

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN ELDE EDİLEN
SUCUKLARIN MİKROBİYOLOJİK
OLARAK İNCELENMESİ

Emine SARPKAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBZE
2000

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN ELDE EDİLEN
SUCUKLARIN MİKROBİYOLOJİK
OLARAK İNCELENMESİ

Emine SARPKAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. İ. Yavuz SEZEN

GEBZE
2000

ÖZET

Türklere özgü olan sucukların mikrobiyolojisinin araştırıldığı bu çalışmada, çeşitli kaynaklardan elde edilen 50 adet sucuk numunesinde *Escherichia coli*, *Salmonella ssp.*, *Staphylococcus aureus*, **Fekal koliform** ve **Sülfid indirgeyen anaerob bakteriler**'in varlığı araştırıldı. Araştırmada Türk Standartları Enstitüsü'nün TS 1070, TS 6405, TS 7438 numaralı standartları esas alınmıştır.

Bu mikroorganizmalara ilişkin deneyler Özlem Et Fabrikası laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre 50 adet numunede **Fekal koliform** negatif, *Escherichia coli* negatif, *Salmonella ssp.* negatif, *Staphylococcus aureus* %12, Sülfid indirgeyen anaerob bakteri %6 olarak tespit edildi.

SUMMARY

In this research the microbiology of sausages that are special to Turks have been studied and in 50 sausage samples, which are from various sources, the existence of *Escherichia coli*, *Salmonella ssp*, *Staphylococcus aureus*, **Fecal coliform** and **Sulphyte reducing anaerob bacterias** have been investigated. In this research the standarts of Turkish Standarts Institute (TS 1070, TS 6405, TS 7438) were taken in consideration.

The tests for that microorganisms are made at Özlem Meat Plant's laboratories.

According to the research results it is determined that in 50 samples **Fecal coliform** was negative, *Escherichia coli* was negative, *Salmonella ssp.* was negative *Staphylococcus aureus* was 12%, **Sulphyte reducing anaerob bacterias** was 6%.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın tüm aşamalarında karşılaştığım zorluklarda maddi ve manevi desteklerini eksik etmeyen, her zaman yanımda olduğuna inandığım sevgili hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. İ. Yavuz SEZEN'e ve Fen Fakültesindeki bütün hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın deneysel kısmını gerçekleştirdiğim ÖZLEM ET Fabrikası Satın Alma Müdürü Veteriner Hekim Ahmet YÜCESAN Bey'e, Laboratuvar Şefi Veteriner Hekim Aygül DANDİN ve tüm fabrika çalışanlarına yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Sıkıntılı günlerimde bana destek olan arkadaşlarım Mehmet TUNÇ, Mine ŞEKER, Özlem ARDAHANLI'ya içten duygularıyla teşekkür ederim.

Tezimi tamamlamam konusunda maddi ve manevi yardımını esirgemeyen eşime, anneme, babama ve tüm aileme teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	IV
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
ÇİZELGELER DİZİNİ	XI
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Sucuk Üretim Teknolojisi ve Starter Kültürler	3
2.2. Sucukların Genel Özellikleri	7
2.3. Sucukların Sınıf Özellikleri	8
2.4. Mikrobiyolojik Özellikler	9
3. MATERYAL VE METOD	13
3.1. Materyal	13
3.1.1. Materyalin Eldesi	13
3.1.2. Çalışmada İncelenen Patojen Mikroorganizmalar	13
3.1.2.1. Fekal Koliformlar	13
3.1.2.2. <i>Escherichia coli</i>	14
3.1.2.3. <i>Salmonella ssp</i>	15
3.1.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
3.1.2.5. Silfit İndirgeyen Anaerob Bakteriler	16
3.2. Metod	17
3.2.1. <i>Escherichia coli</i> Tespit Talimatı	17
3.2.1.1. TBX Medium CM 945 Kullanım Metodu	17
3.2.2. Sülfid İndirgeyen Anaerob Bakteri Sayımı	18
3.2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	18
3.2.2.2. Besiyerlerinin Hazırlanması	18
3.2.2.3. Uygulama	19

3.2.2.4. Spor Boyama Tekniği	20
3.2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> Tespit Talimatı	20
3.2.3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	20
3.2.3.2. Besiyerlerinin Hazırlanması	21
3.2.3.3. Uygulama	21
3.2.3.4. Koagülaz Tetleri	23
3.2.4. Salmonella Analiz Talimatı	24
3.2.4.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	24
3.2.4.2. Besiyerlerinin Hazırlanması	24
3.2.4.3. Uygulama	26
3.2.5. Fekal Koliform Tespit Talimatı	27
3.2.5.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	27
3.2.5.2. Besiyerlerinin Hazırlanması	27
3.2.5.3. Uygulama	27
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	33
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µm	Mikrometre
TS	Türk Standartları Enstitüsü
EMS	En Muhtemel Sayı
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidroksit fosfat
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
NaOH	Sodyum Hidroksit
TGB	Thioglycollate Broth
KOH	Potasyum Hidroksit
BPA	Baird Parker Agar
APHA	American Public Health Association
LB	Laktoz Broth
SCB	Selenite Cystine Broth
BGA	Brillant Green Agar
TSI	Triple Sugar Iron Agar
LSTB	Lauryl Sulfate Tryptose Broth
EC	Escherichia coli Broth
BGLB	Brillant Green Lactose Broth
FAO	The Food and Agriculture Organization
FDA	United States Food and Drug Administration
MUG	4-methylenebelliferyl-β-D-glucuronide
(-)	Üreme Yok
(+)	Üreme Var
k.s.	Koloni sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Sucuk Üretim İşlem Akım Şeması	4

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
2.1. Sucuk Hazırlamada Kullanılan Starter Kültür Mikroorganizmaları	6
2.2. Sucuğun Kimyevi , Serolojik ve Toksikolojik Özellikleri	7
2.3. Sucukların Sınıf Özellikleri	8
2.4. Sucuğun Mikrobiyolojik Özellikleri	9
4.1. İncelenen Numunelerin Analiz Raporu ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	30

1.GİRİŞ

Mikrobiyoloji mikroorganizmaların incelendiği bir bilim dalıdır. Mikroorganizmalar mikroskobik canlılar olup doğada yaygın olarak bulunurlar. Sterilize edilmedikçe her gıda maddesi belli sayıda mikroorganizma içermekte ve içerdikleri besin elementleri mikrobiyal gelişmeyi teşvik ederek kolaylıkla bozulmalarına neden olmaktadır. Gıda bozulmalarında en önemli etkenin mikroorganizmalar olduğu belirtilmektedir. Öte yandan mikroorganizmaların doğada çok yararlı rolleri de bulunmaktadır. Çeşitli kompleks organik maddelerin parçalanmasında rol oynayarak toprağa tekrar besin elementi olarak dönüşümünü sağladıkları gibi ekmek, yoğurt, peynir vb. çeşitli fermente gıdalar eldesinde kullanılarak gerek gıda muhafazasında gerekse besin değeri yüksek ürünler elde edilmesinde mikroorganizmalardan yararlanılmaktadır.

Mikroorganizmaların bazı etkileri ve kullanım alanları konusunda asırlardır çeşitli bilgiler olmasına rağmen ilk olarak 1675 yılında van Leewenhoek'un mikroskobu keşfiyle mikroorganizmalar görülebilmüş ve üzerlerinde çalışılmaya başlanmıştır. Yaklaşık 200 yıl sonra Louis Pasteur fermentasyon prosesi üzerinde çalışarak şaraplarda istenmeyen tadların oluşumunda mikroorganizmaların rolleri olduğunu kanıtlamış ve ısıtma işlem uygulamasının arzu edilmeyen mikroorganizmaların öldürülmesinde etkili olduğunu saptamıştır. Pastörizasyon olarak adlandırılan bu uygulama günümüzde de geçerliliğini korumaktadır. Aynı dönemlerde Robert Koch'un çalışmalarının da mikrobiyoloji bilimine büyük katkıları olmuş ve çalışmalar günümüze kadar hızlı bir gelişme takip etmeye başlamıştır (Gaman and Sherrington, 1981).

Etler ve et ürünleri ile su ürünleri mikroorganizmaların gelişip çoğalmaları için uygun ortamlardır. Bu tür gıdalar, yüksek nem içerikleri, azotlu besin öğeleri, mineral ve diğer gelişme faktörlerince zengin olmalarının yanında belirli oranda fermente olabilir karbonhidrat (glikojen) içermeleri ve pH değerlerinin bir çok mikroorganizmanın gelişmesine elverişli olması nedeniyle mikrobiyal gelişme sonucu kolayca bozulma niteliği taşımaktadırlar.

Et ve et ürünlerinde mikroflora; gıda bozulmaları, gıda kaynaklı hastalık ve zehirlenmeler ile çeşitli gıda maddelerinin (sucuk, pastırma v.b.) üretimi olmak üzere üç yönden önem taşır. Gıda kaynaklı enfeksiyon ve entoksikasyonlarda et ve su ürünlerinin ilk sırayı aldıkları belirlenmiştir.

Normal koşullarda, sağlıklı bir etin iç dokularında pek az veya hiç mikroorganizma bulunmamalıdır. Ancak etler kesim, yüzme, parçalama, taşıma ve depolama sırasında önemli ölçüde dış kaynaklı mikrobiyal kontaminasyona maruz kalırlar. İşleme, paketlenme, nakliye, depolama ve satış kontrolleri gıda güvenliğinde önemli rol oynar. Özetle mikrobiyolojik kontroller; sağlık, kalite ekonomik yararlar bakımından bir sigorta güvencesi taşır (Alperden, 1993).

Sterilize edilmedikçe ve steril ambalaj materyali içinde muhafaza edilmedikçe gıdalar çeşitli faktörlere bağlı olarak değişen sayı ve cinslerde mikroorganizma içermekte; hasat aşamasından itibaren her üretim basamağında mikrobiyal kontaminasyona maruz kalmaktadırlar. Kontaminasyon etkeni mikroorganizmalar gıda bozulmalarına, gıda zehirlenmelerine (intoksikasyon) ve gıda kaynaklı hastalıklara (enfeksiyon) neden olmakta, sonuçta önemli ekonomik kayıplar ve sağlık sorunları ortaya çıkmaktadır (Snyder, 1986; 1993).

Sucuk, resmi veya özel kombina ve mezbahalarda kesilen sağlıklı kasaplık hayvan gövde etleri (TS 666-673) ve/veya manda etlerinden hazırlanan sucuk hamurunun, doğal veya yapay kılıflara doldurulması ve bir süre bekletilerek olgunlaştırılmasıyla elde edilen et ürünüdür (TS 1070-1983).

Sucuk üretiminde kullanılan hammaddenin seçiminde önemli olan kriterlere pek önem verilmemesi uygulanan reçeteye göre olgunlaşma şartlarının seçilmemesi kusurların meydana gelmesinde en önemli faktörleri oluşturmaktadır (Gökalp ve ark.,1994). Bu çalışmada *Escherichia coli*, *Salmonella ssp.*, *Staphylococcus aureus*, **Fekal koliform**, **Sülfid indirgeyen anaerob bakteriler** 'in sucuk içersinde olup olmadığı in vitro olarak araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Araştırmamızda incelenen mikroorganizmalar ve sucuklar ile yakından ilgili olan kaynak bilgileri aşağıda özetlenmiştir.

2.1. Sucuk Üretim Teknolojisi ve Starter Kültürler

Sucuk, biz Türklere özgü bir üründür (Gökalp ve ark. 1994).

Sucuk hamuru; etlerin, et ve yağdan başka diğer unsurlarından ayıklandıktan ve çeşitli iriliklerde doğranıp içine yöresel alışkanlıklara göre aroma, kıvam ve lezzet verici maddeler ve bu standartta izin verilen diğer katkı maddelerinden uygun bulunanları katılarak meydana gelen harmanın, gerektiğinde gövde ve kuyruk yağı konulduktan sonra, kısılması ile elde edilen karışımdır.

Kılıf, içine sucuk hamuru doldurulan ve sucuğun rutubet kaybı ile belirli biçim almasına yarayan doğal veya yapay maddelerdir. Doğal kılıf, usulüne göre hazırlanmış, havada kurutulmuş, kullanılmadan önce yumuşatılmış sığır ince bağırsağıdır (TS 208). Yapay kılıf, gıda maddeleri ile ilgili tüzükte kullanılmasına izin verilen plastik, dokuma maddeleri ve organik menşeli elyaftan yapılan maddelerdir.

Katkı maddeleri, tuz (TS 933), kırmızı biber (TS 2419), karabiber (TS 2290), kimyon (TS 2622), sarımsak (TS 1131), yenibahar (TS 2624) ve benzeri maddelerle potasyum ve sodyum nitrat, ve/veya nitrit askorbid asit, sodyum askorbat, sodyum polifosfat, sodyum glutamat, glukona delta lakton, sakkaroz (TS 861) ve starter kültürlerdir.

Sucuklar sınıf özelliklerine göre;

-Birinci,

-İkinci,

-Üçüncü

olmak üzere üç sınıftır.

İhtiva ettiği yağ oranına göre;

-Normal yağlı,

-Çok yağlı

olmak üzere iki tiptir.

Şekline göre;

-Kangal,

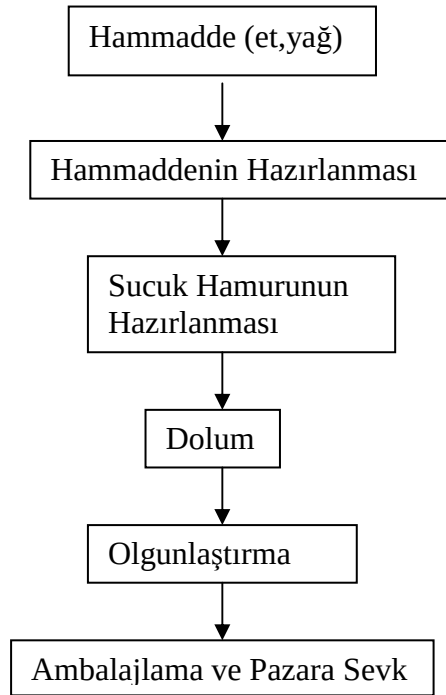
-Çubuk (Baton),

-Parmak,

-Dilim

olmak üzere dört çeşittir.

Sucuk üretimi, et ürünleri üretim teknikleri içerisinde en kritik ve zor olanlarından biridir. Üretim oldukça teknolojik bilgi birikimi, uygun işletme şartları ve tecrübe gerektirmektedir. Şekil 2.1’de sucuk üretim proses aşamaları şematik olarak verilmiştir (Gökalp ve ark., 1994).



Şekil 2.1. Sucuk Üretim İşlem Akım Şeması

Üretim teknolojilerinde mikrobiyal olgunlaşma dönemi bulunan et ürünleri (sucuk, pastırma, jambon v.b.) ile mikrobiyal etkilerle olgunlaşan balık ürünleri (lakerda, tuzlu balık, diğer salamura balık çeşitleri) için starter kültürler büyük önem taşırlar. Ticari olarak pek çok çeşitleri bulunan starter kültürler, ürünlerde dış görünüm ve tekstür düzenleme, aroma yükseltme etkilerinin yanı sıra gıdaların raf ömürlerini de uzatmaktadır (Demayer et al., 1984).

Starter kültürlerde aranan en önemli özellik bunların insan sağlığına karşı herhangi zararlı bir etkiye sahip olmamasıdır. Enfeksiyonlara neden olmamalı ve zehirli maddeler kesinlikle oluşturmamalıdır. Diğer önemli bir özellik ise, fonksiyonlarını, ürünün doğal mikroflorasına göre daha hızlı ve daha güvenilir bir şekilde yapmasıdır. Bu sırada, ürünün kalitesine olumsuz yönde etkileri olmamalıdır. Ancak bu özellikleri olan mikroorganizma suşları kullanıldığı takdirde, starter kültür kullanımı anlam kazanır (Gökalp ve ark., 1994).

Sucuklar ve diğer fermente et ürünlerine arzu edilen özellikler belli bazı mikroorganizmaların iştirakiyle, fermentasyonla kazandırılır. Sucuk başta olmak üzere fermente et ürünlerinin olgunlaştırılmasında fermentasyonu düzenlemek ve hızlandırmak, üstün ve standart kaliteli ürünler elde etmek için starter kültürler kullanılmaktadır. Liste 2.1’de sucuğun hazırlanmasında kullanılan starter kültür mikroorganizmaları verilmiştir (Coretti, 1977; Liepe, 1983).

Çizelge 2.1. Sucuk Hazırlanmasında Kullanılan Starter Kültür Mikroorganizmaları

ÜRÜN	MİKROORGANİZMA	FONKSİYON
Sucuk	Laktik asit bakterileri:	
	<i>Pediococcus acidilactici</i>	Lezzet, aroma düzeltici ve
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	pH düşürücü (etki:kesit
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	çıkarma imkanı,dayanıklılık,
	<i>Lactobacillus sake</i>	hijyen rizikosunun
	<i>Lactobacillus curvatus</i>	azalması, renk geliştirilmesi)
	Micrococcaceae:	
	<i>Micrococcus varians</i>	Aroma, renk, nitrat
	<i>Staphylococcus carnosus</i>	redüksiyonu
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
	Mayalar:	
	<i>Debaromyces hansenii</i>	Aroma
	Resp. <i>Candida farnitata</i>	
	Streptomycetler:	
	<i>Streptomyces griseus</i>	Aroma
	Küfler:	
	<i>Penicillium nalgiovense</i>	Mikotoksin rizikosunun
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	azaltılması ve aroma yükseltilmesi

2.2. Sucukların Genel Özellikleri

Sucuğun kimyevi, serolojik ve toksikolojik özellikleri Çizelge 2.2'deki gibidir.

Çizelge 2.2. Sucuğun Kimyevi, Serolojik ve Toksikolojik Özellikleri

ÖZELLİKLER	DEĞERLER
Su miktarı, %(m/m) en çok	40
Tuz % (m/m) en çok	5
Sodyum Nitrat veya Potasyum Nitrat mg/kg , en çok	Katılması kabul edilen değeri aşmamalıdır. ⁽¹⁾
Sodyum Nitrit veya Potasyum Nitrit mg/kg , en çok	Katılması kabul edilen değeri aşmamalıdır. ⁽²⁾
Boyar madde	Bulunmamalı
pH	5.4 ile 5.8 arasında olmalı
Kokuşma Deneyi	Negatif sonuç vermeli
Hidroksiprolin miktarı mg/100g en çok	225
Toksikolojik muayene	Negatif
Tek tırnaklı hayvan eti	Bulunmamalı

* 1), 2) Özel mevzuatında sucuğa katılmasına müsaade edilen değerdir.(mg/kg)

2.3. Sucukların Sınıf Özellikleri

Sucukların sınıf özellikleri Çizelge 2.3'deki gibidir.

Çizelge 2.3. Sucukların Sınıf Özellikleri

ÖZELLİKLER	I.SINIF	II.SINIF	III.SINIF
Hava boşluğu ⁽¹⁾	Yok	5 Dilimde toplam en çok 4 boşluk	5 Dilimde toplam en çok 8 boşluk
Yağ oranı (kütlece)	En çok %30	En çok %40	En çok %50
Tat ve koku	Kendine özgü	Kendine özgü	Kendine özgü
Renk	Normal	Normal	Değişik renkli
Tekstür	Orta yumuşak	Yumuşak	Yumuşak
Kesit yüzü	Mozaik görünüş	Mozaik görünüş	Karışık görünümlü
Protein (N 6.25) (Kütlece)	En az %22	En az %20	En az %20
Makroskobik Küflenme (Makro)	Yok	Yok	Yok
Yapışkanlaşma	Yok	Yok	Hafif

* 1) Hava boşluğu dilim sucukta aranmaz. Hava boşluğu beher sucuktan rastgele, kalınlığı 0.5-1 cm arasında olan 5 adet dilim alınır ve bunların yüzeylerindeki boşluklar sayılır (TS, 1070-1983).

2.4. Mikrobiyolojik Özellikler

Sucuğun mikrobiyolojik özellikleri Çizelge 2.4.'deki gibidir.*

Çizelge 2.4. Sucuğun Mikrobiyolojik Özellikleri

Özellikler	Değerler			
	n	c	m	M
Toplam aerobik mezofilik bakteri (koloni sayısı/g)	5	2	10^5	10^6
Escherichia coli (koloni sayısı/g)	5	0	Bulunmamalı	
Staphylococcus aureus (koloni sayısı/g)	5	0	10^2	0
Clostridium perfringens (koloni sayısı/g)	5	2	10	10^2
Salmonella (koloni sayısı/g)	5	0	25g numunede bulunmamalı	
Küf ve maya	5	0	10^2	0
n=Deney numunesi sayısı, c="m" ile M arasındaki sayıda mikroorganizma ihtiva eden kabul edilebilir en fazla deney numunesi sayısı, m= (n-c) sayıdaki deney numunesinin 1 gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı, M="c" sayısındaki deney numunesinin gramında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı				
Koliform bakteri, EMS/g, en çok	10			

*(TS, 1070-1983).

Sucuk üretiminde ham madde olan et; yüksek biyolojik değerde oluşu, doyuruculuğu ve tad maddelerini içermesi nedeniyle beslenmede önemli bir yer tutar. Et, organizmada sarf edilen proteinleri %100'e yakın bir oranda karşılayacak ölçüde proteinlere sahiptir. Sığır eti bütün önemli esansiyel aminoasitleri içerir. Bu aminoasitlerin sığır etinde bulunuş oranları aşağıdaki gibidir.

Arginin	% 7.87
Histidin	% 1.98
Leusin	% 9.37
Lizin	% 10.0
Metionin	% 2.75
Fenil alanin	% 4.58
Treonin	% 5.80
Valin	% 5.85
İzoleusin	% 6.50

Yaşam için elzem olan eksojen aminoasitleri esas almak üzere hayvansal proteinleri değerliliklerine göre aşağıdaki sıralamaya tabi tutmak mümkündür (İnal, 1992).

Serum	76
Globin	71
Balık proteini	63
Laktalbumin	59
Et proteinleri	58

Tüketime hazır sucuk, fiziksel yapı, tekstür, görünüş, dış yüzey ve kesit yüzeyinde belirli renk oluşumu ve görünüme sahip olmalı, kimyasal bileşimi standartların altına düşmemeli, mikrobiyolojik açıdan belirli mikroorganizmaları içermemeli, bazılarını ancak düşük sayılarda bulundurabilir olmalı, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan insan sağlığına zararlı bir içeriği bulundurmamalıdır (Gökalp ve ark., 1994).

Gıdaların üretim, işleme, depolama, hazırlama ve tüketimlerine kadar geçen süreçte dikkatle izlenmesi gereken yöntemlerin uygulanmaması gıda kayıplarına, sağlık bozukluklarına veya gıda zehirlenmesi olarak adlandırılan hastalıklara neden olur (Alperden, 1978-1986).

Gıdalarda fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerle meydana gelebilen bozulmalar, üründe kalite ve dolaylı olarak da ekonomik kayıplara yol açabildiği gibi, sağlık açısından çeşitli riskleri doğurarak önemli sorunlar yaratabilir (Frazier and Westhoff, 1978).

Fiziksel değişiklikler içinde donma, yanma, kuruma, basınç altında gelebilen olumsuzluklar sayılabilir. Kimyasal değişiklikler ise belirli koşullarda bitkisel ve hayvansal dokulardaki enzimatik değişimlerle oluşan kimyasal olaylar dizisidir. Biyolojik etkisiyle gıdalarda meydana gelen değişimler, en önemli grubu oluşturmaktadır ki, böcekler, kemirgenler ve mikroorganizmaların istenmeyen faaliyetleriyle meydana gelmektedirler. Mikroorganizmalarla oluşan enzimatik değişimler sonucu gıdaların tekstür, koku ve aromalarında bozulmalar meydana

gelebilir. Çevredeki bakteri, maya ve küflerden oluşan mikroorganizmalar ürettikleri toksin veya diğer metabolitleri ile de gıdaları sağlık ve kalite açısından riskli hale getirirler (Weisser et al., 1971).

Gıdalara çeşitli şekillerde bulaşan mikroorganizmalar onları çoğu kez kendi gelişmeleri için besin kaynağı olarak kullanırlar. Bu durum ise gıdaların bozulmasına neden olmaktadır. Mikroorganizmaların gıda maddelerinde çoğalmaları, besin ögelerini tüketmeleri, enzimatik değişimlere yol açmaları ve yeni bileşikler sentezleyerek ya da mevcut bileşikleri parçalayarak hoşla gitmeyen tat ve aroma oluşturmaları sonucu gıdalar bozulmaktadır.

Öte yandan gıdalarla mikroorganizmalar arasındaki etkileşimler bazen yararlı da olmaktadır. Buna örnek olarak beğeniyle tüketilen pek çok fermente gıdalar sayılabilir (Karakuş, 1993).

Et ürünlerinin üretiminde uygulanan teknolojik işlemlerin amacı, yeni ürünler elde etmenin yanında, mikrobiyal faaliyeti engelleyerek, ürünün dayanım süresini uzatmaktır. Bu amaçla yüksek sıcaklık, su aktivitesini azaltma, asitlendirme, oksijenin uzaklaştırılması, koruyucu maddelerin kullanılması gibi teknolojik işlemlerden yararlanılır. Bir çok et ürününün dayanıklılığında bu işlemlerden birkaçı birlikte rol oynar.

Tüm üretim işlemlerinde, mikrobiyal faaliyet engellenerek ürünün dayanım süresinin uzatılması sağlanırken özellikle yarı dayanıklı et ürünlerinde hammaddenin bakteriyel yükü, üretim sonrası bulaşma ve kötü muhafaza nedenleriyle ürünün bozulması kaçınılmazdır. Bu tip ürünlerde meydana gelen mikrobiyolojik bozulmalar; tad ve koku ile ilişkili olan acılaşma, ekşi tad ve kokunun oluşması ile ürünün görünümüyle ilgili olan renk değişimleri, yapışkanlaşma ve küflenmedir (Ertaş, 1985).

Fermente sucuklarda aroma, renk, lezzet ve kıvamın meydana gelişi ile karakterize olgunlaşma, çeşitli mikroorganizmaların fermentleriyle yarattıkları biyokimyasal reaksiyonlar sonucu gelişir (İnal, 1964-1969). Biyokimyasal reaksiyonların bir sıra dahilinde ve uyum içerisinde gelişebilmesi için “arzu edilen”

bir mikrofloranın varlığı gerekir. Fermente sucuğun mikroflarasını oluşturan bu faydalı mikroorganizmalar kadar arzu edilmeyen mikroorganizmalarında besin hijyeni açısından önemi vardır. Hatalı fabrikasyonlara yol açan, sucuğu sağlık açısından sakıncalı duruma getiren mikroorganizmaların başlıcaları; mesentericus-subtilis grubu basiller (aerob spor verenler), anaerob basiller (patojen Clostridler), *Bacterium proteus*, *Escherichia coli*, Hemolitik streptokoklar, *Pseudomonas aeruginosa*, koagülaz ve lesitinaz pozitif Stafilokoklardan oluşur. Arzu edilmeyen etkenler arasında küfler (*Aspergillus* ve *Scopulariopsis* neveleri) ve bazı mayalar (*Candida albicans*) da yer alırlar (İnal, 1992).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Materyalin Eldesi

Bu çalışmada İstanbul ilindeki çeşitli market, bakkal ve sucuk fabrikalarından alınan sucuk numuneleri mikrobiyolojik yönden incelendi ve mikroorganizma içerikleri tespit edildi. Alınan numuneler Özlem Et Fabrikası'nın laboratuvarında steril şartlarda incelendi.

3.1.2. Çalışmada İncelenen Patojen Mikroorganizmalar

Fekal koliform

Escherichia coli

Salmonella ssp.

Staphylococcus aureus

Sülfid indirgeyen anaerob bakteriler

3.1.2.1. Fekal koliformlar

Koliform bakteriler Enterobacteriaceae familyası içinde yer alan indikatör organizmalar olarak tanımlanmaktadır. Koliform grubu organizmalar Brilliant Green Lactose Bile Broth'ta laktozdan 37° C'de 48 saatte asit ve gaz oluşturan bakterilerdir. Fekal koliformlar ise 44.5 ± 0.2 °C'de EC ortamında laktozdan asit ve gaz oluşturan bakteriler olarak tanımlanmaktadır. İnkübasyon sıcaklığı çok kritik olup, test su banyosunda gerçekleştirilmelidir. Gıdalarda fekal kontaminasyonun indikatörü olarak *Escherichia coli* bakterisi aranmaktadır. *Escherichia coli* metil red pozitif, Voges-Proskauer negatiftir; sitratı karbon kaynağı olarak kullanamaz. Indol pozitif tipleri *Escherichia coli* tip 1 olarak adlandırılır. Enteropatojen *Escherichia coli* türleri klasik koliform bakteri analizleri ile değil, özel analiz yöntemleri ile saptanmaktadır (Harrigan, 1998; Forsythe ve Hayes, 1998; FAO, 1992).

3.1.2.2. *Escherichia coli*

Enterobacter familyasında bulunan bu tür 2-6µm boyunda olup, hafif hareketli, genelde hareketsiz, gram negatif çomakçıklar biçiminde bakterilerdir. Endospor oluşturmazlar , fakültatif anaeropturlar. Genel kullanım besiyerinde kolaylıkla üreyebilirler. Fermantasyon metabolizmasına sahip olup glikozu parçalayarak asit ve gaz oluşturlar. Oksidaz olumlu ve katalaz olumsuzdurlar.

Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığı ile hareket yeteneğine sahip olup hareketleri yavaştır. Hatta hareketsiz görünebilirler. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar. Buyyon ve jeloz besi yerlerinde kolayca ürerler. Optimum üreme ısı 37 °C'dir. 15-45 derecelerde üreyebilirler. Özellikle 44°C 'de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden ayırtedici bir özelliktir. Ortalama pH 7,2 'de ürerler. Buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. Jelozlar hafif kabarık , düzgün, 1-2 mm çapında parlak S tipi koloniler oluşturlar (Cingilli, 1997).

Escherichia coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60 °C ısıda 3 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa karşı dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdirler (Beka, 1991).

Escherichia coli uzun yıllardır fırsatçı bir patojen yani kendisi doğrudan hastalık yapmayan ancak vücutta başka bir nedenle hastalığa bağlı olarak direnç düştüğünde ve uygun ortam bulunduğu kendi hastalık etkeni olan bir bakteri olarak tanımlanmıştır. 1980'li yıllardan bu yana yapılan çalışmalarda *Escherichia coli*'nin insanları doğrudan hastalandırma özelliğine sahip, hatta ölüme kadar götürebilen (primer patojen) ırkların bulunduğu gösterilmiştir.

İnsanlarda *Escherichia coli*'nin yaptığı hastalıklar intestinal (bağırsak hastalıkları) ve ekstraintestinal (bağırsak dışı hastalıklar) olarak iki grupta incelenir. Bağırsak hastalıkları gastroenteridis(ateş, diare, kramp) şeklinde kendini gösterir. Genellikle çocuklarda görülen dizanteriye ve koleraya benzer diareye neden olan *Escherichia coli* ırklarından da söz edilebilir.

Bağırsak dışı hastalıklar olarak idrar yolları enfeksiyonu, menenjit, eklem sertleşmesi, yara enfeksiyonları, böbrek yetersizliği, bağışıklık ile ilgili hastalıklar, safra kesesi enfeksiyonları ve karaciğer apsesi sayılabilir (Bilgehan, 1992-1995).

Enterotoksijenik *Escherichia coli* geliştirmekte olan ülkelerde, infant ve turistik diarelerinin başlıca nedenleri arasındadır. Klinik tablo; basit rahatsızlık şeklinde olabileceği gibi, bol sulu, kolera benzeri bir diyare ile de seyredebilir. Bu taktirde, özellikle çocuklarda ciddi dehidratasyona sebep olabilir. Bakteri kontamine su ve gıdalar ile alınır. Enfektif dozun 10^8 bakteri olduğu gösterilmiştir. Bakteri önce kolonize olur, sonra toksinlerini salgılar. Her iki olay da plazmid kontrolündedir (Gedikoğlu, 1994).

3.1.2.3. *Salmonella ssp.*

Salmonella aerobik, spor oluşturmeyen Gram negatif bir bakteridir. Gıda zehirlenmelerinde infektif doz yaklaşık 10^6 olarak belirtilmektedir. Vakalardan sıklıkla izole edilen *Salmonella* türleri *Salmonella typhimurium* ve *Salmonella enteridis*'tir. Hastalığın inkübasyon süresi 12-36 saat arasında değişmekte karın ağrısı, diyare, kusma, baş ağrısı ve ateş gibi belirtiler göstermektedir. Hastalık 8 gün (bazen 14 gün) sürebilmektedir. Bebek, çocuk, yaşlı ve hasta bireyler riskli grubu oluşturmaktadır. *Salmonella* insan ve bir çok hayvanın bağırsaklarında bulunmakta ve dışkıyla atılmaktadır. İki tip taşıyıcı vardır:

- i-) Sağlıklı taşıyıcılar: Herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen sağlıklı bireyler.
- ii-) Hastalığı geçirmiş olan taşıyıcılar: Hastalık geçtikten sonra aylar, hatta yıllarca bakteriyi taşıyan bireyler.

Salmonella et ve sakatatatta, özellikle tavuklarda yaygın olarak, bazen yumurtanın dış yüzeyinde ve içinde bulunabilmektedir. Gıdalara haşere ile, insanlar vasıtasıyla ve kontamine hammadde ile bulaşabilmektedir (Gaman and Sherrington, 1996).

3.1.2.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus fakültatif aerobik, spor oluşturmeyen, Gram pozitif, mikroskop altında üzüm salkımı şeklinde gözlenen bakterilerdir. Isıya dayanıklı toksin oluştururlar. Bakteri ısıtma işlemle (66°C/10 dk) kolaylıkla tahrip edilirken, toksin 100°C'de (30 dk) aktivitesini koruyabilmektedir. Kusma, mide krampları, diyare ve karın ağrısı şeklindeki zehirlenme semptomları 2-6 saat arasında ortaya çıkmakta, 6-24 saat sürmektedir. İnsanların %70'inin boğaz ve burunlarında *Staphylococcus aureus* bulunduğu, buradan kolaylıkla özellikle eller olmak üzere cilde bulaştığı belirtilmektedir *Staphylococcus aureus* hayvanlarda ve sütte de bulunabilmektedir. Gıdalara genellikle çalışan personel vasıtasıyla (eller, öksürme, hapşırma v.b. yollarla) geçebilmektedir. Gıda zehirlenmesine neden olan gıdalar arasında soğuk etler ve diğer et yemekleri, sütlü tatlılar, kekler, krema ilk sıralarda yer almakta; çiğ etlerinde %38'inde saptandığı belirtilmektedir.(Gaman ve Sherrington,1996).

Staphylococcus aureus bakterilerin yaklaşık %50'sinin toksin üretme özelliğinde olduğu saptanmıştır (Forsythe and Hayes, 1998). Gıdalarda *Staphylococcus aureus* sayısı 10^5 /g'ın üzerine çıktığında toksin riski oluşmaktadır (Jablonski and Bohach, 1997).

3.1.2.5. Sülfid İndirgeyen Anaerob Bakteriler

Sülfid indirgeyen bakteriler gıdalarla ilgili çeşitli mikrobiyal kriterlerde yer alan Gram pozitif, endospor oluşturan anaerobik çubuk şeklindeki bakterilerdir. Bu grupta yer alan gıda kaynaklı zehirlenme etkeni başlıca bakteriler *Clostridium perfringens* ve *Clostridium botulinum*'dur. Sülfid indirgeyen bakteriler gıdalarda hijyenik kalite belirlenmesinde kontaminasyon indikatörleri olarak değerlendirilirler. Sayımlarında kullanılan kültür ortamları ve inkübasyon sıcaklıkları daha ziyade *Clostridium perfringens* üzerinde yoğunlaşmıştır (Poumeyrol and Billon, 1995).

Clostridium perfringens Gram pozitif, spor oluşturan, anaerobik, hareketsiz ve çubuk şeklinde bir bakteridir. Ancak diğer anaerobik bakterilere göre oksijene daha

toleranslıdır (McClane, 1997). Yüksek sıcaklıklarda (28°C), aerobik koşullarda da hızlı gelişme gösterebilmektedir (Juneja et al.1994 a,b). Toprak kökenli olup, çevreden çiğ et, insan ve hayvan bağırsaklarından izole edilmektedir. Enterotoksin A,C veD tip I ***Clostridium perfringens*** türlerinden izole edilmektedir. A tipi daha hafif seyreden klasik gıda zehirlenmesine neden olurken, C tipi nekrotik enteritis olarak adlandırılan önemli sağlık sorunlarına neden olabilen zehirlenme etkenidir. ***Clostridium perfringens*** A tipi zehirlenme belirtileri karın ağrısı, diyare, bulantı ve ateş şeklinde, kontamine gıdayı (10^6-10^7 hücre/g) tüketimden 8-12 saat (6-24 saat) sonra ortaya çıkmaktadır. Gıda ile vücuda alınan hücrelerden mideyi geçerek canlı kalanlar ince bağırsakta çoğalmakta ve spor oluşturmaktadır. Bazı ülkelerde ***Clostridium perfringens***'in Salmonella'dan sonra en önemli gıda zehirlenme etkeni olduğu belirtilmektedir. Nekrotik enteritis ise daha seyrek görülmekle beraber sıklıkla ölümle sonuçlanmaktadır. Belirtileri şiddetli karın ağrısı ve diyare (çoğunlukla kanlı) bazen kusma ve ince bağırsakta tahriş şeklindedir (Granum,1990).

3.2. Metod

Sucukların mikrobiyolojik olarak incelenmesi çalışmalarında uygulanacak metodlar aşağıda verilmiştir.

3.2.1. *Escherichia coli* Tespit Talimatı

3.2.1.1. TBX MEDIUM CM 945 (*) Kullanım Metodu

1-) 1 lt. distile suya, 36.6 gr OXOID TBX MEDIUM CM 945 tartılır. 121°C'de 15 dk otoklavlanır. 50°C'ye soğutulur ve steril petri kaplarına dökülür.

2-) Hazırlanmış petrilerin yüzeyleri kurutulur. Gıda numunesinin % 0.1'lik steril Butter field's çözültisi kullanarak 1/10'luk dilüsyonu hazırlanır ve homojenize edilir.

3-) Homojenize edilen numuneden 0.1 ml alınarak petrilere inokülasyon yapılır ve steril cam bir bagetle yüzeye iyice yayılır. Petriler, önce 30°C'de 4 saat, daha sonra 44°C'de 18 saat inkübe edilir.

* Tryptone Bile X-glucuronide Medium (TBX) . Oxoid Folio No. 535 .

4-) İnkübasyon periyodunun sonunda oluşan mavi-yeşil kolonilerin sayısı, dilüsyon faktörü ile çarpılarak, gıda numunesinin gramında *Escherichia coli* sayısı olarak bilinir (Bridson, 1988).

3.2.2. Sülfid İndirgeyen Anaerob Bakteri Sayımı

3.2.2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- 1-) Etüv
- 2-) İnkübatör (35-37°C)
- 3-) Vortex
- 4-) Butter field's çözeltisi (225ml)
- 5-) Thioglycollate Broth sıvı besiyeri
- 6-) Otoklav
- 7-) Parçalayıcı
- 8-) Metilen mavisi
- 9-) Mikroskop
- 10-) Su banyosu

3.2.2.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Butter field's çözeltisinin hazırlanması için 34gr KH_2PO_4 , 500ml distile suda karıştırılarak tamamen çözülür. Çözeltinin pH=7.2'ye ayarlanır (Yaklaşık 175ml 1N NaOH ile). Çözelti 1000ml'lik balonjojeye aktarılır. Distile veya demineralize su ile hacme tamamlanır ve otoklavda 121°C'de 15dk sterilize edilir ve soğumaya bırakılır. Bu şekilde 4°C'de 5 ay süreyle muhafaza edilebilir. Hazırlanan çözeltinin üzerine ismi, hazırlanış tarihi, son kullanma tarihi ve hazırlayanın ismi yazılır (Stok çözelti).

Stok çözeltisinden pipetle 1.25ml alınarak 1 lt'lik balonjojeye veya 1lt'lik balona aktarılır. Distile su veya demineralize su ile balonjoje hacme tamamlanır. Bu çizgi balon jojenin hacminden yararlanarak işaretlenmiştir. Bu çözeltiden 300ml'lik erlenlere mezürle 225'er ml, 100'lük erlenlere 90'ar ml ve 20 ml'lik tüplere pipetle 9'ar ml olacak şekilde dağıtılır. Tüplerin ağzı pamukla, erlenlerin ağzı alüminyum

folyo ile kapatılarak otoklavda 121°C’de 15dk sterilize edilir ve soğumaya bırakılır. Bu şekilde 4°C’de 1 ay veya haftalık tüketilecek ise laboratuvar ortamında 1 hafta süreyle muhafaza edilebilir. Hazırlanan çözeltinin üzerine ismi ve hazırlanış tarihi yazılır.

Thioglycollate Broth (TGB) hazırlanması için 1000ml distile suya 29gr olacak şekilde TGB konur. Çalkalanıp, homojen bir biçimde karışması sağlanarak otoklavda 15dk, 121°C’de steril edilir. Sonra su banyosunda 50°C’ye soğutulur. Hazırlanan sıvı besiyeri steril tüplere 10’ar ml konur ve buzdolabına kaldırılır.

Metilen Mavisi hazırlanması için 0.3g metilen mavisi tartılır. Üzerine 30ml saf alkol konur, iyice çalkalanır. KOH 100ml %0.1 karıştırılır. Renkli şişede 6 ay bekletilebilir.

3.2.2.3. Uygulama

a-Numunenin Ekime Hazırlanması

1-) 25g test numunesi orijinal numunesinden steril spatül yardımıyla 225ml Butter field’s çözeltisi içersine tartıldıktan sonra ultra-turrax yardımıyla 10.000-20.000 devirde 2dk kadar öğütülür.

2-) Hazırlanan 10⁻¹ ‘lik süspansiyon vejetatif, sporsuz hücrelerin eliminasyonu amacı ile 80±5 °C’lik su banyosunda 10dk tutulur.

3-) Tüp üzerine numune protokol numarası yazılır. Besiyerinin ismi ve tarih yazılır.

4-) Su banyosundaki süreci tamamlanmış olan süspansiyondan 10ml alınıp, TGB besiyeri içersine inoküle edilir.

5-) İnoküle edilmiş besiyeri vortex cihazında 1-2sn kadar karıştırılır.

6-) Tüpler 35-37°C’de 24 saat inkübe edilirler.

b-Tespit İşlemi ve Değerlendirme

1-) İnkübasyon sonunda tüplerin alt kısmında bulanıklık oluşmamış ya da oluşmuş olduğuna bakılır.

2-) Oluşmamış ise sonuç “saptanamadı” olarak değerlendirilir.

3-) Bulanıklık oluşmuş ise Spor Boyama yapılır.

4-) Hücrelerde spor yapısı oluşup oluşmadığına bakılır. Sporlu anaeroblar metilen mavisi boyası ile maviye boyanmış spor yapıları ve beyaz çubuk şeklinde vejetatif hücreleri ile kendilerini gösterirler. Spor yapısı oluşmuş ise “saptandı” olarak kaydedilir (TS, 6405-1989).

3.2.2.4. Spor Boyama Tekniği

Temiz bir lam alınır, saf veya %70’lik alkol ile silinerek, kurutulduktan sonra ortasına bir damla distile veya demineralize su damlatılır. Özenin ucu alevde akkor haline gelinceye kadar tutulur. Alevden fazla uzaklaştırılmadan soğuması beklenir. Öze yardımıyla bakteri kültüründen bir parça alınır. Lamın ortasındaki su damlasında süspansiyon haline getirilir. Bu süspansiyon öze yardımıyla lamın yüzeyinde ince bir tabaka oluşturacak şekilde yayılır ve havada kurumaya bırakılır. Kuruyan lam alevden geçirilerek hücreler tespit edilir. Preparat boyama küvetinin üzerine alınır. Üzerine lamı kaplayacak şekilde metilen mavisi damlalık yardımıyla dökülür. İki dakika beklenir ve distile veya demineralize su ile tüm yüzey yıkanır. Yıkanan preparat kurumaya bırakılır. Boyanan preparata immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta %100’lük objektif (immersiyon objektifi) ile incelenir. İnceleme sonunda hücrelerde spor yapısı oluşup oluşmadığı gözlenir. Spor yapısı, çubuk şeklinde hücre içinde gözlenir. Spor yapısı, çubuk şeklinde hücre içinde yuvarlak şekillidir ve bu hücrenin ucunda veya ortasında yer alır.

3.2.3. *Staphylococcus aureus* Tespit Talimatı

Bu talimat, et ve et ürünlerinde koagülaz (+) *Staphylococcus aureus* bakterilerin tespiti için kullanılmaktadır.

3.2.3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

1-) Etüv

2-) İnkübatör

- 3-) Terazî
- 4-) Ultra-turrax
- 5-) Butter field's çözeltisi (225ml)
- 6-) Baird Parker Agar (BPA) (MERCK)
- 7-) Egg Yolk Tellurite Emulsion (OXOID SR 54)
- 8-) Staphylase- koagülase test kiti (OXOID DR 595 A)

3.2.3.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Baird-Parker Medium'un hazırlanması için 950ml distile veya demineralize suya 58g olacak şekilde gerekli besiyeri miktarı hesaplanarak erlene tartımı yapılır. Hesaplanan miktardaki su eklenir, çalkalanır ve ağzı alüminyum folyo ile sıkıca kapatılır. Bek alevinde sac ayak üzerinde veya besiyeri içersine balık atılarak manyetik ısıtıcı ve karıştırıcıda tamamen çözününceye kadar kaynatılır. Tamamen çözünmüş besiyeri plaka veya manyetik ısıtıcı ve karıştırıcıdan alınarak, otoklavda 121°C'de 15dk steril edilir. Ardından 50°C'ye soğutulur. Aseptik ortamda besiyeri içine 950ml'ye 50ml olacak şekilde hesaplanmış olan Egg Yolk Tellurite ilavesi yapılır ve homojenizasyonun sağlanması için çalkalanır. Steril petrilere 15-20'şer ml olacak şekilde dağıtılır ve donmaya bırakılır. Kullanıma hazırdır. Bu şekilde 4°C'de 1 ay süreyle muhafaza edilebilir. Petrilerin üzerine hazırlanış tarihi ve ismi yazılır.

3.2.3.3. Uygulama

a-Numunenin ekime hazırlanması

Test numunesi ortamda çözünmeyecek kadar katı ise Butter field's tamponlu çözeltisi içersine direkt tartımı yapıldıktan sonra ultra-turrax ile öğütülür. 25g deney numunesi steril bir spatül yardımı ile 225ml çalkalama çözeltisi içersine tartıldıktan sonra sterilize (gün sonunda) / dezenfekte (kullanım aralarında) edilmiş ultra-turrax yardımı ile yeşil bölgede 2dk öğütülür. Böylelikle 1/10 oranında ilk dilüsyon elde edilmiş olur.

b-Numunenin ekime alınması

1-) Önceden hazırlanmış 3 adet Baird-Parker (Egg Yolk Tellurite emülsiyonlu) besiyeri üzerine numunenin protokol numarası ve inoküle edilecek hacimler (0.4, 0.3 ve 0.3ml) yazılır. Hazırlanan 1/10'luk seyreltmeden üç petriye 0.4, 0.3 ve 0.3ml olarak toplam 1ml besiyeri inoküle edilir.

2-) Petrilere inoküle edilen sıvılar steril drigalski spatülleri kullanılarak agar üzerine yayılır. Ardından petrilere ters çevrilmeden (sıvının besiyerine tam olarak absorbe olması için) 35-37°C'deki inkübatöre kaldırılır. Ertesi gün ters çevrilir, toplam inkübasyon süresi 45-48 saattir.

3-) İnkübasyon süresinin bitiminde petrilere üremiş olan koloniler incelenir. Tipik koloniler (siyah renkli, parlak, çevresinde şeffaf bir zon oluşturmuş olan, konveks, ortalama 1.5mm çapındaki tipik koloniler) *Staphylococcus aureus* şüphesi olarak işlem görür.

4-) Bu şüpheli koloniler sayılarak not edilir. Bu kolonilerden; toplam şüpheli koloni sayısına göre en az 2, en çok 5 adedi Staphylase testinin yapılması amacı ile seçilir.

c-Sayım ve hesaplama

Yapılan Staphylase testi sonucunda teste alınan tüm kolonilerin (+) sonuç vermesi durumunda sayılmış olan bütün şüpheli koloniler dilüsyon faktörü ile çarpılarak gramındaki veya mililitresindeki sonuç olarak kaydedilir. Staphylase (+) koloni sayısı teste alınan koloni sayısından az, herhangi bir sayı ise toplam sayı ile arasında orantı kurularak hesaplama yapılır. Eğer tüm koloniler Staphylase (-) sonuç vermişse analiz "saptanamadı" şeklinde verilir.

d-Testin hassasiyeti

1-) İnkübe edilmiş petrilere şüpheli koloniye hiç rastlanmaması yada hiç koloni bulunmaması durumunda; "saptanamadı" şeklinde sonuç verilir.

2-) İnkübe edilmiş her petride 200 adetten fazla koloni bulunması durumunda; test aynen tekrar edilir. Yalnız üç petriye 1ml hacim inoküle etmek yerine, bir petriye 0.1ml inoküle edilerek koloni sayısı kolaylıkla sayılabilir ve ayırtedilebilir seviyeye

indirilir. Test bu şekilde tekrar edildiğinde; hesaplamada tipik kolonilerin sayısı 100 ile çarpılır. Elde edilen sonuç gramındaki veya mililitresindeki *Staphylococcus aureus* sayısı olarak kaydedilir (APHA, 1992).

3.2.3.4. Koagülaz Testleri

Baird-Parker Agar'dan izole edilen kültürlerle koagülaz testi uygulanarak doğrulama yapılır. Bu amaçla Staphylase Test (OXOID DR 595) veya Dryspot Staphytect Plus (OXOID DR 100M) kullanılabilir.

a-Staphylase Test (DR 595) *

Staphylase Test DR 595 testi ile *Staphylococcus aureus* suşlarının koagülaz enzimi üretilip üretilmediği tavşan plazması olmaksızın 30 saniye içinde lateks aglütinasyon prensibine göre saptanır. Koagülasyon testi kontrol reaktifi (duyarsız haldeki koyun eritrositleri) ile tekrarlanarak testin özgünlüğü kontrol edilir. Reaksiyon kartında *Staphylococcus aureus* kolonileri ile lateks test reaktifi karşılaştırıldığında mikroorganizmada mevcut bağlı koagülaz, fibrinojenle birleşerek gözle de görülebilen bir aglütinasyon oluşturur. Kontrol reaktifi ise bazı Staphylococcus suşlarının oluşturabileceği otoaglütinasyon saptanır.

İşlem

1-) Lateks reaktifleri oda sıcaklığına getirilir ve kuvvetlice karıştırılarak (vortekste) homojenizasyon sağlanır.

2-) Steril bir öze ile petrideki kolonilerden 1-3 adet alınarak reaksiyon kartlarındaki test dairesine yayılır, üzerine bir damla lateks test reaktifi ilave edilerek karışımları sağlanır.

3-) Öze yakılarak petriden şüpheli kolonilerden 1-3 adet daha alınır ve reaksiyon kartındaki diğer test dairesine yayılır, üzerine bir damla kontrol reaktifi ilave edilerek karışımları sağlanır.

4-) Kart 30sn dairesel olarak hareket ettirilerek ışık altında aglütinasyon olup olmadığı gözlenir.

* Staphylase Test The Oxoid Folio No.346.

Sonuçların Değerlendirilmesi

İncelenen kolonilerde lateks test reaktifi ile aglütinasyon olduğu gözlenirken, kontrol reaktifi ile aglütinasyon gözlenmiyorsa izole edilmiş olan *Staphylococcus aureus*'un koagülaz pozitif suş olduğu doğrulanmış olur. Kontrol reaktifi ile aglütinasyon oluşmamalıdır, her iki reaksiyonun pozitif olması testin doğru uygulanmadığını göstermektedir. Bu gibi durumlarda test tekrarlanmalıdır. İşlem bittikten sonra reaksiyon kartı dezenfektan içine atılmalı veya otoklavda dekontamine edilmelidir (Bridson, 1988).

3.2.4. Salmonella Analiz Talimatı

Bu talimat et ve et ürünlerinde Salmonella varlığını tespit için kullanılmaktadır.

3.2.4.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- 1-) Hassas terazi
- 2-) İnkübatör (35-37°C'de)
- 3-) Vortex
- 4-) Ultra-turrax
- 5-) Otoklav
- 6-) Laktoz Broth (LB-OXOID)
- 7-) Selenite Cystine Broth
- 8-) Brilliant Green Agar (BGA-OXOID CM 329)
- 9-) Triple Sugar Iron Agar (TSI-OXOID)

3.2.4.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Laktoz Broth'un hazırlanması için 1000ml distile veya demineralize suya 13g olacak şekilde gerekli besiyeri miktarı hesaplanarak erlene tartım yapılır. Hesaplanan

miktardaki su eklenir, çalkalanır, besiyerinin suda tamamen çözünmesi sağlanır. 300ml'lik erlenlere 225'er ml dağıtılır. Erlenlerin ağzı alüminyum folyo ile sıkıca kapatılarak otoklavda 121°C'de 15dk sterilize edilir ve soğumaya bırakılır. Erlenlerin üzerine ismi ve hazırlanış tarihi yazılır.

Selenite Cystine Broth'un hazırlanması için ticari olarak satılan Diffco (0687-17-1) Selenite Cystine Broth kullanılmaktadır. 1000ml steril distile veya demineralize suya 23g olacak şekilde gerekli besi yeri miktarı hesaplanarak erlene tartım yapılır. Hesaplanan miktardaki su eklenir, bir kaç kez çalkalanır ve karışım suda tamamen çözünmesi için senikatörde tutulur. Ardından steril tüplere 10'ar ml dağıtılır. Ağızları pamukla sıkıca kapatılarak kaynayan su buharında (banyosunda) 15dk tutulur ve soğumaya bırakılır.

Brillant Green Agar'ın hazırlanması için ticari olarak satılan Oxoid (CM 329) Brilliant Green (modifiye) besiyeri kullanılmaktadır. Besiyeri içeriği, son kullanma tarihi, muhafazası kutu üzerinde belirtilmiştir. 1000ml steril demineralize suya 52g olacak şekilde gerekli besiyeri miktarı hesaplanarak erlene tartımı yapılır. Bir kaç kez çalkalanır ve ağzı alüminyum folyo ile sıkıca kapatılır. Bek alevinde ceran sac ayağı üzerinde veya besiyeri içine balık atılarak manyetik ısıtıcı ve karıştırıcıda tamamen çözününceye kadar kaynatılır. Besiyerinin dibe yapışmaması için sık sık çalkalanır.

Triple Sugar Iron Agar'ın hazırlanması ticari olarak satılan Diffco (0265-17-1) Triple Sugar Iron Agar besiyeri kullanılmaktadır. 1000ml distile veya demineralize suya 65g olacak şekilde gerekli besiyeri miktarı hesaplanarak erlene tartımı yapılır. Hesaplanan miktardaki su eklenir ve iyice çözülmesi sağlanır, iyice kaynatılır, çalkalanır. Tüplere 7-8 ml olacak şekilde dağıtılır. Ağızları pamukla sıkıca kapatılarak otoklavda 121°C'de 15dk sterilize edilir. Sonra tüpler 15-20° açı yapacak şekilde bir yüzey üzerine yatırılarak katılaştırılır.

3.2.4.3. Uygulama

a-Test Numunesinin Ekime Hazırlanması

Ultra-turrax kullanılarak, 25g numune steril bir spatül yardımı ile 225ml laktoz besiyeri içersine tartıldıktan sonra steril ya da dezenfekte edilmiş ultra-turrax yardımı ile öğütülür. Sonra 37°C’de 24saat inkübasyona bırakılır.

b-İzolasyon

1-) İnkübasyonu tamamlanan besiyeri elde hafifçe ve bir kaç kez karıştırılarak, besiyerinin 1ml’si 10ml’lik Selenite Cystine Broth besiyerine aktarılır. Tüpler vortex cihazında 3-4 sn karıştırılır ve her birinden 35-37°C’de 24±2 saat inkübasyona bırakılır.

2-) İnkübasyonu tamamlanan Selenite Cystine Broth tüpleri, inkübasyon süresinin bitiminde vortexde yaklaşık 3-4sn karıştırıldıktan sonra her birinden öze ile 3 mm’lik bir öze dolusu sıvı alınarak Brilliant Green Agar katı besiyerine çizgi ekimleri yapılır. Petriler 35-37°C’de 24±2 saat inkübasyona bırakılır.

3-) İnkübasyon süresi bitiminde petrilerde üreyen koloniler incelemeye alınır. Şüpheli koloniler Brilliant Green Agar’da kırmızı renkte ürerler ve besiyeri rengide kırmızıya döner.

4-) Brilliant Green Agar besiyerinde şüpheli görünen kolonilerden bir tanesi seçilerek Triple Sugar Iron Agar besiyerine inoküle edilir. Steril edilen öze ucu, koloni merkezine değdirilerek kolonide alınan örnek Triple Sugar Iron Agar besiyerinin yüzey kısmına çizgi ekimi yapılarak sürülür ve ardından iğne besiyeri içersine dik bir şekilde batırılır.

5-) Kolonilerin alındığı BGA besiyeri buzdolabına kaldırılır.

6-) TSI tüpleri 35-37°C’de 24±2 saat inkübasyona bırakılır.

7-) İnkübasyon süresinin bitiminde TSI tüplerinde oluşan reaksiyonlar gözlenir. Salmonella’lar tüp yüzeyinde alkali bir reaksiyon gösterir ve tüp yüzeyi kırmızı renktedir; tüp dibi ise asit üretimi nedeni ile sarı renge döner. H₂ S üretimi var ise siyah renk oluşumu gözlenir. Bu durumda biyokimyasal testlere geçilir (TS, 7438-1989).

3.2.5. Fekal Koliform Tespit Talimatı

3.2.5.1. Kullanılan araç ve gereçler

- 1-) Ultra-turrax
- 2-) Durham tüpü
- 3-) Lauryl Sulfate Tryptose Broth (LSTB)
- 4-) Brilliant Green Lactose Bile Broth (OXOID)
- 5-) Öze
- 6-) EC Broth
- 7-) Butter field's çözültisi

3.2.5.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Lauryl Sulfate Tryptose Broth'un hazırlanması için 1 lt distile suya, 35.5g LSTB (Oxoid) tartılır. İyiçe çalkalandıktan sonra içinde durham tüpleri bulunan tüplere 10'ar ml konur ve 121°C'de 15dk otoklavda sterilize edilir.

Brilliant Green Lactose Bile Broth'un hazırlanması için 1000ml distile veya demineralize suya 40g olacak şekilde gerekli besiyeri, miktarı hesaplanarak erlene tartımı yapılır. Hesaplanan miktardaki su eklenir ve çalkalanarak çözülür. 20ml'lik tüplere durham tüpleri ters olarak yerleştirilir ve 9'ar ml dağıtılır. Tüplerin ağzı pamuklanır ve 121°C'de 15dk otoklavlanır. Otoklavdan çıktıktan sonra soğutulur. Kullanıma hazırdır.

EC Broth'un hazırlanması için 1lt distile suya 37g EC Broth (Oxoid) konur. Tüplere durham tüpü konduktan sonra 10ml dağıtılır. 121°C'de 15dk otoklavlanır.

3.2.5.3. Uygulama

a-Numunenin Ekime Hazırlanması

25 g test numunesi orijinal numunesinden steril spatül yardımıyla 225ml Butter field's çözültisi içersine tartıldıktan sonra ultra-turrax yardımıyla 10.000-20.000 devirde 2dk kadar öğütülür. Böylelikle 1/10 oranında ilk dilüsyon elde edilmiş olur.

b-Numunenin Ekime Alınması

1-) Her seyreltimden 10'ar ml Lauryl Sulphate Tryptose Broth içeren üçer tüpe 1'er ml ekim yapılır. Ekim yapılan tüpler 35-37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılır. (24 saat sonunda gaz oluşturan tüpler kaydedilir, negatif olanlar 24 saat daha inkübe edilir).

2-) İnkübasyonu tamamlanan tüplerde gaz oluşumu varsa, içinde durham tüpü bulunan Brilliant Green Lactose Broth'a steril öze ile ekim yapılır. Tüpler 35-37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılır. BGLB ortamında gaz oluşumu koliform bakterilerin mevcudiyetini doğrular ve pozitif tüplerin sayısı kaydedilir.

3-) Fekal koliform bakteri analizi için pozitif BGLB tüplerinden EC Broth'a öze ile ekim yapılır. Su banyosunda $44,5 \pm 0,2$ °C'de 24 saat inkübasyona bırakılır. Bu süre sonunda gaz oluşumu yoksa tüpler 24 saat tekrar bekletilir.

c-Sonuç

48 saat sonunda tüplerde gaz oluşumu varsa "saptandı" , eğer gaz oluşumu yoksa "saptanamadı" şeklinde sonuç belirlenir (FAO, 1992; FDA, 1998; Harrigan, 1998).

4. BULGULAR

İncelenen numunelerin analiz raporu ve mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4.1.'deki gibidir.

Çizelge 4.1. İncelenen Numunelerin Analiz Raporu ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Proto kol No	Numunenin Adı	Alındığı Yer	Ambalaj Şekli	Laboratuvara Giriş Tarihi	Üretim Tarihi	Fekal koliform	E. coli	Salmonella	Staphylococcus aureus	Anaerob sülfid indirgeyen bakteri
01	Sefa kangal sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	21.09.1999	20.09.1999	–	–	–	–	–
02	Extra parmak sucuk	Market	Kollejen kılıf	14.10.1999	03.10.1999	–	–	–	–	–
03	Extra kangal sucuk	Market	Kollejen kılıf	28.10.1999	12.10.1999	–	–	–	3.7 X10 ² k.s./g	–
04	Büfe sucuk	Mamul deposu	Fibrus kılıf	10.11.1999	07.11.1999	–	–	–	–	–
05	Tost sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	10.11.1999	08.11.1999	–	–	–	–	–
06	Extra kangal sucuk	Market	Vakumlu	17.11.1999	01.11.1999	–	–	–	–	–
07	Büfe sucuk	Market	Fibrus kılıf	17.11.1999	23.10.1999	–	–	–	–	–
08	Sefa sucuk	Market	Kollejen kılıf	17.11.1999	16.11.1999	–	–	–	–	–
09	Kangal sucuk	Market	Kollejen kılıf	23.11.1999	28.09.1999	–	–	–	–	–
10	Hesaplı kangal sucuk	Market	Vakumlu	23.11.1999	06.11.1999	–	–	–	–	–
11	Extra kangal sucuk	Mamul deposu	Vakumlu	07.12.1999	05.12.1999	–	–	–	–	–
12	Tost sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	07.12.1999	06.12.1999	–	–	–	–	–
13	Büfe sucuk	Mamul deposu	Fibrus kılıf	07.12.1999	06.12.1999	–	–	–	–	–
14	Hususi sucuk	Market	Kollejen kılıf	10.12.1999	21.11.1999	–	–	–	–	–
15	Vakumlu kangal sucuk	Market	Kollejen kılıf	13.12.1999	29.11.1999	–	–	–	9X10 ³ k.s./g	+
16	Extra kangal sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	14.12.1999	13.12.1999	–	–	–	3.6X10 ³ k.s./g	–

Çizelge 4.1. İncelenen Numunelerin Analiz Raporu ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (Devamı)

Proto kol No	Numunenin Adı	Alındığı Yer	Ambalaj Şekli	Laboratuvara Giriş Tarihi	Üretim Tarihi	Fekal koliform	E. coli	Salmonella	Staphylococcus aureus	Anaerob sülfid indirgeyen bakteri
17	Vakumlu kangal sucuk	Mamul deposu	Vakumlu	15.12.1999	13.12.1999	–	–	–	–	–
18	Hususi sucuk	Bakkal	Kollejen kılıf	16.12.1999	14.11.1999	–	–	–	–	–
19	Hususi sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	16.12.1999	12.10.1999	–	–	–	–	–
20	Sefa sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	04.01.2000	03.01.2000	–	–	–	–	–
21	Parmak sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	17.01.2000	14.01.2000	–	–	–	–	–
22	Ekonomik sefa sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	17.01.2000	15.01.2000	–	–	–	–	–
23	Özel kangal sucuk	Market	Kollejen kılıf	24.01.2000	21.12.1999	–	–	–	–	–
24	Çatal sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	24.01.2000	21.01.2000	–	–	–	–	–
25	Extra kangal sucuk	Market	Vakumlu	24.01.2000	21.01.2000	–	–	–	–	+
26	Hususi sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	26.01.2000	20.01.2000	–	–	–	–	–
27	Parmak sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	26.01.2000	17.01.2000	–	–	–	–	–
28	Extra kangal sucuk	Mamul deposu	Vakumlu	31.01.2000	31.01.2000	–	–	–	–	–
29	Özel sucuk	Market	Vakumlu	01.02.2000	09.11.1999	–	–	–	–	–
30	Çatal sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	07.02.2000	31.01.2000	–	–	–	–	–
31	Tost sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	07.02.2000	01.02.2000	–	–	–	–	–
32	Extra kangal sucuk	Mamul deposu	Vakumlu	07.02.2000	04.02.2000	–	–	–	3X10 ² k.s./g	–
33	Extra kangal sucuk	Market	Vakumlu	15.02.2000	19.12.1999	–	–	–	–	–

Çizelge 4.1. İncelenen Numunelerin Analiz Raporu ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (Devamı)

Proto kol No	Numunenin Adı	Alındığı Yer	Ambalaj Şekli	Laboratuvara Giriş Tarihi	Üretim Tarihi	Fekal koliform	E. coli	Salmonella	Staphylococcus aureus	Anaerob sülfid indirgeyen bakteri
34	Gazlı extra kangal sucuk	Üretim	Vakumlu	15.02.2000	24.01.2000	–	–	–	–	–
35	Extra çatal sucuk	Etiketleme	Kollejen kılıf	15.02.2000	13.02.2000	–	–	–	–	–
36	Tost sucuk	Sevkiyat	Kollejen kılıf	16.02.2000	15.02.2000	–	–	–	–	+
37	Büfe sucuk	Mamul deposu	Fibrus kılıf	16.02.2000	15.02.2000	–	–	–	2.9X10 ² k.s./g	–
38	Ekonomik sefa sucuk	Muhafaza deposu	Kollejen kılıf	21.02.2000	20.02.2000	–	–	–	–	–
39	Çatal sucuk	Market	Kollejen kılıf	21.02.2000	03.01.2000	–	–	–	–	–
40	Parmak sucuk	Mamul deposu	Kollejen kılıf	21.02.2000	20.02.2000	–	–	–	–	–
41	Extra kangal sucuk	Klimalardan	Vakumlu	29.02.2000	25.01.2000	–	–	–	–	–
42	Tost sucuk	Sevkiyatlama	Kollejen kılıf	29.02.2000	19.02.2000	–	–	–	–	–
43	Gazlı kangal sucuk	Mamul deposu	Vakumlu	29.02.2000	23.02.2000	–	–	–	–	–
44	Tost sucuk	Sevkiyat	Kollejen kılıf	01.03.2000	21.02.2000	–	–	–	–	–
45	Hususi sucuk	Market	Kollejen kılıf	07.03.2000	27.12.1999	–	–	–	2.4X10 ² k.s./g	–
46	Büfe sucuk	Market	Fibrus kılıf	07.03.2000	03.10.1999	–	–	–	–	–
47	Tost sucuk	Sevkiyat	Kollejen kılıf	07.03.2000	03.03.2000	–	–	–	–	–
48	Parmak sucuk	Etiketleme	Kollejen kılıf	20.03.2000	14.03.2000	–	–	–	–	–
49	Extra kangal sucuk	Etiketleme	Vakumlu	20.03.2000	15.03.2000	–	–	–	–	–
50	Tamet kangal sucuk	Market	Vakumlu	23.03.2000	15.01.2000	–	–	–	–	–

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmada kullanılan numunelerde **Fekal koliform** varlığı Lauryl Sulfate Tryptose Broth, Brilliant Green Lactose Bile Broth, EC Broth besiyerleri kullanılarak, *Escherichia coli* varlığı ise TBX MEDIUM CM 945 Metodu kullanılarak araştırıldı.

TBX MEDIUM CM 945, gıdalardan *Escherichia coli* izolasyonu ve sayımı için, Tryptone Bile Agar (TBA) (CM 595) baz alınarak geliştirilmiş olan kromojenik bir besiyeridir. Tryptone Bile Agar özellikle donmuş gıdalar olmak üzere bazı gıdalardan mikroorganizmaların daha iyi geri kazanımını sağlamaktadır. Ayrıca laktoz fermentasyonu zayıf olan *Escherichia coli* türlerinin tespitinde de hızlı ve doğru sonuç vermesi nedeniyle geleneksel *Escherichia coli* analiz yöntemlerine alternatif olarak geliştirilmiştir. TBX besiyeri içerisinde TBA'nın bu özelliklerine ilaveten glukuronidaz aktivitesini belirleyen 5-bromo 4-chloro-3 indolyl-beta-D-glucuronide (x-glucuronide) kromojeni bulunur. Glukuronidaz enzimi MUG reaktifi tarafından belirlenen enzimle aynı olup, *Escherichia coli* için oldukça spesifiktir. TBX besiyeri içinde serbest hale geçen kromofor MUG'dan farklı olarak çözünmez ve hücre içinde birikir. Böylece renkli hedef koloniler kolaylıkla ortamda ayırdedilir (Bridson, 1988).

Numunelerde **Salmonella** varlığı Laktoz Broth, Selenite Cystine Broth, Brilliant Green Agar, Triple Sugar Iron Agar, *Staphylococcus aureus* varlığı Baird Parker Agar, Egg Yolk Tellurite Emulsion, Staphylase-koagülase test kiti ve uygun yöntem kullanılarak araştırıldı.

Sülfid indirgeyen anerob bakteri sayımı Thioglycollate Broth, Butter field's çözültisi kullanılarak, spor boyama ve uygun yöntemlerle gözlenmiştir.

Deney sonuçlarına göre 50 adet numunede *Staphylococcus aureus* %12, **Sülfid indirgeyen anaerob bakteri** %6, **Fekal koliform** negatif, *Escherichia coli* negatif, *Salmonella ssp.* negatif olarak tespit edilmiştir.

Günümüzde ülkelerin çoğunda, özellikle gelişmiş olanlarda et ürünleri teknolojisi, et sanayiinde her geçen gün giderek daha da önemli bir faaliyet alanı haline gelmektedir. Çünkü, et ürünleri esas yapı öğeleri et ve yağa ek olarak çeşitli katkı maddelerini de içermeleri ve ayrıca yapımları için değişik teknolojik işlemlere uygulanmaları nedeniyle hoşı giden lezzet, aroma, renk, tekstür ve çoğu kez taze etten daha üstün besleyici değere de sahip besinlerdir.

Et ürünleri teknolojisinde ilk koşul, ürün yapımında yüksek kaliteli ham maddelerin kullanılmasıdır. Et ürünleri yapımında kullanılan ham maddeler fiziksel, kimyasal ve özellikle mikrobiyolojik etkenlerin oluşturdukları bir seri biyokimyasal reaksiyonların sonucunda çabucak bozulup kokuşurlar. Et ve yağda ilk kontaminasyon daha hayvan kesilir kesilmez başlar. Şöyleki; kesim hayvan temizlenmeden ve steril olmayan bıçakla yapıldığında, kesimden sonra bir süre daha çalışmasını sürdüren dolaşım sistemi aracılığı ile mikroorganizmalar hayvanın tüm vücuduna kolaylıkla yayılabilir.

Daha sonraki kontaminasyonlar sırasıyla yüzme, iç organların çıkartılması, parçalama, muhafaza, depolama, bizzat ürünlerine işlenirken ete uygulanan parçalama, kıyma, katkı maddeleri ilave etme, hamur yapımı, emülsiyon oluşturma, kılıflara doldurma, dumanlama, pişirme ve fermentasyon ve ayrıca yapılan ürünün paketlenmesi, muhafazası, dağıtımı ve pazarlanması sırasında kullanılan her türlü araç, gereç, donanım, yapım ve temizlik amacıyla kullanılan sulardan ve ayrıca görevliler özellikle yapım salonundaki usta ve işçilerin el ve giysilerinden ve hatta üretim yerlerinin atmosferinden de kaynaklanabilir. Bu bakımdan, herhangi bir et ürünü yapılanı değin, eti etkileyen her türlü işlem ve teknolojik uygulamalar sırasında gerekli hijyenik önlemlerin ve koşulların alınıp yürütülmesi ve kalite kontrol hizmetlerinin de özellikle mikrobiyolojik analizlerin yalnız tüketime sunulacak son üründe değil yapım tekniğinin belirli aşamalarında da bilinçli olarak yürütülmelidir (Dinçer, 1985).

Staphylococcus aureus ve **Sülfid indirgeyen anaerob bakteriler**'in incelediğimiz sucuk numunelerinde bulunması nedeninin yukarıda anlatmış olduğumuz hatalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Et ve ürünlerinin ihtiva ettiği mikroorganizma sayısının azaltılması, ürün kalitesinin korunması, işletme randımanının artırılması, ekonomik kayıpların azaltılması ve insan sağlığının korunması herşeyden önce hayvanın kesildiği kesimhaneden başlamak üzere, işletme prosesinin her safhasında hijyenik koşulların sağlanması ile mümkün olabilmektedir. Aksi taktirde mikroorganizmaların gelişmesi için uygun ortam oluşmakta ve kontaminasyon neticesinde de mikroorganizmalar hızlı bir şekilde çoğalarak yüksek sayılara erişmekte ve üründe arzu edilmeyen tat, koku,yapı ve renk bozulmalarına, kalite kayıplarına neden olmaktadır. Sonuçta, büyük ekonomik kayıplar da ortaya çıkabilmektedir. Diğer taraftan, hastalık etmeni patojen mikroorganizmaların bulaşması ile tüketici sağlığı açısından son derece tehlikeli sonuçlarda ortaya çıkabilmektedir (Gökalp, 1994).

KAYNAKLAR

- 1) ALPERDEN, İ., Özel Notlar (Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach; Staatliche Tierärztliche Untersuchungsamt, Aulendorf; Lehrstuhl für Lebensmittel Hygiene, frei Universität Berlin; Bundesgesundheitsamt Berlin; Lehrstuhl für Milch Hygiene und Technologie, Universität München.), 1978-1986.
- 2) ALPERDEN, İ., “Et ve Su Ürünleri Mikrobiyolojisi” Gıda Sanayiinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Yay. No:124. Tübitak-Marmara Araştırma Merkezi. Gebze, 1993.
- 3) APHA, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3rd.Ed. Chapter 33,53, 1992.
- 4) BEKA, H., Antibiyotiklerin Subminal İnhibitör Konsantrasyonlarının Bakterilerin İnce Yapı, Morfoloji ve Konakçı Savunma Mekanizmalarına Duyarlılıkları Üzerine Etkisi (Yüksek Lisans Tezi) Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji A.B.D. İstanbul, 1991.
- 5) BİLGEHAN, H., Klinik Mikrobiyoloji Kitabı, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, Bornova-İzmir. s:187-243, 1992.
- 6) BİLGEHAN, H., Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 2. Baskı. s:493-521, 1995.
- 7) BRIDSON, E.Y., “The Oxoid Manual” 8th. Ed. Oxoid Ltd., Hampshire, 1988.
- 8) CİNGİLLİ, H., “İzmit Körfezinde Deniz Kirlenmesine Sebep Olan E. coli Varlığı ve Körfezden İzole Eilen E. coli’lerde R plazmidlerine Bağlı Bulaşıcı Tipte Antibiyotik Direnç Özelliğinin Aranması” Yüksek Lisans Tezi, Gebze, 1997.
- 9) CORETTI, K., Starter kulturen in der Fleischwirtschaft. Fleischwirtschaft, 57, 386-394, 1977.
- 10) DEMEYER, D., CLAEY, E., DENAORE, K., VOSSAKER, B., The effect of starter cultures on stoichiometry and kinetics of dry sausage metabolism, Proceeding, 3th, European Meeting Meat Research Workers, Bristol, 1984.
- 11) DİNÇER, B., Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Gıda Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kükem Dergisi, Journal of Kükem. cilt:8, sayı:2, s:134-135, Eylül, Ankara, 1985.

- 12) ERTAŞ, H., Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Gıda Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kükem Dergisi, Journal of Kükem. cilt:8, sayı:2, s:131-132, Eylül, Ankara, 1985.
- 13) FAO, "Manual of Food Quality Control. 4-Rev.1. Microbiological Analysis". Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, 1992.
- 14) FDA, "Bacterial Analytical Manual", 8th. ed. Revision A. AOAC International, Washington, D.C., 1998.
- 15) FORSYTHE, S.J., HAYES, P.R., "Food Hygiene, Microbiology and HACCP". Aspen Publishers, Gaithersburg, 1998.
- 16) FRAZIER, W.C. WESTHOFF, D.C., Food Microbiology, 3rd Ed. McGraw Hill Book Comp. Inc. New York, p.77-100, 1978.
- 17) GAMAN, P.M., SHERRINGTON, K.B., Food poisoning and its prevention. "The Science of Food". s:199-246. Pergamon Press, 1981-1996.
- 18) GEDİKOĞLU, S., Klinik Mikrobiyoloji. Bursa Güneş & Nobel Tıp Kitabevleri. s:91-93, 1994.
- 19) GÖKALP, H.Y., KAYA, M., ZORBA, Ö., Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Atatürk Üniversitesi, Yay. No:786. Erzurum, 1994.
- 20) GRANUM, P.E., Clostridium perfringens toxins involved in food poisoning. Internatiöнал Journal of Food Microbiology, 10, 101-112, 1990.
- 21) HARRIGAN, W.F., "Laboratory Methods in Food Microbiology", Academic Press, San Diego, 1998.
- 22) İNAL, T., Besin Hijyeni. Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, İstanbul, 1992.
- 23) JABLONSKI, L.M., BOHACH, G.A., Staphylococcus aureus. "Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers" (Ed. M.C. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville), s:353-375. ASM Press, Washington, 1997.
- 24) JUNEJA, V.K., MARMER, B.S., MILLER, A.J., Growth and sporulation potential of Clostridium perfringens in aerobic and vacuum packaged cooked beef. Journal of Food Protection, 57, 393-398, 1994a.
- 25) JUNEJA, V.K., CALL, J.E., MARMER, B.S., MILLER, A.J., The effect of temperature abuse on Clostridium perfringens in cooked turkey stored under air and vacuum. Food Microbiology, 11, 187-193, 1994b.

- 26) KARAKUŞ, M., “Gıdalarda Mikrobiyal Gelişmeyi Etkileyen Faktörler”, Gıda Sanayiinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları. Yay. No:124. Tübitak- Marmara Araştırma Merkezi, Gebze, 1993.
- 27) LIEPE, H.V., Starter cultures in meat production, Biotechnology. 400-428, Verlag Chemie, Weinheim, 1983.
- 28) McCLANE, B.A., Clostridium perfringens, “Food Microbiology Fundamentals and Frontiers” (Ed. M.C. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville), s:305-326. ASM Press, Washington, 1997.
- 29) POUMEYROL, M., BILLON, J., The genus Clostridium and sulfitereducing anaerobes.”Microbiological Control for Foods and Africultural Products”. s:347-360. VCH Publishers, New York, 1995.
- 30) SNYDER, O.P., Microbiological quality assurance in foodservice operations. Food Technology, 40(7), 122-130, 1986.
- 31) SNYDER, O.P., Developing a total quality based food safety programme for a chilled food system. Cleveland Range, Inc. And Hospitality Institute of Technology and Management, Cleveland, 1993.
- 32) TÜRK STANDARTLARI ENSTİTÜSÜ, Türk Sucuğu, TS 1070/Ekim, 1983.
- 33) TÜRK STANDARTLARI ENSTİTÜSÜ, 6405/Ocak, 1989.
- 34) TÜRK STANDARTLARI ENSTİTÜSÜ, 7438/Eylül, 1989.
- 35) WEISER, H.H., MOUNTNEY, G.J., GOULD, W.A., Practical Food Microbiology and Technology, 2nd. Ed. The Avi. Pub. Comp. Inc. Westport, Connecticut, p.224-242, 1971.

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Ordu ili Fatsa ilçesinde doğdu. İlk,orta ve lise tahsilini Fatsa’da tamamladı. 1996 yılında Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 1997 yılında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladı.

Tablo 1.2. Süt ve Sütten Yapılan Bazı Ürünlerin 100 Gramlarının Sağladığı Enerji ve Besin Öğeleri Miktarları (Türkiye Diyetisyenler Derneği, 1988)

Yiyecekler	Ortalama Ölçü (100 gram için)	Enerji (Kal)	Karbonhidrat (gram)	Protein (gram)	Yağ (gram)	Kalsiyum (mg)	Demir (mg)	Vit A (I.U.)	Vit B ₁ (mg)	Vit B ₂ (mg)	Niyasin (mg)	Vit C (mg)
İnek sütü (Orta Yağlı)	Bir çay bardağı	64	5,5	3,5	3	120	0,1	150	0,04	0,21	0,1	1
Yoğurt (Orta Yağlı)	Bir çay bardağı	59	5,4	3,2	2,6	120	0,1	120	0,06	0,18	0,1	1
Çökelek (Taze)	Bir küçük su bardağı	100	3,2	35	5,6	150	0,3	150	0,03	0,35	0,6	0
Beyaz Peynir (Yağlı)	Üç kibrit kutusu büyüklükte	289	0	22,5	21,6	162	0,5	720	0,08	0,3	0,4	0

