırmada asitleşmenin hızı ve derecesi üzerinde etkili olan şeker (sakkaroz) seviyesi %0,4 olarak kullanılmış ve suşların mevcudiyetinde 22°C'lik başlangıç fermantasyon sıcaklığında ürün güvenliğine katkıda bulunabilecek düzeyde bir asitleşme sağlanmıştır. Bu asitleşmede *L.sakei* S15 daha etkin olmuştur. Bununla birlikte incelenen yerel suşların tümü ve karışımı *S.aureus*'un ısıt işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında gelişimini engelleyebilecek seviyede asitleşmeye sebep olmuştur. Endüstriyel ısıt işlem görmüş sucuk üretiminde her bir işletmenin formülasyon, hammadde kalitesi, fermantasyon sıcaklığı, starter kültür kullanımı gibi faktörleri dikkate alarak proses koşullarını belirlemesi halk sağlığının korunması açısından son derece önemlidir.

Tablo 21. Isıl işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen pH değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Fermantasyon Süresi (Saat)	n	pH
0	15	5,76 $\pm$ 0,05a
24	15	5,33 $\pm$ 0,33b
48	15	4,86 $\pm$ 0,43c
72	15	4,80 $\pm$ 0,40c

a-c: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$)



Şekil 3. Yerel suş kullanımı x fermantasyon süresi interaksiyonunun ısıt işlem görmüş sucuğun pH değerlerine etkisi

(A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*)

Su Aktivitesi (a_w)

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıl işlem görmüş sucukta üretim süresince belirlenen su aktivitesi değerleri Tablo 22’de verilmiştir. Fermantasyon başlangıcında (0. Saat) 0,969 ile 0,974 arasında değişen a_w değeri 72 saatlik fermantasyon sonunda 0,936 ile 0,946 arasında değişim göstermiştir. Isıl işlem sırasında a_w değerinde hafif bir artış olmuştur. Kurutma sonunda ısıl işlem görmüş sucuk gruplarının a_w değeri 0,927 ile 0,935 arasında değişmiştir.

Tablo 22. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıl işlem görmüş sucukta üretim süresince belirlenen su aktivitesi değerleri

Grup	Blok	Fermantasyon				Isıl İşlem	Kurutma
		0 saat	24 saat	48 saat	72 saat		
A	1	0.972	0.963	0.952	0.936	0.945	0.927
	2	0.973	0.964	0.956	0.939	0.946	0.935
	3	0.970	0.963	0.954	0.944	0.948	0.931
B	1	0.973	0.964	0.944	0.934	0.939	0.923
	2	0.974	0.964	0.956	0.940	0.945	0.932
	3	0.970	0.964	0.950	0.942	0.945	0.932
C	1	0.973	0.964	0.944	0.939	0.942	0.930
	2	0.972	0.966	0.953	0.940	0.944	0.935
	3	0.969	0.964	0.945	0.939	0.942	0.933
D	1	0.973	0.962	0.948	0.938	0.940	0.929
	2	0.974	0.967	0.958	0.944	0.947	0.932
	3	0.971	0.964	0.966	0.942	0.945	0.933
E	1	0.971	0.960	0.949	0.935	0.935	0.925
	2	0.974	0.971	0.956	0.946	0.948	0.934
	3	0.971	0.965	0.956	0.942	0.944	0.929
F	1	0.973	0.960	0.947	0.937	0.945	0.928
	2	0.974	0.964	0.953	0.939	0.942	0.934
	3	0.972	0.961	0.948	0.936	0.944	0.934

A: Kontrol 1, B: Kontrol 2 + *S.aureus*, C: *L.plantarum* + *S.aureus*, D: *L.sakei* + *S.aureus*, E: *P.acidilactici* + *S.aureus*, F: *L.plantarum* + *L.sakei* + *P.acidilactici* + *S.aureus*

Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıl işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen a_w değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 23’de verilmiştir. Buna göre yerel suş kullanımı a_w değeri üzerinde $P<0,05$ düzeyinde etkili olmuştur. Fermantasyon süresi ise a_w değeri üzerinde $P<0,01$ düzeyinde etki göstermiştir. Bu iki faktöre ait interaksiyonun a_w değeri üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır ($P>0,05$) (Tablo 23).

Tablo 23. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucuklarda fermantasyon sırasında belirlenen a_w değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F
Yerel Suş Kullanımı (YS)	4	2,896E-005	3,268*
Fermantasyon Süresi (FS)	3	0,003	348,064**
Blok	2	0,000	13,272**
YS x FS	12	1,21E-0,05	1,265
Hata	38	8,862E-0,06	-
Genel	60	-	-

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

Deneme sucuklarının a_w değerlerine ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 24’de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere fermantasyon aşamasında gruplar arasındaki farklılıklar oldukça düşüktür. Bu aşamada tüm sucuk grupları 22°C’de %90±2 nispi nemde fermantasyona tabi tutulmuştur.

Tablo 24. Farklı yerel suşlar kullanılarak üretilen ısıt işlem görmüş sucukların a_w değerlerine ait ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P < 0,05$)

Grup (Suş)	n	a_w
B (Kontrol 2)	12	0,956 ± 0,014b
C (<i>L. plantarum</i> S91)	12	0,956 ± 0,014b
D (<i>L. sakei</i> S15)	12	0,959 ± 0,013a
E (<i>P. acidilactici</i> S147b)	12	0,958 ± 0,013ab
F (<i>L. plantarum</i> + <i>L. sakei</i> + <i>P. acidilactici</i>)	12	0,955 ± 0,014b

a-b: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P < 0,05$)

Isıt işlem görmüş sucuğun fermantasyon aşamasında belirlenen a_w değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 25’de verilmiştir. Fermantasyon süresi ilerledikçe fermantasyon kabiniinde %90 ± 2 nispi neme sahip olmasından dolayı kuruma da gerçekleşmiş, başlangıçta 0,972 olan ortalama a_w değeri 24, 48 ve 72 saatlik fermantasyondan sonra sırasıyla 0,964, 0,951 ve 0,939 olarak belirlenmiştir. Armutçu *et al.* (2020) tarafından ısıt işlem görmüş sucuk üzerinde yürütülen araştırmada sucuk hamurunda 0,967 olarak belirlenen ortalama a_w değeri 24 saatlik fermantasyondan sonra 0,957 olarak saptanmıştır. Mevcut bu araştırmada da benzer bir düşüş gözlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada fermantasyon süresi uzatılarak 72 saate çıkarılarak *S. aureus*’un gelişme durumuna starter kültürlerin etkileri ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Endüstride ısıt işlem görmüş sucukta fermantasyon süresi kullanılan sıcaklığa bağlı olarak 1 ile 2 gün arasında değişim göstermektedir. Fermente sosislerde pH, nitrit, redoks potansiyeli, rekabet edici flora gibi engel

etkenlerin arasında su aktivitesi de önemli bir yere sahiptir. *S.aureus* tuza ve nitrite dayanıklı bir mikroorganizma olmasına karşı aside oldukça hassastır. pH, a_w ile birlikte bu patojenin inhibisyonunda daha etkin bir rol oynayabilmektedir.

Tablo 25. Isıl işlem görmüş sucuğun fermentasyon aşamasında belirlenen a_w değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ($P<0,05$)

Fermentasyon Süresi (Saat)	n	a_w
0	15	$0,972 \pm 0,002a$
24	15	$0,964 \pm 0,003b$
48	15	$0,951 \pm 0,06c$
72	15	$0,939 \pm 0,03d$

a-d: Farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiki olarak birbirinden farklıdır ($P<0,05$)

Enterotoksin Oluşumu

S. aureus ve yerel laktik asit bakteri suşu inoküle edilmeden üretilen ısıl işlem görmüş sucuk grubunda her üç denemede de *S. aureus* sayısı saptanabilir sınırın altında bulunmuştur. A grubu hariç diğer gruplar (B, C, D, E ve F grubu) enterotoksin yönünden VIDAS yöntemi uygulanarak analiz edilmiştir. Fermente sosislerde *S.aureus*'un zehirlenmeye neden olabilecek düzeyde enterotoksin üretebilmesi için 10^5 ve 10^6 kob/g seviyelerine çoğalması gerektiği araştırmalar ile ortaya konulmuştur (Müller and Weber 1996). Bununla birlikte 10^7 kob/g seviyesinde dahi enterotoksinin saptanabilir sınırın altında olduğu rapor edilmiştir (Metaxopoulos *et al.* 1981b). Mevcut bu araştırmada da incelenen ısıl işlem görmüş sucuk örneklerinde enterotoksin tespit edilmemiştir.

SONUÇ

Araştırma, ülkemizde yaygın bir şekilde üretilen ve tüketilen bir fermente sosis çeşidi olan ısıt işlem görmüş sucukta fermantasyon aşamasında farklı yerel laktik asit bakteri suşlarının *S.aureus*'un gelişimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla kurulmuş ve yürütülmüştür. Araştırmada ısıt işlem uygulamasının *S.aureus*'un inaktivasyonuna etkisinin belirlenmesi de amaçlanmıştır. Belirtilen bu amaçlar doğrultusunda geleneksel sucuklardan izole edilen ve genotip olarak tanımlanan *L. plantarum* S91, *L. sakei* S15, *P. acidilactici* S147b suşları ile bu suşlardan oluşturulan karışık kültür kullanılarak ısıt işlem görmüş sucuk hamurları hazırlanmıştır. Starter kültür kullanılmadan da ısıt işlem görmüş sucuk hamurları hazırlanmıştır. Tüm muamale gruplarına ait ısıt işlem görmüş sucuk hamurları *S.aureus* ile 10^5 kob/g düzeyinde kontamine edilmiştir. Ayrıca *S.aureus* inoküle edilmeyen starter kültürsüz ısıt işlem görmüş sucuk hamurları da hazırlanmıştır. Isıt işlem görmüş sucuk hamurları dolumdan sonra 22°C'de üç gün süreyle fermantasyon işlemine ve müteakiben ısıt işlem ve kurutma işlemlerine tabi tutulmuştur. Isıt işlemde iç sıcaklık olarak 68°C esas alınmış, kurutma ise $18\pm1^\circ\text{C}$ 'de iki gün süreyle gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon aşamaları ile ısıt işlem ve kurutmadan sonra alınan örnekler mikrobiyolojik sayımların (*S. aureus*, laktik asit bakteri, *Micrococcus/Staphylococcus*, Enterobacteriaceae, maya ve küf) yanı sıra pH ve a_w analizlerine tabi tutulmuştur. Fermantasyon aşamasında elde edilen verilere istatistiki analizler uygulanmış ve sonuçlar tartışılmıştır. Isıt işlem ve kurutma aşamaları da belirtilen parametreler açısından değerlendirilmiştir. Bu tartışma ve değerlendirmelerden aşağıda verilen genel sonuç ve önerilere varılmıştır.

1. Isıt işlem görmüş sucukta starter kültür olarak kullanılan (*L. plantarum* S91, *L. sakei* S15 ve *P. acidilactici* S147b) suşlar ile bu suşlardan oluşan karışık kültür 22°C'de gerçekleştirilen fermantasyon süresince *S. aureus*'un gelişimini inhibe etmiştir. Ancak fermantasyon sırasında bu yerel kültürler önemli bir redüksiyona neden olmamıştır. Diğer taraftan starter kültür kullanılmayan ısıt işlem görmüş sucuk gruplarında 10^5 kob/g düzeyinde inoküle edilen *S. aureus* sayısında istatistiki açıdan önem arz eden bir artış gözlenmemiştir. Bu sonuçlara göre ısıt işlem görmüş sucukta fermantasyon aşamasında 22°C'lik başlangıç sıcaklığında ve % 0,4 sakkaroz varlığında yerel laktik asit bakteri suşları *S. aureus*'un gelişimini engelleyebilmektedir. Asitleşmenin yavaş olduğu kontrol 2 grubunda ise *S. aureus* sayısı artmaktadır. Mevcut bu araştırmada uygulanan fermantasyon sıcaklığından

daha yüksek bir fermentasyon sıcaklığı (25°C ve üzeri) uygulandığı takdirde bu gıda kaynaklı patojenin starter kültür kullanılmadan üretilecek ısıtılmış işlem görmüş sucuklarda fermentasyon aşamasında daha iyi bir gelişme göstereceği tahmin edilmektedir.

2. Isıtılmış işlem görmüş sucuk üretim prosesinde yer alan ısıtılmış işlem uygulaması *S. aureus* sayısında önemli bir reduksiyona neden olmuştur. Bu sonuç ısıtılmış işlem uygulamasının ürün güvenliğine önemli katkı sağladığının iyi bir göstergesidir. Endüstriyel uygulamalarda ısıtılmış işlemde 72°C gibi daha yüksek iç sıcaklık uygulamaları da söz konusu olmaktadır. Bu yüksek iç sıcaklıkların *S.aureus* sayısında 68°C'ye göre daha fazla reduksiyona sebep olacağı aşikardır. Ancak burada önemli olan husus ısıtılmış işlem görmüş ürünlerde iç sıcaklıktan ziyade sıcaklık-süre ilişkisini esas alan toplam letalitenin belirlenmesidir. Bu konuda da ısıtılmış işlem görmüş sucukta araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.
3. Araştırmada son üründe *S.aureus* sayısı tüm örneklerde saptanabilir seviyenin altında bulunmuştur. Isıtılmış işlem görmüş sucukta ısıtılmış işlem sonrası uygulanan kurutma derecesine bağlı olarak a_w değerinde düşüş olması ürün güvenliğine katkı sağlayacaktır.
4. Yerel suş kullanımı ısıtılmış işlem görmüş sucuğun laktik asit bakteri sayısı üzerinde çok önemli derecede etkili olmuştur. Kontrol grubu örnekler daha düşük ortalama laktik asit bakteri sayısı vermiştir. Fermentasyon sırasında ise süre ilerledikçe ortalama laktik asit bakteri sayısı artmıştır. Bununla birlikte kontrol grubunda 10^3 kob/g düzeyinde olan laktik asit bakteri sayısı 24, 48 ve 72 saat sonunda sırasıyla 10^5 , 10^6 ve 10^7 kob/g düzeyine erişmiştir. Ancak başlangıçta hem 24 saatte hem de 48 saatte arzu edilen asitleşme sağlanamamıştır. Denemeler arasında da başlangıç laktik asit bakteri sayısı ve muhtemelen çeşidinden dolayı asitleşme hızı ve derecesinde de farklılıklar gözlenmiş ve hatta ilk iki denemede başlangıç pH değerinden daha yüksek bir pH değeri ile karşılaşmıştır. Buna karşı yerel suş kullanılan gruplarda 10^7 kob/g seviyesinde olan laktik asit bakteri sayısı her üç denemede de 24 saat sonunda maksimum seviyeye ulaşmış ve daha sonra önemli değişimler gözlenmemiştir. Laktik asit bakteri sayısında ilk 24 saatteki artış ve dolayısıyla asitleşme ürün güvenliği açısından büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle laktik asit bakteri suşlarının standart ve güvenilir bir ürün elde etmek için 10^6 kob/g düzeyinde hamura ilave edilmesi ve bu suşların gelişimini sağlayacak formülasyon ve olgunlaştırma koşullarının da oluşturulması gerekmektedir.

5. Mikrokok ve stafilokoklar fermente ürünlerde teknolojik açıdan önem arz eden diğer bir mikroorganizma grubudur. Bu mikroorganizmalar nitrat redüktaz aktivitesi ile renk oluşumu, katalaz (+) aktivitesi ile oksidasyonun geciktirilmesi ve lipolitik ve proteolitik özellikleri ile aroma oluşumunda önemli rol oynamaktadır. *S. aureus* inoküle edilmeyen startersiz kontrol grubunda (A grubu) spontan olarak yer alan mikrokok ve stafilokoklar asitleşmenin olmaması veya yetersiz olmasından dolayı fermantasyon süresi ilerledikçe genellikle gelişme göstermiştir. Yerel suşlar içeren gruplarda ise pH değerindeki düşüşten dolayı fermantasyon süresince ortalama sayıda önemli bir değişim olmazken kontrol 2 grubunda (B grubu) fermantasyon süresi arttıkça *Micrococcus/Staphylococcus* sayısı artış göstermiştir.
6. *Micrococcus/Staphylococcus* sayısında ısıtma sırasında önemli bir redüksiyon sağlanmış ve sayı saptanabilir sınırın altına düşmüştür. Kurutma sırasında da yine sayı saptanabilir sınırın altında kalmıştır.
7. Deneme sucuklarının maya ve küf sayısı üzerinde yerel suş kullanımının önemli bir etkisi olmamıştır. Fermantasyonun ilk 24 saatinde maya ve küf sayısı artmış daha sonra ise düşüş göstermiştir. Maya ve küf sayısında da laktik asit bakteri sayısı ve *Micrococcus/Staphylococcus* sayısında olduğu gibi önemli redüksiyonlar gerçekleşmiş ve sayı belirlenebilir sınırın altına düşmüştür.
8. Isıl işlem görmüş sucukta kullanılan her üç suş ve bu suşlardan oluşturulan karışık kültür 22°C'lik fermantasyon sıcaklığında ilk 24 saat içerisinde pH'da önemli bir düşüşe neden olmuştur. Ancak ilk 24 saatteki pH düşüşünde özellikle *L.sakei* daha etkin bir rol oynamıştır. Fermantasyon sırasında pH düşüşü hem ürün güvenliği açısından hem de duyusal özelliklerin gelişmesi açısından büyük bir önem arz etmektedir. Starter kültür kullanılmadığında ilk 24 saatte pH değerinde az da olsa bir artış olmaktadır ki bu durum patojen bakterilerin gelişimi açısından son derece önemlidir. Bu nedenle starter kültürler asitleşmenin kontrolü açısından elzemdir.
9. Deneme sucuklarının a_w değeri fermantasyon sırasında düşüş göstermiş ve kurutma aşamasında da bu düşüş devam etmiştir. Kurutma sonunda ısıtma işlem görmüş sucuk gruplarının a_w değeri 0,927 ile 0,935 arasında değişmiştir.
10. Araştırmada başlangıçta sucuk hamurlarına 10^5 kob/g düzeyinde *S.aureus* ilavesinde dahi son üründe enterotoksin tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak yarı kuru bir fermente sosis çeşidi olan ısıtma işlem görmüş sucukta fermantasyon aşamasındaki asitleşme hızı ve derecesinin önemli gıda kaynaklı bir patojen olan *S. aureus*'un gelişiminin engellenmesi açısından önemli rol oynadığı, incelenen yerel suşlar arasında fermantasyonun ilk gününde *L. sakei* S15'in daha etkili olduğu, bu suşu *L. plantarum*

S91'in izlediği, starter kültür kullanılmadan üretilen ısıl işlem görmüş sucukta *S. aureus*'un 22°C'lik fermantasyon sıcaklığında dahi gelişebildiği, daha yüksek fermantasyon sıcaklıklarının bu gelişmeyi hızlandırabileceği, 68°C'lik iē sıcaklık uygulamasında hem *S. aureus* hem de laktik asit bakterileri ile mikrokok-stafilokoklarda önemli redksiyonların gerēekleřtiđi, 10⁶ kob/g *S.aureus* varlığında dahi son ürünün enterotoksin aēısından risk arz etmediği ve ürün güvenliği aēısından endüstriyel üretimde starter kültürlerin kullanılması gerektiği kanaatine varılmıştır.



KAYNAKLAR

- Akkaya, L., Gök, V., Kara, R. and Yaman, H., 2014. Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* (A, B, C, D) during the ripening of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Journal of Food*, 12(2), 127- 133.
- Ananou, S., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M., Galvez, A. and Valdivia, E., 2005. Control of *Staphylococcus aureus* in sausages by enterocin AS-48. *Meat Science*, 71(2005), 549-556.
- Armutçu, Ü., Hazar, F.Y., Yılmaz Oral, Z.F., Kaban, G. and Kaya, M., 2020. Effects of different internal temperature applications on quality properties of heat-treated sucuk during production. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44 (6), 1-8.
- Atanassova, V., Meindl, A. and Ring, C., 2001. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 68, 105-113.
- Bang, W., Hanson, D.J. and Drake, M.A., 2008. Effect of salt and sodium nitrite on growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* during the production of air-dried fresh pork sausages. *Journal of Food Protection*, 71 (1), 191-195.
- Barber, L.E. and Deibel, R.H., 1972. Effect of pH and oxygen tension on staphylococcal growth and enterotoxin formation in fermented sausage. *Applied and Environmental Microbiology*, 24 (6), 891-898.
- Baumgart, J., Eigener, V., Firnhaber, J., Hildebrandt, G., Reenen Hoekstra, E.S., Samson, R.A., Spicher, G., Timm, F., Yarrow, D. and Zschaler, R., 1993. *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln*, (3., aktualisierte und erw. Aufl.), Hamburg, Germany.
- Bhatia, A. and Zahoor, S., 2007. *Staphylococcus aureus* Enterotoxins: A Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 3, 188-197.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G.G., 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131-149.
- Cebirbay, M.A., 2014. Fermente ve Isıl İşlem Uygulanmış Sucuklarda Bazı *Lactobacillus* ve Patojen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya.
- Chokesajjawatee, N., Ponaem, S., Zo, Y.G., Kamdee, S., Luxananil, P., Wanasen, S. and Valyasevi, R., 2009. Incidence of *Staphylococcus aureus* and associated risk factors in Nham, a Thai fermented pork product. *Food Microbiology*, 26, 547-551.
- Çakır, M.A., Kaya, M. and Kaban, G., 2013. Effect of heat treatment on the volatile compound profile and other qualitative properties of sucuk. *Fleischwirtschaft International*, 5, 69-74.
- Çanakçı Adıgüzel, G. and Atasever, M., 2009. Phenotypic and Genotypic Characterization of lactic acid bacteria isolated from Turkish dry fermented sausage. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(1), 4130-4138.
- Çon, A. H. and Gökalp, H.Y., 2000. Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. *Meat Science*, 55(1), 89–96.

- Çon, A.H., Doğu, M. ve Gökalp, H.Y., 2002. Afyon'da Büyük Kapasiteli Et İşletmelerinde Üretilen Sucuk Örneklerinin Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Periyodik Olarak Belirlenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 26 (1), 11-16.
- Dalmış, U. 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(2), 345-354.
- De Vos P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. and Whitman, W.B., 2009. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2 nd ed), Springer, New York, 392-421.
- Dos Santos Cruxen, C.E., Funck, G.D., Haubert, L., Da Silva Dannenberg, G., De Lima Marques, J., Chaves, F.C., Da Silva, W.P. and Fiorentini, A.M., 2019. Selection of native bacterial starter culture in the production of fermented meat sausages: Application potential, safety aspects, and emerging technologies. Food Research International, 122, 371-382.
- Ercoşkun, H., Tağı, Ş. and Ertaş, A. H., 2010. The effect of different fermentation intervals on the quality characteristics of heat-treated and traditional sucuks. Meat Science, 85(1), 174–181.
- Erkmen, O., 2009. Survival of *Staphylococcus aureus* and aerobic bacteria in sucuks made from starter culture and *Thymbra spicata* during manufacturing and storage. Food and Bioproducts Processing, 87 (2009), 62-67.
- Erol, İ., 2007. *Staphylococcus aureus*. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık, Ankara, 135-144.
- Erol, İ., and Hildebrandt, G., 1992. Einfluß von Starterkulturen auf das Wachstum pathogener Keime in türkischer Rohwurst. Fleischwirtsch., 72(1), 90–97.
- Ferreira, V., Barbosa, J., Vendeiro, S., Mota, A., Silva, F., Monteiro, M.J., Hogg, T., Gibbs, P. and Teixeira, P. (2006). Chemical and Microbiological Characterization of Alheira: A Typical Portuguese Fermented Sausage with Particular Reference to Factors Relating to Food Safety. Meat Science, 73(2006), 570-575.
- Gao, Z., Banan-Mwine Daliri, E., Wang, J., Liu, D., Chen, S., Ye, X. and Ding, T., 2019. Inhibitory effect of lactic acid bacteria on foodborne pathogens: A review. Journal of Food Protection, 82(3), 441- 453.
- Garcia Diez, J. and Patarata, L., 2013. Behavior of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* in Chourico de Vinho, a Dry Fermented Sausage Made from Wine-Marinaded Meat. Journal of Food Protection, 76 (4), 588-594.
- Gonzales-Fandos, M.E., Sierra, M., Garcia-Lopez, M.L., Otero, A. and Sanz, J., 1996. Effect of the major herbs and spices in Spanish fermented sausages on *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria. Archiv für Lebensmittelhygiene, 47 (2), 43-47.
- Gonzalez-Fandos, M.E., Sierra, M., Garcia-Lopez, M.L., Garcia Fernandez, M.C., and Otero, A., 1999. The influence of manufacturing and drying conditions on the survival and toxinogenesis of *Staphylococcus aureus* in two spanish dry sausages (chorizo and salchichon). Meat Science, 52 (4), 411–419.
- Gökalp, H.Y., Kaya, M. ve Zorba, Ö., 2012. Et ürünleri işleme mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Yayın No:786, Ziraat Fakültesi Yayın No:320, Ders Kitapları Serisi, No: 70, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum.

- Gökalp, H.Y., Kaya, M., Tülek Y. ve Zorba, Ö., 2010. Et ve ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu. Atatürk Üniv. Yayın No:751, Ziraat Fak. Yayın No:318, Ders Kitapları Serisi, No: 69, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum.
- Gökalp, H.Y., Yetim, H., Kaya M. and Ockerman, H.W., 1988. Saprophytic and pathogenic bacteria levels in Turkish soudjouks manufactured in Erzurum, Turkey. *Journal of Food Protection*, 51 (2), 121-125.
- Gunvig, A., Andresen, M.S., Jacobsen, T. and Borggaard, C., 2018. Staphtox predictor - A dynamic mathematical model to predict formation of *Staphylococcus* enterotoxin during heating and fermentation of meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 285, 81-91.
- Gürakan, G., Bozoglu, T. and Weiss, N. (1995). Identification of *Lactobacillus* strains from Turkish-style dry fermented sausages. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 139–144.
- Gürbüz, S. and Çelikel Güngör, A., 2020. Determination of some foodborne pathogens and residual nitrate and nitrite in traditional fermented sausages in Turkey. *International Food Research Journal*, 27 (1), 39-46.
- Hampikyan, H., 2009. Efficacy of Nisin against *Staphylococcus aureus* in experimentally contaminated sucuk, a Turkish-Type Fermented Sausage. *Journal of Food Protection*, 72 (8), 1739-1743.
- İşeri, Ö. ve Erol, İ., 2009. Hindi etinden kaynaklanan başlıca bakteriyel infeksiyon ve intoksikasyonlar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 56, 47-54.
- Kaban, G. and Bayrak, D., 2015. The Effects of Using Turkey Meat on Qualitative Properties of Heat Treated Sucuk. *Czech Journal Food Science*, 33 (4), 377-383.
- Kaban, G. and Kaya M., 2008. Identification of Lactic Acid Bacteria and Gram-Positive Catalase-Positive Cocci Isolated from Naturally Fermented Sausage (Sucuk). *Food Microbiology and Safety*, 73(8), 385-388.
- Kaban, G. and Kaya, M., 2009. Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* on the quality characteristics of dry fermented sausage ‘Sucuk’, *Journal of Food Science*, 74(1), S58-S63.
- Kaban, G., 2004. Sucuk üretiminde starter kültür kullanımının *Staphylococcus aureus*’un gelişimi üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kaban, G., Aksu, M.İ. and Kaya, M., 2008. Effect of *Urtica Dioica* L. on the growth of *Staphylococcus aureus* in traditional dry fermented sausage (“Sucuk”). *Journal of Muscle Foods*. 19, 399-409.
- Kaban, G., Aksu, M.İ. and Kaya, M., 2007. Behavior of *Staphylococcus aureus* in Sucuk with Nettle (*Urtica Dioica* L.). *Journal of Food Safety*, 27, 400-410.
- Kaban, G., and Kaya, M., 2006. Effect of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk. *Food Control* 17,797.801.
- Kaban, G., Kaya, M. and Lücke, F.K., 2010. The Effect of *Lactobacillus sakei* on the behavior of *Listeria monocytogenes* on sliced Bologna-type sausages. *Journal of Food Safety*, 30, 889-901.
- Kaban, G., Kaya, M. and Lücke, F.K., 2012. Meat starter cultures. In: *Encyclopedia of Biotechnology in Agriculture and Food*, pp.1-4. Taylor&Francis, UK.

- Kadariya, J., Smith, T.C. and Thapaliya, D., 2014. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food-borne disease: An Ongoing Challenge in Public Health. BioMed Research International, 827965, 1-9.
- Kamenik, J., 2017. Hurdle Technologies in Fermented Meat Production. In: Fermented Meat Products, Ed. N. Zdolec, CRC Press, 95-126.
- Kamiloğlu, A., Kaban, G. and Kaya M., 2019. Effects of autochthonous *Lactobacillus plantarum* strains on *Listeria monocytogenes* in sucuk during ripening. Journal of Food Safety, 39, 1-6.
- Kaya, M. ve Kaban, M., 2019. Fermente Et Ürünleri. Gıda Biyoteknolojisi. Editör Necla ARAN, ss.157- 195, 7. Basım, ISBN: 978-605-133-134-8, Nobel Yayıncılık, İstanbul.
- Kök, F., Özbey, G. ve Muz, A., 2007. Aydın İlinde Satışa Sunulan Fermente Sucukların Mikrobiyolojik Kalitelerinin İncelenmesi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 21 (6), 249-252.
- Lee, I.C., Harmon, L.G., and Price, J.F., 1977. Growth and enterotoxin production by staphylococci in genoa salami. Journal of Food Protection, 40, 325–329.
- Leistner, L., 1985. Allgemeines über Rohwurst und Rohschinken. In: Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst und Rohschinken. Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, 1-29, Germany.
- Loir, Y.L., Baron, F. and Gautier, M., 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genetics and Molecular Research, 2(1), 7-28.
- Lücke F.K. and Troeger, K., 1998. Fleischhygiene: Mikrobiologische Risiken. In: Fleisch und Fleischwaren. Deutscher Fachverlag, Frankfurt, 439-495.
- Lücke, F.K., 1985. Mikrobiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken. In: Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst und Rohschinken. Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, 85-102, Germany.
- Lücke, F.K., 1994. Fermented meat product. Food Research International, 27 (1994), 299-307.
- Lücke, F.K., 1998. Fermented sausage. Microbiology of Fermented Foods. Ed: Wood, B.J.B. Blackie Academic and Professional, London, 441-483.
- Lücke, F.K., 2000a. Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Science, 56, 105-115.
- Lücke, F.K., 2000b. Fermented meats. pp. 420-444. In: B.M. Lund, A.C. BairdParker and G.W. Gould (eds.). The microbiological safety and quality of food. Aspen Publ., Gaithersburg.
- Marcy, J., Kraft, A., Olson, D., Walker, H. and Hotchkiss, D., 1985. Fate of *Staphylococcus aureus* in reduced sodium fermented sausage. Journal of Food Science, 2 (50), 316-320.
- Messier, S., Söith H.J. and Tittiger, F., 1989. Survival of *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus* in Genoa Salami of Varying Salt Concentration. Canadian Journal of Veterinary Research, 53(1), 84-86.
- Metaxopoulos, J., Genigeorgis, C., Fanelli, M.J., Franti, C., and Cosma, E., 1981a. Production of Italian dry salami. I. Initiation of Staphylococcal growth in salami under commercial manufacturing conditions. Journal of Food Protection, 44 (5), 347–352.
- Metaxopoulos, J., Genigeorgis, C., Fanelli, M.J., Franti, C., and Cosma, E., 1981b. Production of Italian dry salami. Effect of Starter Culture and Chemical Acidulation on Staphylococcal Growth in Salami Under Commercial Manufacturing conditions. Applied and Environmental Microbiology, 42(5), 863-871.

- Müller, G. and Weber, H., 1996. Mikrobiologie der Lebensmittel, 8. Auflage, Behr's Verlag, Hamburg.
- Niskanen, A., and Nurmi, E., 1976. Effect of starter culture on staphylococcal enterotoxin and thermonuclease production in dry sausage. *Applied and Environmental Microbiology*, 31 (1), 11– 20.
- Ockerman, H.W. and Basu, L., 2017. Current Status of Fermented Meat Production. *Fermented Meat Products*, Ed. N. Zdolec, CRC Press. 196-227.
- Öksüztepe, G., Güran, H.Ş., İncili, G.K. ve Gül, S.B., 2011. Elazığ'da Tüketime Sunulan Fermente Sucukların Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 25 (3), 107- 114.
- Paramithiotis, S. and Drosinos, E.H., 2017. Foodborne Pathogens of Fermented Meat Products. *Fermented Meat Products*, Ed. N. Zdolec, CRC Press. 196-227
- Raccach, M., 1981. Control of *Staphylococcus aureus* in Dry Sausage by a Newly Developed Meat Starter Culture and Phenolic-Type Antioxidants. *Journal of Food Protection*, 44 (9), 665-669.
- Rajkovic, A., Tomasevic, I., De Meulenaer, B. and Devlieghere, F., 2017. The effect of pulsed UV light on *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin a on sliced fermented salami and its chemical quality. *Food Control*, 73(2017), 829-837.
- Sameshima, T., Magome, C., Takeshita, K., Arihara, K., Itoh, M. and Kondo, Y., 1998. Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. *International Journal of Food Microbiology*, 41 (1998), 1-7.
- Sancak, Y.C., Kayaardı, S., Sağun, E., İşleyici, Ö. ve Sancak, H., 1996. Van Piyasasında Tüketime Sunulan Fermente Türk Sucuklarının Fiziksel, Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Organoleptik Niteliklerinin İncelenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7 (1-2), 67-73.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Cohn, M.T., Lindqvist, R., Barker, G.C. and Radström, P., 2011. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence* 2, 580–592.
- Skandamis, P. and Nychas, G.J.E., 2007. Pathogens:Risk and Control. In:*Fermented Meat and Poultry*, Ed:Toldra, F., USA, 427-454.
- Smith, J.L. and Palumbo, S.A., 1978. Injury to *Staphylococcus aureus* During Sausage Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 36 (6), 857-860.
- Tatini, S.R., Lee, R.Y., McCall, W.A., and Hill, W.M., 1976. Growth of *Staphylococcus aureus* and production of enterotoxins in pepperoni. *Journal of Food Science*, 41 (2), 223–225.
- Tayar, M. 1989. Yerli sucuklarımızın pastörize olarak üretilmeleri üzerine bir araştırma. *Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi*, Bursa.
- Titouche, Y., Houali, K., Ruiz-Ripa, L., Vingadassalon, N., Nia, Y., Fatihi, A., Cauquil, A., Bouchez, P., Bouhier, L., Torres, C. and Hennekinne, J.A., 2020. Enterotoxin genes and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from food products in Algeria. *Journal of Applied Microbiology*, 129, 1043-1052.
- Toptancı, İ. and Ercoşkun, H., 2017. Physicochemical and microbiological properties of sucuk produced with different heat treatment temperatures. *Academic Food Journal*, 15(4), 344-349.

- Torres-Vitela, M.R., Navarro, V.M., Lopez, A.V. and De los Angeles Olea Rodriguez, M., 2011. Prevalence of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in chorizo and longaniza. *Nacameh*, 5 (1), 96-107.
- Turantaş, F., 1991. The effect of usage Glucono-Delta-lacton, saccharose, nitrite, garlic and starter culture on the survival of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Typhimurium in Turkish soudjouk. PhD Thesis, (Turkish). Ege Univ. Graduate Institute of Science. İzmir, Turkey.
- Wood, B.J., 2012. Microbiology of Fermented Foods. Springer Science & Business Media, 852s, London.
- Yalçın, H., ve Can, Ö.P., 2013. Geleneksel Yöntemle Üretilen Sucuklarda *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve Koliform Varlığının Araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19 (4), 705-708.
- Yılmaz Oral, Z.F. and Kaban, G., 2021. Effects of autochthonous strains on volatile compounds and technological properties of heat-treated sucuk. *Food Bioscience*, 101140, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101140>.
- Yörük, N.G., 2012. ISO Gıda Güvenliği Sistemini Uygulayan Et Ürünleri İşletmelerinde Üretilen Sucuk, Salam, Sosis ve Hamburger Köftenin Gıda Patojenleri Yönünden Kontrolü. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Yağmur AKYOL
Doğum tarihi	:
Doğum Yeri	:
Uyruğu	:
Adres	:
Tel	:
E-mail	:
Eğitim	
Lise	: Erzurum Mecidiye Anadolu Lisesi
Lisans	: Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Yüksek lisans	: Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2020-...)
Doktora	:
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	: Orta
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
TMMOB Gıda Mühendisleri Odası	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	