

## Farklı Laktik Starter Kültürler Kullanılarak Üretilen Sucuklarda *Listeria monocytogenes*'in Davranışı\*

Mükerrem KAYA, Hüsnü Yusuf GÖKALP  
Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 19.08.2002

**Özet:** Araştırmada farklı laktik asit bakterileri (*Lactobacillus plantarum* Lb 8 ve *L. plantarum* Lb 75, *Pediococcus acidilactici* Lb 628, *P. pentosaceus* Lb 1010, *L. sakei* 706 ve *L. sakei* 706-B) kullanılarak üretilen sucuklarda olgunlaştırma ve depolama süresince *Listeria monocytogenes*'in canlılık ve gelişme durumu incelenmiştir. Sucuk hamurları başlangıç *Listeria* sayıları  $10^4$  kob/g olacak şekilde *L. monocytogenes* ile kontamine edilmiştir.

Starter kültürsüz sucuk örneklerinde, olgunlaşmanın ilk üç gününde *L. monocytogenes* sayısında önemli artış saptanmıştır. Benzer sonuç *L. plantarum* Lb 8 kullanılarak üretilen sucuklarda da belirlenmiştir. Buna karşın *P. pentosaceus* Lb 1010, bakteriyosin negatif variant *L. sakei* 706-B ve *L. plantarum* Lb 75 starter olarak kullanıldığında gelişme olmamıştır. *L. monocytogenes*'e karşı antagonistik aktivite gösteren suşların (*L. sakei* Lb 706, *P. acidilactici* Lb 628) varlığında *L. monocytogenes* sayısı hızlı bir şekilde düşmüştür.

Starter kültürsüz sucuk örneklerinin pH değeri 3. günde 5,23'e düşerken *L. plantarum* Lb 8 içeren örneklerde 5,14'lük bir pH değeri saptanmıştır. Buna karşın diğer sucuk örneklerinde pH değeri ilk üç gün içerisinde 5,0'in altına düşmüştür. Sucukların  $a_w$  değerleri 12. günde 0,886-0,890 arasında değişmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** *L. monocytogenes*, sucuk, laktik starter kültürler, pH,  $a_w$

### The Behavior of *Listeria monocytogenes* in Sucuks Produced with Different Lactic Starter Cultures

**Abstract:** In this study, the growth and viability status of *Listeria monocytogenes* were investigated during the ripening and storage period of sucuk (Turkish dry fermented sausage) produced using different lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* Lb 8 and *L. plantarum* Lb 75, *Pediococcus acidilactici* Lb 626, *P. pentosaceus* Lb 1010, *L. sakei* 706 and *L. sakei* 706-B). The initial inoculum of *L. monocytogenes* into sucuk dough was  $10^4$  cfu/g.

There was a significant increase in the *L. monocytogenes* counts during the first 3 days of ripening of sucuk produced without starter culture. A similar result was observed in sucuk fermented with *L. plantarum* Lb 8. However, no growth was detected in the *P. pentosaceus* Lb 1010, bacteriocin negative *L. sakei* Lb 706-B or *L. plantarum* Lb 75 starter containing sucuk samples. *L. monocytogenes* counts decreased rapidly in the antagonistic starter (*L. sakei* Lb 706, *P. acidilactici* Lb 628) applied sucuks. There was a 1 log unit decrease in the *L. sakei* Lb 706 applied sucuks.

Spontaneously fermented sucuks had a pH value of 5.23 on the 3<sup>rd</sup> day of ripening, whereas this was 5.14 in the *L. plantarum* Lb 8 containing samples. The pH values of other samples were under 5.0.  $a_w$  values of sucuk samples were between 0.886 and 0.890 on the 12<sup>th</sup> day of ripening.

**Key Words:** *L. monocytogenes*, sucuk (Turkish dry fermented sausage), lactic starter cultures, pH,  $a_w$

### Giriş

*Listeria monocytogenes* doğada oldukça yaygın olarak bulunan bir bakteridir. Gıda kaynaklı önemli bir patojen olan *L. monocytogenes* fermente et ürünlerinden de izole edilmiştir (1-4).

Sucuk ve fermente sosis gibi ürünlerin fermentasyonunda çığ materyalden kaynaklanabilen gıda patojenlerinin ve bozulmaya neden olan bakterilerin inhibisyonunda çeşitli faktörler etkili olmaktadır. Bu faktörler genel olarak, başlangıç pH değeri ve su

\* Makale M. KAYA'nın doktora tezinin bir bölümüdür.

aktivitesi, ilave edilen nitrit ve şeker miktarı, fermantasyon sıcaklığı ile asit oluşum hızı ve derecesidir. En son belirtilen faktör fermente olabilir şeker miktarı, fermantasyon sıcaklığı ile substrat ve fermantasyon koşullarına adapte olabilen laktik asit bakterilerinin başlangıç sayılarına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle laktik asit bakterileri daha ziyade ürünün mikrobiyolojik açıdan güvenilirliğini artırmak amacıyla starter kültür olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (5).

Bakteriyosin oluşturan laktik asit bakterileri ile fermente et ürünlerinde *L. monocytogenes*'in kontrolü üzerine bir çok araştırma yapılmıştır. Berry ve ark. (6) yaptıkları çalışmada, bakteriyosin oluşturan starter kültür JD-1-23 (*Pediococcus*) ile fermente edilen sosislerde fermantasyon sırasında *L. monocytogenes* sayısında yaklaşık 2 logaritmik birimlik bir azalma saptamışlar, buna karşın *L. monocytogenes*'e karşı inhibitör olmayan starter kültür MP-1-08 (*Pediococcus*) ile fermente edilen sosislerde ise 1 log birimden daha az azalma belirlemişlerdir. Schillinger ve ark. (7) fermente sosis (Mettwurst) üzerinde yürüttükleri araştırmalarında, bakteriyosin üreten *Lactobacillus sakei* Lb 706 suşunun normal başlangıç pH değerine (pH 5,7) sahip örneklerde, *L. monocytogenes* sayısında 1 log kob/g civarında bir azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir. *L. sakei* Lb 706'nın bakteriyosin negatif variantının varlığında ise sayıda önemli bir değişimin olmadığı gözlenmiştir. Hugas ve ark. (8) bakteriyosin üreten *L. sakei* CTC 494 suşunun fermente kuru sosislerde *Listeria* gelişimini engellediğini ve sayıda önemli azalmaya neden olduğunu saptamışlardır. Hugas ve ark. (9) tarafından yapılan diğer bir araştırmada ise, curvacin A olarak adlandırılan bakteriosini üreten *L. curvatus* LTH 1174 suşunun uygulanan reçete ve teknolojiye bağlı olmaksızın *Listeria* üzerinde etkili olduğu, *L. sakei* Lb 706 (Sakacin A) ile *L. sakei* CTC 494 (Sakacin K) suşlarının ancak belirli şartlarda arzu edilen etkiyi gösterdiği belirtilmiştir. Lathi ve ark. (10) ise bakteriyosin üreten *Pediococcus acidilactici* içeren karışık kültürün başlangıç inokülasyon dozu  $10^5$  kob/g olan fermente kuru sosislerde *L. monocytogenes* sayısında hızlı bir azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir. Erol ve ark. (11) tarafından yapılan araştırmada, bakteriyosin oluşturan starter kültürlerin fermente Türk sucuklarında *L. monocytogenes* üzerine inhibitör etkileri araştırılmış, *P. acidilactici* PAC 1.0 ile *L. sakei* Lb 706 starter kültürlerinin 20 °C ve 25 °C'de olgunlaştırılan sucuk örneklerinde, *L.*

*monocytogenes* sayısında belirgin bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Bu araştırma, *L. monocytogenes*'e karşı bakteriyosin yada bakteriyosin benzeri bileşikler üreterek inhibitör etki gösteren laktik asit bakterilerinin sucuk üretiminde starter kültür olarak kullanılması durumunda *L. monocytogenes*'in davranışının incelenmesi ve yüksek inhibitör etki gösteren suşların belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Sucuk üretiminde hammadde olarak sığır eti ve sığır et yağı hammadde olarak kullanılmıştır. Et ve yağ seçiminde sucuk üretimine uygunluk esas alınmıştır. Hazırlanan et ve yağlar plastik torbalarda -18 °C'de muhafaza edilmiştir. Araştırma iki tekerrürlü olarak yürütülmüş ve her iki denemede de aynı et ve yağ materyali kullanılmıştır.

### Metot

Starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakteri suşları (*L. plantarum* Lb 8 ve Lb 75, *P. acidilactici* Lb 628, *P. pentosaceus* Lb 1010, *L. sakei* 706 ve 706-B) Federal Et Araştırma Kurumu'ndan (Almanya) temin edilmiştir. Laktik asit bakteri suşları, MRS buyyona aşılınmış ve çoğaltılmıştır. Sıvı kültürlerden MRS buyyonlara yeniden aşılama yapılmış ve 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Sıvı kültürlerin ml'sindeki bakteri sayısı türbidometrik olarak belirlenmiş ve sucuk hamurlarına  $10^6$ - $10^7$  kob/g seviyesinde aşılama yapılmıştır. Sucuk hamurlarının *Listeria* ile kontaminasyonunda ise Schmidt'in (2) et ve et ürünlerinden izole ettiği *L. monocytogenes* suşları (12c, 13a, 26b, 28b) kullanılmıştır. *L. monocytogenes* suşları Standart I Nutrient Broth (Merck) besiyerine aşılınmış ve 37 °C'de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra sıvı kültürlerin ml'sindeki bakteri sayısı türbidometrik olarak tespit edilmiş ve aşılama için 4 suşu aynı oranda içeren bir *Listeria* kültür karışımı hazırlanmıştır. Sucuk hamurları bu aktif *L. monocytogenes* kültürü ile başlangıç sayıları  $10^4$  kob/g olacak şekilde kontamine edilmiştir.

### Antimikrobiyal Aktivite Testleri

Sucukların üretiminde starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin *L. monocytogenes*'e karşı antagonistik aktivitelerinin (antimikrobiyal aktiviteleri) belirlenmesinde Schillinger ve Lücke (12) tarafından

bildirilen agar spot ve kuyu difüzyon testleri uygulanmıştır.

### Sucuk Hamurunun Hazırlanması, Dolumu ve Olgunlaştırılması

Sucuk hamurunun hazırlanmasında % 80 sığır eti ve % 20 sığır et yağı kullanılmıştır. Formülasyona giren baharat ve katkı maddelerinin seçiminde Gökalp (13)'in belirttiği reçete esas alınmış, ancak tuz oranı % 2.5, şeker oranı % 0.4, nitrit seviyesi 150 ppm olarak değiştirilmiştir. Sucuk hamuru hazırlama işlemi kuterde gerçekleştirilmiştir. Kuterde ilk önce starter kültürsüz sucuk hamuru (kontrol grubu), sonra laktik starter kültürü sucuk hamurları hazırlanmıştır.

Hazırlanan sucuk hamurları laboratuvar tipi pistonlu doldurucu vasıtasıyla suni bağırsaklara (38 mm, Naturin Darm) doldurulup bağlanmıştır. Sucuklar 3-4 saatlik bir dengeleme süresinden sonra klima odasına alınmıştır. Klima odasının sıcaklık ve bağıl nem değerleri 1. ve 2. gün 22 °C, % 90 bağıl nem, 3. gün 20°C, % 90 bağıl nem olacak şekilde ayarlanmış, daha sonraki günlerde kademeli olarak düşürülmüştür. Hava akımı ise olgunlaşmanın ilk günlerinde 0,5-1,0 m/s olarak uygulanmış, daha sonra kademeli olarak düşürülmüştür. Sucuklar 12 günlük olgunlaştırma periyodundan sonra 15 °C sıcaklık, % 75 bağıl nem ortamında depolanmıştır.

### Analizler

Hamur hazırlama işlemi sırasında *L. monocytogenes* ile kontamine edilen sucukların olgunlaşma ve depolamanın belirli devrelerindeki *L. monocytogenes* sayılarını belirlemek için önce 25 g örnek steril plastik torbaya tartılmış, üzerine 225 ml steril fizyolojik tuzlu su ilave edilerek Stomacher'de homojenize edilmiştir. Daha sonra bu homojenizatlardan dilüsyonlar hazırlanarak uygun dilüsyonlardan yüzeyleri önceden kurutulmuş

Palcam Agar (Merck) besiyerlerine yayma plak yöntemi ile ekimler yapılmıştır. Petri kutuları 37 °C'de 24-48 saat inkübasyondan sonra tipik kolonilerin sayımı ve değerlendirmesi yapılmıştır. *L. monocytogenes* sayısı saptanabilir sınırın altına düşen örneklerin Listera içerip içermediğinin tespiti için ise kalitatif yöntem uygulanmıştır (2,14,15).

Sucuk örneklerinde laktik asit bakterisi, *Micrococcus/Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas*'ların sayımı için sırasıyla MRS Agar (Merck), yumurta sarısı emülsiyonu içeren Mannitol Salt Agar (MSA), VRBD-Agar (Merck) ve CFC-Agar (Oxoid, CM 559 + SR 103) besiyerleri kullanılmıştır. Ekimler yayma plak yöntemine göre yapılmıştır. MRS plakları 30 °C'de 2-3 gün anaerop, MSA plakları 30 °C'de 2 gün aerop, VRBD plakları 30 °C'de 2 gün anaerop, CFC plakları ise 25 °C'de 2 gün aerop şartlarda inkübe edildikten sonra sayım ve değerlendirme yapılmıştır.

Örneklerin  $a_w$  değeri,  $a_w$  cihazı (Elektrolytfühler, Novasina) kullanılarak belirlenmiştir. Örneklerin nem miktarı ise Tauchmann (16)'in belirttiği yöntemle göre yapılmıştır. Örneklerin pH değerinin belirlenmesi için, homojen hale getirilmiş örneklerden 10 g tartılıp üzerine 100 ml saf su ilave edilerek, Ultra-turax'da bir dakika homojenize edilmiştir. Homojenizatların pH değerleri pH'metre ile ölçülmüştür.

### Bulgular

Starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin *L. monocytogenes* suşlarına karşı antagonistik etkilerini belirlemek amacıyla yapılan agar spot ve kuyu difüzyon testlerine ait sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Agar Spot ve Kuyu Difüzyon Testlerine Ait Sonuçlar.

Laktik Asit Bakterisi	Agar Spot Testi				Kuyu Difüzyon Testi			
	<i>L. monocytogenes</i>				<i>L. monocytogenes</i>			
	28 b	13 a	26 b	12 c	28 b	13 a	26 b	12 c
<i>P. pentosaceus</i> Lb 1010	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. acidilactici</i> Lb 628	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Lb. plantarum</i> Lb 75	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Lb. plantarum</i> Lb 8	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lb. sakei</i> Lb 706-B	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lb. sakei</i> Lb 706	+	+	+	+	+	+	+	+

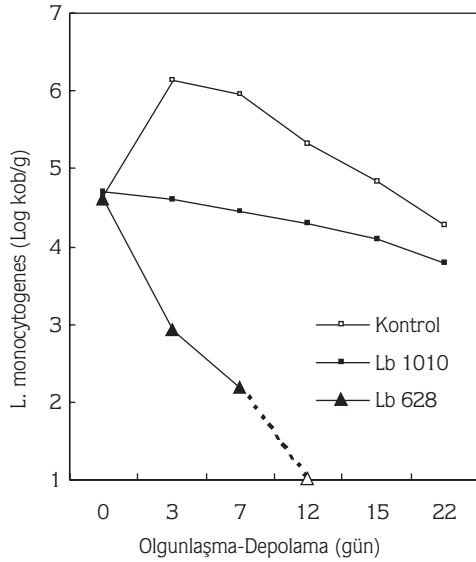
*L. sakei* Lb 706'nın bakteriyosin-negatif variantı (Lb 706-B), her iki inhibisyon testinde de kontrol olarak alınmıştır. *L. plantarum* Lb 75, *P. acidilactici* Lb 628 ve *L. sakei* Lb 706 agar spot testinde pozitif sonuç verirken, *L. plantarum* Lb 8 ile *P. pentosaceus* Lb 1010 ise inhibisyon zonu oluşturmamıştır. Laktik asit suşlarının nötralize edilmiş kültür süpernatantları kuyu difüzyon testine tabi tutulmuş ve *L. sakei* Lb 706 ile *P. acidilactici* Lb 628'e ait süpernatantların *L. monocytogenes*'e karşı inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür. *L. plantarum* Lb 75, agar spot testinde pozitif sonuç vermesine karşın, nötralize edilmiş kültür süpernatantı kuyu difüzyon testinde negatif sonuç vermiştir (Tablo 1).

Farklı starter kültürler kullanılarak üretilen sucuklar ile kontrol grubu sucuklarda olgunlaşma-depolama sırasında saptanan *L. monocytogenes* sayıları (log kob/g) Şekil 1a ve b'de verilmiştir. *L. monocytogenes* sayısı, laktik starter kültür ilave edilmeden hazırlanan sucuklarda (kontrol grubu) olgunlaşmanın 3. gününde  $10^6$  kob/g düzeyine çıkmış, daha sonraki günlerde ise azalmaya başlamıştır.

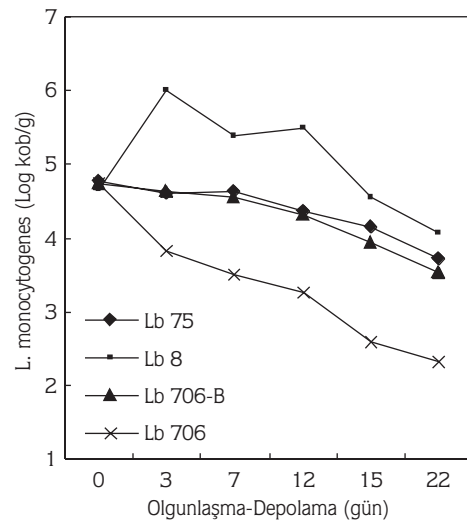
*L. plantarum* Lb 8 suşunu içeren sucuklarda *L. monocytogenes* sayısı kontrol grubu sucuklarda olduğu gibi olgunlaşmanın ilk 3 gününde önemli derecede artmıştır (Şekil 1b). *L. plantarum* Lb 8 hem agar spot, hem de kuyu difüzyon testlerinde *L. monocytogenes*'e

karşı antagonistik aktivite göstermemiştir. Sucukta da böyle bir etki gözlenmemiştir. Bu suşu içeren sucukların olgunlaşmanın 3. günündeki pH değeri kontrol grubu sucuklardan daha düşük çıkmıştır (Tablo 2). Buna karşın olgunlaşma başlangıcında *L. monocytogenes* sayısı artmıştır. Ancak 3. günden itibaren bu sucuklarda da *L. monocytogenes* sayısı artış göstermemiştir. Burada özellikle pH ile  $a_w$ 'nin birlikte etkisi söz konusudur. Olgunlaşma süresi ilerledikçe  $a_w$  değeri düşmekte ve düşük  $a_w$  değeri ürünün muhafaza kalitesini önemli derecede artırmaktadır.

*P. pentosaceus* Lb 1010, *P. acidilactici* Lb 628, *L. plantarum* Lb 75, *L. sakei* Lb 706-B ve *L. sakei* Lb 706 kullanılarak üretilen sucuklarda *L. monocytogenes* gelişmemiştir. *P. acidilactici* Lb 628 suşunu içeren örneklerde olgunlaşmanın ilk üç gününde 1 logaritmik birimden daha fazla, *L. sakei* Lb 706 içeren örneklerde ise yaklaşık 1 logaritmik birimlik azalma saptanmıştır (Şekil 1a ve b). Sonraki günlerde *P. acidilactici* Lb 628 içeren örneklerde sayı daha hızlı azalmış ve olgunlaşmanın 12. gününde ve depolama sırasında saptanabilir düzeyin altına (<100 kob/g) düşmüştür. Ancak *L. monocytogenes*'i sucuktan tamamen elemine etmek mümkün olmamış, bu gruba ait sucuklardan 15. ve 22. günde alınan örneklerden zenginleştirme sonucu *L. monocytogenes* izole edilmiştir.



Şekil 1a. Laktik asit bakterilerinin *L. monocytogenes*'in gelişimi üzerine etkisi.



Şekil 1b. Laktik asit bakterilerinin *L. monocytogenes*'in gelişimi üzerine etkisi.

Tablo 2. Farklı Laktik Starter Kültürler Kullanılarak Üretilen Sucukların pH ve  $a_w$  Değerleri.

Laktik Asit Bakterisi	Olgunlaşma-Depolama Süresi (Gün)											
	0		3		7		12		15		22	
	pH	$a_w$	pH	$a_w$	pH	$a_w$	pH	$a_w$	pH	$a_w$	pH	$a_w$
Kontrol	5,76	0,966	5,23	0,956	4,99	0,936	4,97	0,889	4,96	0,872	5,09	0,825
<i>P. pentosaceus</i> Lb 1010	5,72	0,966	4,84	0,954	4,92	0,931	4,88	0,886	4,86	0,868	4,94	0,820
<i>P. acidilactici</i> Lb 628	5,74	0,965	4,86	0,954	4,92	0,930	4,91	0,887	4,87	0,868	4,98	0,821
<i>Lb. plantarum</i> Lb 75	5,74	0,966	4,88	0,954	4,86	0,933	4,89	0,887	4,91	0,870	4,94	0,817
<i>Lb. plantarum</i> Lb 8	5,73	0,966	5,14	0,956	4,96	0,935	4,92	0,890	4,98	0,871	5,02	0,823
<i>Lb. sakei</i> Lb 706-B	5,74	0,966	4,82	0,954	4,86	0,931	4,87	0,886	4,90	0,873	4,97	0,817
<i>Lb. sakei</i> Lb 706	5,74	0,965	4,82	0,953	4,88	0,932	4,88	0,887	4,91	0,867	5,00	0,819

*P. acidilactici* Lb 628 hem agar spot testinde hem de kuyu difüzyon testinde *L. monocytogenes*'e karşı antagonistik aktivite göstermiştir. Bu suş, sucukta da antagonistik etkide bulunmuş ve daha önce belirtildiği gibi bakteriyosin-pozitif *L. sakei* Lb 706 suşuna kıyasla *Listeria* sayısının daha hızlı düşmesine neden olmuştur.

*L. plantarum* Lb 75 kullanılarak üretilen sucuklarda, olgunlaşmanın ilk 7 günü içerisinde *L. monocytogenes* sayısında önemli bir değişim olmamıştır. Bu suşu içeren sucuklarda olgunlaşmanın ilk 3 gününde 5,0'in altında bir pH değeri saptanmıştır (Tablo 2). *L. plantarum* Lb 75 agar spot testinde pozitif sonuç vermesine karşın, sucukta *L. monocytogenes*'e karşı *L. sakei* Lb 706 ve *P. acidilactici* Lb 628 suşları kadar etkili olmamıştır. *L. plantarum* Lb 75'i içeren örneklerin *Listeria* sayısında olgunlaşma-depolama süresince 1 logaritmik birimlik azalma olmuştur. Agar spot ve kuyu difüzyon testinde negatif sonuç gösteren *P. pentosaceus* Lb 1010 suşu kullanılarak üretilen sucuklarda da olgunlaşma-depolama süresince 1 logaritmik birimlik azalma saptanmıştır.

Farklı laktik starter kültürler kullanılarak üretilen sucuklar ile kontrol grubu sucukların olgunlaşma-depolama sırasındaki laktik asit bakterisi, *Micrococcus/Staphylococcus* sayıları Tablo 3 ve Tablo 4'de verilmiştir. Kontrol grubu sucuklarda olgunlaşmanın 0. gününde doğal olarak bulunan laktik asit bakterisi sayısı oldukça düşük seviyede bulunmuştur. Ancak olgunlaşma sırasında laktik asit bakterileri hızlı bir çoğalma göstermiştir. Laktik asit bakterileri ilave edilerek hazırlanan sucuklarda en yüksek laktik asit bakterisi sayısı genellikle olgunlaşmanın 3. gününde saptanmıştır. Bu

olgunlaşma gününde *L. plantarum* Lb 8 ve *P. pentosaceus* Lb 1010 kullanılarak üretilen sucukların laktik asit bakterisi sayıları, diğer laktik starter kültürleri içeren sucukların laktik asit bakterisi sayılarından biraz daha düşük çıkmıştır. 12. günden sonra tüm sucuk örneklerinde laktik asit bakterisi sayısında azalma tespit edilmiştir. En fazla azalma *L. plantarum* Lb 8, *P. acidilactici* Lb 628 ve *P. pentosaceus* Lb 1010 suşlarına ait sucuklarda görülmüştür (Tablo 3). Sucuk hamurunda  $10^3$  kob/g seviyesinde bulunan *Micrococcus/Staphylococcus* sayıları 3. günde  $10^6$  kob/g düzeyine ulaşmıştır (Tablo 4). Sucuk hamurlarında  $10^2$  kob/g seviyesinde bulunan *Enterobacteriaceae* familyasının üyelerinin sayısı olgunlaşmanın 3. gününde saptanabilir sınırın altına (<100 kob/g) düşmüştür. Örneklerin *Pseudomonas* sayısı ise 7. günde saptanabilir sınırın altına düşmüştür (Tablo 5).

Sucuk hamurlarında % 58, 12-58,30 arasında değişen % nem değerleri, 7. günde % 42, 14-43,35, 12. günde % 33, 18-35,84 arasında değişim göstermiştir.

## Tartışma

Starter kültür ilave edilmeden üretilen sucuklarda başlangıç inokülasyon düzeyi  $10^4$  kob/g seviyesinde olan *L. monocytogenes* 3. günde  $10^6$  kob/g seviyesine kadar gelişme göstermiştir. Kontrol grubu sucuklarda olgunlaşmanın ilk günlerinde *L. monocytogenes* sayısının artış gösterdiği Erol ve Hildebrandt (17) ve Kaya ve Gökalp (18) tarafından yürütülen araştırmalarda da tespit edilmiştir. *L. plantarum* Lb 8 varlığında da olgunlaşmanın başlangıcında *Listeria* sayısında artış olmasının, bu laktik asit bakterisi suşunun sucuk ortamında yeterli düzeyde asit

Tablo 3. Farklı Laktik Starter Kültürler Kullanılarak Üretilen Sucukların Olgunlaşma-Depolama Sırasındaki Laktik Asit Bakteri Sayıları (log kob/g).

Laktik Asit Bakterisi	Olgunlaşma-Depolama Süresi (Gün)					
	0	3	7	12	15	22
Kontrol	2,82	8,40	8,78	8,74	8,64	8,48
<i>P. pentosaceus</i> Lb 1010	6,78	8,46	8,34	8,56	8,28	8,11
<i>P. acidilactici</i> Lb 628	6,91	8,88	8,55	8,64	8,60	8,20
<i>Lb. plantarum</i> Lb 75	6,74	8,85	8,89	8,81	8,74	8,34
<i>Lb. plantarum</i> Lb 8	6,72	8,45	8,56	8,64	8,24	8,04
<i>Lb. sakei</i> Lb 706-B	6,69	8,90	8,78	8,80	8,64	8,45
<i>Lb. sakei</i> Lb 706	6,71	8,86	8,68	8,82	8,69	8,57

Tablo 4. Farklı Laktik Starter Kültürler Kullanılarak Üretilen Sucukların Olgunlaşma-Depolama Sırasındaki *Micrococcus/Staphylococcus* Sayıları (log kob/g).

Laktik Asit Bakterisi	Olgunlaşma - Depolama Süresi (Gün)					
	0	3	7	12	15	22
Kontrol	3,66	6,82	7,15	7,10	6,94	6,74
<i>P. pentosaceus</i> Lb 1010	3,74	6,12	6,04	5,84	5,81	5,21
<i>P. acidilactici</i> Lb 628	3,61	6,13	5,91	5,82	5,77	5,04
<i>Lb. plantarum</i> Lb 75	3,58	6,29	5,90	5,79	5,59	5,43
<i>Lb. plantarum</i> Lb 8	3,65	6,76	7,11	7,14	6,88	6,48
<i>Lb. sakei</i> Lb 706-B	3,66	6,10	6,07	6,24	5,76	5,33
<i>Lb. sakei</i> Lb 706	3,64	6,22	6,24	6,29	6,04	5,39

Tablo 5. Farklı Laktik Starter Kültürler Kullanılarak Üretilen Sucukların Olgunlaşma Sırasındaki *Pseudomonas* Sayıları (log kob/g).

Laktik Asit Bakterisi	Olgunlaşma-Depolama Süresi (Gün)			
	0	3	7	12
Kontrol	4,36	3,51	<2,00	<2,00
<i>P. pentosaceus</i> Lb 1010	4,37	3,50	<2,00	<2,00
<i>P. acidilactici</i> Lb 628	4,46	3,37	<2,00	<2,00
<i>Lb. plantarum</i> Lb 75	4,34	3,46	<2,00	<2,00
<i>Lb. plantarum</i> Lb 8	4,58	3,57	<2,00	<2,00
<i>Lb. sakei</i> Lb 706-B	4,50	3,26	<2,00	<2,00
<i>Lb. sakei</i> Lb 706	4,52	3,30	<2,00	<2,00

oluşturamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Fermente et ürünlerinde patojen bakterilerin inhibisyonunda asit oluşum hızı ve derecesi önemli bir faktördür. *P. pentosaceus* Lb 1010 suşu da *L. plantarum* Lb 8 gibi *L. monocytogenes*'e karşı antagonistik aktivite göstermemiş, ancak başlangıçta pH'yı 4,84'e kadar düşürerek *Listeria*'nın gelişimini engelleyebilmiştir. *L. plantarum* Lb 75 suşu agar spot testinde pozitif, kuyu difüzyon testinde ise negatif sonuç vermiştir. Bu nedenle bu suşun sucukta gösterdiği inhibisyonun asit oluşturmasından kaynaklandığını göstermektedir. Schillinger ve Lücke (12) tarafından yapılan araştırmada da *L. plantarum* Lb 75 agar spot testinde pozitif, kuyu difüzyon testinde negatif sonuç göstermiştir.

İnhibisyon testlerinde *L. monocytogenes*'e karşı antagonistik aktivite gösteren *L. sakei* Lb 706 ve *P. acidilactici* Lb 628 suşlarını içeren sucuk gruplarında *L. monocytogenes* sayısında oldukça önemli düşüşler kaydedilmiştir. *P. acidilactici* Lb 628 suşunun *L. monocytogenes* üzerine olan etkisi, *L. sakei* Lb 706 suşunun etkisinden daha fazla olmuştur. Bu iki suş hem asit üretip pH'yı düşürerek hem de bakteriyosin yada bakteriyosin benzeri bileşikler oluşturarak *Listeria* sayısını düşürmüşlerdir. Erol ve ark. (11) *P. acidilactici* PAC 1.0 ve *L. sakei* Lb 706 ile *L. monocytogenes* sayısında belirgin bir azalma tespit etmişlerdir.

Sucuk örneklerinin laktik asit bakteri, *Micrococcus/Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* sayıları Erol ve ark. (11), Erol ve Hildebrandt (17) ve Kaya ve Gökalp'in (18) bulgularıyla paralellik göstermektedir. Bu çalışmada Kaya ve Gökalp'in (18) çalışmasından farklı olarak daha hızlı bir kuruma gerçekleşmiş, Gram negatif flora (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*) daha çabuk saptanabilir sınırın altına düşmüştür.

Araştırma sonuçlarına göre, *L. monocytogenes*'in gelişimi açısından sucuk üretiminin en kritik aşaması, olgunlaşmanın başlangıç safhasıdır. Bu aşamada pH'nın hızlı bir şekilde düşürülmemesi halinde *L. monocytogenes* sayısında az veya çok artış olmaktadır. Olgunlaşmanın daha ileri günlerinde ise değişik faktörlerin kombine etkisiyle sayı azalmaktadır.

Bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri maddeler üreten laktik starter kültürler hem bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri maddeler oluşturarak hem de

asitleşmeye neden olarak *L. monocytogenes*'e karşı etkili bir inhibisyon göstermektedir. Ancak bakteriyosinler proteazlar tarafından inaktif hale getirilmekte ve böylelikle etkilerini kaybedebilmektedir. Ayrıca bakteriyosine dirençli *Listeria* suşlarının bulunması, bakteriyosinlerin homojen bir dağılım göstermemesi veya bunların et partiküllerine adsorbe olabilmesi gibi durumlarda söz konusu olmaktadır (7,19). Bütün bunlara karşın, bu araştırma sonuçları, bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri maddeler üreten starter kültürlerin, sucuk üretiminde kullanılması ile *L. monocytogenes* açısından daha güvenilir ürün elde edileceğini göstermektedir. Ancak, hammaddeden başlayarak tüm üretim zincirinde teknolojik ve hijyenik kurallara dikkat edilmesi gerekmektedir.

Ülkemizde sucuk üretiminde starter kültür kullanımı bazı büyük işletmeler hariç pek yaygın değildir. İşletmelerin çoğunda sucuklar, tüketim olgunluğuna erişmeden yani 2-3 gün içerisinde piyasaya arz edilmektedir. Zaten *L. monocytogenes* olgunlaşmanın ilk günlerinde çoğalabilmektedir. Bu nedenle bu tip sucukların, özellikle risk grubunu oluşturan kişiler için tehlikeli olabileceği sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Çünkü sucuk çiğ olarak da tüketilebilen bir et ürünüdür. Ayrıca kızartmada uygulanan ısı işlemin derecesi de *L. monocytogenes*'in inaktivasyonu açısından oldukça önemlidir. Bu patojen bakteri, spor oluşturmayan, gıda kaynaklı patojenlerin çoğundan ısıya karşı daha fazla dayanıklılık göstermektedir. Diğer taraftan bazı işletmelerde üretim prosesinde sucuklar hafif bir ısı işleme tabi tutulmaktadır. Bu tür bir ısı işleminde, organizmanın tamamen inaktif olup olmadığı, organizmanın inaktif olmaması halinde depolanma sırasında çoğalma gösterip göstermediği konularında araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Araştırma sonuçları sucukta *L. monocytogenes*'in kontrolü açısından *P. acidilactici* Lb 628'in en etkili suş olduğunu, bunu *L. sakei* Lb 706 suşunun izlediğini göstermektedir. Bu suşlar, diğer laktik asit bakterilerinden farklı olarak bakteriyosin veya benzeri bir bileşik oluşturmaktadır. Ayrıca bu suşlar pH'yı da hızlı bir şekilde düşürmektedir. Bu suşların starter kültür olarak kullanılması halinde mikrobiyolojik açıdan daha güvenilir sucuklar elde edilebilecektir.

## Kaynaklar

1. Breer, C., Breer, G.: The Isolation of *Listeria* ssp. in Meat and Meat Products. 34th International Congress of Meat Science and Technology, Brisbane, Australia, Congress Proceedings, Part B, 1988; 520-521.
2. Schmidt, U.: Verfahren zum Nachweis von Listerien in Fleisch und Fleischerzeugnissen. Mitt. Bundesanstalt Fleischforsch., 1989; 28: 311-316.
3. Çon, A.H., Kaya, M., Gökalp, H.Y.: Isolierung und Identifizierung von *Listeria monocytogenes* und weiteren Listerienarten aus der türkischen Rohwurst "sucuk". Arch. Lebensmittelhyg., 1996; 47: 65-66.
4. Kaya, M., Gökalp, H. Y.; Vorkommen von Listerien in türkischer Rohwurst. Fleischwirtschaft, 1997; 77: 275-276.
5. Lücke, F.K., Earnshaw, R.G.: Starter Cultures. In: Food Preservatives (G.W. Gould and N.J. Russels, eds.). Blackie and Son, Glasgow. 1991; 215-234.
6. Berry, E.D., Liewen, M.B., Mandigo, R.W., Hutkins, R.W.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Bacteriocin-Producing *Pediococcus* During the Manufacture of Fermented Semiary Sausage. J. Food Prot., 1990; 53: 194-197.
7. Schillinger, U., Kaya, M., Lücke, F.K.: Behaviour of *Listeria monocytogenes* in Meat and Its Control by a Bacteriocin-Producing Strain of *Lactobacillus sake*. Appl. Bacteriol., 1991; 70: 473-478.
8. Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, M.T., Monfort, J.M.: Inhibition of *Listeria* in Dry Fermented Sausage by the Bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* CTC 494. J. Appl. Bact., 1995; 79: 322-330.
9. Hugas, M., Neumeyer, B., Pages, F., Garriga, M., Hammes, W.P.: Die antimikrobielle Wirkung von Bakteriozin bildenden Kulturen in Fleischwaren. 2. Vergleich des Effektes unterschiedlicher Bakteriozin bildender Laktobazillen auf Listerien in Rohwurst. Fleischwirtschaft, 1996; 76: 649-652.
10. Lathi, E., Johansson, T., Honkanen-Buzalski, T., Hill, P., Nurmi, E.: Survival and Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during the Manufacture of Dry Sausage Using Two Different Starter Cultures. Food Microbiol., 2001; 18: 75-85.
11. Erol, İ., Çelik, T.H., Şireli, U.T., Özdemir, H.: Bakteriyosin Oluşturan Starter Kültürlerin Fermente Türk Sucuklarında *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 1999; 23 (Ek Sayı): 793-802.
12. Schillinger, U., Lücke, F.K.: Antibacterial Activity of *Lactobacillus sake* Isolated from Meat. Appl. Environ. Microbiol., 1989; 55: 1901-1906.
13. Gökalp, H.Y.: Değişik Olgunlaşma Sıcaklıklarında Farklı Starter Kültürleri Uygulayarak Türk Tipi Sucuk Üretimi. Doçentlik Tezi. Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi, Erzurum.1982.
14. Schmidt-Wolf, G., Seeliger, H.P.R., Schrettenbrunner, A.: Menschliche Listeriose Erkrankungen in der Bundesrepublik Deutschland, 1969-1985. Zbl. Bakt.-Int. J. Med. M.,1987; 265: 472-486.
15. Mclauchlin, J.: *Listeria monocytogenes*. Recent Advances in the Taxonomy and Epidemiology of Listeriosis in Humans. J. Appl. Bacteriol., 1987; 63: 1-11.
16. Tauchmann, F.: Methoden der chemischen Analytik von Fleisch und Fleischwaren Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, 1987; 80.
17. Erol, İ., Hildebrandt, G.: Einfluss von Starterkulturen auf das Wachstum pathogener Keime in Türkischer Rohwurst. Fleischwirtschaft, 1992; 72: 90-97.
18. Kaya, M., Gökalp, H.Y.: Sucuk Üretiminde Starter Kültür Kullanımının ve Farklı Nitrit Dozlarının *Listeria monocytogenes*'in Gelişimi Üzerine Etkisi. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 2004; 28: 1121-1127.
19. Ozari, R.: Untersuchungen zur Wirkung von Starterkulturen des Handels auf das Wachstum von *Listeria monocytogenes* in frischen Mettwürsten. Fleischwirtschaft, 1991; 71: 1450-1454.