

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÜFLÜ SUCUKLARDA MİKROFLORANIN BELİRLENMESİ VE KÜF
GELİŞMESİ ÜZERİNE MAYA İZOLATLARININ ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Öznur TURHAN**

Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği

Programı : Gıda Mühendisliği

OCAK 2010

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KÜFLÜ SUCUKLARDA MİKROFLORANIN BELİRLENMESİ VE KÜF
GELİŞMESİ ÜZERİNE MAYA İZOLATLARININ ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Öznur TURHAN
506071511**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 25 Aralık 2009
Tezin Savunulduğu Tarih : 28 Ocak 2010**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Z. Dilek HEPERKAN (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Emine Ubay ÇOKGÖR (İTÜ)
Yrd. Doç. Dr. Filiz ALTAY (İTÜ)**

OCAK 2010

ÖNSÖZ

Bu çalışmamda birçok kişinin emeği geçmiştir. Öncelikle değerli bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. Z. Dilek Heperkan'a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım sırasında yardım ve tecrübelerini benden esirgemeyen Dr. Funda Karbancıoğlu Güler'e, mikrobiyoloji konusunda bilgi ve yol göstermeleriyle yanımda olan sayın Levent Dinçer'e, yardımlarından dolayı arkadaşım Ceren Daşkaya'ya, ayrıca küflü sucuk örneklerinin temin edilmesinde yardımcı olan sevgili Cihan Şimşek'e teşekkür ederim. Attığım her adımda ve aldığım her kararda yanımda olan, bana destek olan aileme sevgilerimi sunarım.

Ocak 2010

Öznur Turhan
(Gıda Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ.....	3
2.1 Türk Sucuğu	3
2.1.1 Sucuğun kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri	6
2.1.2 Fermente et ürünlerinde ve sucukta mikrobiyal gelişme	7
2.2 Küfler	8
2.2.1 Gıdaların küfler tarafından bozulmasında etkili olan faktörler.....	9
2.2.1.1 Su aktivitesi	9
2.2.1.2 pH	9
2.2.1.3 Sıcaklık	10
2.2.1.4 Oksijen-karbondioksit	10
2.2.1.5 Ortamın yapısı	10
2.2.1.6 Besin maddeleri	10
2.2.1.7 Koruyucu maddeler	11
2.2.2 Bazı Penicillium cinsi küfler	11
2.2.1.1 Penicillium crustosum	11
2.2.1.2 Penicillium aurantiogriseum	12
2.2.1.3 Penicillium solitum	12
2.2.1.4 Penicillium commune	13
2.2.1.5 Penicillium chrysogenum	14
2.2.1.6 Penicillium nalgiovense	14
2.2.3 Cladosporium cladosporioides	15
2.3 Mayalar.....	15
2.3.1 Debaryomyces hansenii (Anamorph Candida famata)	16
2.3.2 Candida krusei.....	18
2.3.3 Candida parapsilosis	18
2.3.4 Candida zeylanoides	18
2.3.5 Rhodotorula mucilaginosa	19
2.4 Fermente Et Ürünlerinden İzole Edilen Küf Türleri	19
2.5 Fermente Et Ürünlerinden İzole Edilen Maya Türleri	24
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1 Materyal	29

3.2 Metot.....	30
3.2.1 Fizikokimyasal analizler	30
3.2.1.1 Nem tayini	30
3.2.1.2 Su aktivitesi	30
3.2.1.3 pH	30
3.2.2 Türk Gıda Kodeksi' ne göre sucuk için gerekli mikrobiyolojik analizler.....	30
3.2.3 Küf ve maya izolasyonu.....	31
3.2.4 Küf identifikasyonu.....	32
3.2.5 Maya identifikasyonu.....	33
3.2.6 Aşılamada kullanılacak maya ve küf süspansiyonlarının hazırlanması	36
3.2.7 Sucuk kılıflarına küf aşılması	37
3.2.8 Sucuklara küf ve maya aşılması	37
3.2.9 Maya izolatlarının küf gelişimini inhibe edici etkisinin incelenmesi	38
3.2.10 İstatistiksel Analizler	38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4.1 Küflü Sucuklarda Fizikokimyasal Analizlere Ait Bulgular	39
4.2 Sucukta Mikrobiyolojik Analizlere Ait Bulgular	40
4.3 Küflü Sucuk Örneklerinde Maya ve Küf Florası	42
4.4 Sucuk ve Sucuk Kılıflarında Küf ve Maya Gelişimi.....	46
4.5 Sucuktan İzole Edilen Mayaların Küf Gelişmesi Üzerine Etkisi	47
5. SONUÇ	51
KAYNAKLAR.....	53
EKLER.....	59
EK A.1	59
EK B.1	63
ÖZGEÇMİŞ.....	71

KISALTMALAR

CYA	: Czapek Yeast Ekstrakt Agar
MEA	: Malt Ekstrakt Agar
DRBC	: Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol
G25N	: %25 Glyserol Nitrate Agar
a_w	: Su aktivitesi
LAB	: Laktik asit bakterileri

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Sucuğun kimyasal özellikleri.	6
Çizelge 2.2 : Sucuğun mikrobiyolojik özellikleri.	6
Çizelge 2.3 : Norveç’e özgü et ürünlerinden izole edilen küfler (Asefa, 2009).	21
Çizelge 2.4 : Norveç’te kurutulmuş tütsülenmiş et ürünlerinden izole edilen küfler tarafından üretilen toksik metabolitler (Asefa ve diğ, 2009).	22
Çizelge 2.5 : Üretim sonrası sucuklardan izole edilen mikoflora (Andersen, 1995).	23
Çizelge 3.1 : Numunelere ait özellikler.	29
Çizelge 3.2 : API 20C AUX strip bileşimi.	34
Çizelge 4.1 : Küflü sucuklara ait pH, a_w ve nem değerleri.	39
Çizelge 4.2 : Küflü sucuk numunelerine ait mikrobiyolojik değerler.	42
Çizelge 4.3 : Küflü sucuk örneklerinden izole edilen maya ve küf türleri.	43
Çizelge 4.4 : API test kiti ile tanımlanmış maya türleri ve doğruluk yüzdeleri.	44
Çizelge 4.5 : İzole edilen küf türlerinin belirli sıcaklıktaki gelişimleri.	45
Çizelge 4.6 : İzole edilen küflerin ürettikleri mikotoksinler.	46
Çizelge 4.7 : İzole edilen küf ve maya suşlarının kılıf ve sucuk üzerinde gelişimi.	47
Çizelge 4.8 : Mayaların küf gelişmesine etkisi.	48

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Sucuk üretim akış şeması (Aytaç Gıda).....	4
Şekil 2.2 : Domuz pastırmasının üretim aşamalarında izole edilen maya türlerinin karşılaştırılması (Asefa, 2009).....	28
Şekil 3.1 : Küflere ait identifikasyon şeması (Pitt ve Hocking, 1997).....	32
Şekil 3.2 : DRBC ve MEA agarda maya identifikasyonu.....	33
Şekil 3.3 : API test kiti kullanılarak yapılan maya identifikasyonunun aşamaları...	35
Şekil 3.4 : İnkübasyon sonrası test küpüllerinin görünümü.....	36
Şekil 3.5 : Test küpüllerinin değerlendirilmesi.....	36
Şekil 3.6 : Küf aşılannmış kılıfların inkübasyon sonrası görünümlemleri.....	37

KÜFLÜ SUCUKLARDA MİKROFLORANIN BELİRLENMESİ VE KÜF GELİŞMESİ ÜZERİNE MAYA İZOLATLARININ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Türk usulü fermente sosis olarak da isimlendirilen sucuk Türkiye’de en iyi bilinen ve en çok tüketilen et ürünlerinden birisidir. Sucuk; koyun, sığır veya manda etinin, iç veya kuyruk yağı, tuz, şeker, nitrit/nitrat, sarımsak, karabiber, kırmızı biber, kimyon gibi çeşitli baharatlarla karıştırılmasıyla elde edilmektedir. Diğer fermente et ürünlerinde olduğu gibi sucuk içerdiği tuz, bakteriyosin, laktik asit, nitrit/nitrat, düşük pH ve su aktivitesi (a_w) nedeniyle uzun raf ömrüne sahiptir. Fermente sucukların güvenilirliğini tuz, antimikrobiyal madde, nitrat/nitrit, olgunlaşma sırasında gelişen pH ve su aktivitesi gibi birçok faktör etkilemektedir. Bununla birlikte, küf gelişimi ve sucuktaki patojen mikroorganizma varlığı gıda güvenliği açısından tüketici için büyük bir problem teşkil etmektedir.

Türkiye’de et ürünleri arasında en çok tüketilen ürünlerden birisi olan sucukta zaman zaman yüzeyde küflenme problemi ile karşılaşmaktadır. Sucukta gelişen bu küfler sağlık açısından risk taşıyabilmektedir. Bu çalışmada İstanbul piyasasında satışa sunulan ve küf gelişmesi gözlenen sucuk örneklerinde yüzeyde gelişmekte olan organizmaların tür düzeyinde belirlenmesi, gelişmesini etkileyen faktörlerin aydınlatılması için bazı özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Örneklerde ayrıca *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *koliform* bakteri, küf ve maya varlığı belirlenmiş, elde edilen sonuçlar Türk Gıda Kodeksi’ndeki verilerle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Ayrıca küflü sucuklar üzerinde fiziko-kimyasal parametreler (pH, su aktivitesi, nem içeriği) belirlenmiş ve izole edilen mayaların küf gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir.

DETERMINATION OF MOLDY SUCUKS' MYCOFLORA AND EFFECT OF ISOLATED YEASTS ON MOULD GROWTH

SUMMARY

Turkish style fermented sausages (sucuk) is a well-known and very popular meat product produced in Turkey. It is produced from sheep and/or beef meat, water buffalo meat, beef fat or tail fat, salt, sugar, nitrite/nitrate, garlic and various spices such as black pepper, red pepper, cumin. Like all fermented sausages, sucuks have a long storage life due to the added salt, the antimicrobial metabolites such as bacteriocins, lactic acid etc. produced by Lactic acid bacteria, the presence of additives (nitrite, nitrate), low pH and water activity levels which occurs during maturation. However, problems due to the growth of mould and pathogenic bacteria in fermented sausage may cause serious food safety problems for consumers. The safety of fermented sausage is based on different factors including added salt, antimicrobial metabolites (bacteriocins, lactic acid etc.), the presence of additives (nitrite, nitrate), low pH and water activity (a_w) which develop during maturation.

Among meat products, the consumption and production of sucuk which sometimes has surface mould problem is widespread in Turkey. These moulds can have health risk for people. For this reason, this study was planned to detect the presence of mould and yeast, total *coliform* bacteria, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* were studied in Turkish sucuks sold in İstanbul and to evaluate the results according to Turkish Food Codex. Also, physico-chemical parameters (pH, a_w , and moisture content) were detected on mouldy sucuks and effect of yeasts on mould growth was examined.

1. GİRİŞ

Türk usulü fermente sucuk Türkiye’de en çok tüketilen et ürünüdür. Sucuk; koyun, sığır veya manda etinin, iç veya kuyruk yağı, tuz, şeker, nitrit/nitrat, sarımsak, karabiber, kırmızıbiber, kimyon gibi çeşitli baharatlarla karıştırılmasıyla elde edilmektedir. Türk Standardı (TS 1070, 2002)’ na göre sucuk tanımı; mevzuatına uygun kombina ve mezbahalarda kesilen kasaplık hayvanların gövde etlerinden hazırlanan sucuk hamurunun, doğal veya yapay kılıflara doldurulup, olgunlaştırma işlemine tabi tutulması ile elde edilen ürün olarak tanımlanmaktadır. Türk Gıda Kodeksi’ne göre ise sucuk, kıyma makinasında veya kuterde kıyılmış et ve yağın, tuz, şeker, çeşitli baharat ve çok az miktardaki diğer katkı maddeleri ile karıştırılıp, doğal veya yapay kılıflara doldurulması ve belirli bir sıcaklık derecesi ve bağıl nemde, hava hareketi ile belirli bir sürede olgunlaştırılması ile elde edilen yarı kuru et ürünüdür.

Sucuk ülkemizin hemen her yöresinde en fazla üretilen ve halkımız tarafından da sevilerek tüketilen bir üründür. Ayrıca yüksek düzeydeki besin içeriğinden dolayı mikrobiyal kontaminasyona son derece eğilimlidir. Bu proje ile piyasadan temin edilen küflü sucuklar üzerinde araştırma yapılarak et sektörünün büyük sorunu olan küflenme ve bozulma sorunun çözümüne katkı sağlamak amaçlanmıştır. Sucukta bozulmaya sebep olabilecek maya ve küflerin identifikasyonu (tanımlama) yapılarak, izolatlar tür düzeyinde saptanmış ve maya izolatlarının küf gelişmesi üzerine etkili olup olmadıkları incelenmiştir. Çalışmanın ürün kalitesine, sağlığa ve ülke ekonomisine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. LİTERATÜR BİLGİSİ

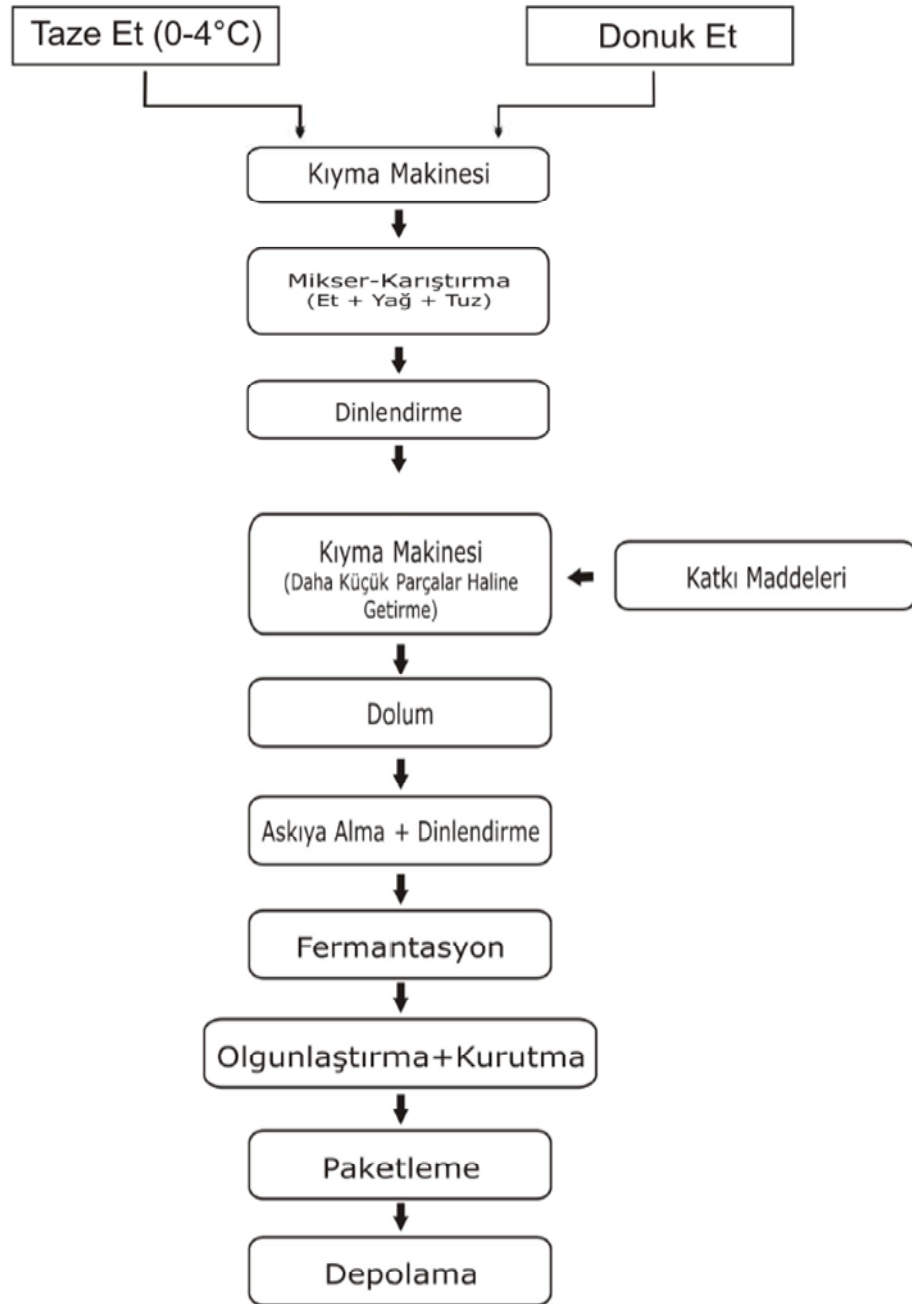
2.1 Türk Sucuğu

Türk fermente sucuğu, doğal mikroflorası ve ilave starter kültürlerle fermente olabilen geleneksel bir et ürünüdür. Sucuk üretiminde koyun, sığır, manda eti; kuyruk veya iç yağı, tuz, şeker, nitrit/nitrat, sarımsak ve çeşitli baharatların karışımı kullanılır. Sucuk, kıyma makinasında veya kuterde kıyılmış et ve yağın, tuz, şeker, çeşitli baharat ve çok az miktardaki diğer katkı maddeleri ile karıştırılıp, doğal veya yapay kılıflara doldurulması ve belirli bir sıcaklık derecesi ve bağıl nemde, hava hareketi ile belirli bir sürede olgunlaştırılması ile elde edilen yarı kuru et ürünüdür (TGK, 2000).

Ülkemizde sucuk diğer et ürünlerine kıyasla daha fazla üretilmekte ve tüketilmektedir. Türk Standardı'na göre sucuk tanımı; mevzuatına uygun kombina ve mezbahalarda kesilen kasaplık hayvanların gövde etlerinden hazırlanan sucuk hamurunun, doğal veya yapay kılıflara doldurulup, olgunlaştırma işlemine tabi tutulması ile elde edilen ürün olarak tanımlanmaktadır. Standarda göre, sucukta kullanılan fermentasyon düzenleyici ve hızlandırıcılar (starterler) ise; Stafilokoklar (*S. carnosus*, *S. xylosus*), Mikrokoklar (*Kocuria. varians*), Laktobasiller (*L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. saki*), Pedikoklar (*P. pentosaceus*, *P. acidilactici*), Mayalar (*Debaryomces hansenii*) gibi mikroorganizmalardır (TS 1070, 2002).

Sucuk formülasyonu, pazar isteklerine ve işletmede mevcut olan hammadde miktar ve çeşidine bağlı olarak değişebilir. Ülkemizde genelde sucuk formülasyonunda %45 sığır eti, %45 manda eti ve %10 kuyruk yağı veya %80 yağsız sığır eti ve %20 sığır et yağı kullanılabildiği gibi, üretimde koyun etine de yer verilebilmektedir. Bazı araştırmacılar formülasyonda kuyruk yağı oranının %10'u geçmemesi gerektiğini belirtmektedirler. Yine sucuğa katılacak katkı maddeleri ve baharat çeşidi ve oranları pazar isteklerine bağlı olarak değişebilir, çok çeşitli formülasyonda ürünler üretebilir (Gökalp ve diğ., 2002).

Sucuk üretiminin en kritik aşaması olan olgunlaştırma sırasındaki sıcaklık, bağıl nem ve nem oranı düşük temiz hava cereyanı ürün kalitesini etkileyen en önemli faktörlerdir. Ülkemizde sucuk olgunlaştırması, daha çok doğal şartlarda yapılmaktadır. Ancak, son yıllarda bu amaca yönelik olarak sıcaklık, bağıl nem ve hava cereyanının kontrol edilebildiği klima odalarında olgunlaştırma yaygınlık kazanmıştır.



Şekil 2.1 : Sucuk üretim akış şeması (Aytaç Gıda).

Sucuk ve benzeri fermente ürünlerin olgunlaşmasında çok sayıda parametre etkili olmaktadır. Bu parametreler arasında bağıl nem, sıcaklık, hava cereyanı, tuz ve şeker miktarı, yağ miktarı, etin parçalanma derecesi, kılıf tipi ve genişliği (kalibresi) yer almaktadır. Sucukların olgunlaşması sırasında pH, a_w , tekstür ve ağırlık kaybı (değişimi) oldukça önemli kriterlerdir. Bu kriterlere ait değerler, objektif bir değerlendirme için temel şarttır. Ayrıca olgunlaştırma süresince belirli periyotlar halinde elde edilen bu veriler, olgunlaşma seyrinin takibi ve kaliteli ürün üretimi için gereklidir.

Olgunlaşmış ve su oranı %40'a düşmüş sucukların, ambalajlanmadan önce belirli bir süre depolanma zorunluluğu var ise, bu sucuklar 10-15°C sıcaklık, %70-75 bağıl nem ortamında depolanabilmektedir. Bu sırada, hava cereyanı oldukça düşük seviyede (0,05-0,1 m/s) tutulmalıdır. Depolama sırasında sucuklarda az da olsa kuruma söz konusudur. Eğer ürünün biraz daha kuruması gerekli ise, bağıl nem %70 düzeyinde tutulmalıdır. Eğer bağıl nem daha düşük olur ise sucukların yüzeyinde aşırı bir kuruma olacaktır. Bu nedenle aşırı hava cereyanından kaçınılmalıdır. Olgunlaşma sırasında direkt güneş ışığı ile temastan da kaçınılmalıdır. Çünkü ışık oksijenle birlikte sucuk yüzeyinde renk bozulmalarına ve acılaşmaya sebep olmaktadır. Sucuk söz konusu koşullara uygun şekilde üretilse bile zaman zaman yüzeyde küf benzeri bir tabaka meydana gelmekte ve bu durumdaki sucuklar bozulmuş olarak kabul edilmektedir. Depolama sırasında sucuk yüzeyinde küf gelişmesine yol açan en önemli faktörlerin yüksek bağıl nem ve yüksek sıcaklık olduğu bilinmektedir. Bazı işletmelerde küflenmeye karşı ürün yüzeyi % 15-20'lik potasyum sorbat ile muamele edilmektedir. Uygulama çözeltiye daldırılarak veya püskürtme şeklindedir. Bu uygulamanın ürün etiketinde mutlaka belirtilmesi gerekmektedir (Gökalp ve diğ., 2002).

Türk Standartları Enstitüsü TS 1070'de Türk sucuğunun bazı kalite özellikleri şöyle belirtilmiştir: Su oranı en fazla %40; tuz en fazla %5; inorganik boya bulunmamalı; pH değeri en fazla 5,8, en az 5,4; kokuşma testleri negatif, iç organ bulunmamalı ve bağ dokusu oranı aşırı yüksek olmamalıdır. Tek tırnaklı hayvan eti veya diğer yabancı tür hayvan eti bulunmamalı, çeşitli patojen mikroorganizma ve *E.coli* bulunmamalı, toksikolojik muayene negatif sonuç vermelidir.

2.1.1 Sucuğun kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri

TS 1070 (2002) standardına göre sucukların kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri aşağıdaki çizelgelerde verilen değerlere uygun olmalıdır.

Çizelge 2.1 : Sucuğun kimyasal özellikleri.

Özellikler	Değerler
Rutubet, % (m/m), en çok	40
Tuz, (NaCl cinsinden) % (m/m), en çok	5
Nitrit (NaNO ₂ cinsinden) mg/kg, en çok	50 mg/kg satış yerinde
Boyar madde	Bulunmamalıdır.
pH	4,7-5,4
Hidroksiprolin, mg/100g, en çok	225

Çizelge 2.2 : Sucuğun mikrobiyolojik özellikleri.

Özellikler	Değerler			
	n	c	m	M
<i>Escherichia coli</i> (kob/g)	5	1	5x10 ¹	1x10 ²
<i>Escherichia coli</i> (kob/g) O157:H7	5	0	Bulunmamalı	
<i>Staphylococcus aureus</i> (kob/g)	5	1	5x10 ²	5x10 ³
<i>Clostridium perfringens</i> (kob/g)	5	2	10	10 ²
<i>Listeria monocytogenes</i> (25 g'da)	10	0	Bulunmamalı	
<i>Salmonella</i> (kob/g)	5	0	25 g numunede bulunmamalı	
Küf ve maya	5	2	10	10 ²
Koliform bakteri EMS/g, en çok	5	0	10	-
n: Deney numunesi sayısı c: (m) ile (M) arasındaki sayıda mikroorganizma ihtiva eden kabul edilebilir en fazla deney numunesi sayısı m: (n-c) sayıdaki deney numunesinin 1 g'ında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla deney numunesi sayısı M: (c) sayıdaki deney numunesinin 1 g'ında bulunabilecek kabul edilebilir en fazla mikroorganizma sayısı Kob: koloni oluşturan birim.				

Sucuğun sahip olması gereken mikrobiyolojik değerlerine baktığımızda; Türk Standartları Enstitüsü Fermente Sucuk Standardına (TSE 1070) göre; incelenen her beş örnekte aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının örneklerin üçünde 10⁵ kob/g'ı, ikisinde 10⁶ kob/g'ı, *S. aureus* için üç örnekte 10 kob/g iki örnekte 10²

kob/g'ı; maya ve küf sayısı için örneklerin tümünde 10^2 kob/g'ı ve koliform grubu bakterilerin 10 kob/g'ı geçmemesi gerektiği öngörülmektedir. Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği'nde ise; maya ve küf sayısının incelenen beş örnekten üçünde 10 kob/g'ı; ikisinde 10^2 kob/g'ı; *S. aureus*'un her beş örnekten birinde 5×10^3 kob/g, dördünde 5×10^2 kob/g'ı geçmemesi gerektiği belirtilmektedir. *S. aureus* özellikle pH değeri 4,2'nin üstünde olan fermente et ürünlerinde bulunabilme şansı yüksek olan bir bakteri türüdür (Çon ve diğ., 2002).

Türk Standardı (9298)'e göre sucuğun olgunlaşması ve kuruması, kılıflanmış sucuk hamurunun biyokimyasal olaylar sonucunda pH'nın uygun seviyeye inmesi (4,8-5,0) için uygun sıcaklıkta (15-26°C) ve nemde (%70-95) 7-14 gün tutularak açık havada veya kapalı yerlerde tabii veya suni hava cereyanında, rutubet %35-40'a düşünceye kadar kurutulmasıdır (TS-9298, 1991).

2.1.2 Fermente et ürünlerinde ve sucukta mikrobiyal gelişme

Fermente sucuğun mikroflorasını oluşturan arzu edilen mikroorganizmalar kadar arzu edilmeyen mikroorganizmalar da zaman zaman gözlenmektedir. Bunların başlıcaları; mesentericus-subtilis grubu basiller (aerob sporlular), anaerob basiller (patojen Clostridiler), *Proteus*, *Escherichia coli*, hemolitik Streptokoklar, *Pseudomonas aeruginosa*, koagulaz ve lesitinaz pozitif Stafilocoklar (İnal, 1992).

Sucukta küf gelişimi sektörün önemli sorunları arasında yer almaktadır. Erdoğan ve diğ. (2005)'nin Kahramanmaraş bölgesinde yapmış oldukları çalışmada küf ve maya sayısı 7.0×10^5 kob/g olarak tespit edilmiştir. Bu ortalama değer Sancak ve diğ. (1996)'nin elde ettikleri sonuçlar ve Çon ve diğ. (2002)'nin bulguları ile benzerlik göstermektedir. Numunelerde bulunan maya ve küf sayısındaki bu farklılıkların, başta ham materyalin içerdiği mikroorganizma düzeyi ve muhafaza sıcaklığına bağlı olarak, değişik teknolojik ve hijyenik faktörlerle (pişirme sıcaklığı, personel hijyeni, paketlenme sırasındaki kontaminasyon) ilgili olduğu söylenebilir.

Maya ve küfler oldukça geniş pH aralığında (pH 2-9), depolama sıcaklığında (10-35°C) ve su aktivitesinde (0,80 ve üzeri) üreyebilmektedirler. Aynı zamanda yüksek tuz ve şeker konsantrasyonlarına sahip ortamlarda kolaylıkla gelişebilmektedirler (Pitt ve Hocking, 1997). Bazı küf türleri bulaştıkları gıda maddelerinde gelişerek salgıladıkları toksik metabolitler, mikotoksinler nedeniyle gıda maddelerinin tüketilmesi durumunda ölümle sonuçlanabilen zehirlenmelere yol açabilmektedirler. Bazı maya ve küflerin ise enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir.

Fermente et ürünleri üzerine günümüze kadar pek çok araştırmalar yapılmıştır. Soyer ve diğ. (2005)' nin yaptığı çalışmada, %10 ve %20 oranında yağ içeren ve yüksek olgunlaştırma sıcaklığına maruz kalmış sucukların laktik asit üretimi, iyi bir renk gelişimi, hızlı pH ve su aktivitesinde azalma gibi avantajlara sahip olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, yüksek olgunlaştırma sıcaklığına maruz kalmış %30 yağ içeren sucuklarda zayıf renk gelişimi belirtilmiştir. %10 yağ içeren sucukların %30 ve %20 yağ içeren sucuklara göre pH ve su aktivitesine bağlı olarak daha iyi depolama kalitesine sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle sucuk içeriğindeki hammaddelerin (et cinsi, kalitesi, tuz, yağ) pH ve a_w üzerine etkileri olduğu için sucuk kalitesini çok kolay değiştirebilmektedir (Soyer ve diğ., 2005).

Karakaya ve diğ. (2006) sucuk içeriğindeki et çeşitlerinin miktarının sucuk kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlar ve sığır eti ile yapılan sucukların tavuk eti içeren sucuklara göre daha iyi tekstür ve aromaya sahip olduğu sonucuna varmışlardır. Bununla birlikte tavuk eti katılmış sucukların daha iyi renk alma ve duyu kalite açısından daha iyi olduğu görülmüştür.

2.2 Küfler

Doğada hava, toprak, su ve organik maddeler üzerinde yaygın olarak bulunurlar. Küfler miselyum oluşturan çok hücreli funguslar olarak tanımlanmıştır. Küf hücreleri art arda dizilerek hifleri, çeşitli şekillerde dallanma yapmak suretiyle bir araya gelerek miselyumu oluştururlar. Küfler eşeyli ve eşeysiz olmak üzere iki tip çoğalma gösterirler (Akçelik ve diğ., 2000).

Küfler, vejetatif hücre yapıları renksiz olan canlılardır. Ancak çoğalma elemanı olarak oluşturdıkları sporlar gelişme ortamındaki koşullara, cins ve türe bağlı olarak değişen renklere sahiptirler. Küfler, gelişme ortamında hücre veya hif sayısının artışı ile çevreye yayılır ve yüzeyde pamuk gibi yumuşaklaşan topluluklar oluştururlar. Gelişmeleri ile çoğalma etkinliği ilerleyerek bir kese içinde veya doğrudan açıkta sporların oluşumu gözlenir. Bu sporlar oluşumun ilk aşamasında renksizdir. Küflerin tanımlanmasında ve ayırımında genellikle eşeysiz spor ve bununla ilgili yapılardan faydalanılır (Şahin ve Korukluoğlu, 2000).

Küflerin gelişmelerini sınırlayan en önemli etken bulaştıkları yer ve ortamın su içeriğidir. Sentezledikleri enzimlerle aşırı karmaşık yapıdaki organik maddeleri yapı elemanlarına yıkarlar ve bunlardan besin kaynağı olarak yararlanırlar. Küfler beslenmeleri için gerçekleştirdiği metabolik etkinlikler sırasında çok fazla sayı ve çeşitte madde oluşturmaktadır. Küflerin oluşturduğu birincil metabolitler, alkoller, organik asitler, enzimler vb. sayılırken, ikincil metabolitleri mikotoksinlerdir (Şahin ve Korukluoğlu, 2000).

2.2.1 Gıdaların küfler tarafından bozulmasında etkili olan faktörler

2.2.1.1 Su aktivitesi

Su aktivitesi (a_w) fizikokimyasal bir özellik olup, gıda teknolojisinde önemli bir parametredir. Nemden farklı olarak su aktivitesi, gıda kalitesindeki kimyasal ve mikrobiyolojik kararlılığı da belirler (Petek, 2000).

Termodinamik anlamda bir gıdanın içerdiği suyun buhar basıncının (P), aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına (P_0) oranı olarak ifade edilen a_w 0 ile 1 arasında değişir (Petek, 2000).

Gıdalar nem içerikleri açısından yüksek (a_w 0,9-1), orta (a_w 0,6-0,9) ve düşük ($a_w < 0,6$) olarak gruplandırılabilir (Petek, 2000).

Küfler düşük a_w 'nde gelişebilen mikroorganizmalardır. Kserofilik küfler ise 0,85 a_w altında gelişebilen küflerdir (Pitt ve Hocking, 1997).

2.2.1.2 pH

Yüksek su aktivitesine sahip gıdanın bozulmasında bakteri ve küfler yarış halindeyken, burada belirleyici olan ortamın pH'ıdır. Bakteri florası nötr pH civarında rahat gelişme gösterirken, ortam pH'ının 5'in altına düşmesi bakteri gelişimi sınırlandırır. Çoğu küf pH'ın değişiminden çok az etkilenmektedir. Küfler pH 3-8 arası faaliyetlerini sürdürebilmektedirler (Pitt ve Hocking, 1997).

Küfler için minimum gelişme pH'ı 1,5-3,5, optimum pH 4,5-6,8, maksimum pH 9,0-11,0 olarak belirtilmiştir (Akçelik ve diğ., 2000).

2.2.1.3 Sıcaklık

Gıdanın muhafazasında hem işleme hem de depolama sıcaklığı önemlidir. Askosporlu küflerin, konidili küflere göre ısısal işleme karşı daha dayanıklı olduğu Pitt ve Christian (1970) tarafından belirtilmiştir (Pitt ve Hocking, 1997).

2.2.1.4 Oksijen-karbondioksit

Küfler gelişmeleri için atmosferik oksijenden çok substrat içinde çözünmüş oksijene ihtiyaç duymaktadırlar. Çoğu küf yüksek karbondioksit konsantrasyonundan olumsuz etkilenmektedir (Pitt ve Hocking, 1997).

Taniwaki ve diğ. (2001) peynirler üzerinde *P.commune* türünün MAP koşullarında gelişimini incelemek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, *P.commune*'ün havadaki O₂ oranı azaldıkça ürettiği cyclopiazonic asitin de azaldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca *P.commune*'ün %20-40 CO₂ %1-5 O₂ bulunan ortamda rahatlıkla gelişebildiği görülmüştür.

2.2.1.5 Ortamın yapısı

Genellikle mayalar sıvı ürünlerde kolaylıkla ortama dağılıp bozulmaya yol açarken, küfler katı ve hava geçiren yüzeylerde daha rahat gelişme göstermektedirler (Pitt ve Hocking, 1997).

2.2.1.6 Besin maddeleri

Mikroorganizmalar gelişip, çoğalmaları için su, enerji kaynağı, azot kaynağı, vitaminler ve minerallere ihtiyaç duyarlar. Küfler istekleri en az olan mikroorganizlardır (Akçelik ve diğ., 2000).

Enerji ihtiyaçlarını karşılayabilmek, protein ve DNA gibi makromolekülleri oluşturmak için farklı besin maddelerine gereksinim duyarlar. Küfler karbonhidratları sentezleyemezler. Proteince zengin ortamlara geçerek karbonhidrat kaynağı olmadan karbon kaynağı olarak aminoasitleri kullanırlar (Samson ve diğ., 2002).

Karbonhidratları parçamalarıyla etanol, organik asitler (sitrik asit, fumarik asit, okzalik asit, glikolik asit) ve polioller (mannitol, arabitol) ortaya çıkar ve bu metabolitlerin çoğu hayvan ve mikroorganizmalar için toksiktir (Samson ve diğ., 2002).

2.2.1.7 Koruyucu maddeler

Koruyucu maddelerin katılmasıyla gıdaların küfler tarafından bozulması önlenmektedir. Bozulmayı önlemek için benzoik asit, sorbik asit, propiyonik asit izin verilen oranlarda kullanılmaktadır (Pitt ve Hocking, 1997).

Sorbik asitin küf ve maya gelişimini inhibe edici etkisi vardır, fakat antibakteriyel etkisi sınırlıdır (Eklund ve Skirdal, 1993). Eklund ve Skirdal'ın 1993 yılında yaptıkları bir çalışmada *P.chrysogenum* ve *C.cladosporioides* üzerinde inhibe edici etkisi olan sorbik asitin pH 4,1-7,6 arasında minimum konsantrasyonları belirlenmiştir. 1-230 mmol⁻¹ sorbik asitin *P. chrysogenum* üzerinde, 0,3-18,0 mmol⁻¹ düzeyindeki sorbik asitin *C.cladosporioides* üzerinde inhibe edici olduğu saptanmıştır.

2.2.2 Bazı *Penicillium* cinsi küfler

2.2.1.1 *Penicillium crustosum*

P.crustosum türüne özgü olan büyük penicili ve phialidiye sahiptir. *Penicillium* cinsi küflerin arasında en çabuk gelişen türlerden biridir. *Penicillium crustosum* Czapek Yeast Ekstrakt Agar'da (CYA) 30-40 mm çapında, düz, yüzey, pudramsı, mavi yeşil koloniler oluşturur. Konidia grimsi yeşil, mavi yeşil, mat sarı yeşil veya mor renktedir. Malt Eksrakt Agar'da (MEA) yaklaşık 10 günlük bir inkübasyon sonucunda çok sayıda konidia oluşturur. Tanımlanmasında en belirgin özellik MEA'da petri kutusuna vurulduğunda dağılan çok sayıda konidia oluşturmaktır. Mikroskop altında bakıldığında düz duvarlı, küresel konidialara sahiptir. *Penicillium crustosum* optimum 25°C' de gelişebilen psikrotrofik bir küftür (Pitt ve Hocking, 1997).

Penicillium crustosum günümüzde gıdalarda ve yemlerde çok sık rastlanan bir tür olarak tanımlanmaktadır. *P.crustosum* 1930 yılında Raper ve Thom (1949) tarafından elmalarda bozulmaya yol açan zayıf bir patojen olarak tanımlanmıştır.

Penitrem A dışında *Penicillium crustosum*'un oluşturduğu diğer metabolitlerin başlıcaları, rokofofortin C (roquefortine C), terrestrik asit (terrestric acid), penicilik asit, viridikatin (viridicatin), isofumigaklavin A ve B (isofumigaclavin A and B), penitrem F olarak sıralanabilir (Samson ve diğ., 2002).

Penicillium crustosum her yerde rastlanabilen ve bozulma etmeni olan bir küftür. İspanya’da kullanılan hayvan yemlerinde (Bragulat ve diğ., 2008), Danimarka, Fransa, İtalya’da üretilen peynirlerde (Lund ve diğ., 1995), fındıkta (Overy ve diğ., 2003) yüksek düzeyde bulunmuştur.

Larsen ve diğ. (2000) *P.crustosum*’un peynir agarı üzerinde cyclophenol, roquefortine C, viridicatin, penitrem A gibi metabolitler ürettiğini saptamışlardır.

2.2.1.2 *Penicillium aurantiogriseum*

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

P. aurantiogriseum ’un minimum gelişme sıcaklığı -2°C, optimum 30°C’dir. Lipolitik aktivitesi çok yüksek olup minimum gelişebileceği su aktivitesi 0,81’dir.

Kanatlılarda ve tavşan yemlerinde çok karşılaşılan bir küf türüdür (Bragulat ve diğ.,1995).

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

Yapılan bir çalışmada fermente sucukların duyusal kalitesini arttırmak için *P.aurantiogriseum*’un toksijenik olmayan ve lipolitik, proteolitik aktiviteye sahip olan suşları kullanılmış ve olumlu sonuç alınmıştır (Bruna ve diğ., 2001).

2.2.1.3 *Penicillium solitum*

Penicillium solitum Czapek Agar ve CYA’ da 25°C de koyu yeşilden mavimsi yeşile dönen konidialar oluşturmaktadır. Kolonilerin tersi kahverengi merkezli krem sarı renktedir. Peynir ve et ürünlerinde kontaminasyon sonucu bulunur. Elmalarda patojenik olabilmektedir (Pitt ve Hocking, 1997). İspanya’da kullanılan hayvan yemlerinde yüksek düzeyde bulunmuştur (Bragulat ve diğ., 2008).

Günümüze kadar yapılan araştırmalarda *P.solitum*’a ait hiçbir mikotoksin saptanmamıştır. Norveç’e özgü kürlenmiş et ürünlerinde küf mikroflorasında %13

P.solitum izole edilmiş ve bu türe ait hiçbir suşta toksik madde tespit edilmemiştir (Asefa ve diğ., 2009).

Lund ve diğ. (1995) *P.solitum*'u peynirden izole etmişlerdir. Larsen ve diğ. (2000) ise peynir agarı üzerinde gelişme gösteren bu türün viridicatines, solistatin, compactine gibi metabolitler ürettiğini tespit etmişlerdir.

2.2.1.4 Penicillium commune

P. commune genellikle peynirlerde görülen bozulma etmeni olan *Penicillium* türleri arasında bulunur (Pitt ve Hocking, 1997). Optimum gelişme sıcaklığı 25°C maksimum 35°C'dir. %80 CO₂, % 20 O₂ koşullarında gelişmesi yavaşlamaktadır. (Taniwaki ve diğ., 1995).

P. commune kolonileri 25°C'de 7 gün içinde 2,5-3 cm çapında gelişme göstermektedir. Gri yeşil ve grimsi turkuaz renkte konidialar oluşturur. Önemli toksik metabolitleri cyclopiazonic acid, rugulovasine A ve B'dir. Daha çok peynirde ve et ürünlerinde kontaminant olarak bulunmaktadır.

Lopez Diaz ve diğ. (2001)'nin özel fermente İspanyol sucukları (chorizo de Cantimpalos) üzerine yaptıkları bir çalışmada *P.commune*'ün cyclopiazonic acid ürettiği bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada ispanyol sucuklarının yüzeyinden alınan örneklerden 54 küf izole edilmiştir. Bu izolatların 18 adedi *P. commune* olarak tanımlanmıştır. Artemia salina larvalarında yaptıkları test sonucunda *P.commune*'ün 8 suşunun 16 saat sonrasında %50-89 oranında toksik, 24 saat sonra ise %90-100 oranlarında toksik olduğu saptanmıştır.

İspanya'da kullanılan hayvan yemlerinde yüksek düzeyde bulunmuştur (Bragulat ve diğ., 2008).

Lund ve diğ. (1995) yarı sert, yarı yumuşak peynirler üzerinde yaptıkları çalışmada *P.commune* türünün floranın büyük bir kısmını oluşturduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bu türün peynirlerde cyclopiazonic asit ürettiği için potansiyel risk teşkil ettiği vurgulanmıştır. Yapılan çalışmada peynirin bütün aşamalarında peynirden ve üretim ortamından izole edilmiştir.

Larsen ve diğ. (2000) peynir agarı üzerinde gelişme gösteren bu türün cyclopiazonic acid, rugulovasin A ve B, viridicatin gibi metabolitler ürettiğini gözlemlemişlerdir.

2.2.1.5 *Penicillium chrysogenum*

P. chrysogenum kolonileri Czapek Agar'da 25°C de hızlı bir şekilde üremektedir ve 10 gün içinde 4-5 cm çapında sarı yeşil veya soluk mavi yeşil renktedir. Oluşturduğu önemli toksik metabolitler; roquefortine C, meleagrin, penicillindir. Daha çok düşük su aktivitesine sahip gıda ürünlerinden izole edilmektedir (Samson ve diğ., 2002).

P.chrysogenum mezofilik bir küf olup, minimum gelişme sıcaklığı 4°C optimum 23°C maksimum 37°C'dir. Yapılan araştırmalar sonucu 0,78 ve 0,81 su aktivitesinde gelişme gösterildiği gözlenmiştir (Pitt ve Hocking, 1997).

Domuz filetolarına inoküle edilen *P.chrysogenum* ' un lipit oksidasyonu azalttığı ve bazı karbonik asitleri ve aldehitleri oluşturduğu tespit edilmiştir (Martin ve diğ., 2003). İspanya'da kullanılan hayvan yemlerinde (Bragulat ve diğ., 2008) ve yarı katı peynirlerde (Lund ve diğ., 1995) yüksek düzeyde bulunmuştur.

2.2.1.6 *Penicillium nalgiovense*

P. nalgiovense 25°C de Czapek agar da 2,5-3 cm koloniler oluşturmaktadır. Kolonilerin tersinin renkleri genellikle sarıdır. Oluşturduğu en önemli toksik metaboliti penicillindir. Daha çok peynir ve salam sosis gibi et ürünlerinden izole edilmektedir. Ayrıca et ürünlerinde fermentasyonu geliştirici starter kültür olarak da kullanılmaktadır (Pitt ve Hocking, 1997).

P. nalgiovense üzerine yapılan bazı araştırmalarda, bu türün fermente et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılabileceği görülmüştür (Andersen, 1995).

Lopez-Diaz ve diğ. (2002)'nin İspanyol fermente sucuğunda yaptıkları bir araştırmada *P.nalgiovense* ' nin 10°C' de 0,86 a_w değerinde gelişme gösterebildiği saptanmıştır.

Kürlenmiş Norveç sucuklarından izole edilen küf florasına hakim olan bu *Penicillium* türünün penicillin ürettiği saptanmış ve allerjik tüketiciler için risk yaratabileceği savunulmuştur (Asefa ve diğ., 2009).

Mintzlaff ve Leistner'in 1972 yılında yaptıkları çalışmalar sonucunda *P.nalgiovense* 'Edelschimmel Kulmbach' ticari ismi ile et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmaya başlanmıştır (Sunesen, 2003).

2.2.3 Cladosporium cladosporioides

Deuteromycotina sınıfında yer alan, bu gruptaki mantarlar siyahımsı, koyu kahverengimsi veya zeytin renginde koloniler oluşturur. Bunlar havada ve rutubetli yerlerde sık olarak görülür (Tayar, 2007).

Dondurulmuş et ürünlerinde kontaminant olarak bulunmuştur (Hocking, 1994). Minimum gelişme sıcaklığı -5°C maksimum 32°C'dir. 25°C' de 0,86 a_w' de gelişmesi optimumdur (Pitt ve Hocking, 1997).

Kırmızı et üzerine yapılan bir çalışmada dondurulmuş ette meydana gelen ve bozulmayı gösteren siyah noktaları bu türün oluşturduğu gözlenmiştir. Yine aynı çalışmada *C.cladosporioides*'in gelişebileceği su aktivitesi 0,86-0,92 olarak belirtilmiştir (Gill, 1982). Yapılan bir çalışmada ciğer patesinden izole edilmiş ve sonbahar mevsiminde diğer mevsimlere göre daha fazla geliştiği tespit edilmiştir (Sorensen ve diğ., 2008).

Norveç'te et ürünleri üzerine yapılan bir çalışmada *C.cladosporioides*' in düşük a_w ve sıcaklık değerlerinde gelişme gösterebildiği saptanmıştır (Asefa ve diğ., 2009).

2.3 Mayalar

Mayalar, her türlü ortamda bulunabilen küremsi veya elips şeklinde tek hücreli mikroorgaizmalardır. Gıdaların bozulmasında ve muhafazasında önem taşırlar. Bakteriler ve küfler gibi toksin oluşturmazlar. Mayalar meyve suları, reçeller, et gibi bazı gıda gruplarında bozulmalara neden olabilirler. Mayaların ekonomik yönden önemi karbondioksitli gıdaları parçalayarak alkol ve karbondioksit oluşturmalarından ileri gelmektedir (Tayar, 2007).

Bazı maya türleri ekmek, bira, şarap gibi gıdaların üretiminde büyük ekonomik öneme sahiptir. Bir takım küflerden de peynir yapımı ya da yüksek protein içeriğine sahip biyomas üretiminde faydalanılmaktadır. Ancak oldukça fazla sayıda maya ve küf türünün fermentasyon ve gıda sanayiinde istenmeyen kontaminantlar olduğu bilinmektedir. Maya ve küfler, oldukça geniş pH aralığında (pH 2-9), depolama sıcaklığında (10-35°C) ve su aktivitesinde (0,85 ve üzeri) üreyebilmektedirler. Aynı zamanda tuz ve şeker konsantrasyonuna sahip ortamlarda kolaylıkla gelişebilmektedirler. Ayrıca pektin ve diğer kompleks karbondioksitli, organik asitleri, proteinleri ve lipitleri de kullanabilmektedirler. Bozulmaya yol açan maya ve

küfler gıdalarda acı tat ve kötü koku oluşumu, gaz oluşturma özellikleri sayesinde, bazı gıdalarda istenmeyen gözenekli yapı oluşumu gibi bir takım bozukluklara neden olabilmektedirler. Bazı küf türleri ise bulaştıkları gıda maddesinde gelişerek salgıladıkları toksik metabolitler, mikotoksinler nedeniyle, gıda maddesinin tüketilmesi durumunda ölümle sonuçlanabilen zehirlenmelere yol açabilmektedirler. Maya ve küfler pek çok gıda maddesi için sorun teşkil ederken, üründe bulunan maya ve küf sayısı, üretim teknolojisi gereği açık hava teması fazla olan, yıkama işlemi yapılmaksızın öğütülerek paketlenen, soğutma ya da dondurma gibi işlem gören gıdalar açısından önemli bir kalite kriteri olarak görülmektedir (Özkaya, 2000).

Maya türleri arasında yer alan *Candida* ise, yuvarlak, oval veya silindirik şekilde hücrelere sahiptir. Genellikle pseudomycelleri vardır. Birçok türleri glikozu etkiler. *Candida* cinsine giren mayalar kefir ve peynirlerde sık olarak görülür. Düşük su aktivitesi değerlerinde (0,90 ve altında) yaşarlar. *Candida lipolytica* yağları parçalayarak acılaştırmasına neden olduğundan gıdalarda bulunması istenmez. *Candida albicans* ise patojendir ve mikoz hastalığında önemli rol oynar (Tayar, 2007).

Mayaların gelişimi sarımsak ve benzeri antimikrobiyal maddelerle engellenebilmektedir. Yapılan bir araştırmada fermente et ürünlerinin olgunlaşması için starter kültür olarak kullanılan *Debaryomyces hansenii* ve *Candida utilis*'in sarımsak tozu kullanılarak inhibe olduğu fungustatik testlerle onaylanmıştır (Olesen, 2000).

2.3.1 Debaryomyces hansenii (Anamorph Candida famata)

Önemli mayalar arasında yer alan *Debaryomyces*, zayıf şeker fermantasyonu gösterir. Yüksek tuz konsantrasyonunda bile ürerler, bu nedenle salamurada bulunurlar. *Debaryomyces* türlerinin çoğu 0,80 hatta 0,75 su aktivitesinde yaşarlar. *D.hansenii* %15-25 tuz içeren salamurada ve 0.65 su aktivitesi değerinde bile üreyebilmektedir. Bozulan besinlerin yüzeyinde bulunurlar (Tayar, 2007).

Starter olarak kullanılan bu maya lipolitik olmasına karşın yapılan bir çalışmada bu aktivitesinin düşük asit ve düşük sıcaklıkta inhibe olduğu bulunmuştur (Sorensen, 1997). Ayrıca laktik asit ve stafilokoklarla birlikte starter kültür olarak kullanıldığında, fermente et ürünlerinin tat ve aroma oluşumuna olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir (Dura ve diğ., 2004).

D.hansenii'nin suşları üzerinde yapılan bir çalışmada, bu türün bazı suşlarının riboflavin kinaz enzimine sahip flavin mono nükleotit (FMN1) taşıyıcısı olduğu gözlenmiş ve gıda endüstrisinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Yatsyshyn ve diğ., 2009).

Liu ve Tsao (2009)'nun yoğurt ve peynir ürünleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada, *D.hansenii*'nin süt ürünlerinde sıkça karşılaşılan küfler üzerinde inhibe edici olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda, *Debaryomyces hansenii*'nin aşağıdaki küf türlerini inhibe ettiği bulunmuştur: *Aspergillus spp.*, *Byssoschlamys fulva*, *Byssoschlamys nivea*, *Cladosporium spp.*, *Eurotium chevalieri*, *P.candidum*, *P.roqueforti*. Bu çalışma ile *D.hansenii*'nin bazı suşları kullanılarak kimyasal koruyucuların kullanılma miktarlarının azaltılabileceği ve soğuk koşullarda saklanmayan peynir ve yoğurtlar için probiotik fayda sağlayabileceği düşünülmektedir.

İtalya ve İspanya'da *D.hansenii* maya türü endüstride starter olarak kullanılmaktadır (Bolumar ve diğ., 2006; Simoncini ve diğ., 2007). İspanya'da üretilen fermente ürünlerde ve üretimin her aşamasında baskın florayı oluşturmaktadır (Ercinas ve diğ., 2000). İtalya'nın Sardina bölgesinde yetişen keçilerden elde edilen çiğ sütlerde görülmüştür (Fadda ve diğ., 2009).

Sucuk ürünlerinde ve ayrıca üretimin her aşamasında maya florasına hakim olan maya türü olarak gösterilmektedir (Ercinas ve diğ., 2000).

Domuz filetolarına inoküle edilen *D.hansenii* suşlarının cyclic ve aromatik alkollerini oluşturduğu gözlenmiştir (Martin ve diğ., 2003).

D.hansenii lipolitik bir maya türüdür, fakat bu özelliğini düşük pH ve yüksek sıcaklık inhibe edebilmektedir (Sorensen, 1997).

D.hansenii peynirlerde ve fermente et ürünlerinde lipolitik ve proteolitik aktivite göstererek bu gıdalara aroma ve lezzet kazandırmada rol almaktadır (Bolumar ve diğ., 2006; Patrignani ve diğ., 2007; Andrade ve diğ., 2009).

D.hansenii türünün fermente sucuklarda lipolitik ve proteolitik aktiviteleri sonucu peroksitleri degrade ederek tat ve aromayı geliştirdiği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada *D.hansenii* ve *Lactobacillus sakei* bir arada kullanılarak son ürün kalitesinde önemli gelişmelerin olduğu saptanmıştır. Sucuklara bağımsız hücre

ekstraktları (cell-free extract) verilmiş ve son ürünlerdeki etkisi incelenmiştir (Bolumar ve diğ., 2006).

2.3.2 Candida krusei

Toprakta izole edilen ve fitaz (phytase) enzimine sahip bir maya türüdür. Phytade, mono gastric hayvanlar tarafından sindirilemediğinden hayvan yemlerinde fungal phytase kullanımı için *C.krusei* denenmiştir, fakat endüstriyel anlamda kullanımı mevcut değildir (Quan ve diğ., 2001).

İtalya'nın Sardina bölgesinde yetişen keçilerden elde edilen çiğ sütlerde görülmüştür (Fadda ve diğ., 2009).

2.3.3 Candida parapsilosis

İtalya'nın Sardina bölgesinde yetişen keçilerden elde edilen çiğ sütlerde rastlanılmıştır (Fadda ve diğ., 2009). Psikrofilik özellik gösteren *C.parapsilosis* İspanyol sucuklarında 5°C altında gelişebilen maya türleri arasında gösterilmiştir (Ercinas ve diğ., 2000). Ayrıca bu çalışmada *C.parapsilosis*' in sucuk yüzeyinde yapışkan bir doku oluşturduğu gözlenmiştir.

2.3.4 Candida zeylanoides

Yapılan bazı araştırmalar sonucu bu maya türünün patojenik olduğu ve bazı hastalarda fungemiya ve eklem iltihabına sebep olduğu belirlenmiştir (Dorko ve diğ., 2000).

Çeşitli et ürünlerinin bozulmasına sebep olabilmektedir. Lipolitik aktivitesi ve soğutma sıcaklıklarında gelişme gösterebilmesi gıdalarda potansiyel bozulmaya sebep olabilen organizmalar arasında yer almasına sebep olmuştur (Fleet, 1992; Nielsen, 2008; Fadda ve diğ., 2009).

Yarı katı özellikteki koyun sütünden üretilen Portekiz peynirlerinden izole edilmiştir (Pereira-Dias ve diğ., 2000). İşlenmiş et ürünlerinde proses öncesi maya florasına hakim tür olarak görülürken, tutsüleme sonrası gelişmesinin ürünlerde rastlanılmamıştır (Nielsen, 2008).

İtalya'nın Sardina bölgesinde yetişen keçilerden elde edilen çiğ sütlerde floraya hakim olan maya türü olarak belirlenmiştir. *C.zeylanoides*' e ait 32 suşun hepsinin glukozu fermente ettiği saptanmıştır (Fadda ve diğ., 2009).

2.3.5 *Rhodotorula mucilaginosa*

Rhodotorula mucilaginosa pembe kırmızımsı bir renge sahiptir. Minimum gelişme koşulları; pH 2.2, 0,92 a_w, 0-5°C'dir. pH 5' de 100 mg/kg benzoik/sorbik asitle inhibe olabilmektedir. Isıya karşı dirençlidir.

Zorunlu aerobik maya türüdür. Yüksek konsantrasyonda karotenoid pigmenti içermektedir. İçerdiği karotenoid sayesinde kendisini oksidatif zararlardan koruyabilmektedir (Moore ve diğ., 1989). Kümes hayvanlarından tavuklarda iltihaplı deri hastalığına sebep olduğu bulunmuştur (Beemer ve diğ., 1970).

İtalya'nın Lucania bölgesinde üretilen salamlardan izole edilmiştir (Gardini ve diğ., 2001). Taze etlerde bozulmaya sebep olduğu görülmüştür (Fleet, 1992).

2.4 Fermente Et Ürünlerinden İzole Edilen Küf Türleri

Et ürünlerinde küf gelişimi Avrupa'nın bazı ülkelerinde istenilen bir durum olmasına karşın, üreticiye verdiği ekonomik kayıp ve ürünlerde kötü görüntü oluşturma sebeplerinden dolayı Avrupa'nın kuzey ülkelerinde istenmeyen bir durumdur (Sorensen ve diğ., 2008).

Sucukta küf ve maya gelişimi sektörün önemli sorunları arasında yer almaktadır. Bunun yanında Avrupa'nın bazı ülkelerinde üretilen et ürünlerinde küf ve maya gelişimi istenilen aroma ve görüntü oluşumunu sağladığı için istenilen bir durumdur. Avrupa'da işlenmiş et ve peynir ürünlerinde küf kullanımı oldukça yaygındır. Özellikle İtalya, İspanya, Fransa, Macaristan, Almanya gibi Avrupa ülkelerinin geleneksel et ürünlerinde kullanılmaktadır.

Örneğin İspanya'nın 'chorizo de Cantimpalos' adlı özel fermente sucuğun üzerinde küfler tarafından oluşan beyaz katman özellikle tercih edilmektedir. *Penicillium* türlerinin fermente sucukta starter olarak kullanılmak istenmesinin nedenleri; (a) Antioksidatif etkisi (yüzey katmanı olarak rengin korumasını sağlar ve ransiditeye engel olur), (b) Yüzeyde yapışkanlığı engeller, (c) Karakteristik aromayı sağlar, (d) Sucuğa tipik görüntüsünü verir (Lopez-Diaz ve diğ., 2001).

Küflerin sucukta aroma geliştirme, olgunlaşma süresini kısaltma gibi olumlu etkileri olsa da küf gelişimi, küf türlerinin toksik ikincil metabolitleri üretmelerine ortam sağlamaları açısından istenmeyen bir durum olarak görülmektedir (Sunesen, 2003). İstenmeyen küf türlerinin gelişimi sonucunda ortamda oluşan penicillin bazı

tüketiciler için risk taşımaktadır. Bunun yanında bazı araştırmacılar *Penicillium* cinsi küflerin diğer istenmeyen mikroorganizmalara karşı koruyucu etkisinin olduğunu öne sürmüşlerdir (Geisen, 1993).

Dünyada *Penicillium* türlerinin starter kültür olarak kullanılması konusunda yapılan birçok araştırma vardır. Düşük pH ve yüksek tuz toleransları sayesinde küf gelişimi sucuk üzerinde rahatlıkla görülebilmektedir (Pitt ve Hocking, 1997).

Çoğu çalışmalar sonucunda kseroofilik türler olan *Aspergillus*, *Eurotium*, *Penicillium* sucuklarda en çok karşılaşılan türler olarak görülmüştür (Encinas ve diğ., 2000; Lopez-Diaz, 2001; Papagianni, 2007; Sorensen, 2008; Asefa ve diğ., 2009).

Bu araştırmalar sonucunda et ürünlerinden izole edilen cinslerin çoğunun *Penicillium*'a ait olduğu görülmüştür. Örneğin, İtalyan sucuklarında yapılan bir araştırmada alınan izolatların %86'sının *Penicillium*'a ait olduğu bulunmuştur (Andersen, 1995).

Yine benzer bir çalışmada salamlardan alınan örneklerden %68'inin, İspanyol sucuklarında yapılan bir araştırmada 54 küf izolatının 38'inin *Penicillium*'a ait olduğu bulunmuştur (Lopez-Diaz, 2001).

Asefa ve diğ. (2009)'nin Norveç sucuklarından elde ettiği 264 izolatın %88,3'ünün *Penicillium*'a ait olduğu görülmüştür.

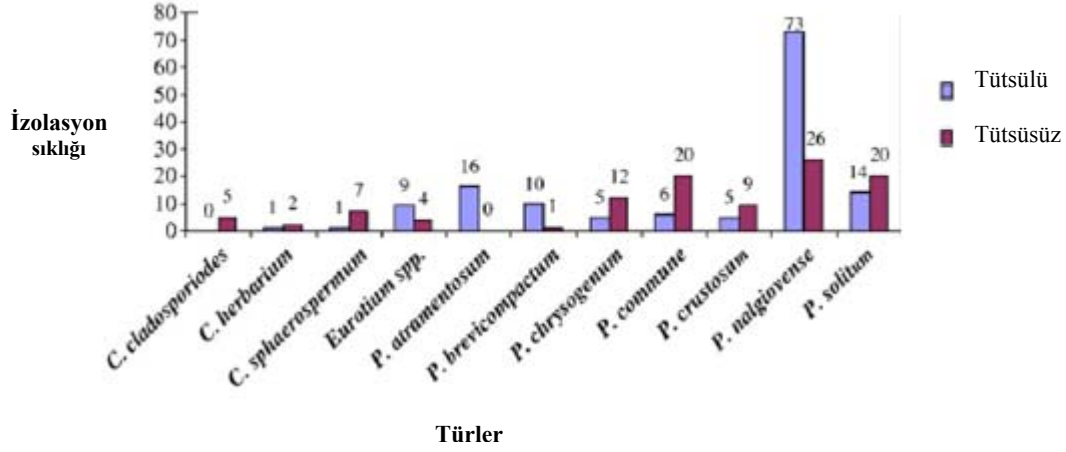
Lopez-Diaz ve diğ. (2001) özel İspanyol fermente sucuklarının (chorizo de Cantimpalos) yüzey mikoflorası üzerine yaptıkları araştırmada elde ettikleri 54 küf izolatının 38'inin *Penicillium* cinsine ait olduğunu bulmuşlardır. *Penicillium* türleri arasında dominant olan türün *P.commune* (18 izolat) ve *P.olsonii* (13 izolat) olduğu görülmüştür. Bu çalışmada ayrıca biyolojik testler kullanılarak bulunan izolatların toksisitesi araştırılmış ve *P.commune* türünün cyclopiazonic asit ürettiği belirlenmiştir. Ayrıca Artemia salina larva testi sonucunda *P.olsonii* türünün hiçbir toksik etkisinin olmadığı, *P.commune* türünün ise 24 saat sonra %90-100 oranında toksik olduğu bulunmuştur. Bu çalışma sonunda *P.olsonii* türüne ait suşların, chorizo de Cantimpalos fermente sucuklarında tipik beyaz yüzey katmanı oluşturan starter kültür olarak kullanılabileceği saptanmıştır.

Asefa ve diğ. (2009)'nin olgunlaşma ve paketlenme aşamalarında alınan 161 adet Norveç sucuk örnekleri üzerinde yaptıkları benzer bir çalışmada, 20 türe ait 264 izolat tanımlanmıştır. Bunun %88,3'ü *Penicillium* türüne aittir. İdentifiye edilen türler arasında %38'ine *P.nalgiovense* sahiptir. Türlerin %13'ünü *P.solitum*,

%10'unu *P.commune* oluşturmaktadır. Ayrıca identifiye edilen türler arasında *Cladosporium* %6'lık paya sahiptir. İzole edilen *C.cladosporiodes* sadece tütsülenmemiş sucuklarda gelişme göstermiştir. Bu durum tütsü uygulamasının *Cladosporium* üzerindeki inhibe edici etkisini göstermektedir. Bu çalışma sonucunda bazı küf türlerinin sucuk üzerinde gelişmesi, sucuk aroma gelişimi üzerinde avantaj sağlamasına rağmen, isolatların büyük kısmının *P.nalgiovense* olmasının ve *P.nalgiovense*'nin potansiyel bir penicillin üreticisi olması nedeniyle allerjik tüketiciler için büyük bir risk taşıdığı sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 2.3 : Norveç'e özgü et ürünlerinden izole edilen küfler (Asefa, 2009).

Türler	Tütsülü	Tütsüsüz	Toplam izolasyon sıklığı
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	-	1
<i>A. penicillodes</i>	1	-	1
<i>Cladosporium cladosporiodes</i>	-	5	5
<i>C. herbarium</i>	1	2	3
<i>C. sphaerospermum</i>	1	7	8
<i>Eurotium amstelodami</i>	4	3	7
<i>E. herbariorum</i>	5	1	6
<i>Penicillium atramentosum</i>	16	-	16
<i>P. brevicompactum</i>	10	1	11
<i>P. cavernicola</i>	2	-	2
<i>P. chrysogenum</i>	5	12	17
<i>P. citrinum</i>	-	2	2
<i>P. commune</i>	6	20	26
<i>P. crustosum</i>	5	9	14
<i>P. discolor</i>	-	1	1
<i>P. echinulatum</i>	4	-	4
<i>P. expansum</i>	1	-	1
<i>P. nalgiovense</i>	73	26	99
<i>P. palitans</i>	3	2	5
<i>P. roquefortii</i>	-	1	1
<i>P. solitum</i>	14	20	34
Toplam izolat	152	112	264



Şekil 2.1: Tütsülenmiş ve tütsülenmemiş et ürünlerindeki küf türleri (Asefa, 2009).

Şekil 2.2’de Asefa ve diğ. (2009)’nin yaptıkları araştırmada tütsülenmiş ve tütsü uygulanmamış fermente sucuklarda buldukları *Penicillium* cinsi küfler yer almaktadır. Şekilde de görüldüğü gibi *C.cladosporioides*’in tütsü uygulanan sucuklarda gelişme göstermediği görülmektedir. Ayrıca *P. nalgiovense*’nin diğer küflere göre daha fazla olduğu bulunmuştur.

Çizelge 2.4 : Norveç’te kurutulmuş tütsülenmiş et ürünlerinden izole edilen küfler tarafından üretilen toksik metabolitler (Asefa ve diğ, 2009).

Türler	Toksik bileşikler	Potansiyel etki
<i>P. atramentosum</i>	Meleagrin	Mutajenik
	Roquefortin C	Nörotoksik
	Rugulovasine A	Antihiposentiv
<i>P. brevicompactum</i>	Mycophenolic acid	Immunosüpresiv
<i>P. chrysogenum</i>	Penicilin	Antibiyotik
	Roquefortin C	Nörotoksik
	Meleagrin	Mutajenik
<i>P. commune</i>	Cyclopiazonic acid	Organa zarar
	Rugulovasine A	Antihiposentiv
	Cyclopaldic acid	Antibiyotik
<i>P. crustosum</i>	Penitrem A	Tremorjenik
	Roquefortin C	Nörotoksik
	Terrestric acid	Kardiyotoksik
<i>P. nalgiovense</i>	Penicilin	Antibiyotik

Her üretim aşamasında değişen çevresel faktörler ürün üzerinde istenmeyen ve kontrol edilemeyen fungal gelişime neden olabilmektedir. Andersen (1995)’in İtalyan doğal fermente sucuklarının yüzey mikoflorası üzerine yaptığı bir çalışmada,

mayaların olgunlaşma aşamasında, *Penicillium* cinsi küflerin ise kurutma aşamasında ve son üründe dominant mikoflorayı oluşturduğu ve bu mikofloranın %96'sının *Penicillium* cinsi küflere ait olduğu saptanmıştır. Bu durumun nedeni küflerin düşük su aktivitesine mayalardan daha toleranslı olması ve mayaların küflerin ürettiği ikincil metabolitlerden etkilenmiş olabileceği gösterilmektedir. Bu çalışmada *P.chrysogenum*, *P.commune* ve *P.verrucosum* izole edilmiş ve bu türler potansiyel mikotoksin üreticisi olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmada toplanan örneklerden 53 izolat *P.nalgiovense* olarak tanımlanmış ve suşlarının hiçbir mikotoksijenik özelliği olmadığı belirtilmiştir. Çizelge 2.5'te Andersen'in yaptığı fermente sucuklar üzerine yapmış olduğu çalışmada izole ettiği mikoflora belirtilmiştir.

Çizelge 2.5 : Üretim sonrası sucuklardan izole edilen mikoflora (Andersen, 1995).

Fungi	Mikoflora
	%
<i>Penicillium nalgiovense</i>	50
<i>P.olsonii</i>	15
<i>P.chrysogenum</i>	10
<i>P.verrucosum</i>	5
<i>P.spathulatum</i>	3
<i>P.solitum</i>	3
<i>P.oxalicum</i>	3
<i>P.commune</i>	3
<i>P.viridicatum</i>	4
<i>P.polonicum</i>	
<i>P.brevicompactum</i>	
<i>P.capsulatum</i>	
<i>P.crustosum</i>	
<i>Aspergillus candidus</i>	4
<i>Aspergillus spp.</i>	
<i>Cladosporium spp.</i>	
<i>Eurotium repens</i>	
<i>E.rubrum</i>	
<i>Mucor spp.</i>	
<i>Wallemia sebi</i>	
<i>Yeast spp.</i>	

Çalışmada *P.nalgiovense*, *P.olsonii*, *P.solitum*, *P.capsulatum*'un hiçbir suşunun mikotoksin oluşturmadığı belirtilmiştir.

Sorensen ve diğ. (2008) üretim alanının ve mevsimsel değişikliklerin et ürünlerinin mikrofloresına etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada ciğer patesi ve fermente sucuk olmak üzere 2 farklı et ürünü kullanmışlardır. Bu çalışmada ham maddeden, havadan, işletme alanından olmak üzere 336 örnek alınmıştır. İşletme

alanından 17 farklı tür izole edilmiştir; *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Eurotium*, *Penicillium*, *Phaeoacremonium*, *Phoma*. İşletme alanından izole edilen *Cladosporium*'um kontaminasyon sonucu geliştiği düşünülmüş ve bu türün sonbahar mevsiminde daha sık görüldüğü tespit edilmiştir. Dış ortamdaki mevsimsel hava değişimlerinin kontaminasyona sebep olabileceği belirtilmiştir. *P.brevicompactum*, *P.solitum*, *P.palitans*, *P.fagi* ve Frisvad tarafından yeni bir *Penicillium* türü olarak gösterilen *P.milanense* fermente sucuklardan izole edilmiştir.

2.5 Fermente Et Ürünlerinden İzole Edilen Maya Türleri

Et ürünlerinin bozulması direk bakteri gelişimi ile ilişkilendirilmektedir fakat son yıllarda gelişen yeni işleme ve depolama teknikleri bozulmaya sebep olan bakterilerin gelişimini inhibe etmektedir. Bakterilerin inhibe olması mayalar için ortam sağlayabilmekte ve bozulmayı hızlandırabilmektedir (Nielsen, 2008).

Aynı zamanda *Debaryomyces hansenii*, *C.utilis* gibi maya türlerinin et ürünlerinde gelişmesi ürünün istenilen rengi alması ve aroma oluşumu için özellikle istenilen bir durumdur (Olesen ve Stahnke, 2000; Dura, 2004).

Bunun yanında mayaların sebep olduğu ürün paketinde gaz oluşumu, yüzeyde renksizliğe sebep olma ve kötü tat oluşturma gibi etkileri nedeniyle maya gelişimi istenmemektedir (Fleet, 1990).

Encinas ve diğ. (2000)'nin İspanyol sucuklarında (Chorizo ve Salchichon) maya popülasyonu üzerine yaptıkları bir çalışmada 41 maya suşu identifiye edilmiştir. İdentifikasyonda iki test yöntemi kullanılmıştır; API ATB32C ve Vitek Yeast Biochemical Card (Vitek YBC). Bu çalışmada üretim aşamalarının maya popülasyonuna etkisi incelenmiş ve dominant tür olan *Debaryomyces hansenii* (teleomorph of *C.famata*) maya türünün her aşamada gelişebildiği saptanmıştır. Üretim şeklinin ve sucuk çapının sucukta gelişen maya yükünü etkilediği görülmüştür. Çapı daha küçük olan sucuklarda maya gelişiminin daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada identifiye edilen maya türleri; *C.parapsilosis*, *C.zeylanoides*, *C.intermedia* (*C.curvata*), *C.globosa*, *Trichosporan ovoides* (*T.beigelii*), *Yarrowia lipolytica* (*C.lipolytica*), *Debaryomyces hansenii* (*C.famata*)'dir. Ayrıca bu çalışmada olgunlaşma aşamasında izlenen sucuk

örneklerinde laktik asit artışıyla maya yükünün azaldığı gözlenmiştir. Maya yükünün tütsülenmiş örneklerde daha az olduğu saptanmıştır.

Maya gelişimine birçok parametre etki etmektedir. Bunlar arasında tütsü uygulaması, sarımsak varlığı, olgunlaşma aşamasında hızlandırılmış proses ve sorbat kullanımı yer almaktadır (Encinas, 2000).

Nielsen ve diğ. (2008)'nin domuz pastırması, jambon, salam ve ciğer patesi üzerinde yaptıkları bir çalışmada çeşitli proses aşamalarında aldıkları örneklerde mikrofloranın değiştiğini ve uygulanan proses yönteminin maya gelişimi üzerinde büyük etkisinin olduğunu gözlemişlerdir. Örneğin tütsü uygulanmasının mayalar üzerine etkisi incelenmiş ve tütsü uygulanan domuz pastırmasında maya yükünün tütsü uygulanmayan pastırmadan daha az olduğu görülmüştür. Tütsüleme öncesi alınan örneklerde *C.zeilanooides* izole edilirken, tütsüleme sonrası alınan izolatlarda bu maya türünün bulunmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca tütsü uygulamasının maya yükünü 1,0 log (CFU/g) düzeyine kadar indirdiği görülmüştür. Tütsü uygulamasının maya gelişimini inhibe ettiği belirtilmiştir. Kurutma aşamasının da maya gelişimi üzerine büyük ölçüde etkisi olduğu belirtilmiştir. Örneğin çalışmada alınan kurutma sonrası salamlardaki %25 ağırlık kaybı, maya yükünün 1,0-1,3 log (CFU/g) düzeyine düşmesine sebep olmuştur. Ağırlık kaybının %34 olması maya gelişimini tamamen durdurmuştur. Bu çalışmada *C.zeilanooides*, *Debaryomyces hansenii*, *C.alimentaria* gibi maya türleri izole edilmiştir. Üretim aşaması boyunca alınan örneklerde mikoflorada hakim maya türünün *C.zeilanooides* olduğu, fermentasyon ve kurutma aşaması sonrasında ise baskın maya türünün *D.hansenii* olduğu gözlemlenmiştir.

Ayrıca et üzerinde *C.zeilanooides*, *D.hansenii*, *Pichia quilliermondii* ve *C.sake* gibi türlerin gelişebildiği gözlenmiş ve bu türlerin et üzerinde organoleptik bozulmalara sebep olduğu bulunmuştur. Literatürde taze etteki bozulma genellikle *Candida*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces* ve *Trichosporon spp.* ile ilişkilendirilmektedir (Fleet, 1992; Osei Abunyewa ve diğ., 2000).

Yapılan araştırmalarda tuzlanmış, yarı ve tam kurutulmuş fermente salam ve sucuklarda genellikle tuza toleranslı türler olan *Debaryomyces hansenii*, *C.zeilanooides*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida* türleri, *Rhodotorula*, *Trichosporon* gibi türlerle karşılaşmıştır (Fleet, 1992; Encinas, 2000; Lopez-Diaz, 2000; Gardini, 2001; Nielsen, 2008).

Gardini ve diğ. (2001)'nin Lucania bölgesine ait geleneksel salami olan 'salsiccia sotto sugna' adlı ürünü üzerinde yaptıkları bir çalışmada *D.hansenii* (anamorph *C.famata*), *Rhodotorula mucilaginosa* ve *Yarrowia lipolytica* izole edilmiş ve bu mayaların yüksek tuz konsantrasyonunda ve düşük sıcaklıkta gelişebildikleri gözlenmiştir.

Olesen ve Stahnke (2000) sarımsağın mayalar üzerinde inhibe edici etkisini fungustatik testlerle kanıtlamışlardır. Bu nedenle starter olarak kullanılan mayalar üründe kullanılan sarımsak tarafından inhibe olabilmektedir.

Tuz konsantrasyonu maya gelişimini oldukça etkilemektedir. Yapılan bir çalışmada tuz oranı %4 ve daha fazla olan domuz pastırmasında *D.hansenii* türünün dominant olduğu, %4'den az olan örneklerde ise baskın maya türlerinin *C.krusei*, *C.tropicalis* olduğu görülmüştür (Gardner, 1971).

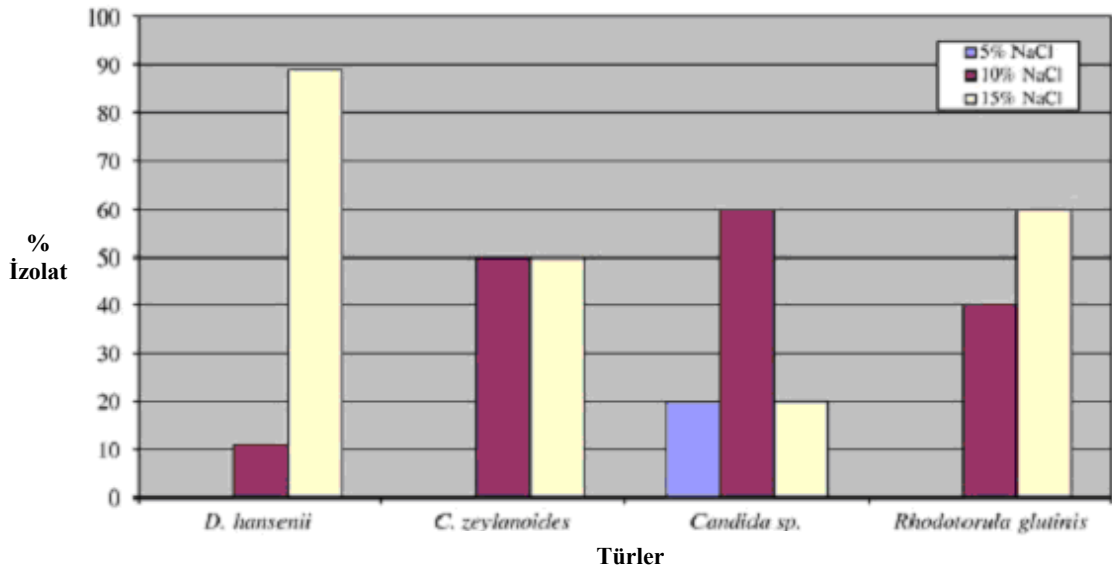
Danimarka'nın İtalya'nın ve İspanya'nın geleneksel kurutulmuş kürlenmiş et ürünlerinin çoğunda yapılan araştırmalar sonucu mikofloraya hakim olan maya türlerinin *C.zeilanooides* ve *Debaryomyces hansenii* (anamorph *C.famata*) olduğu gözlenmiştir (Nunez ve diğ., 1996; Gardini ve diğ., 2001; Nielsen ve diğ., 2008; Asefa ve diğ., 2009). Genel olarak et ürünlerinde *C.zeilanooides* üretimin ilk aşamasında, *D.hansenii* ise olgunlaşma sonrası son üründe mikroflore hakim olmaktadır (Nunez ve diğ., 1996; Simoncini ve diğ., 2007; Nielsen ve diğ., 2008; Asefa ve diğ., 2009).

Yapılan diğer bir araştırmaya göre *C.famata*, *C.catenulata*, *C.guilliermondii*, *Yarrowia spp.*, *Rhodotorula spp.* kontaminasyon sonucu kuru kürlenmiş et ürünlerinde gelişmektedir (Simoncini ve diğ., 2007).

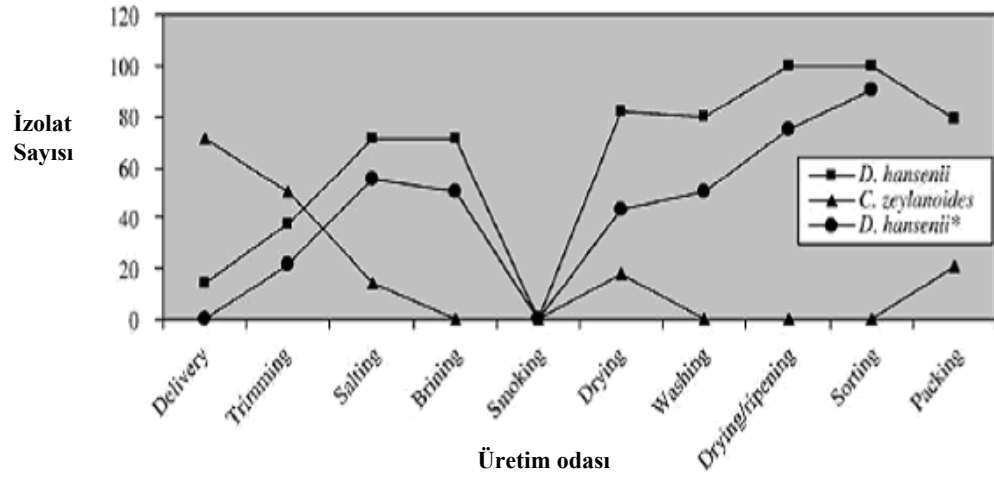
Asefa ve diğ. (2009)'nin tütsülenmiş ve tütsü uygulanmamış Norveç et ürünleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, maya çeşitliliğinin ve yükünün proses aşamalarında farklılık gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmada ette, üretim araçlarından, üretim atmosferinden olmak üzere 642 örnek alınmıştır. Toplam 401 maya izolatından 10 maya türü tanımlanmıştır: *Debaryomyces*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Cryptococcus* and *Sporidiobolus*. İzolatların %63 ve %26.4'ü sırasıyla *Debaryomyces hansenii* ve *C.zeilanooides*'e aittir. Bu çalışmada ön tuzlama üretim prosesinde *C.zeilanooides*'in dominant maya türü olduğu görülmüştür. Yapılan laboratuvar çalışmaları *D.hansenii*'in *C.zeilanooides*'den tuza ve nitrite daha toleranslı

olduğunu göstermiştir. Kurutma aşamasında uygulanan tütünün mayalar üzerinde inhibe edici etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, işletme ekipman ve atmosferinden izole edilen mayalar arasında kontaminasyon sonucu varlığı saptanan *C.zeylanoides*'in patojenik risk taşıdığı düşünülmektedir. Aşağıda identifikasyon sonrası elde edilen verilerden oluşan çizelgeler yer almaktadır.

Et yüzeyinden alınan izolatların çoğu *D.hansenii* ve *C.zeylanoides* olarak tanımlanmıştır. Nielsen (2008) ve Nunez (1996)'inde çalışmalarında belirtildiği gibi bu çalışmalarda da üretimin ilk aşamalarında hakim olan maya *C.zeylanoides*; son aşamada ise *D.hansenii* olmuştur. Bunun sebebinin tuz konsantrasyonu ve sıcaklık olduğu düşünülmektedir. Üretim aşamaları ilerledikçe tuz konsantrasyonu artmakta, sıcaklığın artmasıyla birlikte a_w değeri düşmektedir. Literatürde *D.hansenii* türünün yüksek tuz konsantrasyonuna ve düşük a_w değerlerine toleranslı olduğu belirtilmektedir. Ortam koşullarından alınan örneklerde ise yine *D.hansenii*'in hakim olduğu görülmektedir.



Şekil 2.1 : Maya türlerinin farklı NaCl konsantrasyonlarındaki gelişimi (Asefa, 2009).



Şekil 2.2 : Domuz pastırmasının üretim aşamalarında izole edilen maya türlerinin karşılaştırılması (Asefa, 2009).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Çalışmada materyal olarak kullanılan küflü sucuklar, İstanbul'da üretim yapan 7 büyük ölçekli et üretim tesisinden temin edilmiştir. 7 firmadan temin edilen toplam 25 adet örnek üzerinde çalışma yapılmıştır. Sucuk örneklerine ait özellikler Çizelge 3.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 : Numunelere ait özellikler.

Örnek Kodu	Karışım	Alınan örnek sayısı	Kılıf cinsi	Şekil	Starter
C.I	Dana eti	5	yapay	kangal	LAB
Ö.II	Dana eti	3	yapay	kangal	LAB
N.III	Dana eti	3	doğal	kangal	LAB
B.IV	Dana eti	3	doğal	kangal	LAB
Ö.V	Dana eti + Piliç eti	5	yapay	kangal	LAB
Ö.VI	Dana eti + Piliç eti	3	yapay	kangal	LAB
B.VII	Dana eti + Piliç eti	3	yapay	kangal	LAB

Çizelge 3.1' de görüldüğü gibi 4 firma sadece dana etini kullanarak sucuk üretmektedir. Bu firmalardan ikisi (C.I ve Ö.II) yapay kolajen kılıf; diğer ikisi ise (N.III ve B.IV) doğal bağırsak kullanmaktadır. 3 firma ise dana ve piliç etini birlikte kullanarak sucuk üretmekte ve yapay kılıf kullanmaktadır.

Aşılama da kullanılan yapay kolajen sucuk kılıflar ithalatçı bir firmadan (Yıldız Gıda A.Ş.) temin edilmiştir.

3.2 Metot

3.2.1 Fizikokimyasal analizler

Fizikokimyasal analizlerden nem tayini, su aktivitesi ve pH tayinlerine ait bilgiler aşağıda verilmiştir.

3.2.1.1 Nem tayini

Nem tayini için klasik yöntem kullanılmıştır. Örneklerin alınacağı cam plakaların darası alınmıştır. Hassas terazide darası alınmış kaplara, kıyma haline getirilmiş örneklerden ± 5 g tartım alınmıştır. Tartımı alınan kaplar desikatörde bekledikten sonra 125°C ' de 6 saat etüvde kurutulmuştur. Etüvden alınan örnekler desikatöre alınmış ve yaklaşık 1 saat sonra tekrar tartımları alınmıştır. Hesaplamalar aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$W = [(m_1 - m_2) / (m_1 - m_0)] \times 100$$

W: Nem

m_0 : Cam kabın kütlesi, g

m_1 : Kurutmadan önceki ağırlık, g

m_2 : Kurutmadan sonraki ağırlık, g

3.2.1.2 Su aktivitesi

Küflü sucuklara ait a_w değerleri PAWKIT water activity meter (Decagon) ile ölçülmüştür. Sucuktan alınan yaklaşık 2mm kalınlığındaki dilimler cihaza yerleştirilerek değerler okunmuştur.

3.2.1.3 pH

Sucuklarda pH ölçümü TS ISO 2917 (2002) standardına uygun olarak yapılmıştır. 0,1 mol/L potasyum klorür çözeltisi hazırlanmıştır. 5g numene bu çözelti içerisinde stomacher cihazında homojen hale getirildikten sonra pH metre ile ölçümü yapılmıştır. pH ölçümleri HANNA HI 9321 marka pH ölçer cihazı ile yapılmıştır.

3.2.2 Türk Gıda Kodeksi' ne göre sucuk için gerekli mikrobiyolojik analizler

Küflü örnekler üzerinde *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, koliform bakteri varlığı test edilmiştir.

C.perfringens tayini için TSC Agar'a (Merck) ile yayma plak yöntemi uygulanmış ve 10^{-3} e kadar seyreltilmiştir. TSC Agar için önce Egg Yolk Emulsiyon hazırlanmıştır. Egg Yolk Emulsiyon içeren TSC agar üzerine yayma plak yöntemi ile 0,1ml ekim yapılmıştır. Yayılan seyreltim absorbe olduktan sonra yüzey tabakası oluşturmak üzere Egg Yolk Emulsiyon içermeyen TSC agardan yaklaşık 10 ml kadar ilave edilip, petri anaerobik kavanozda (ters olarak) Anaerogen kullanılarak 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Literatür bilgilerine göre, *C. perfringens* egg yolk emulsiyon içeren TSC agarda etrafında opak zon bulunan, 2-4 mm çapında siyah koloniler oluşturur (Hayes ve Frostyhe, 1998).

E.coli ve *koliform* bakteriler için Rapid E.coli (BIO-RAD) besiyeri ile dökme plak yöntemi kullanılmıştır. 35°C'de 18-24 saat inkübasyon sonucunda mor renkteki koloniler *E.coli* suşları, yeşil renkteki koloniler *koliform* bakteri olarak değerlendirilmiştir.

S.aureus tayini için Baird Parker (Merck) besiyerinde yayma plak yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem için Egg Yolk Tellurite Emulsiyon hazırlanmıştır. Baird Parker agar hazırlandıktan sonra, Egg Yolk Tellurite Emulsion'dan 50ml eklenmiş ve homojen bir karışım sağlanmıştır. Sucuklardan alınan örnekler 1:10 oranında seyreltilerek homojenize edildikten sonra, 10^{-4} e kadar seyreltimleri yapılmıştır. Her seyreltimden besi ortamı içeren steril petri kutularına 0,3, 0,3 ve 0,4 ml alınarak yüzeye yayma metoduyla ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan petri 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kolonilere koagülaz testi uygulanmıştır.

S.aureus 48 saat inkübasyon sonrasında yuvarlak, 2-3mm çapında, düzgün kenarlı konveks gri/siyah renkli opak bir halka içinde ve etrafında şeffaf bir zon bulunan tipik koloniler oluşturur. *S.aureus* sayısı koagülaz pozitif kolonilerin seyreltim faktörüyle çarpılmasıyla elde edilmiştir.

3.2.3 Küf ve maya izolasyonu

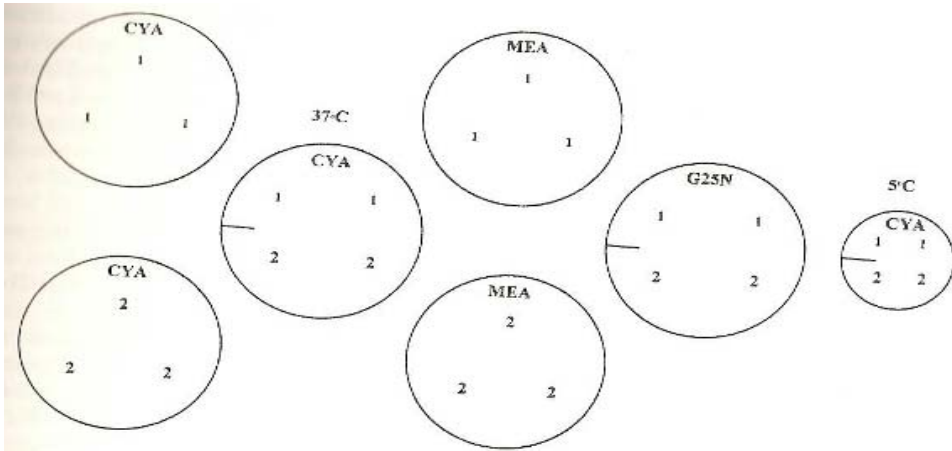
25 gram küflü sucuk örneği steril stomacher torbalarına tartıldıktan sonra üzerine 225 ml steril peptonlu su çözeltisi aseptik koşullar altında ilave edilip, stomacher cihazında 120 saniye orta hızda homojen hale getirilmiştir. Bu karışımdan alınan süspansiyonlar belirli oranlarda seyreltildikten sonra MEA ve DRBC besiyerlerine

inoküle edilmiştir. Petri kutuları 25°C’de 7 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra küf ve maya sayımı yapılmış farklı koloni özelliklerine sahip küf ve maya kolonileri seçilerek saflaştırma işlemine geçilmiştir.

3.2.4 Küf identifikasyonu

Küflerin tür düzeyinde identifikasyonu Pitt ve Hocking (1997)’e göre yapılmıştır. Küflerin identifikasyonunda Malt Ekstrakt Agar (MEA), Czapek Yeast Ekstrakt Agar (CYA) ve % 25 Glycerol Nitrate Agar (G25N) kullanılmıştır. Küf kültürleri analizler sırasında kullanılıncaya kadar saf kültür halinde yatık agarda (MEA) +4°C’de saklanmıştır.

İnkübasyon süresi dolan petriler incelenerek farklı özellikteki küf kolonileri steril bir öze yardımıyla alınarak MEA’da üç nokta ekimleri yapılmıştır. Petriler 25°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. Üç nokta ekimi yapılan petrilerden saflaştırma için Czapek Yeast Ekstrakt agar (CYA), MEA ve G25N besiyerlerine Şekil 3.1’de görüldüğü şekilde ekim yapılmış ve farklı sıcaklık (5°C, 25°C, 37°C) koşullarında inkübe edilmiştir.



Şekil 3.1 : Küflere ait identifikasyon şeması (Pitt ve Hocking, 1997).

Şekilde 3.3’ de görüldüğü gibi küflerin identifikasyonu sırasında 3 farklı inkübasyon sıcaklığı kullanılmıştır. Küf örneği üç farklı petrideki CYA besiyerine üç nokta halinde ekilerek 7 gün süre ile 25°C, 37°C ve 5°C’de inkübe edilmiştir. Küf örneği ayrıca MEA besiyerine ekilerek 25°C’de ve G25N besiyerine ekilerek 25°C’de 7 gün süre ile inkübe edilmiştir.

Küfler bu farklı besiyeri ve sıcaklık koşullarındaki boyut, renk, doku ve mikroskop altındaki görünümüne göre morfolojik ve mikroskopik özellikleri dikkate alınarak Samson ve diğ. (2002) ve Pitt ve Hocking (1997) tarafından belirtilen özellikler ile karşılaştırılmıştır. Böylece küflü sucuklardan 6 farklı *Penicillium* cinsi küf izole edilmiş ve aşılama çalışmalarında bu suşlar kullanılmıştır.

Küfler identifikasyon işlemi tamamlandıktan sonra saf kültür halinde yatık MEA'a alınmış ve analizlerde kullanılıncaya kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.5 Maya identifikasyonu

Sucuklardan izole edilen saf maya kültürleri önce Sabouraud Medium'a (BioMérieux) alınmıştır. Maya identifikasyonu için API®20 C AUX test kiti kullanılmış ve bu kit ithalatçı bir firmadan (BioMérieux Diagnostik A.Ş.) temin edilmiştir.

Sucuklardaki maya türlerinin tespiti için ekim yapılan MEA ve DRBC agarda gelişen maya kolonilerinden steril bir öze yardımıyla aseptik koşullar altında alınmış ve MEA ve DRBC besiyerlerine tek kolon halinde düşmesi için Şekil 3.2'de gösterildiği şekilde ekimleri yapılmıştır. Petriler 25°C'de 3 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası tek koloni halinde düşen mayalar mikroskopta incelenerek farklı mikroskopik görünümlere sahip mayalar seçilmiştir.



Şekil 3.2 : DRBC ve MEA agarda maya identifikasyonu.

Daha sonraki aşamada ise, saflaşan maya kolonileri yine steril bir öze yardımıyla saflaştırmada maya izolasyonu için seçici bir besiyeri olan Sabouraud besiyerine aşılanmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen maya kolonileri API test kiti uygulanarak tür düzeyinde tanımlanmıştır.

API 20C AUX stripi, 19 asimilasyon testinin performansını gösterebilen ve dehidrate substratlar içeren 20 kuyucuktan oluşmaktadır. Küpüller yarı katı bir minimal madde ile inoküle edilir ve mayalar karbon kaynağı olarak her bir substratı kullanma kapasitesine sahip olduklarında çoğalabilirler. Reaksiyonlar, kontrollerdeki çoğalma ile karşılaştırılarak okunur ve bilgisayar tanımlama programı kullanılarak hangi türe ait olduğu belirlenir.

API 20C AUX stripinin bileşimi aşağıda Çizelge 3.2’de verilmiştir.

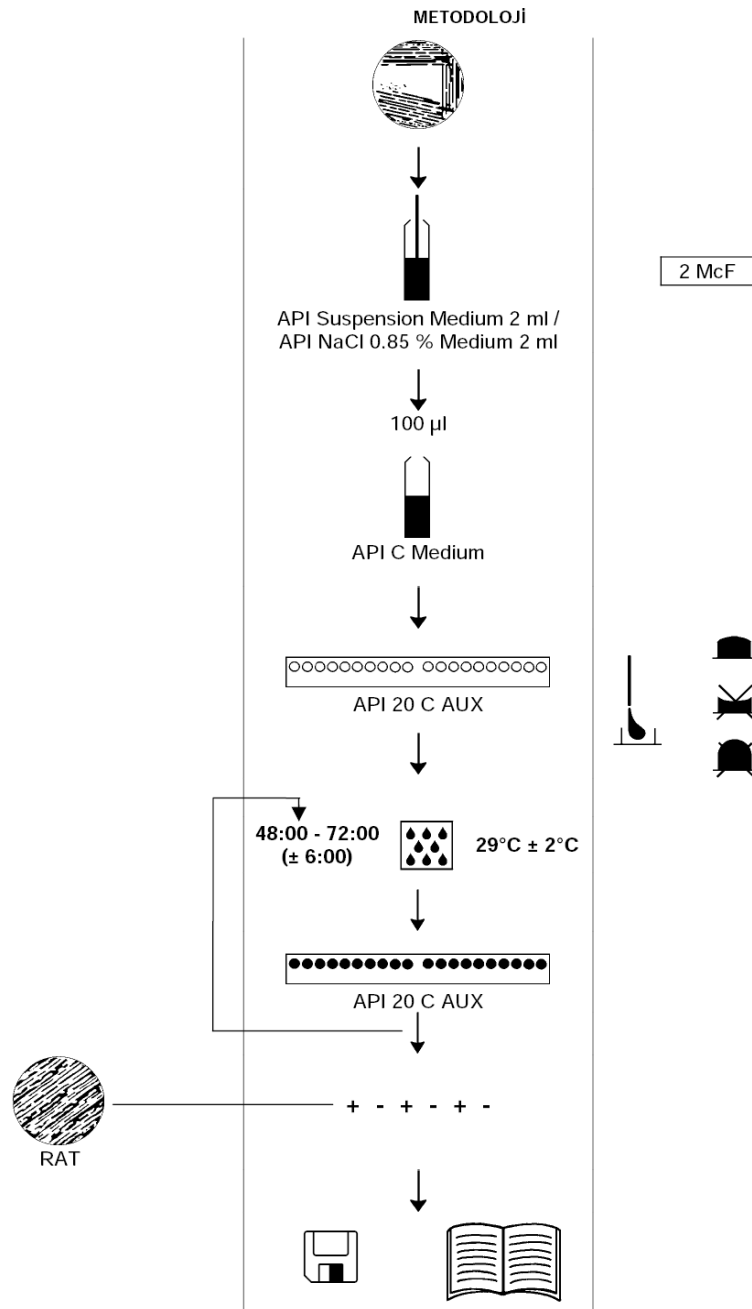
Çizelge 3.2 : API 20C AUX strip bileşimi.

TESTLER	AKTİF MADDELER	MİKTAR (mg/küpül)
0	Boş	-
GLU	D-GLUcose	1,2
GLY	GLYcerol	1,2
2KG	calcium 2-Keto-Gluconate	1,2
ARA	L-ARAbinose	1,2
XYL	D-XYLose	1,2
ADO	ADOnitol	1,2
XLT	XyLiTol	1,2
GAL	D-GALactose	1,9
INO	INOsitol	2,36
SOR	D-SORbitol	1,2
MDG	Methyl- α D-Glucopyranoside	1,2
NAG	N-Acetyl-Glucosamine	1,2
CEL	D-CELlobiose	1,2
LAC	D-LACtose (bovine origin)	1,2
MAL	D-MALtose	1,2
SAC	D-SACcharose (sucrose)	1,2
TRE	D-TREhalose	1,2
MLZ	D-MeLeZitose	1,2
RAF	D-RAFfinose	1,9

Test striplerine inokülasyon yapmak için API suspension medium kullanılmıştır. Bu amaçla steril bir pipet yardımıyla taze maya kültürlerinden bir koloni alınmış ve API

suspension mediaa ilave edilmiştir. Solüsyonun türbiditesinin 2 McFarland'a eşdeğer olması için seyreltme veya maya ilavesi yapılmıştır. Bu süspansiyon hazırlandıktan hemen sonra API C Medium ampulüne 100µl boşaltılmıştır. Homojenize edildikten sonra bu süspansiyondan alınarak striplerdeki kuyucuklar pipet yardımıyla doldurulmuştur. Her maya için yapılan striplerin kapağı kapatılarak 48-72 saat süreyle 30°C' de inkübe edilmiştir.

API test kiti ile identifikasyon aşamaları Şekil 3.3'de gösterilmiştir.



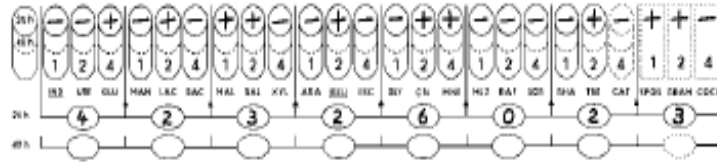
Şekil 3.3 : API test kiti kullanılarak yapılan maya identifikasyonunun aşamaları.

İnokülasyonu yapılan test kitlerinin 48 ve 72 saat sonrasında okumaları yapılmıştır. İnokülasyondan sonraki bir test kitinin görüntüsü Şekil 3.4’de verilmiştir.



Şekil 3.4 : İnkübasyon sonrası test küpüllerinin görünümü.

Test kitinin prosedürüne göre, sonuç değerlendirmesi küpülleri 0 küpülü ile karşılaştırarak yapılır. 0 küpülü negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Kontrolden daha bulanık olan küpüller pozitif olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.5 : Test küpüllerinin değerlendirilmesi.

Elde edilen veriler bilgisayar programına işlenmiş ve mayaların tür düzeyinde tanımlama işlemi tamamlanmıştır.

3.2.6 Aşılamada kullanılacak maya ve küf süspansiyonlarının hazırlanması

İzole edilen ve tanımlanan *Penicillium* izolatları küfleri kullanılıncaya kadar yatık MEA’da 7 gün 25°C’de geliştirildikten sonra +4°C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Deneylerde kullanılmak üzere buzdolabından çıkarılan küf izolatları, aşılama işleminden bir hafta önce, aktive edilmek için önceden hazırlanmış tüplerde bulunan yatık agarlara (MEA) alınmış 25°C’de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda her bir tüp üzerine %0,05’lik steril Tween 80 çözeltisinden 5 ml ilave edilmiştir. Steril öze yardımıyla agar zedelenmeden küf sporları sıvıya alınmıştır. Bu tüpler tüp karıştırıcısında karıştırıldıktan sonra aynı üründen izole edilen küflerin spor süspansiyonları aynı steril tüpler içinde toplanmıştır. Spor süspansiyonlarından Thoma lamına 0.1ml alınarak mikroskopun 40’lık objektifinde spor sayımları yapılmıştır. Sayımlara göre 10^6 spor/ml konsantrasyonuna sahip 2 ml’lik spor süspansiyonları hazırlanmıştır. Thoma lamındaki sayım ve hesaplamalar Temiz (2000)’e göre yapıldı.

Aşılamada kullanılacak maya izolatlarının solüsyonları da aynı uygulama ile hazırlanmıştır.

3.2.7 Sucuk kılıflarına küf aşılması

Bu aşamada sucuk dolumunda kullanılan yapay kolajen kılıflarda küf gelişimi incelenmiştir. Küflü sucuklardan izole edilen 6 çeşit küfün spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Her bir çeşidin kılıfta gelişimini gözlemek için, 1ml steril su ile nemlendirilmiş 10cm² lik kılıflar MEA besiyeri içeren petrilere konulmuştur. Nemli kılıflar üzerine spor solüsyonlarından 1µl alınarak aseptik koşullarda aşılama yapılmıştır. Bunun yanında kontrol için ayrıca besiyerine ve nemli kılıflar üzerine aşılama yapılmıştır. Aşılması yapılan petriler 7 gün 20°C ve 25°C olmak üzere iki farklı sıcaklık derecesinde inkübasyona bırakılmıştır. Küf sporları ile aşılanmış kılıfların görüntüsü Şekil 3.6’da verilmiştir.



Şekil 3.6 : Küf aşılanmış kılıfların inkübasyon sonrası görüntüleri.

3.2.8 Sucuklara küf ve maya aşılması

Sucuklarda küf ve maya gelişimini incelemek amacıyla marketten alınan sucuk aseptik olarak dilimlenmiş ve dilimler steril petrilere yerleştirilmiştir. Sucuk dilimlerinin üzerine her küf çeşidinden hazırlanan spor süspansiyonlarından 1µl aşılama yapılmıştır. Petriler 20°C ve 25°C’ de 7 gün süre ile inkübe edilmiştir. Ayrıca kontrol olarak her spor solüsyonundan MEA’ a ekim yapılmıştır.

3.2.9 Maya izolatlarının küf gelişimini inhibe edici etkisinin incelenmesi

Maya izolatlarının izole edilen küf türlerini inhibe edip etmediğini araştırmak için, sucuktan izole ettiğimiz maya suşlarından 10^6 hücre/ml maya olacak şekilde solüsyon hazırlanmıştır. Daha sonra bu solüsyondan her petriye 1 ml ilave edilmiş ve üzerine MEA agar ilave edilerek petrilerde karışması sağlanmıştır. Yaklaşık 3 saat sonra (agar donduktan sonra) sucuktan izole ettiğimiz taze küf suşlarından spor süspansiyonu hazırlanmış ve bu süspansiyonlardan mayalı MEA agara 3 nokta ekim yapılmıştır. Petriler daha sonra 25°C’de 7 gün inkübasyona bırakılmış ve küf gelişmesi incelenmiştir.

3.2.10 İstatistiksel Analizler

MEA ve DRBC sayım sonuçları arasında farklılık değerlendirilmesi için Tukey testi kullanılmıştır. Analiz boyunca SPSS (Windows Release 16.0) kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Küflü Sucuklarda Fizikokimyasal Analizlere Ait Bulgular

Küflü sucuklara ait bilgiler ve nem (%), su aktivitesi (a_w) ve pH değerleri çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 : Küflü sucuklara ait pH, a_w ve nem değerleri.

Firma	Örnek sayısı	Bileşim	a_w	Nem %	pH	Görünüm	Kılıf türü
C.I	1	Dana eti	0,77	23	6,2	beyaz yüzey	yapay
	2	Dana eti	0,80	25	6,2	beyaz yüzey	yapay
	3	Dana eti	0,80	26	6,4	beyaz yüzey	yapay
	4	Dana eti	0,78	28	6,3	beyaz yüzey	yapay
	5	Dana eti	0,76	23	6,2	beyaz yüzey	yapay
Ö.II	6	Dana eti	0,76	22	6,6	yeşil yüzey	yapay
	7	Dana eti	0,78	22	6,4	yeşil yüzey	yapay
	8	Dana eti	0,70	19	6,2	yeşil yüzey	yapay
N.III	9	Dana eti	0,85	30	6,1	beyaz yüzey	doğal
	10	Dana eti	0,84	30	6,1	beyaz yüzey	doğal
	11	Dana eti	0,81	28	6,0	beyaz yüzey	doğal
B.IV	12	Dana eti	0,84	35	5,1	beyaz yüzey	doğal
	13	Dana eti	0,83	33	5,6	beyaz yüzey	doğal
	14	Dana eti	0,86	33	5,5	beyaz yüzey	doğal
Ö.V	15	Dana eti + Piliç eti	0,85	36	7,5	yeşil yüzey	yapay
	16	Dana eti + Piliç eti	0,85	36	7,5	yeşil yüzey	yapay
	17	Dana eti + Piliç eti	0,86	37	7,2	yeşil yüzey	yapay
	18	Dana eti + Piliç eti	0,87	39	7,1	yeşil yüzey	yapay
	19	Dana eti + Piliç eti	0,87	36	7,5	yeşil yüzey	yapay
Ö.VI	20	Dana eti + Piliç eti	0,87	39	7,8	yapışkan yüzey	yapay
	21	Dana eti + Piliç eti	0,88	40	7,7	yapışkan yüzey	yapay
	22	Dana eti + Piliç eti	0,86	37	7,5	yapışkan yüzey	yapay
B.VII	23	Dana eti + Piliç eti	0,85	45	5,8	beyaz tek küf	yapay
	24	Dana eti + Piliç eti	0,87	46	5,8	beyaz tek küf	yapay
	25	Dana eti + Piliç eti	0,85	45	5,8	beyaz tek küf	yapay

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi nem değeri %100 dana etinden elde edilmiş sucuklarda %19-35 arasındayken, dana eti ve piliç eti karışımı sucuklarda bu değer %36-46 arasındadır. Dana eti ve piliç eti karışımı sucuklarda nem oranının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Dana ve piliç etinin birlikte kullanıldığı sucuk örneklerinde 1 firmanın ürettiği tün sucuklar ve bir diğer firmaya ait 1 sucuk örneği TS’ye uygun değildir. TS 1070 (2002)’ de verilen değerlere göre sucuklarda olması gereken nem oranı en çok %40’dır. Buna göre sadece dana etinden üretilen sucukların tümü TS’ye uygundur.

TS 1070 (2002)’ de sucukların sahip olması gereken pH değeri 4,7-5,4 arasındadır. Temin edilen küflü sucuklara ait pH değerlerinin standarda göre istenilen değerden fazla olduğu açıkça görülmektedir. Bulgularımız sadece 1 örneğin pH değerinin standarda uygun olduğunu ve sadece dana etinden yapılan sucuklarda pH değerinin 5,1-6,6; karışım sucuklarda ise bu aralığın 5,8-7,8 olduğunu göstermiştir.

Numunelerdeki fizikokimyasal değerler incelendiğinde, oldukça geniş pH aralığında (pH 2-9) ve su aktivitesinde (0,80 ve üzeri) gelişme gösteren küf ve mayalar için elverişli bir ortam oluştuğu gözlenmiştir.

4.2 Sucukta Mikrobiyolojik Analizlere Ait Bulgular

Küflü sucuklarda belirlenen mikroorganizmalar ve sayıları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Çizelge 4.2’de de görüldüğü gibi küflü sucuk örneklerinde *Staphylacoccus aureus*, *E.coli*, *koliform* ve *Cl.perfringens* gibi et ürünlerinde gelişme gösteren ve risk oluşturan bakteriler aranmıştır, fakat 25 numunenin çoğunda risk taşıyan bu mikroorganizmalara rastlanılmamıştır. *Cl.perfringens* sadece 1 örnekte, *E.coli* ise 3 örnekte pozitif bulunmuştur.

Sucuk numuneleri paralelli olarak MEA ve DRBC besiyerlerine pararel olarak ekilmiştir. Sonuçlar iki besiyerinden elde edilen sayımların ortalaması alınarak hesaplanmıştır. İki besiyerinden elde edilen sayım sonuçlarının farklılığını test etmek için SPSS istatistiksel analizi kullanılmış ve sonuçlar arası fark belirlenmemiştir ($\alpha < 0,05$). SPSS veri analizinin sonucu ekte verilmiştir. Maya ve küf yüklerine ait veriler ve dağılımlar çizelge 4.2’de verilmiştir. Küflü sucuk örneklerinde maya sayısı 5,51-8,68 log cfu/g arasında değişmektedir. Sucuk örneklerindeki küf sayısı ise 2,00-6,78 log cfu/g’dır.

I nolu firmadan temin edilen 5 sucuk örneğinde sucuk yüzeyi tamamen beyaz renkte bir tabaka ile kaplı olmasına rağmen hiç küf izole edilmemiştir.

%100 dana etinden üretilmiş sucuklarda maya yükü 6,12-8,68 log cfu/g arasında değişirken, dana eti ve piliç eti karışımı sucuklarda bu değer 5,51-7,28 log cfu/g arasında değişiklik göstermektedir. Buna göre dana etinden üretilen sucuklarda maya sayısı, dana ve piliç eti karışımından üretilenlere göre daha yüksektir.

III ve IV nolu firmalardan temin edilen doğal bağırsaklı sucuklarda maya yükünün 7,68-8,68 log cfu/g arasında değiştiği ve yapay kılıflı sucuklardan daha fazla maya yüküne sahip olduğu görülmektedir.

Sucuklardaki küf sayısı %100 dana etinden üretilen sucuklarda 2,00-5,81 log cfu/g, dana eti ve piliç eti karışımı sucuklarda bu değer 4,59-6,78 log cfu/g arasında değişmektedir. Küf sayısı bakımından ise maya sayısının tam tersine dana ve piliç eti karışımında sayı daha yüksektir.

Çizelge 4.2 : Küflü sucuk numunelerine ait mikrobiyolojik değerler.

Örnek Kodu	Karışım	Örnek sayısı	<i>S.aureus</i> CFU/g	<i>C.perfringens</i> CFU/g	<i>E.coli</i> CFU/g	Koliform CFU/g	MAYA log CFU/g	KÜF log CFU/g
C.I	Dana eti	1	0	0	0	0	6,48	0,00
		2	0	0	30	0	6,48	0,00
		3	0	0	0	0	6,48	0,00
		4	0	0	0	0	6,48	0,00
		5	0	0	140	0	6,48	0,00
Ö.II	Dana eti	6	0	0	0	0	6,12	2,70
		7	0	0	0	0	6,46	2,00
		8	0	0	0	0	7,03	2,30
N.III	Dana eti	9	0	0	0	0	8,38	0,00
		10	0	0	0	0	8,29	5,70
		11	0	0	0	0	7,68	5,67
B.IV	Dana eti	12	0	0	140	0	8,68	4,23
		13	0	0	0	0	8,47	4,83
		14	0	0	40	0	8,67	5,81
Ö.V	Dana eti+ Piliç eti	15	0	0	0	0	7,11	6,53
		16	0	0	0	0	6,92	6,78
		17	0	0	0	0	7,06	6,64
		18	0	0	0	0	7,10	6,75
		19	0	0	0	0	6,94	6,78
Ö.VI	Dana eti+ Piliç eti	20	0	100	0	0	6,59	6,32
		21	0	0	0	0	7,27	6,60
		22	0	0	0	0	7,28	5,97
B.VII	Dana eti+ Piliç eti	23	0	0	0	0	5,51	4,70
		24	0	0	0	0	7,03	4,59
		25	0	0	0	0	6,57	5,36

4.3 Küflü Sucuk Örneklerinde Maya ve Küf Florası

Bu çalışma için 7 farklı et firmasından toplam 25 örnek alınmıştır ve mikofloraları üzerine araştırma yapılmıştır. Çizelge 4.3’de küflü sucuklardan alınan örneklerden izole edilen küf ve maya türleri verilmiştir.

Çizelge 4.3 : Küflü sucuk örneklerinden izole edilen maya ve küf türleri.

Bileşim	Firma	Pozitif Örnek Sayısı												
		Maya florası						Küf florası						
		<i>C.krusei</i>	<i>C.lusitaniae</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.zeylanoides</i>	<i>D.hansenii</i>	<i>R.mucilaginos</i>	<i>C.cladosporioides</i>	<i>P.aurantiogriseum</i>	<i>P.chrysogenum</i>	<i>P.comune</i>	<i>P.crustosum</i>	<i>P.nalgiovense</i>	<i>P.solitum</i>
Dana eti	C.I (n ¹ :5)					5								
	Ö.II (n:3)		1	1	3	2				2		3		
	N.III (n:3)					3		2				1	2	
	B.IV (n:3)					3			2				1	
Dana eti + Piliç eti	Ö.V (n:5)					5						5	2	1
	Ö.VI (n:3)			2		2	1				1	3		
	B.VII (n:3)	1		1		3			3					
TOPLAM		1	1	4	3	23	1	2	5	2	1	12	2	4

¹: n=toplam örnek sayısı

Çizelge 4.3’de de görüldüğü gibi 7 firmaya ait toplam 25 küflü sucuk örneğinden 6 farklı maya türü ve 7 farklı küf türü izole edilmiştir.

Küflü sucuk örneklerinde en çok karşılaşılan maya 25 örneğin 23’ünden izole edilen *Debaryomyces hansenii* (*C.famata*) maya türüdür. Dana etinden üretilen 14 örneğin 13’ünde ve dana eti ve piliç eti karışımı 11 sucuk numunesinin 10’unda *D.hansenii* maya türü izole edilmiştir. Elde edilen bulgular literatürde et ve et ürünlerinde yapılan çalışmalarda alınan sonuçlarla benzerdir (Encinas, 2000; Nielsen, 2008; Gardini, 2001; Olesen ve Stahnke, 2000; Lopez-Diaz, 2000; Asefa, 2009).

Günümüz et ve et ürünleri üzerine yapılan çalışmalarda mayalar bozulma etmeni görülmeselerde, istenilen hijyenik koşullar ve önerilen prosedürler uygulanmadıkça bozulmaya sebep olabilmektedirler (Nielsen, 2008).

Örneklerimizden izole edilen maya türleri arasında büyük bir paya sahip *D.hansenii* laktik asit ve stafilokoklarla birlikte starter kültür olarak kullanıldığında, fermente et ürünlerinin tat ve aroma oluşumuna olumlu etkisinin olduğu gözlenmiştir (Dura ve diğ., 2004). Ayrıca bu maya türü yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanıklı olmasına karşın, sarımsak tozu ile kolayca inhibe olabilmektedir (Olesen, 2000). Bu nedenle sarımsak kullanılan sucuklarda starter olarak kullanılması önerilmemektedir.

Ercinas ve diğ. (2000) İspanyol sucuklarında yaptıkları araştırmada 3 sucuk örneğinden izole ettiğimiz *C.parapsilosis*'in yüzeyde yapışkan bir doku oluşturduğunu saptamışlardır.

R.mucilaginosa maya türü sadece bir örnekten (Ö.VI) izole edilmiş olup, dana ve piliç eti karışımı sucukta gelişme göstermiştir. Yapılan araştırmalar sonucu bu maya türünün tavuklarda iltihaplı deri hastalığına sebep olduğu saptanmıştır (Beemer, 1970). Bu durum uygunsuz hammadde kullanımından ileri gelebilmektedir.

Mayaların identifiye edilmesinde API 20C AUX hızlı test yöntemi kullanılmıştır. Aşağıdaki şekilde API test kiti ile izole edilen maya türlerinin doğruluk yüzdeleri çizelge 4.4'de verilmiştir. Örneklerin API test sonuçları ekte ayrıca verilmiştir.

Çizelge 4.4 : API test kiti ile identifiye edilen maya türleri ve doğruluk yüzdeleri.

ÖRNEK NO	MAYA TÜRÜ	DOĞRULUK %
1	<i>C.famata</i>	99,9
2	<i>C.famata</i>	99,9
3	<i>C.famata</i>	83,1
4	<i>C.famata</i>	78,4
5	<i>C.parapsilosis</i>	92,9
6	<i>C.famata</i>	99,5
7	<i>C.zeilanooides</i>	99,9
8	<i>C.lusitaniae</i>	82,8
9	<i>C.famata</i>	99,9
10	<i>C.parapsilosis</i>	96,1
11	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	99,9
12	<i>C.krusei</i>	98,9
13	<i>C.krusei</i>	98,9
14	<i>C.zeilanooides</i>	99,9
15	<i>C.famata</i>	99,9
16	<i>C.famata</i>	99,9
17	<i>C.famata</i>	99,9

Sucuklarda küf florasına hakim olan küf *Penicillium* cinsi küflerdir. Sadece 2 örneğimizde *Cladosporium cladosporioides* türü bulunmuştur. Günümüze kadar sucuk üzerine yapılan çalışmalarda *Penicillium* cinsi küflerin küf mikoflorasına hakim olduğu görülmüştür (Lopez-Diaz ve diğ., 2001; Samson ve diğ., 2002; Papagiani ve diğ., 2007; Sorensen ve diğ., 2008; Asefa ve diğ., 2009). Sucuk örneklerimizden izole ettiğimiz küf arasında *P.crustosum* en çok rastlanılan küf türüdür. 25 örneğin 12'sinden *P.crustosum* izole edilmiştir.

Küf gelişmesini etkileyen faktörlerin başında sıcaklık gelmektedir. Küf izolatları besiyerine aşılanarak 3 farklı sıcaklık derecesinde inkübe edilmiş, bulgular çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.5 : İzole edilen küf türlerin belirli sıcaklıktaki gelişimleri.

KÜF	GELİŞME				
	5°C	25°C			37°C
	CYA	CYA	MEA	G25N	CYA
<i>C.cladosporioides</i>	+ ¹	+	+	+	- ²
<i>P.aurantiogriseum</i>	m.k. ³	+	+	+	-
<i>P.chrysogenum</i>	m.k.	+	+	+	-
<i>P.commune</i>	m.k.	+	+	+	-
<i>P.crustosum</i>	m.k.	+	+	+	-
<i>P.nalgiovense</i>	m.k.	+	+	+	-
<i>P.solitum</i>	m.k.	+	+	+	-

¹: +=gelişme var, ²:-=gelişme yok, ³:m.k.=mikro koloni

Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi küf izolatlarının hiçbirisi 37°C'de gelişmemiş, 5°C'de mikrokoloni oluşumu ile zayıf gelişme gözlenmiştir. İzole edilen bu küf türlerinin optimum gelişme sıcaklıklarının 25°C olduğu ve 5°C'de az da olsa gelişme gösterebildikleri sonucuna varılmıştır. Bulgularımız literatür verileri (Samson ve diğ., 2002) ile karşılaştırılmış ve uyumlu olduğu görülmüştür.

Penicillium cinsi bazı küflerin mikotoksin üretme özellikleri nedeniyle gıdalarda gelişmesi istenmez. Aşağıdaki tabloda literatürde yer alan izole ettiğimiz küf türlerine ait potansiyel mikotoksinler yer almaktadır.

Çizelge 4.6 : İzole edilen küflerin ürettikleri mikotoksinler.

<i>Penicillium</i> türü	Mikotoksin	Gıda	Referans
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	Penicilllic acid	meyve	Aziz ve Moussa, 2002
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Roquefortin C	Kakao çekirdeği	Pitt ve Hocking, 1997
<i>Penicillium commune</i>	Cyclopiazonic acid	sucuk	Sorensen ve diğ., 2008
	Cyclopiazonic acid	sucuk	Andersen, 1995
	Cyclopiazonic acid	sucuk	Lopez-Diaz ve diğ., 2001
	Cyclopiazonic acid	peynir	Taniwaki ve diğ., 2001; Lund ve diğ., 2003
<i>Penicillium crustosum</i>	Penitrem A	findık	Overy ve diğ., 2003
	Penitrem A	ceviz	Richard ve diğ., 1981
	Penitrem A	krem peynir	Richard ve Arp, 1979
	Penitrem A	pirinç	Rundberget ve diğ., 2004
	Penitrem A, roquefortin C	peynir	Lund ve diğ., 1995; Kokkonen ve diğ., 2005
<i>Penicillium nalgiovense</i>	Penicillin	Yunan sucuğu	Papagianni, 2007
<i>Penicillium solitum</i>	- ¹	-	-

¹: --görülmemiştir

Çizelge 4.6’ da görüldüğü gibi sucuklardan izole ettiğimiz küf türlerinden *P.solitum* haricindeki bütün türler mikotoksin üretme özellikleri nedeniyle risk taşımaktadır. Özellikle yapılan araştırmalar sonucu sucukta cyclopiazonic asit ürettiği belirlenen *P.commune* sucukta risk oluşturan küfler arasında birinci sırada yer almaktadır. Ayrıca *P.nalgiovense* penicillin ürettiği için penicilline duyarlı tüketiciler için risk teşkil etmektedir.

4.4 Sucuk ve Sucuk Kılıflarında Küf ve Maya Gelişimi

Küf ve maya izolatları yapay kolajen kılıf, sucuk ve MEA üzerine yerleştirilen sucuk örneğine aşıl原因arak 3 farklı sıcaklık derecesinde 7 gün inkübe edilmiş ve gelişimlerine ait bulgular çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7 : İzole edilen küf ve maya suşlarının kılıf ve sucuk üzerinde gelişimi.

		Yapay kolajen kılıfta gelişme			Sucukta gelişme			Sucuk+besiyeri gelişme		
		5°C	20°C	25°C	5°C	20°C	25°C	5°C	20°C	25°C
Mayalar	<i>C.krusei</i>	- ¹	-	-	-	+ ²	+	-	+	+
	<i>C.lusitaniae</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>C.parapsilosis</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>C.zeylanoides</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>D.hansenii</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>R.mucilaginosa</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Küfler	<i>C.cladosporioides</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>P.aurantiogriseum</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>P.chrysogenum</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>P.commune</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>P.crustosum</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>P.nalgiovense</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+
	<i>P.solitum</i>	-	-	-	-	+	+	-	+	+

¹: - =gelişme yok, ²:+ =gelişme var

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi küf ve maya izolatlarının hiçbirisi yapay kolajen kılıfta gelişmemiştir. Sucuk ve MEA üzerine yerleştirilen sucuklarda izolatların aynı sıcaklık derecelerinde gelişmesi benzerlik göstermiştir. Küf ve maya izolatları 5°C’de gelişmemiş, 20°C ve 25°C’lerde ise gelişme göstermiştir.

4.5 Sucuktan İzole Edilen Mayaların Küf Gelişmesi Üzerine Etkisi

Sucuktan izole edilen maya izolatlarının, sucuktan izole edilen küf türlerinin gelişimi üzerine etkisi 25°C sıcaklıkta 7 gün sonunda incelenmiş ve bulgular çizelge 4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8 : Mayaların küf gelişmesine etkisi.

MAYALAR	KÜFLER						
	<i>C.cladosporioides</i>	<i>P.aurantiogriseum</i>	<i>P.chrysogenum</i>	<i>P.commune</i>	<i>P.crustosum</i>	<i>P.nalgiovense</i>	<i>P.solitum</i>
<i>C.krusei</i> (n ³ :1)	- ²	+ ¹	-	-	+	-	-
<i>C.lusitaniae</i> (n:1)	+	+	+	+	+	+	+
<i>C.parapsilosis</i> (n:4)	-	+	-	+	+	-	-
<i>C.zeylanoides</i> (n:3)	-	+	-	+	+	-	+
<i>D.hansenii</i> (n:23)	+	+	+	+	+	+	+
<i>R. mucilaginosa</i> (n:1)	-	+	-	+	+	-	-

¹: +=gelişme var, ²:-=gelişme yok, ³: n=izolat sayısı

Çizelge 4.8’de mayaların küflerin gelişimi üzerine etkileri verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi bazı türdeki mayaların küflerin gelişimi üzerine inhibe edici etkisi olabilmektedir.

C.krusei; *P.crustosum* ve *P.aurantiogriseum* gelişmesi üzerine etkili olmayıp *P.commune*, *P.solitum*, *P.chrysogenum*, *P.nalgiovense* ve *C.cladosporioides* gelişimini önlemiştir.

C.parapsilosis ve *R.mucilaginosa* maya türlerinin küf izolatları üzerine etkisi benzerlik göstermektedir. Bu maya türleri *P.solitum*, *P.chrysogenum*, *P.nalgiovense*, *C.cladosporioides* gelişmesini önlemiştir.

C.zeylanoides ise *P.chrysogenum*, *P.nalgiovense* ve *C.cladosporioides* gelişmesini inhibe edici etki göstermiştir.

P.crustosum ve *P.aurantiogriseum* gelişmesine hiçbir maya izolatının etkisi olmamıştır. Benzer şekilde *C.lusitaniae*, *D.hansenii* maya türleri küf gelişmesini inhibe edici etki göstermemiştir.

Ortamdaki küf ve maya yükünün etkisi göz ardı edilmemelidir. Küfü inhibe edecek maya konsantrasyonu da önem taşımaktadır. Çalışmamızda maya ve küf sayıları eşit olup, 10⁻⁶ cfu/ml maya hücresinin 10⁻⁶ cfu/ml küf sporu üzerine etkisi incelenmiştir. Literatürde mayaların küfler üzerindeki inhibe edici etkisi üzerine yapılan çalışmalar

yer almaktadır. Eklund ve Skirdal (1993) küfler üzerine yaptıkları bir çalışmada, bakteriler üzerinde inhibe edici etkisi olan *Candida albicans* maya türünün belirli konsantrasyonlarının, küfler üzerinde inhibe edici etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada küflü sucuklarda mikroflora incelenmiş, sucuklardan izole edilen maya ve küfler identifiye edilerek, maya izolatlarının küf gelişimine etkisi incelenmiştir.

Küflü sucuk örneklerinde *S.aureus*, *E.coli*, *Koliform* ve *C.perfringens* gibi et ürünlerinde gelişme gösteren ve risk oluşturan bakteriler aranmış, fakat 25 numunenin çoğunda risk taşıyan bu mikroorganizmalara rastlanılmamıştır. Sucukta kullanılan koruyucu maddelerin ve uygulanan sıcaklık değerlerinin bu duruma etken olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca ekim yapılan petrilerde çok fazla miktarda maya ve küf gelişimi gözlenmiştir. Maya ve küf gelişiminin çok fazla olmasının, bakterilerin gelişimi üzerinde inhibe edici etki göstermiş olabileceği düşünülmektedir.

Firmalardan temin edilen örnekler arasında yüzeyi tamamen beyaz bir tabaka ile kaplı sucuklarda hiçbir küf türü izole edilmemiş, bu bozulmanın sucuktan izole edilen *D.hansenii* (anamorf *C.famata*)’den ileri geldiği belirlenmiştir.

Analiz edilen yapay kolajen kılıflı sucuklar ve doğal bağırsaklı sucuklardaki maya yükleri arasında farklılıklar gözlenmiştir. Dana etinden üretilmiş doğal bağırsaklı sucuklarda maya sayısı, yapay kolajen kılıflı hem dana etli hem de dana eti ve piliç eti karışımı sucuklara göre daha yüksektir; küf sayısı için ise belirleyici bir fark gözlenmemiştir.

Dana etinden üretilmiş küflü sucuklardaki küf yükü, piliç eti ve dana eti karışımı sucuklardaki küf yüküne oranla daha azdır, maya sayısı için ise belirleyici bir fark gözlenmemiştir.

İdentifiye edilen maya türlerinin çoğu *Candida* cinsine aittir. Küflerde ise floraya hakim küf türü *Penicillium*’dur.

Küf gelişimini önlemek açısından en etkili maya türü *C.krusei*’dir. Bunu *C.parapsilosis* ve *R.mucilaginosa* izlemektedir. *D.hansenii* ve *C.lusitaniae* hiçbir küf türü üzerinde önleyici etki göstermemiştir. *P.crustosum* ve *P.aurantiogriseum* küf

türleri gelişimi üzerinde test edilen hiçbir maya gelişmeyi önleyici etki göstermemiştir.

Örneklerimiz arasından dana ve piliç eti karışımı bir sucuk örneğinde, tavuklarda iltihaplı deri hastalığına sebep olan *R.mucilaginos*a izole edilmiştir. Bu durum uygunsuz hammadde kullanımını açıkca göstermektedir.

Bu çalışmada sucukta bozulmaya sebep olabilecek maya ve küf türlerinin yapay kolajen kılıflardan ileri gelebileceği düşünülmüş, fakat kılıflar üzerinde yapılan aşılama çalışmaları sonucunda herhangi bir maya veya küf türünün geliştiği gözlenmemiştir. Bozulmaya sebep olan maya ve küf türlerinin kontaminasyon sonucu hijyenik olmayan üretim koşullarından, uygunsuz hammadde kullanılmasından ve elverişsiz depolama koşullarından ileri gelebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akçelik, M., Ayhan, K. ve Çakır, İ.,** 2000. *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*, 2. Baskı, Sim Mabaacılık, Ankara.
- TGK,** 2000. Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği, Tebliğ No: 2000/4, Resmi Gazete, Sayı 23960, 42.
- Andersen, S.J. and Frisvad, J.C.,** 1994. Penicillin production by *Penicillium nalgiovense*, *Letters in Applied Microbiology*, **19**, pp. 486-488.
- Andersen, S.J.,** 1995. Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages, *Journal of Food Protection*, **58** (4), pp. 426-429.
- Andrade, M.J., Rodriguez, M., Casado, E.M., Bermudez, E. and Cordoba, J.J.,** 2009. Differentiation of yeasts growing on dry-cured Iberian ham by mitochondrial DNA restriction analysis, RAPD-PCR and their volatile compounds production, *Food Microbiology*, **26** (6), pp. 578-586.
- Asefa, D.T., Moretro, T., Gjerde, R.O., Langsrud, S., Kure, C.F., Sidhu, M.S., Nesbakken, T. and Skaar, I.,** 2009. Yeast diversity and dynamics in the production processes of Norwegian dry-cured meat products, *International Journal of Food Microbiology*, **133**, pp. 135-140.
- Asefa, D.T., Skaar, I., Gjerde, R.O. and Sidhu, M.S.,** 2009. Moulds contaminants on Norwegian dry-cured meat products, *International Journal of Food Microbiology*, **128**, pp. 435-439.
- Aziz, N.H. and Moussa, L.A.A.,** 2002. Influence of gamma radiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits, *Food Control*, **13**, pp. 281-288.
- Beemer, A.M., Schneerson, S. and Kuttin, E.S.,** 1970. *Rhodotorula mucilaginosa* dermatitis on feathered parts of chickens: An epizootic on a poultry farm, *Avian Diseases*, **14**, No.2, pp. 234-239.
- Bolumar, T., Sanz, Y., Aristoy, M.C., Toldra, F. and Flores, J.,** 2006. Sensory improvement of dry-fermented sausages by the addition of cell-free extracts from *Debaryomyces hansenii* and *Lactobacillus sakei*, *Meat Science*, **72**, pp. 457-466.
- Bragulat, M.R., Martinez, E., Castella, G. and Cabanes, F.J,** 2008. Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus *Penicillium* from feedstuffs, *International Journal of Food Microbiology*, **126**, pp. 43-48.
- Bruna, J.M., Hierro, E.M., Hoz, L., Mottram, D.S., Fernandez, M. and Ordonez, J.A.,** 2001. The contribution of *Penicillium aurantiogriseum* to the volatile composition and sensory quality of dry fermented sausages, *Meat Science*, **59**, pp. 97-107.

- Ciegler, A. and Kurtzman, P.,** 1970. Penicillic acid production by blue-eye fungi on various agricultural commodities, *Applied and Environmental Microbiology*, **20** (5), pp. 761-764.
- Çon, A. H., Doğu, M. ve Gökalp, H., Y.,** 2002. Afyon'da büyük kapasiteli et işletmelerinde üretilen sucuk örneklerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin periyodik olarak belirlenmesi, *Doğa Veteriner ve Hayvancılık Dergisi*, **26**, pp. 11-16.
- Dura, M.A., Flores, M. and Toldra, F.,** 2004. Effect of *Debaryomyces spp.* on the proteolysis of dry-fermented sausages, *Meat Science*, **68**, pp. 319-328.
- Dura, M., Toldra, F., Flores, M. and Marco, A.,** 2004. Effect of *Debaryomyces spp.* on aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages, *Meat Science*, **68**, pp. 439-446.
- Dorko, E., Komtova, M., Pilipcinec, E., Brackova, I., Dorko, F., Danko, J., Sviscky, E. and Tkacikova, L.,** 2000. Rare non-albicans *Candida* species detected in different clinical diagnoses, *Folia Microbiologica*, **45**, pp. 364-368.
- Eklund, T. and Skirdal, I.M.,** 1993. Microculture model studies on the effect of sorbic acid on *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium cladosporioides* and *Ulocladium atrum* at different pH levels, *Journal of Applied Bacteriology*, **74**, pp. 191-195.
- Encinas, J.P., Otero, A., Lopez-Diaz, T.M., Garcia-Lopez, M.L. and Moreno, B.,** 2000. Yeast populations on Spanish fermented sausages, *Meat Science*, **54**, pp. 203-208.
- Erdoğan, Ö. ve Ergün, Ö.,** 2005. Kahramanmaraş piyasasında tüketilen sucukların bazı fiziksel, kimyasal, duyuşsal ve mikrobiyolojik özellikleri, *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Dergisi*, **31**, pp. 55-65.
- Fadda, M.E., Viale, S., Deplano, M., Pisano, M.B. and Cosentino, S.,** 2009. Characterization of yeast population and molecular fingerprinting of *Candida zeylanoides* isolated from goat's milk collected in Sardinia, *International Journal of Food Microbiology*, Article in Press.
- Fleet, G.H.,** 1990. Yeasts in dairy products, *Journal of Applied Bacteriology*, **68**, pp. 199-211.
- Hayes, P.R. and Forsythe, S.J.,** 1998. Food Hygiene, Microbiology and HACCP. Aspen Publishers, Gaithersburg.
- Gardini, F., Suzzi, G., Lombardi, A., Galgano, F., Crudele, M.A., Andrighetto, C., Schirone, M. and Tofalo, R.,** 2001. A survey of yeasts in traditional sausages of southern Italy, *FEMS Yeast Research*, **1**, pp. 161-167.
- Gardner, G.A.,** 1971. Microbiological and chemical changes in lean wiltshire bacon during aerobic storage, *Journal of Applied Bacteriology*, **34**, pp. 645-654.
- Geisen, R.,** 1993. Fungal starter cultures for fermented foods: Molecular aspects, *Trends in Food Science&Technology*, **4**, pp. 251-256.

- Gill, C. O. and Lowry, P.D.**, 1982, Growth at sub-zero temperatures of black spot fungi from meat, *Journal of Applied Bacteriology*, **52**, pp. 245-250.
- Gökalp, Y., H., Kaya, M. ve Zorba, Ö.**, 2002. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği, Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Müh. Bölümü, pp. 320-370, Erzurum.
- İnal, T.**, 1992. Besin Hijyeni, Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, İstanbul, pp. 121-314.
- Karakaya, M., Sarıçoban, C. and Caner, C.**, 2006. Properties of Turkish Style Sucuk made with different combinations of beef and hen meat, *Journal of Muscle Foods*, **17**, pp. 1-8.
- Kokkonen, M., Jestoi, M. and Rizzo, A.**, 2005. The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains, *International Journal of Food Microbiology*, **99**, pp. 207-214.
- Larsen, T.O., Smedsgaard, J., Lund, F., Frisvad, J.C. and Gareis, M.**, 2000. Chemical characterisation of cheese associated fungi, *Mycotoxin Research*, **16**, pp. 109-112.
- Liu, S.Q. and Tsao, M.**, 2009. Biocontrol of dairy moulds by antagonistic dairy yeast *Debaryomyces hansenii* in yoghurt and cheese at elevated temperatures, *Food Control*, **20**, pp. 852-855.
- Lopez Diaz, T.M., Gonzalez, C.J., Moreno, B. and Otero, A.**, 2002. Effect of temperature, water activity, pH and some antimicrobials on the growth of *Penicillium olsonii* isolated from the surface of Spanish fermented meat sausage, *Food Microbiology*, **19**, pp. 1-7.
- Lopez-Diaz, T.M., Santos, J.A., Garcia-Lopez, M.L. and Otero, A.**, 2001. Surface mycoflora of a Spanish fermented meat sausage and toxigenicity of *Penicillium* isolates, *International Journal of Food Microbiology*, **68**, pp. 69-74.
- Lund, F., Filtenborg, O. and Frisvad, J.C.**, 1995. Associated mycoflora of cheese, *Food Microbiology*, **12**, pp. 173-180.
- Martin, A., Cordoba, J.J., Benito, M.J. Aranda, E. and Asensio, M.A.**, 2003. Effect of *Penicillium chrysogenum* and *Debaryomyces hansenii* on the volatile compounds during controlled ripening of pork loins, *International Journal of Food Microbiology*, **84**, pp. 327-338.
- Moore, M.M., Breedveld, M.W. and Autor, A.P.**, 1989. The role of carotenoids in preventing oxidative damage in the pigmented yeasts, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Arch Biochem Biophys*, **270** (2), pp. 419-31.
- Nielsen, D.S., Jacobsen, T., Jespersen, L., Koch, A.G. and Arneborg, N.**, 2008. Occurrence and growth of yeasts in processed meat products- Implications for potential spoilage, *Meat Science*, **80**, pp. 919-926.
- Nunez, F., Rodriguez, M.M., Cordoba, J.J., Bermudez, M.E. and Asensio, M.A.**, 1996. Yeast population during ripening of dry cured Iberian ham, *International Journal of Food Microbiology*, **29**, pp. 271-280.

- Olesen, T.,P. and Stahnke, L. H., 2000. The influence of *Debaryomyces hansenii* and *Candida utilis* on the aroma formation in garlic spiced fermented sausages and model minces, *Meat Science*, **56**, pp. 357-368.
- Osei Abunyewa, A.A., Laing, E., Hugo, A. and Viljoen, B.C., 2000. The population change of yeasts in commercial salami, *Food Microbiology*, **17**, pp. 429-438.
- Overy, D.P., Seifert, K.A., Savard, M.E. and Frisvad, J.C., 2003. Spoilage fungi and their mycotoxins in commercially marketed chestnuts, *International Journal of Food Microbiology*, **88**, pp. 69-77.
- Özkaya, F.D. ve Kuleaşan, H., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2 Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Sim Matbaası, Ankara 522s, 11. bölüm.
- Papagianni, M. and Papamicheal, E.M., 2007. Modeling growth, substrate consumption and product formation of *Penicillium nalgiovense* grown on meat simulation medium in submerged batch culture, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **34** (3), pp. 225-231.
- Patrignani, F., Lucci, L., Vallicelli, M., Guerzoni, M.E., Gardini, F. and Lanciotti, R., 2007. Role of surface-inoculated *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* strains in dried fermented sausage manufacture. Part 1: Evaluation of their effects on microbial evolution, lipolytic and proteolytic patterns, *Meat Science*, **75**, pp. 676-686.
- Pereira-Dias, S., Potes, M.E., Marinho,A., Malfeito-Ferreira, M. and Loureiro, V. 2000. Characterisation of yeast flora isolated from an artisanal Portuguese ewes' cheese, *International Journal of Food Microbiology*, **60**, pp. 55-63.
- Petek, A., 2000. Gıdalarda Su Aktivitesinin Önemi, *Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi*, **5**, pp. 4-6.
- Pitt, J.I. and Hocking, A.D., 1997. Fungi and Food Spoilage, Second Edition, Blackie Academic & Professional, pp. 3-12, 385-388.
- Richard, J.L. and Arp, L.H., 1979. Natural occurrence of the mycotoxin penitrem A in moldy cream cheese, *Mycopathologia*, **67**, pp. 107-109.
- Richard, J.L., Bacchetti, P. and Arp L.H., 1981. Moldy walnut toxicosis in a dog, caused by the mycotoxin, penitrem A, *Mycopathologia*, **76**, pp. 55-58.
- Rundberget, T., Skaar, I., O'Brien, O. and Flaoyen, A., 2004. Penitrem and thomitrem formation by *Penicillium crustosum*, *Mycopathologia*, **157** (3), pp. 349-357.
- Quan, C., Zhang, L., Wang, Y. and Ohta, Y., 2001. Production of phytase in a low phosphate medium by a novel yeast *C.krusei*, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **92**, pp. 154-160.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad J.C. and Filtenborg, O., 2002. Introduction to Food and Airborne Fungi, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, pp. 315-360, Sixth Edition, Netherland.

- Sancak, Y. C., Kayaardı, S., Sağun, E., İşleyici, Ö. ve Sancak, H.,** 1996. Van'da tüketime sunulan fermente Türk Sucuklarının fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik niteliklerinin incelenmesi, *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Dergisi*, **7**(1-2), pp. 67-73.
- Simoncini, N., Rotelli, D., Virgili, R. And Quintavalla, S.,** 2007. Dynamics and characterization of yeasts during ripening of typical Italian dry-cured ham, *Food Microbiology*, **24**, pp. 577-584.
- Sorensen, B.B.,** 1997. Lipolysis of pork fat by the meat starter culture *Debaryomyces hansenii* at various environmental conditions, *International Joournal of Food Microbiolgy*, **34** (2), pp. 187-193.
- Sorensen, L.M., Jacobsen, T., Nielsen, P.V., Frisvad, J.S. and Koch, A.G.,** 2008. Mycobiota in the processing areas of two different meat products, *International Journal of Food Microbiology*, **124**, pp. 58-64.
- Soyer, A., Ertaş, A.H. and Üzümcüoğlu, Ü.,** 2005. Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish Sausages (sucuks), *Meat Science*, **69**, pp. 135-141.
- Sunesen, L.O. and Stahnke, L.H.,** 2003. Mould starter cultures for dry sausages-selection, application and effects, *Meat Science*, **65**, pp. 935-948.
- Şahin, İ. ve Korukluoğlu, M.,** 2000. Küf-Gıda-İnsan, Rota Ofset Matbaacılık, Bursa.
- Taniwaki, M.H., Hocking, A.D., Pitt, J.I. and Fleet, G.H.,** 2001. Growth of fungi and mycotoxin production on cheese under modified atmospheres, *International Journal of Food Microbiology*, **68**, pp. 125-133.
- Tayar, M. ve Dokuzlu, C.,** 2007. Gıda Mikrobiyolojisi, Marmara Kitapevi Yayınları, 1.Baskı. pp. 45-49, Bursa.
- Temiz, A.,** 2000. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, 3. Baskı, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
- TS-1070,** 2002. Türk Sucuğu, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- TS-9298,** 1991. Türk Sucuğu Yapım Kuralları. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara
- Yatsyshyn, V.Y., Sibirny, A.A., Ishchuk, O.P., Voronovsky, A.Y. and Fedorovych, D.V.,** 2009. Production of flavin mononucleotide by metabolically engineered yeast *Candida famata*, *Metabolic Engineering*, **11**, pp. 163-167.

EKLER

EK A.1 : DRBC ve MEA ekimi yapılan maya ve küf sayıları arasında fark olmadığını gösteren veri analizi sonucu

EK B.1 : API 20C AUX identifikasyon sonuçları

EK A.1 : DRBC ve MEA ekimi yapılan maya ve küf sayıları arasında fark olmadığını gösteren veri analizi sonucu

UNIANOVA maya BY besiyeri
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/POSTHOC=besiyeri(TUKEY)
/CRITERIA=ALPHA(0.05)

/DESIGN=besiyeri.

Univariate Analysis of Variance

Warnings

Post hoc tests are not performed for besiyeri because there are fewer than three groups.

Between-Subjects Factors

		N
besiyeri	DRBC	25
	MEA	25

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:maya

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,002 ^a	1	,002	,003	,955
Intercept	2520,697	1	2520,697	3,607E3	,000
besiyeri	,002	1	,002	,003	,955
Error	33,547	48	,699		
Total	2554,247	50			
Corrected Total	33,549	49			

a. R Squared = ,000 (Adjusted R Squared = -,021)

UNIANOVA küf BY besiyeri
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/POSTHOC=besiyeri(TUKEY)
/CRITERIA=ALPHA(0.05)

/DESIGN=besiyeri.

Univariate Analysis of Variance

[DataSet0]

Warnings

Post hoc tests are not performed for besiyeri because there are fewer than three groups.

Between-Subjects Factors

		N
besiyeri	DRBC	25
	MEA	25

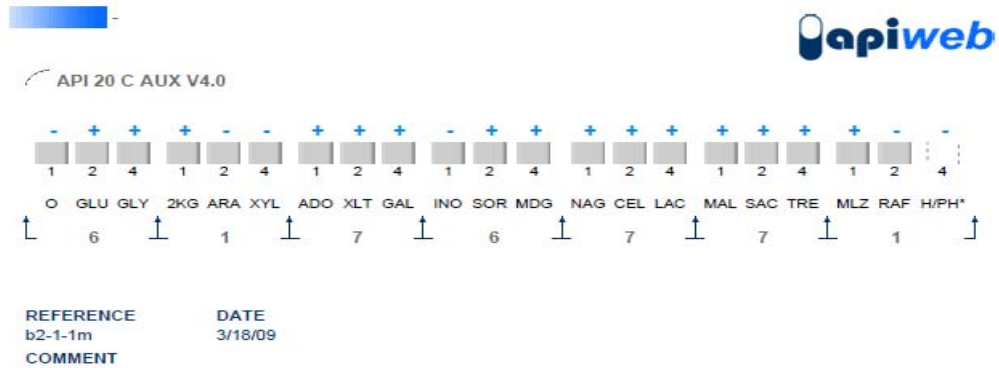
Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:küf

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,016 ^a	1	,016	,002	,962
Intercept	797,058	1	797,058	113,469	,000
besiyeri	,016	1	,016	,002	,962
Error	337,174	48	7,024		
Total	1134,249	50			
Corrected Total	337,190	49			

a. R Squared = ,000 (Adjusted R Squared = -,021)

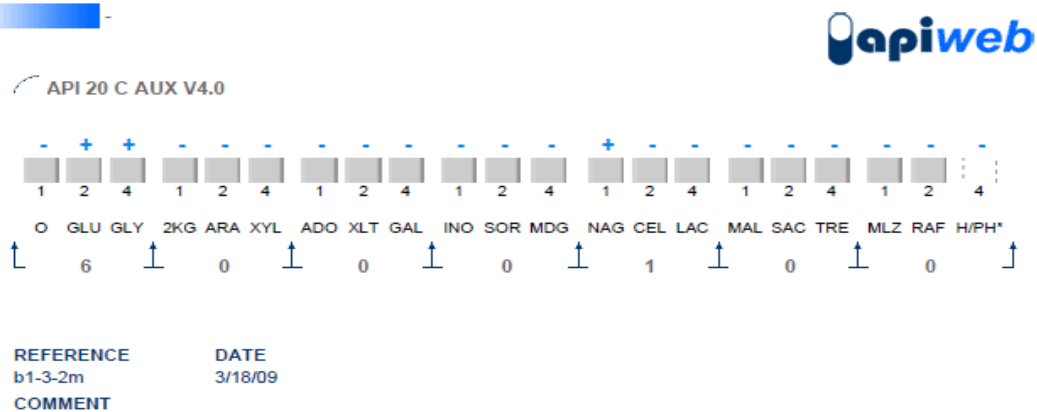
EK B.1: API 20C AUX identifikasyon sonuçları



EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip: API 20 C AUX V4.0
Profile: 6 1 7 6 7 7 1
Note: POSSIBILITY OF *Candida tropicalis*

Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Candida famata</i>	99.9	0.86	RAF 75%
Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Candida lusitanae</i>	0.1	0.22	XLT 20% LAC 0% HYPH 75%
Complementary test(s)	ESC (HYD.)		
<i>Candida famata</i>	65%		
<i>Candida tropicalis</i>	0%		



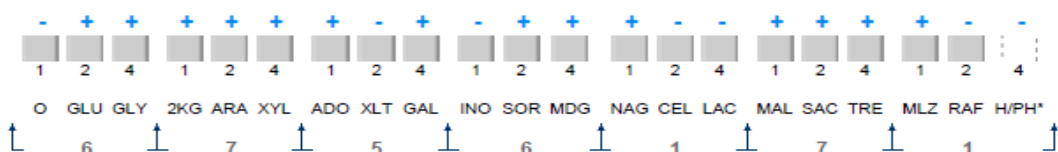
GOOD IDENTIFICATION

Strip: API 20 C AUX V4.0
Profile: 6 0 0 0 1 0 0
Note: POSSIBILITY OF *C. lambica* OR *C. lipolytica*

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Candida krusei/inconspicua	98.9	0.91	HYPH 79%			
Next taxon	% ID	T	Tests against			
Geotrichum capitatum	0.7	0.52	NAG 2%	HYPH 95%		
Complementary test(s)	GLUCOSE _{ac}		ERYTHRIT _a		THIAMIN	ACTIDION.R
Candida krusei	+		0%		+	3%
Candida inconspicua	-		0%		-	0%
Candida lambica	+		0%		-	0%
Candida lipolytica	-		100%		-	100%



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
02-2-d3
COMMENT

DATE
3/18/09

GOOD IDENTIFICATION

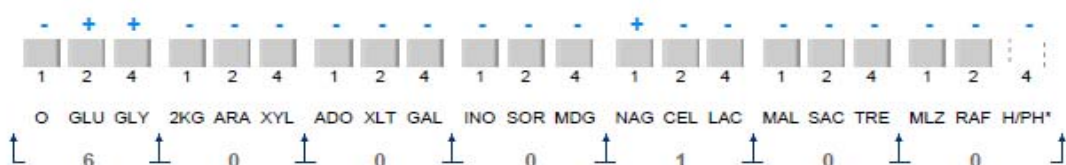
Strip
Profile
Note

API 20 C AUX V4.0
6 7 5 6 1 7 1

Significant taxa	% ID	T	Tests against
Candida parapsilosis	92.9	0.72	HYPH 99%
Next taxon	% ID	T	Tests against
Candida famata	5.7	0.64	XLT 75% CEL 89% RAF 75%



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
b1-3-1m
COMMENT

DATE
3/18/09

GOOD IDENTIFICATION

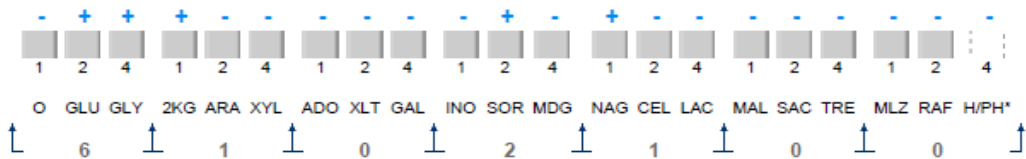
Strip
Profile
Note

API 20 C AUX V4.0
6 0 0 0 1 0 0
POSSIBILITY OF C.lambica OR C.lipolytica

Significant taxa	% ID	T	Tests against
Candida krusei/inconspicua	98.9	0.91	HYPH 79%
Next taxon	% ID	T	Tests against
Geotrichum capitatum	0.7	0.52	NAG 2% HYPH 95%

Complementary test(s)	GLUCOSE _{ac}	ERYTHRIT _a	THIAMIN	ACTIDION.R
Candida krusei	+	0%	+	3%
Candida inconspicua	-	0%	-	0%
Candida lambica	+	0%	-	0%
Candida lipolytica	-	100%	-	100%

API 20 C AUX V4.0



REFERENCE DATE
b1-3-3d 3/18/09
COMMENT
48 h e göre

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip API 20 C AUX V4.0
Profile 6 1 0 2 1 0 0
Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Candida zeylanoides</i>	99.9	0.85	HYPH 75%
Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Candida krusei/inconspicua</i>	0.1	0.13	2KG 0% SOR 2% HYPH 79%

API 20 C AUX V4.0



REFERENCE DATE
3/18/09
COMMENT

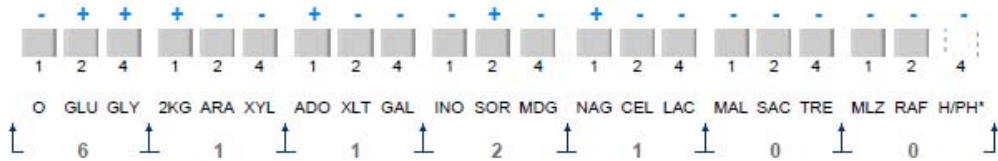
VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip API 20 C AUX V4.0
Profile 6 1 4 6 7 7 1
Note POSSIBILITY OF *Candida tropicalis*

Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Candida famata</i>	99.5	0.53	ADO 98% XLT 75% RAF 75%
Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Candida lusitanae</i>	0.3	0.12	ADO 95% LAC 0% HYPH 75%
Complementary test(s)	ESC (HYD.)		
<i>Candida famata</i>	65%		
<i>Candida tropicalis</i>	0%		



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
02-3-3d
COMMENT

DATE
3/18/09

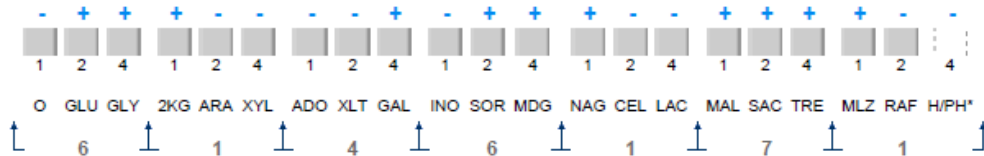
VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip API 20 C AUX V4.0
Profile 6 1 1 2 1 0 0
Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Candida zeylanoides	99.9	0.52	ADO	1%	HYPH	75%
Next taxon	% ID	T	Tests against			
Candida boidinii	0.1	0.05	2KG	1%	XYL	89% XLT 89% HYPH100%



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
o2-1-d1
COMMENT

DATE
3/18/09

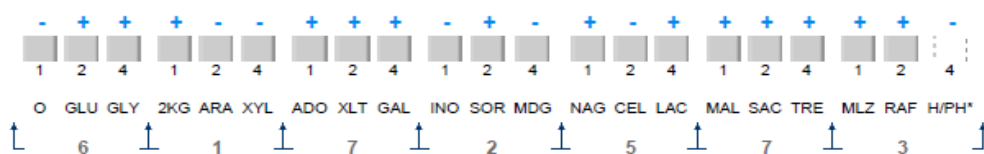
ACCEPTABLE IDENTIFICATION

Strip API 20 C AUX V4.0
Profile 6 1 4 6 1 7 1
Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Candida lusitanae	82.8	0.52	ADO	95%	CEL	80% HYPH 75%
Next taxon	% ID	T	Tests against			
Candida parapsilosis	9.1	0.25	ARA	89%	XYL	89% ADO 93% HYPH 99%



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
canet c2
COMMENT

DATE
3/13/09

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip
Profile
Note

API 20 C AUX V4.0
6 1 7 2 5 7 3
POSSIBILITY OF *Candida tropicalis*

Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Candida famata</i>	99.9	0.51	MDG 99% CEL 89%
Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Candida guilliermondii</i>	0.1	0.0	ARA 79% XYL 85% MDG 88% CEL 95% LAC 0%

Complementary test(s)
Candida famata
Candida tropicalis

ESC (HYD.)
65%
0%



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
03-2-2
COMMENT

DATE
3/17/09

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip
Profile
Note

API 20 C AUX V4.0
6 6 7 0 0 7 3
Rhodo:PIGMENTATION/POSSIBILITY OF *R. glutinis*

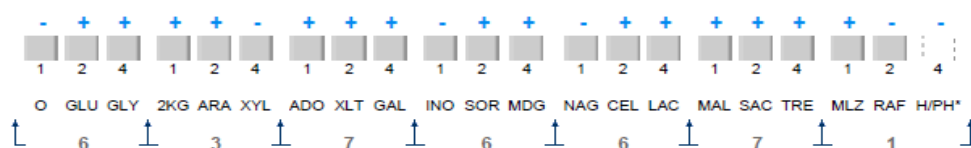
Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> 2	99.9	0.97	
Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Candida guilliermondii</i>	0.1	0.0	2KG 97% SOR 97% MDG 88% NAG 99% CEL 95%

Complementary test(s)
Rhodotorula glutinis
Rhodotorula mucilaginosa

NITRATEa
+
0%



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
namet1
COMMENT

DATE
3/17/09

VERY GOOD IDENTIFICATION

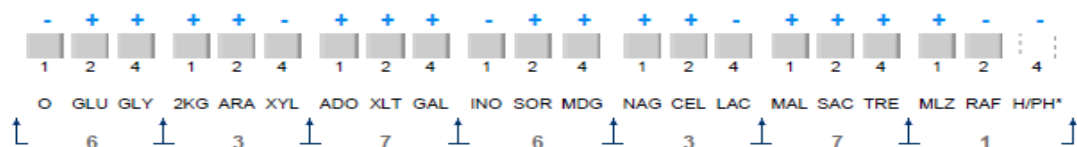
Strip
Profile
Note

API 20 C AUX V4.0
6 3 7 6 6 7 1
POSSIBILITY OF *Candida tropicalis*

Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Candida famata</i>	99.9	0.61	NAG 99% RAF 75%
Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Candida guilliermondii</i>	0.1	0.0	XYL 85% NAG 99% LAC 0% RAF 95%
Complementary test(s)	ESC (HYD.)		
<i>Candida famata</i>	65%		
<i>Candida tropicalis</i>	0%		



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
01-1x2
COMMENT

DATE
3/17/09

VERY GOOD IDENTIFICATION TO THE GENUS

Strip
Profile
Note

API 20 C AUX V4.0
6 3 7 6 3 7 1
POSSIBILITY OF *Candida tropicalis*

Significant taxa	% ID	T	Tests against
<i>Candida famata</i>	78.4	0.83	RAF 75%
<i>Candida guilliermondii</i>	21.3	0.68	XYL 85% RAF 95%
Next taxon	% ID	T	Tests against
<i>Candida lusitanae</i>	0.2	0.39	ARA 1% XLT 20% HYPH 75%
Complementary test(s)	ESC (HYD.)	dMELa	
<i>Candida famata</i>	65%	19%	
<i>Candida guilliermondii</i>	93%	89%	
<i>Candida tropicalis</i>	0%	0%	



ACCEPTABLE IDENTIFICATION

Significant taxa	% ID	T	Tests against						
<i>Candida famata</i>	83.1	0.5	XLT	75%	GAL	99%	RAF	75%	
Next taxon	% ID	T	Tests against						
<i>Candida lusitanae</i>	16.8	0.38	LAC	0%	HYPH	75%			
Complementary test(s)	ESC (HYD.)								
<i>Candida famata</i>	65%								
<i>Candida tropicalis</i>	0%								



- + + - + - + - + + + + + + - -
1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4
O GLU GLY 2KG ARA XYL ADD XLT GAL INO SOR MDG NAG CEL LAC MAL SAC TRE MLZ RAF H/P*
1 6 3 5 6 7 7 1

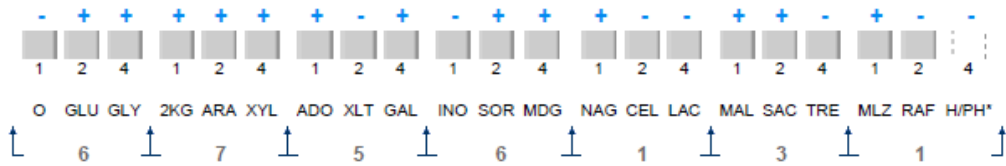
| REFERENCE | DATE |
|-----------|---------|
| 03-1-3 | 3/17/09 |
| COMMENT | |

EXCELLENT IDENTIFICATION

| Significant taxa | % ID | T | Tests against | | | | | | | |
|-------------------------------|------------|------|---------------|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|
| <i>Candida famata</i> | 99.9 | 0.81 | XLT | 75% | RAF | 75% | | | | |
| Next taxon | % ID | T | Tests against | | | | | | | |
| <i>Candida guilliermondii</i> | 0.1 | 0.01 | XYL | 85% | XLT | 92% | LAC | 0% | RAF | 95% |
| Complementary test(s) | ESC (HYD.) | | | | | | | | | |
| <i>Candida famata</i> | 65% | | | | | | | | | |
| <i>Candida tropicalis</i> | 0% | | | | | | | | | |



API 20 C AUX V4.0



REFERENCE
63-1-2
COMMENT

DATE
3/17/09

GOOD IDENTIFICATION

Strip
Profile
Note

API 20 C AUX V4.0
6 7 5 6 1 3 1

| | | | | | | | | | | |
|----------------------|------|------|---------------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Significant taxa | % ID | T | Tests against | | | | | | | |
| Candida parapsilosis | 96.1 | 0.54 | TRE | 93% | HYPH | 99% | | | | |
| Next taxon | % ID | T | Tests against | | | | | | | |
| Candida famata | 3.6 | 0.42 | XLT | 75% | CEL | 89% | TRE | 96% | RAF | 75% |

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Öznur Turhan

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara – 26.03.1985

Lisans Üniversitesi: Ankara Üniversitesi-Gıda Mühendisliği Bölümü