

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PÜSKÜRTMELİ KURUTULMUŞ AVOKADO ÇEKİRDEĞİ VE KOMBUCHA  
ÇAYI TOZLARININ SUCUKLARDA *Escherichia coli* ÜZERİNE  
İNİBİSYON ETKİLERİ

İlayda İŞLEYEN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA  
2024

Her hakkı saklıdır

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### PÜSKÜRTMELİ KURUTULMUŞ AVOKADO ÇEKİRDEĞİ VE KOMBUCHA ÇAYI TOZLARININ SUCUKLARDA *Escherichia coli* ÜZERİNE İNHİBİSYON ETKİLERİ

İlayda İŞLEYEN

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN

Çalışmada, nitrit kullanımının azaltılması amacıyla püskürtmeli kurutulmuş Kombucha çayı tozu (KÇT) ve avokado çekirdeği tozu (AÇT) ilave edilmiş ve *Escherichia coli* inoküle edilen sucuklarda bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerdeki değişimler ile bu tozların *E. coli* patojeni üzerindeki inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, formülasyonlarına nitrit ilave edilmemiş kontrol (KONT), 150 ppm nitrit (KONT-NİT150), %6 AÇT (AVO), %6 AÇT+75 ppm nitrit (AVO-NİT75), %6 KÇT (KOM) ve %6 KÇT+75 ppm nitrit (KOM-NİT75), %6 AÇT+%6 KÇT (AVO-KOM) ve %6 AÇT+%6 KÇT+75 ppm nitrit eklenmiş (AVO-KOM75) olmak üzere toplamda 8 grup sucuk üretilmiştir. Örneklerde, nem içeriği, pH, titrasyon asitliği, su aktivitesi, toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), laktik asit bakterileri (LAB) ve *E. coli* sayılarında meydana gelen değişim incelenmiştir. Fermantasyon sonrası sucukların %38.17- %40.55 aralığında değişen nem içeriği gruplar arasında farklılık göstermemiştir ( $p>0.05$ ). KÇT ve AÇT'nin birlikte kullanımı pH değerini doğal toz ilavesi olmayan kontrol gruplarına (KONT ve KONT- NİT150 için sırasıyla pH 4.83 ve 4.81) göre önemli ölçüde ( $p\leq 0.05$ ) düşürmüştür (AVO-KOM ve AVO- KOM-NİT75 gruplarında pH=4.33). Mikrobiyolojik analizlerde, TAMB sayısında fermantasyon sonrası yaklaşık 2.3 log'luk, LAB sayısında ise yaklaşık 2.5 log artış gözlenmiştir. *E. coli* sayısı başlangıç düzeyine göre fermantasyondan sonra tüm gruplarda önemli ölçüde düşüş göstermiştir. KÇT ve AÇT'nin birlikte kullanıldığı, AVO-KOM ve AVO-KOM-NİT75 gruplarında *E. coli* sayısında başlangıca göre sırasıyla 0.74 ve 0.80 log azalma saptanmıştır. AVO-KOM ve AVO-KOM-NİT75 gruplarının *E. coli* inhibisyon etkilerinin nitrit içeren sucuk grubuna çok yakın bir düzeyde, hatta bir miktar da yüksek olduğu (KONT- NİT150 grubunda *E. coli* sayısına 0.71 log azalış) ortaya çıkmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular, KÇT ve AÇT'nin *E. coli* sayısını azaltmada, özellikle birlikte kullanıldığında 150 ppm nitrit ilavesine benzer inhibisyon etki yaptığını ve gelecekte bu yönde gerçekleştirilecek çalışmalara ışık tutacağını göstermektedir.

**Eylül 2024, 69 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Avokado çekirdeği, Kombucha çayı, Antibakteriyel aktivite, *Escherichia coli*, Sucuk

## ABSTRACT

Master Thesis

### INHIBITORY EFFECTS OF SPRAY DRIED AVOCADO SEEDS AND KOMBUCHA TEA POWDERS ON *Escherichia coli* IN SUCUK

İlayda İŞLEYEN

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN

In this study, changes in some physicochemical and microbiological characteristics of sucuks incorporated with spray-dried Kombucha tea powder (KTP) and avocado seed powder (ASP) for nitrite reduction and inoculated with *Escherichia coli* pathogen, and the inhibitory effects of these powders on *Escherichia coli* were investigated. A total of 8 groups of sausages were produced with the following formulations: control with no nitrite addition (CONT), the groups with the additions of 150 ppm nitrite (CONT-NIT150), 6% ASP (AVO), 6% ASP + 75 ppm nitrite (AVO-NIT75), 6% KTP (KOM), 6% KTP + 75 ppm nitrite added group (KOM-NIT75), 6% ASP + 6% KTP (AVO-KOM), and 6% ASP + 6% KTP + 75 ppm nitrite (AVO-KOM75). The changes in moisture content, pH, titratable acidity, water activity, total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), lactic acid bacteria (LAB), and *E. coli* counts were examined. After fermentation, the moisture content of the sucuks, ranging from 38.17% to 40.55%, did not differ among the groups ( $p > 0.05$ ). The combined use of KTP and ASP significantly ( $p \leq 0.05$ ) reduced the pH (pH=4.33 in AVO- KOM and AVO-KOM-NIT75 groups) compared to the control groups without natural powder addition (pH 4.83 and 4.81 for CONT and CONT-NIT150, respectively). In microbiological analyses, approximately 2.3-log and 2.5-log increases were observed in TAMB and in LAB counts, respectively after fermentation. The *E. coli* count significantly decreased in all groups compared to the initial level after fermentation ( $p \leq 0.05$ ). In the groups with both KTP and ASP incorporation (AVO-KOM and AVO-KOM-NIT75) *E. coli* counts decreased by 0.74 and 0.80 log, respectively, compared to the initial count. The *E. coli* inhibitory effects of the AVO-KOM and AVO-KOM-NIT75 groups were very close to, or slightly higher than, those of the nitrite-containing sucuk group (0.71 log reduction in the *E. coli* count in the CONT-NIT150 group). The findings obtained from this study indicate that KTP and ASP, particularly when used together, exhibit similar inhibitory effects on *E. coli* to the addition of 150 ppm nitrite, providing insights for future studies in this area.

September 2024, 69 pages

**Key Words:** Avocado seed, Kombucha tea, Antibacterial activity, *Escherichia coli*, Sucuk

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması ve tamamlanması sürecinde bana her türlü desteği ve rehberliği sağlayan, bilgi ve tecrübelerini cömertçe paylaşan değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Sahip olduğu anlayış ve teşvik edici yaklaşımı olmadan bu çalışmayı gerçekleştirmek mümkün olmazdı. Tüm katkıları ve emeği için minnettarım.

Yüksek lisans sürecim boyunca bana kendi öğrencileriymiş gibi sahip çıkan ve her ihtiyaç anında desteklerini esirgemeyen kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Kamuran AYHAN ve Sayın Doç. Dr. Evrim GÜNEŞ ALTUNTAŞ'a, içtenlikleri, ilgileri ve emekleri için en derin teşekkürlerimi sunarım.

Analizlerde tecrübelerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Eda DEMİROK SONCU'ya, aynı laboratuvarında çalışmaktan büyük keyif aldığım çok değerli arkadaşlarım doktora öğrencisi Pınar KADIOĞLU ŞENTÜRK, Arş. Gör. Hilal Sena YILDIRIM, Başak ENER, Darko SAVOVIĆ, gıda yüksek mühendisi Asena Aslıhan ÇELİK ve doktora öğrencisi Büşra SEVİM'e çok teşekkür ederim.

Tanıdığım günden bu yana desteklerini her zaman üzerimde hissettiğim değerli arkadaşlarım gıda yüksek mühendisi Huseyn HUSEYNLİ, İlayda PEKMEZ ve buraya ismini ekleyemediğim diğer kıymetli arkadaşlarıma ve en çokta maddi manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olup bana güç veren sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak en büyük teşekkürüm, Türk kadınına verdiği değer ve sunduğu eğitim imkanlarıyla bizlere yalnızca bilgi değil, özgürlük ve cesaret de kazandıran, yolumuzu aydınlatan ve hayatın her alanında var olabilmemizi sağlayan Ulu Önder Gazi Mustafa Kemal ATATÜRK'edir. Her zaman minnettar kalacağım.

Bu tez çalışması "Avokado Çekirdeği ve Kombucha Çayı Tozlarının Sucuk Üretiminde Yeni Bir Yaklaşımla Doğal Nitrit Alternatifi Olarak Kullanımı" başlıklı 2210358 numaralı TÜBİTAK 1001 projesi tarafından desteklenmiştir.

İlayda İŞLEYEN  
Ankara, Eylül 2024

## İÇİNDEKİLER

|  |      |
|--|------|
| TEZ ONAYI  |      |
| ETİK.....  | i    |
| ÖZET.....  | ii   |
| ABSTRACT.....  | iii  |
| ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....   | iv   |
| SİMGELER DİZİNİ.....   | vi   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....   | vii  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....   | viii |
| 1. GİRİŞ.....  | 1    |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ ve KURAMSAL TEMELLER.....   | 5    |
| 2.1 Fermente Et Ürünü Olarak Sucuk.....  | 5    |
| 2.1.1 Et ürünlerinde katkı maddesi olarak nitrit/nitrat.....                         | 7    |
| 2.1.2 Sucukta doğal nitrat/nitrit kaynaklarının kullanımı.....                       | 10   |
| 2.1.3 Nitrit Alternatifi Olarak Kombucha.....  | 13   |
| 2.1.4 Nitrit Alternatifi Olarak Avokado Çekirdeği.....                               | 18   |
| 2.2 Gıda Kaynaklı Hastalıklar.....   | 22   |
| 2.2 <i>Escherichia coli</i> , Biyolojik Özellikleri ve Patojenite Mekanizmaları..... | 24   |
| 3 MATERYAL VE YÖNTEM.....  | 31   |
| 3.1 Materyal.....  | 31   |
| 3.2 Püskürtmeli Kurutulmuş Avokado Çekirdeği Tozu Üretimi.....                       | 31   |
| 3.3 Kombucha Çayı Üretimi.....   | 32   |
| 3.4 Kombucha Çayının Püskürtmeli Kurutma ile Kurutulması ve Optimizasyonu.....       | 32   |
| 3.5 Sucuk Üretimi.....   | 32   |
| 3.5.1 Sucuklara <i>E. coli</i> inokülasyonu.....                                     | 35   |
| 3.6 Analiz Yöntemleri.....   | 36   |
| 3.6.1 Nem içeriği.....   | 36   |
| 3.6.2 pH değerleri.....  | 36   |
| 3.6.3 Titrasyon asitliği değerleri.....  | 36   |
| 3.6.4 Su aktivitesi değeri.....  | 36   |
| 3.6.5 Mikrobiyolojik analiz.....   | 36   |
| 3.6.5.1 Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı.....                                 | 37   |
| 3.6.5.2 Laktik asit bakteri sayımı.....  | 37   |
| 3.6.5.3 <i>Escherichia coli</i> sayımı.....  | 37   |
| 3.6.6 İstatistiksel analiz.....  | 37   |
| 4 ARAŞTIRMA BULGULARI.....   | 38   |
| 4.1 Nem İçeriği.....   | 38   |
| 4.2 pH Değeri.....   | 40   |
| 4.3 Titrasyon Asitliği Değeri.....   | 44   |
| 4.4 Su Aktivitesi Değeri.....  | 46   |
| 4.5 Mikrobiyolojik Analiz.....   | 48   |
| 4.5.1 Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı.....                                   | 48   |
| 4.5.2 Laktik asit bakteri sayımı.....  | 51   |
| 4.5.3 <i>Escherichia coli</i> sayımı.....  | 54   |
| 5 SONUÇ.....   | 57   |
| KAYNAKLAR.....   | 59   |
| ÖZGEÇMİŞ.....  | 68   |

## SİMGELER DİZİNİ

|         |                                   |
|---------|-----------------------------------|
| mg      | miligram                          |
| g       | gram                              |
| kg      | kilogram                          |
| m       | metre                             |
| cm      | santimetre                        |
| mm      | milimetre                         |
| s       | saniye                            |
| L       | Litre                             |
| µL      | mikrolitre                        |
| mL      | mililitre                         |
| ppm     | milyonda bir                      |
| %       | yüzde                             |
| °C      | santigrat                         |
| ±       | artı/eksi                         |
| aw      | su aktivitesi değeri              |
| log kob | logaritmik koloni oluşturan birim |

### **Kısaltmalar**

|       |   |
|-------|---|
| FAO   | Gıda ve Tarım Örgütü  |
| WHO   | Dünya Sağlık Örgütü   |
| JECFA | Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi   |
| EFSA  | Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi   |
| IBM   | International Business Machines- Uluslararası İş Makineleri                           |
| AB    | Avrupa Birliği  |
| yy    | Yüzyıl  |
| YGC   | Yeast Extract Glucose Chloramphenicol   |
| SPSS  | Statistical Package for the Social Sciences- Sosyal Bilimler için İstatistik Programı |
| PCA   | Plate Count Agar  |
| MRS   | de Man Rogosa Sharpe  |
| TSE   | Türk Standartları Enstitüsü   |
| SF    | Seyreltme Faktörü   |
| DPPH  | 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl   |
| TAMB  | Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri  |
| LAB   | Laktik Asit Bakterisi   |
| abs   | Absorbans değeri  |
| GAE   | Gallik Asit Eşdeğeri  |
| UV    | Ultra Viyole Işın   |
| SCOPY | Simbiyotik Bakteri ve Maya Kültürü  |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 2.1 Sucuk üretim aşamaları.....  | 6  |
| Şekil 2.2 Et ve et ürünlerinde karakteristik kür rengi oluşum reaksiyonları.....                                       | 10 |
| Şekil 2.3 Kombucha çayı üretim akışı .....   | 14 |
| Şekil 4.1 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların nem içeriği (%).....                               | 39 |
| Şekil 4.2 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların pH değerleri ...                                   | 42 |
| Şekil 4.3 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların titrasyon asitliği (% laktik asit) değerleri ..... | 45 |
| Şekil 4.4 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların su aktivitesi değerleri .....                      | 47 |
| Şekil 4.5 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları (log kob/g) .....   | 50 |
| Şekil 4.6 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren laktik asit bakteri bakteri sayıları (log kob/g) .....        | 53 |
| Şekil 4.7 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren Escherichia coli sayıları (log kob/g) .....                   | 56 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| Çizelge 2.1 SCOBY bileşiminin sağlık açısından etkileri...  | 16 |
| Çizelge 3.1 Sucuk gruplarının içeriği.....  | 34 |
| Çizelge 3.2 Fermantasyon koşulları.....   | 35 |
| Çizelge 4.1 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların nem içeriği (%).....                              | 38 |
| Çizelge 4.2 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların pH değerleri.....                                 | 41 |
| Çizelge 4.3 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların titrasyon asitliği (% laktik asit) değerleri..... | 44 |
| Çizelge 4.4 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların su aktivitesi değerleri.....                      | 46 |
| Çizelge 4.5 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları (log kob/g).....   | 49 |
| Çizelge 4.6 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren laktik asit bakteri bakteri sayıları (log kob/g).....        | 51 |
| Çizelge 4.7 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren Escherichia coli sayıları (log kob/g).....                   | 54 |

## 1. GİRİŞ

Kasaplık hayvanların iskelet kasları ve benzer dokularından elde edilen et, sağlıklı yaşam için oldukça önemli olan elzem amino asitleri yapısında bulundurması nedeniyle beslenme açısından yüksek biyolojik değere sahip protein içermesinin yanı sıra sahip olduğu A ve B grubu vitaminler, demir, çinko, fosfor ve selenyum gibi mineraller ve taurin, kreatin, karnosin ve anserinin gibi bazı biyoaktif bileşenler ile insan beslenmesinde diyetle en önemli bileşenlerden birisi olarak yer alır (Lawrie ve Ledward 2014). Yüksek besin içeriğine ek olarak et ve et ürünleri, kendine özgü lezzeti nedeniyle de eski çağlardan bu yana birçok tüketici tarafından beğeniyle tüketilengıdalarıdır (Geiker vd. 2021).

Zengin besin içeriğine sahip et, doğası gereği mikrobiyel ve oksidatif bozulmaya oldukça yatkındır. Bu bağlamda, geçmişten bu yana etlerde meydana gelen bozulmaların önlenmesi için soğutma, kurutma, dondurma, pastörizasyon, sterilizasyon, fermantasyon, antibakteriyel ve antifungal ajanların doğrudan kullanımı gibi çeşitli yöntemlere başvurulmuştur (Zhang vd. 2022, Xiong 2023). Bu yöntemler içinde fermantasyon, etlerde laktik asit bakterilerinin aktivitesiyle bir seri fiziksel, biyokimyasal ve mikrobiyel değişim sonucu ürünün kalite özelliklerini duysal, besinsel ve fonksiyonel açıdan iyileştiren, aynı zamanda bozulma yapan ve patojen mikroorganizma gelişimini kontrol altına alarak raf ömrünün uzamasını sağlayan insanoğlunun en eski gıda koruma yöntemlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Kumar vd. 2023, Yılmaz vd. 2024).

İkinci Dünya savaşında uzun raf ömrü, sağlık faydaları ve kalite özellikleri nedeniyle daha da popülerite kazanan günümüzde dünyanın birçok ülkesinde üretilen ve tüketilen fermente et ürünleri, Avrupa ülkelerinde toplam işlenmiş et ürünlerinin yaklaşık %20-40'nı oluşturmaktadır. Fermente etler içinde en yüksek üretim ve tüketim payına sahip olan ürün grubu ise çok fazla ürün çeşitliliğine sahip fermente sosislerdir. Fermente sosislerin Eski Roma ve Yunanlılar tarafından üretimi yapılmış olduğu, daha sonra Orta Çağ döneminde Avrupa'da yaygınlaştığı bilinmektedir. Günümüzde Avrupa ülkelerinden İspanya'da 50'den, Almanya'da ise 350'den fazla fermente sosis türünün var olması bu

ürünlerin önemini gösteren bir gerçektir (Flores ve Toldra 2011, Kumar 2023). Bu farklılıklar işleme koşullarının iklime, çevreye ve kültüre göre adapte edilmesinden kaynaklanır. Örneğin, fermente sosis üretiminde Akdeniz bölgesindeki ülkelerde kurutma, Kuzey Avrupa ülkelerinde ise tütsüleme uygulanır. Son ürün özellikleri ve kalitesi hammadde, mikrobiyel flora ve işleme koşullarına bağlı olarak değişen, geniş bir ürün yelpazesine sahip yarı-kuru ve kuru fermente sosisler dünyanın birçok ülkesinde halen yaygın bir şekilde üretilmektedir.

Fermente sosisler sınıfında yer alan ve Türk kültüründe önemli bir yer tutan sucuk, olgunlaştırılmış taze etlerin kıyım haline getirilip tuz ve diğer katkı maddeleriyle karıştırılarak kılıflara doldurulması ve doğal veya hızlandırılmış yöntemlerle kurutulup olgunlaştırılmasıyla elde edilen geleneksel bir et ürünüdür (Anonim 2023). Türk kültüründe önemli bir yer tutar ve uzun raf ömrüne sahiptir. Üretim sürecinde sıcaklık, nem ve pH gibifaktörlerin kontrolü son ürünün kalitesinin sağlanmasında büyük önem taşır. Sucuk üretiminde kullanılan nitrat, nitrit, tuz ve çeşitli baharat gibi katkı maddeleri ve ingrediyenler, mikrobiyel gelişimi kontrol altına almak ve ürünün kalite özelliklerini iyileştirmek için belirli oranlarda ilave edilir.

Fermente sosislerin, dolayısıyla bu sınıfta yer alan sucuğun üretim sürecinde, mikroflorasında yer alan bakteriler ve eklenen starter kültürlerle gerçekleşen fermantasyon işlemi, patojen bakterilerin gelişiminin önlenmesinde yeterli etkiye sahip değildir. Bu nedenle bu tür et ürünlerinin dayanıklılığını ve raf ömrünü arttırmak, mikrobiyolojik güvenliğini sağlamak için yaygın olarak kürlenme işlemi kullanılır (Tang vd. 2018). Nitrat ve nitrit, kürlenmiş et ürünlerinde karakteristik renk ve lezzetin gelişmesini sağlamak, lipid oksidasyonunu kontrol etmek ve özellikle *Clostridium botulinum* başta olmak üzere patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyel etkisi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Sucu ve Turp 2018). Ancak, özellikle mutajenik ve kanserojenik N-nitrozamin bileşiklerini oluşturması nedeniyle insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri kürlenmiş et ürünlerinde kullanımı katı kurullarla sınırlandırılmış olan nitrit için alternatif doğal katkı maddesi arayışları sürmektedir (Turp ve Avcı 2022). Bazı çalışmalar pancar, kereviz ve pazı tozları gibi alternatiflerin nitrit yerine kullanılabilceğini, ancak bunların etkinliğinin tam olarak

nitritin yerini alamadığını göstermiştir. Ayrıca, roka ve berberis ekstraktları gibi doğal maddelerle yapılan çalışmalar, kalıntı nitrit içeriğinde azalma sağlasa da renk ve duyu özelliklerinde istenmeyen bazı değişikliklere yol açmıştır (Kaban 2013, Oral 2023a). Doğal alternatifler kullanılarak üretilen kurlenmiş et ürünlerinde, nitrit ilave edilen ürünlere kıyasla fiziksel ve kimyasal kalite özellikleri yanında antimikrobiyel aktivite açısından tam olarak başarılı sonuçlar elde edilemediğinden bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerekliliği araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (Zhang vd. 2022).

Kombucha çayı, simbiyotik bir kültür olan SCOBY ile fermente edilen ve kökeni Çin'e dayanan bir içecektir. *Camellia sinensis* yaprakları, şeker ve çeşitli bakteri maya türleri ile fermantasyon sonucu elde edilir. Avrupa'da 1950'lerden beri popülerlik kazanan bu çayın kolesterolü düzenlemesi, kan basıncını düşürmesi ve bağışıklık sistemini güçlendirmesi gibi sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır. Mikrobiyel bileşimi ve SCOBY'nin yapılanması, fermantasyon sürecindeki başarıyı etkileyen önemli faktörlerdir. Çayın antioksidan aktivitesi ile vitamin ve organik asit içeriği bölgesel ve kültürel farklılıklara bağlı olarak değişkenlik gösterir. Sahip olduğu bu özellikler Kombucha çayının gıda sektöründe çeşitli şekillerde kullanımına olanak sağlamaktadır (Laureys vd. 2020, Antolak vd. 2021, Kitwetcharoen vd. 2023).

Avokado (*Persea americana* Mill.), Lauraceae familyasına ait bir bitki olup, Orta Amerika ve Meksika kökenlidir. Kabuğu yeşil zeytin renginde olan avokadonun meyve eti, sağlıklı yağlar, protein, lif, antioksidanlar, vitaminler ve mineraller bakımından zengindir. Özellikle tekli doymamış yağ asitleri, folik asit, potasyum ve K vitamini içeriğiyle bilinir. Avokado çekirdekleri ise polisakkaritler, proteinler, lipitler ve çeşitli vitaminler açısından zengindir. İçerdiği biyoaktif bileşenler nedeniyle yüksek antioksidan ve antimikrobiyel aktiviteye sahip olan avokado gıda, ilaç ve kozmetik sektörlerinde potansiyel kullanım alanlarının gün geçtikçe arttığı bildirilmiştir (Charles vd. 2022, Bangar vd. 2022, Siol ve Sadowska 2023).

*Escherichia coli* (*E. coli*), başlangıçta "*Bacillus coli communis*" olarak adlandırılmış ve 1885 yılında kolon ve hücre morfolojisi, glikoz fermente etme yeteneği, asit üretimi ve

süt ekşitme özellikleriyle tanımlanmış bir bakteridir. Theodor Escherich tarafından keşfedilmiş olan bu bakteri, enterik bir bakteridir ve genellikle insan ve hayvan gastrointestinal sistemlerinde bulunur. Gram negatif bir basildir ve genellikle oksidaz-negatif, katalaz-pozitif, nitrata nitrite indirgeyebilen, hareketli ve spor oluşturmeyen özellikler gösterir. *E. coli*'nin çeşitli suşları, insanların ve hayvanların normal kommensal mikroflorasının bir parçası olarak kabul edilirken, virülans faktörleri sayesinde enterik enfeksiyonlara neden olabilir. Özellikle antimikrobiyel direnç geliştirme kapasitesi yüksektir ve çeşitli patojenik suşlar ishal ve diğer bağırsak bozukluklarına yol açabilmektedir. Bu nedenle, *E. coli* enfeksiyonlarıyla mücadelede hijyenik önlemlerin yanı sıra alternatif tedavi yöntemleri geliştirilmesi önemlidir. Sucuk gibi fermente et ürünlerinde yapılan çalışmalar sonucunda nitrit/nitrat kullanımının *E. coli* üzerinde antimikrobiyel etkisinin olduğu kanıtlanmıştır. Diğer yandan, nitritin sağlık açısından oluşturduğu risk sebebiyle son yıllarda üzerinde araştırmalar yapılan doğal nitrit/nitrat alternatiflerinin et ürünlerinde gıda güvenliği riski oluşturan bu patojene karşı antimikrobiyel etkinliklerinin belirlenmesi önemli bir gerekliliktir (Allocati vd. 2013, Malabadi vd. 2024).

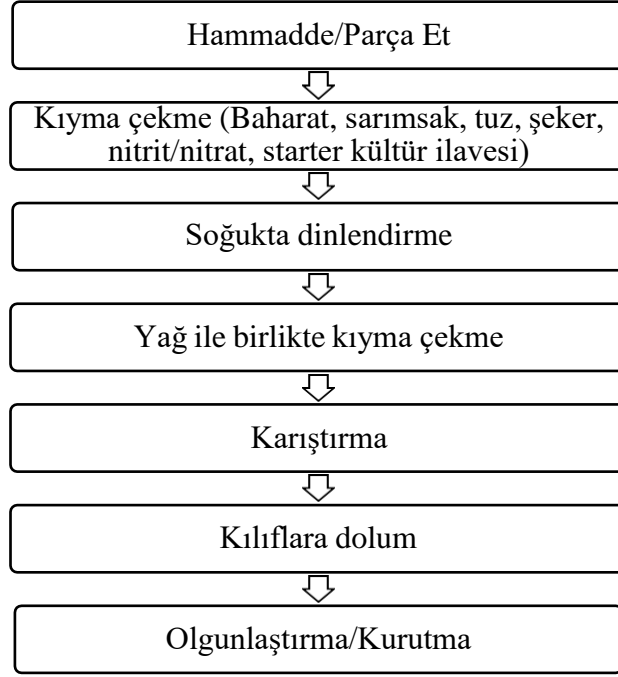
Bu çalışmada, geleneksel et ürünümüz olan sucukta nitrit/nitrat oranının azaltılması yönünde güvenli ve sağlık açısından faydalı fonksiyonel bir ürünün üretimi hedefine yönelik doğal nitrit alternatif olarak, biyolojik aktivitesi yüksek Kombucha çayı tozu ve avokado çekirdeği tozu kullanımının bazı ürün kalite özelliklerine etkilerinin ve et ürünlerinde risk oluşturan patojenler içinde önemli bir bakteri olan *Escherichia coli* üzerine inhibisyon etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ ve KURAMSAL TEMELLER

### 2.1 Fermente Et Ürünü Olarak Sucuk

Geleneksel gıdalar ülkelerin kültürel mirasının kıymetli parçalarını oluşturmaktadırlar. Türk tarihinde sucuk, fermantasyon ve kurutma yolu ile üretilen ve üretilme yöntemi sayesinde uzun raf ömrüne sahip olan önemli bir et ürünü olup çok eski zamanlardan bu yana ülkemizde ve komşu ülkelerde beğeniyle tüketilmektedir. Sucuk, olgunlaştırılmış taze etlerin kıyma haline getirildikten sonra tuz ve diğer katkı maddeleri ile karıştırılıp uygun kılıflara doldurularak doğal koşullarda veya hızlandırılmış yöntemlerle kurutulup olgunlaştırılmasıyla elde edilen geleneksel bir et ürünüdür (Öztan 2017).

Sucuk üretimi sırasında antimikrobiyel ve antioksidan etkilerinin yanı sıra son ürünün karakteristik renginin gelişimine katkıları nedeniyle katkı maddesi olarak nitrat ve/veya nitrit kullanılmaktadır. Fermantasyon için ise sakaroz veya glikoz gibi laktik asit bakterileri tarafından kullanılan karbonhidrat kaynakları tercih edilmektedir. Ek olarak sucukta istenen aromayı vermesi amacıyla kimyon, acı ve tatlı kırmızı biber, karabiber, yeni bahar gibi çeşitli baharat da formülasyona ilave edilir (Kaban 2013). Hazırlanan sucuk hamurları bir süre dinlendirildikten sonra yapay ya da doğal kılıflara dolumu yapılır ve fermantasyon/olgunlaştırma ve kurutma işlemlerine tabi tutulur. Şekil 2.1’de sucuk üretim aşamaları verilmiştir (Özkaya vd. 2018). Sucuğun üretim aşamaları süresince sıcaklık, nem ve hava akım hızının kontrolü son ürün kalitesi açısından önem taşımaktadır (Kılıç 2009).



Şekil 2.1 Sucuk üretim aşamaları (Özkaya vd. 2015)

Türk Standartları Enstitüsü TS 1070'de ise Türk sucuğunun kalite özelliklerinden nem oranının en fazla %40, tuz miktarının en fazla %5, kokuşma testlerinin negatif olması, inorganik boya, iç organ, tek tırnaklı hayvan eti veya diğer yabancı tür hayvan etinin, çeşitli patojen mikroorganizmaların ve *E. coli* patojeninin bulunmaması ve bağ doku oranının aşırı yüksek olmaması, toksikolojik muayenenin negatif sonuç vermesi gerekliliği belirtilmiştir (Anonim 1997). Buna ek olarak kullanılacak etin miyogloblin içeriğinin yüksek ve mikrobiyel açıdan temiz olması gerekmektedir (Serdaroğlu vd. 2019).

Sucuk kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden birisi, mevcut mikrofloranın ya da starter kültürün gelişmesine uygun ortam sağlanmasıdır. Olgunlaşma sürecinde kullanılan baharat, et ve yağın özellikleri ve kalitesi hamurun işlenme şekliyle orantılı olarak son ürün kalitesini etkilemektedir. Sucuk hamuru, olgunlaşma esnasında metabolik aktiviteleri sonucu sucuğa istenen karakteristik özellikleri veren doğal mikrofloranın yanı sıra patojen bakterileri de içerebilmektedir (Kaban 2013).

Sucuk hamurunda *Micrococcus* ve *Staphylococcus* bakterilerinin sayıları  $10^3$  ile  $10^4$  kob/g, laktik asit bakterilerinin sayıları ise yaklaşık olarak  $10^2$  ile  $10^4$  kob/g aralığında

olup bu bakteriler fermantasyonla birlikte yoğun gelişim göstererek baskın mikroflorayı oluşturmaktadırlar. Yapılan araştırmalar sonucunda sucuk içerisinde yer alan bakterilerinden bazıları *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc mesenteroides* spp. *mesenteroides/dextranicum* ve *Leuconostoc lactis* olmakla birlikte genellikle baskın olan türler laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus plantarum* veya *Lactobacillus sakei* olarak tespit edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin faaliyeti ile birlikte oluşan laktik asit fermantasyonu sağlamak için kullanılan starter kültüre bağlı olarak yaklaşık 3 ile 10 gün aralığında pH'nın 5'in altına düşmesine neden olur. Su aktivitesi ise genellikle son üründe 0.90'ın altına düşmektedir (Kaban 2013).

### **2.1.1 Et ürünlerinde katkı maddesi olarak nitrat/nitrit**

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre katkı maddeleri "Besleyici değeri olsun veya olmasın, tek başına gıda olarak tüketilmeyen ve gıdanın karakteristik bileşeni olarak kullanılmayan, teknolojik bir amaç doğrultusunda üretim, muamele, işleme, hazırlama, ambalajlama, taşıma veya depolama aşamalarında gıdaya ilave edilmesi sonucu kendisinin ya da yan ürünlerinin, doğrudan ya da dolaylı olarak o gıdanın bileşeni olması beklenen maddeleri ifade eder" şeklinde tanımlanmıştır (Anonim 2023). Sucuk üretiminde bazı katkı maddeleri, yapının korunması, istenmeyen mikrobiyel gelişimin kontrol altına alınması amacıyla belirli oranlarda ilave edilmektedir (Temizgül 2021).

Sucuk mikrobiyel kontaminasyona elverişli bir gıda olmasından dolayı endüstriyel üretim ve tüketici sağlığı gibi konularda önlem gerektiren bir gıda ürünüdür (Özkaya ve Kayaardı 2018). Nüfusun artışıyla paralel olarak tüketim ihtiyaçlarının da artması nedeniyle artan et ihtiyacını karşılamak için geleneksel et üretim yöntemleri yeterli olmamaya başlamıştır (Kumar vd. 2022). Bu durum tüketim alışkanlıklarını etkilemiş ve tüketici tercihlerini yüksek kaliteli ve uzun raf ömrüne sahip ürünlere yönlendirmiştir. Sektör bu ürünlerin üretimi için iki ana noktaya odaklanmıştır. Bunlardan birisi nitrit ve nitrat kullanımı, diğeri ise starter kültür seçimidir. Starter kültür seçiminde sucuk hamurundaki mikrofloraya ve üretim basamaklarına adapte olabilen, istenilen metabolik

olayları sağlayarak pH ve su aktivitesi kontrolünde etkin rol oynayan bakterilerin seçimi önem kazanmıştır (Kargozari vd. 2014). Aynı zamanda fermente et ürünlerinde kullanılan starter kültür tercihi ürünün duyu özellikleri üzerinde de etkili olmaktadır. (Hathwar 2012).

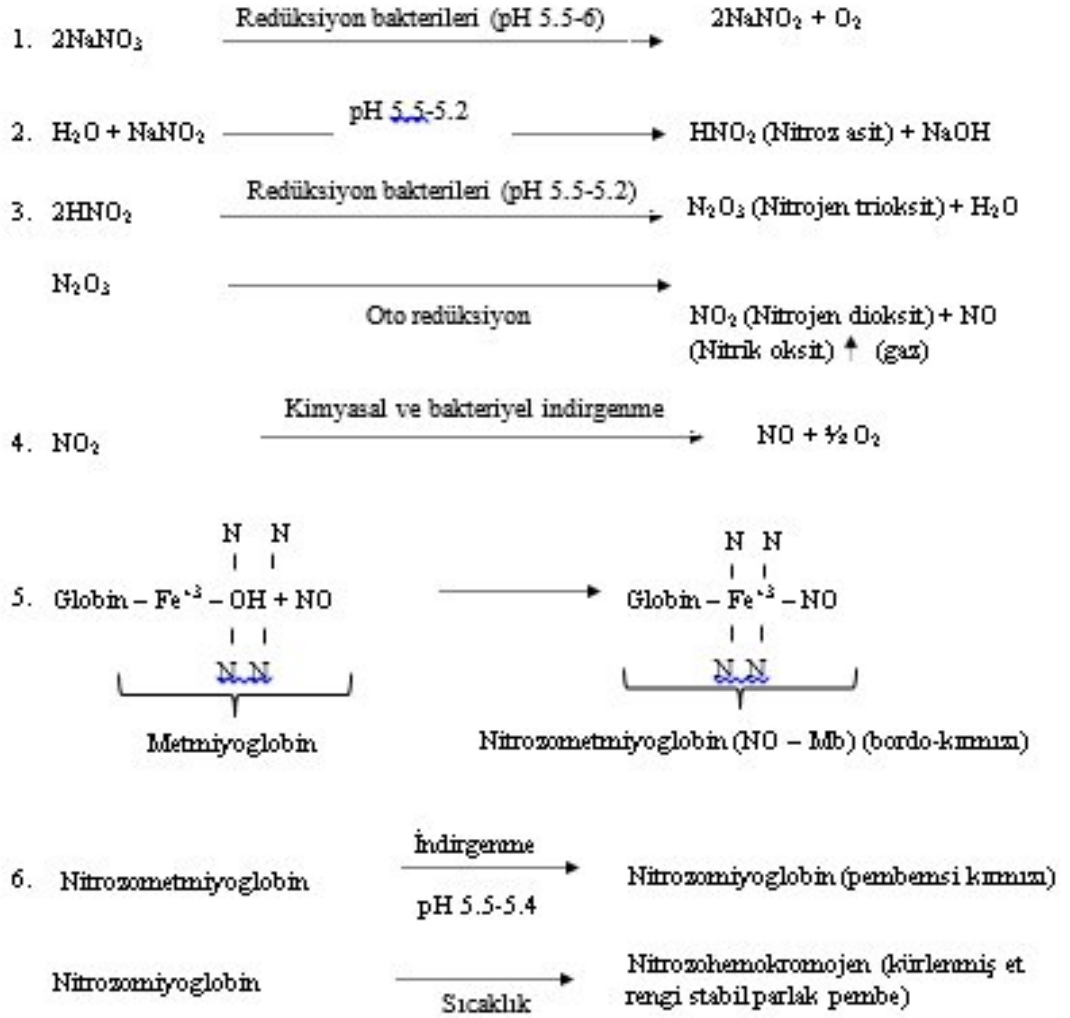
Fermente sucuk üretimi sırasında starter kültür olarak genellikle homofermentatif laktik asit bakterileri ve Micrococcaceae familyasının bazı suşlarının kullanımına izin verilmektedir. Micrococcaceae familyası suşlarının kullanılması sucuklarda olgunlaşma sırasında renk ve aroma oluşumunda iyileşme sağlarken *Lactobacillus* ve *Pediococcus* türleri gibi laktik asit bakterileri, karbonhidrat metabolizması sonucu karakteristik keskin bir tat eldesine neden olan laktik asit (özellikle D-laktat) üretme yeteneği nedeniyle kullanılır. Starter kültür katkısıyla laktik asit içeriği artan sucuk olgunlaşması esnasında protein denatürasyonu ve devamında da proteinlerin su tutma kapasitelerinin düşmesi sonucu suyun yapıdan ayrılması ile sonuçlanan değişimler görülmektedir. Bunun bir sonucu olarak sucukta karakteristik t oluşumu gerçekleşmektedir. Olgunlaşma sürecinde proteinlerin polipeptitlere, peptitlere ve serbest aminoasitlere parçalanması isesucukta tat gelişiminde rol oynamaktadır (Çiçek vd. 2015).

Et ürünlerinin muhafazasında kullanılan bir diğer yöntem ise kürlenmedir. Kürlenme sırasında taze ete nitrit/nitrat tuzları, tuz (NaCl) ve baharatın eklenmesi ile gerçekleştirilen bu işlem ete karakteristik lezzet ve özelliklerini sağlamakla birlikte eti mikrobiyel açıdan da daha güvenli bir gıda haline getirmektedir (Shakil vd. 2022). Nitrit ve nitrat, üründe istenen rengin sağlanması, karakteristik lezzetin ve tekstürün oluşması, lipit oksidasyonunun engellenmesi, antimikrobiyel ve antioksidan etki göstermeleri gibi etkilerinden dolayı et ürünlerinde kullanımına yasal sınırlamalarla izin verilen katkı maddeleridir (Van der Veken vd. 2023). Kürlenmede kullanılan ve gerekli durumlarda fermente et ürünlerinde kullanımına izin verilen diğer katkı maddeleri ise askorbik asit ve tuzları, eritorbik asit ve tuzları gibi indirgen bileşikler, şekerler, sitrik asit ve tuzları, sodyum bikarbonat ve fumarik asit gibi maddelerdir. Askorbik asit ve izoaskorbik asit sucuk hamurunda indirgen koşullar oluşturarak hızlı renk oluşumuyla birlikte renk, tat, koku kalıcılığını sağlamak ve belirli ölçüde lipit oksidasyonunu engellemektedir (Özkaya vd. 2018).

Sucuk üretimi sırasında kullanılan nitritin işlevlerinden birisi, nitritten oluşan nitrik oksitin (NO) kas pigmenti miyogloblin ile asidik ortamda reaksiyona girerek karakteristik kırmızı kürlenmiş rengi oluşturmasıdır. Üründe pro-oksidan bileşiklerin etkisinin engellenmesini sağlayarak oksidasyon üzerinde de engelleyici bir rol oynamaktadır. Buna ek olarak, düşük konsantrasyonlarda kullanılan nitritin *Clostridium botulinum*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* ve *Pseudomonas* bakterilerini inhibe etmek için yeterli olduğu belirtilmektedir (Bozkurt ve Erkmen 2004). Şekil 2.2’de nitritin sucukta karakteristik kür rengi oluşturma aşamaları yer almaktadır (Öztürk 2015).

Nitritin vücuttaki kan basıncını, yara iyileşmesini, immünolojik yanıtı ve nörolojik süreçleri düzenlemek gibi olumlu özellikleri bulunsa da tüketimi sağlık açısından ciddi bir tehlike oluşturabilmektedir. Et ürünlerinde kullanılan nitrit etin içerdiği yağa, kalitesine, etin işlenme ve paketlenmesine bağlı olarak N-nitrozamin oluşumunu etkilemektedir (Shakil vd. 2022, Turp ve Avcı 2022).

Nitrozaminler, mide, bağırsak, mesane, ağız ve fetüs kemik kanseri gibi çeşitli kanser türleriyle ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle nitrit tüketiminin sınırlandırılması önerilmektedir. Yüksek nitrit seviyeleri, özellikle bebeklerde "mavi bebek sendromu" olarak bilinen methemoglobinemiye neden olabilir; bu durum, kanın oksijen taşıma kapasitesini azaltarak ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Ayrıca, nitrit ve nitratların aşırı tüketimi, gastrointestinal mikrobiyom dengesini bozarak bağırsak sağlığını olumsuz etkileyebilir ve kardiyovasküler sistem üzerinde olumsuz etkiler yaratarak kan basıncını etkilemektedir. Nitritler ayrıca karotenoidleri ve A ve B vitaminlerini tahrip etme kapasitesine sahip olup, meyve ve sebzelerin besin değerini azaltabilir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), günlük alınabilir nitrat miktarını vücut ağırlığına göre 3.7 mg/kg, nitriti ise 0.07 mg/kg olarak belirlemiştir. Nitritlerin toksisitesi, nitratlarınkinden on kat daha fazladır ve bu nedenle nitritlerin tüketimi ve maruziyeti kontrol altında tutulmalıdır. Genel olarak, nitrit ve nitratların güvenli seviyelerde tüketilmesi, sağlık risklerini en aza indirmektedir (Hosseini vd. 2023, Liu vd.2023).



Şekil 2.2 Et ve et ürünlerinde karakteristik kür rengi oluşum reaksiyonları (Öztürk 2015)

### 1.1.1 Sucukta doğal nitrat/nitrit kaynaklarının kullanımı

Nitrat ve nitritin neden olduğu sağlık risklerinden kaynaklanan artan tüketici endişesi piyasada doğal bir koruyucu arayışının başlamasına neden olmuştur. Fakat yapılan çalışmalar sonucunda nitrit ve nitratın et ürününe sağladığı renk, tat, tekstür, antimikrobiyel ve antioksidan aktivite gibi özelliklerin tamamını kapsayacak bir doğal koruyucunun varlığı halen belirsizliğini korumaktadır (Van der Veken vd. 2023).

Son yıllarda, nitrit/nitrat alternatifini olarak çoğu bitkisel kaynaklı doğal ingrediyenlerin kullanımının araştırıldığı çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Bu çalışmalardan birinde (Oral ve Kaban 2023), ısıtım işlem görmüş sucuklarda biberiye özütü ile birlikte yeşil çay özütü (RE/GTE) kullanımının nitrozamin içeriği ve kalite özellikleri üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Kontrol, %0.1 RE/GTE, %0.2 RE/GTE ve %0.3 RE/GTE içeren 4 ayrı sucuk grubunda yapılan incelemeler sonucunda RE/GTE kullanımının laktik asit bakterileri ve *Micrococcus/Staphylococcus* sayılarında azalmaya neden olduğu, RE/GTE kullanımının kalıntı nitrit içeriğinde azalmaya yol açtığı ve düşük seviyede (12.60 mg/kg) kalıntı nitrit belirlendiği belirtilmiştir. Yüksek oranda RE/GTE kullanılan son iki grupta ise lipit oksidasyonunda azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (Oral ve Kaban 2023).

Sucu ve Turp (2018) tarafından gerçekleştirilen sucuk formülasyonunda pancar tozunun nitrit alternatifini olarak kullanıldığı bir çalışmada ise sırasıyla 150 mg/kg sodyum nitrit; 100 mg/kg sodyum nitrit ve %0.12 pancar tozu; 50 mg/kg sodyum nitrit ve %0.24 pancar tozu; %0.35 pancar tozu içeriklerine sahip 4 ayrı grup sucuk üretimi yapılmış ve ürünler 4°C'de depolanmıştır. Çalışma sonucunda pancar tozu ilavesi üründe *a\** değerini artırırken depolama boyunca renk stabilizasyonunu sağlamıştır. Fakat pancar tozunun nitritle birlikte en fazla kullanıldığı grup ve hiç nitrit kullanılmayan grupta kontrol grubuna kıyasla daha fazla oksidasyon gözlemlendiği belirtilmiştir. Duyusal olarak kontrol grubuyla arasında fark bulunamayan bu sucuklarda en yüksek kalıntı nitrit içeriği 20.12 mg/kg ile kontrol örneğinde gözlemlenmiş, depolama boyunca kalıntı nitrit içeriğinin azaldığı belirtilmiştir (Sucu ve Turp 2018).

Sucukta nitrit alternatifini olarak kereviz tozunun kullanıldığı diğer bir çalışmada (Oral 2023a), 100 mg/kg sodyum nitrit, 150 mg/kg sodyum nitrit, 100 mg/kg kereviz tozu ve 150 mg/kg kereviz tozunun kullanılarak 4 grup sucuk üretiminde 24 °C'de 7 gün süren olgunlaştırma sonrasında laktik asit bakterileri ve *Micrococcus/Staphylococcus* sayılarının değişim göstermediği, kereviz tozunun üründe su aktivitesinin düşmesine neden olduğu ve N-nitrozopiperidin oluşumunun en yüksek kereviz içeriğine sahip olan sucuk grubunda gözlemlendiği belirtilmiştir. Ayrıca, 3 dakikalık pişirme sürecinin tüm gruplarda nitrozamin içeriğinde önemli bir artışa neden olduğu gözlemlenmiştir (Oral 2023a).

Sucuk formülasyonunda nitrit alternatifi olarak biyodönüştürülmüş pazı tozunun kullanıldığı ve pişirme derecesinin nitrit üzerindeki etkisinin incelendiği bir diğer çalışmada (Oral 2023b) ise 150 mg/kg sodyum nitrit, 75 mg/kg sodyum nitrit ve 75 mg/kg pazı tozu ve 150 mg/kg pazı tozu içeren 3 ayrı grup sucuk formüle edilmiştir. Çalışma sonucunda pazı tozu kullanımının pH ve TBARS değerlerinde artışa neden olduğu, kalıntı nitrit miktarında ise azalmaya neden olmadığı gözlemlenmiştir. Laktik asit bakterileri ve *Micrococcus/Staphylococcus* sayıları arasında gruplar arası herhangi bir fark belirlenmemiş ve pazı tozu kullanımının duyuşal değerlendirmede daha yüksek puanlar aldığı belirtilmiştir. Temel bileşen analizi sonuçlarına göre, pişirme süresinin, pazı tozu kullanımından daha fazla nitrozaminler üzerinde etkiye sahip olduğu ve pişirme süresi arttıkça nitrozamin seviyesinde artış olduğu belirtilmiştir (Oral 2023b).

Öztürk-Kerimoğlu ve Serdaroğlu (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 150 ppm sodyum nitrat, 75 ppm sodyum nitrat + 75 ppm nitrat içeren pazı tozu ve 150 ppm nitrat içeren pazı tozu olmak üzere 3 grup sucuk üretilmiş, pazı tozu ilavesinin pH değerinde artışa ve asidite ile  $L^*$ ,  $a^*$ , ve  $b^*$  değerlerinde azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. En yüksek kalıntı nitrit konsantrasyonunun, sucuk hamurunda ve fermantasyondan sonra 150 ppm sodyum nitrat içeren örnekte olduğu kaydedilmiştir. Isıl işleml sonrasında ise pazı tozu içeren örnekler arasında en yüksek kalıntı nitrit içeriğinin 150 ppm nitrat içeren pazı tozu içeren grupta olduğu belirtilmiştir (Öztürk-Kerimoğlu ve Serdaroğlu 2020).

Pekmez ve pekmez tozunun nitrit alternatifi olarak kullanıldığı bir çalışmada (Dilek ve Karakaya 2022) 100 mg/kg sodyum nitrat içeren kontrol grubu, 89.9 g pekmez, 305.6 g pekmez tozu, 0.5 g sodyum nitrat + 95 g pekmez ve 0.5 g sodyum nitrat + 152.8 g pekmez tozu içeren 5 ayrı grup değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda depolama süresi boyunca tüm örneklerde kalan nitrat içeriği azalmış, kontrol grubunun diğer gruplara kıyasla daha yüksek lipit oksidasyon seviyesi gösterdiği gözlemlenmiş ve depolama sırasında doğal kütleme sürecinin, TBARS ve pH değerlerini düşürürken sertlik, yapışkanlık ve çiğneme kabiliyetini artırdığı belirtilmiştir (Dilek ve Karakaya 2022).

Roka, nitrat azaltıcı bakteri eklenmiş roka ve berberis (BE) ekstralarının kullanıldığı bir

çalışmada ise 8 ayrı grup sucuk (PA: önceden dönüştürülmüş roka ekstresi, A:Roka ekstresi, PAB: Önceden dönüştürülmüş roka ekstresi + BE, AB: Roka ekstresi + BE, POB: Nitrit + BE, NEB: Nitrit olmadan + BE, POC: Pozitif kontrol (nitritli) ve NEC: Negatif kontrol- nitritsiz) üretilmiştir. Çalışma sonucunda gruplar arasında duyuşal özellikler açısından bir farkın olmadığı, BE'nin eklenmesinin, lipit oksidasyonunu azalttığı, roka ve berberis ekstraktlarının kalıntı nitrit içeriğini azalttığı ve PAB grubunun %47'lik azalma ile en düşük değeri gösterdiği belirtilmiştir. Buna ek olarak alternatif ürün kullanımının kontrol örneğine kıyasla renk değerlerinde düşüşe neden olduğu ve roka ekstresi veya önceden dönüştürülmüş roka ekstresi kullanımı, nitrit içermeyen örneklere göre daha düşük karbonilasyona yol açtığı belirtilmiştir (Serdaroğlu vd. 2023).

### **1.1.2 Nitrit alternatifi olarak Kombucha çayı**

Son yıllarda fonksiyonel gıdalar arasında önemli bir yer edinen Kombucha çayı, maya ve bakterilerin simbiyotik kültürü olan SCOBY ile fermente edilerek elde edilen bir içecektir ve menşenin Çin'e ait olduğunu bilinmektedir (Laureys vd. 2020). *Camellia sinensis* türündeki çay yapraklarının, şeker, bakteri ve mayadan oluşan simbiyotik bir kültürle fermantasyonu yolu ile tüketime hazır hale gelen Kombucha çayının bir diğer adı da "mantar çayı" olarak bilinmektedir. Kombucha çayının Asya'da M.Ö. 220 yılından beri tüketildiği bilinmektedir ve ismi ülkeden ülkeye değişkenlik göstermektedir. Japonya'da kocha kinoko, Çin'de shenxian cu, Kore'de hongcha beoseo-tcha, Rusya'da grib veya tea kvass ve Tayland'da Cha-mug gibi isimlerle anılan bu çay 1950'li yıllarda Avrupa'da da popülerite kazanmaya başlamıştır. Bunun nedenlerinden birisinin II. Dünya Savaşı sırasında Alman bir doktorun bu çayı şeker hastalığı ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde kullanması olduğu bilinmektedir. Düzenli kullanımla birlikte kolesterol seviyesinin düzenlenmesi, kan basıncının düşürülmesi, kilo kontrolünün yapılması gibi konularda olumlu etkilerinden dolayı kullanımı tercih edilmektedir. Buna ek olarak Kombucha çayının hemen hepsi kanıtlanmamış olmakla birlikte karaciğer, salgı bezleri, bağışıklık ve mide fonksiyonlarında iyileştirici etkisinin olduğu da belirtilmektedir (Kitwetcharoen vd. 2023, Laureys vd. 2020). Son yıllarda sağlıklı beslenmeye olan ilginin artması göz önüne alındığında Kombucha çayının düşük kalori içeriğine sahip fermente bir içecek olması ve içeriğindeki mikrobiyata profilinin çeşitliliği küresel Kombucha pazarının artış göstermesinde etkili olmaktadır (De Melo vd.2024).

Kombucha çayı Şekil 2.3'te görüldüğü üzere şeker eklenmiş siyah çay ya da oolong çayı ile SCOBY adı verilen simbiyotik kültürün fermente edilmesi ile oluşmaktadır. Kaynar suda şekerin çözündürülmesinin ardından kullanılacak çay belirli bir oranda eklenerek yaklaşık 20 dakika demlenme işlemi yapılmaktadır. Demlenmiş çay oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra SCOBY mayası ve daha öncesinde fermente edilmiş çay eklenmektedir. Önceki çayın eklenmesindeki amaç başlangıç pH'sını düşürerek fermantasyon sürecine katkı sağlanmasıdır. Mayası eklenen çay üzerine fermantasyonu dış etmenlerde koruyacak hava alabilen bir bez ile örtülerek oda sıcaklığında 14 günlük bir fermantasyon sürecine bırakılmaktadır. Bez ile örtme işleminin bir diğer avantajı ise kapta basınç oluşmasını önleyerek oksijen akışına izin vermesidir (Laureys vd. 2020).



Şekil 2.3 Kombucha çayı üretim akışı (Selvaraj ve Gurumurthy 2023)

Kombucha çayında yüzeyde selülozik bir tabaka ve sıvı kısımda oluşan 2 tabaka mevcuttur. Yüzeydeki selülozik tabakayı oluşturan SCOBY olarak adlandırılan bu mikroorganizma topluluğunun biyofilmleri, görünümü itibariyle mantar yüzeyine benzediği için genellikle Kombucha mantarı olarak adlandırılmaktadır (Jayabalan vd. 2014, Temizgül 2021).

SCOBY, *Brettanomyces* spp., *Candida* spp., *Lachancea* spp., *Pichia* spp., *Saccharomyces* spp., *Schizosaccharomyces* spp., *Zygosaccharomyces* spp. gibi ozmofilikmaya türleri ve *Acetobacter* spp., *Gluconobacter* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Komagataeibacter* spp. ve *Lactobacillus* spp. gibi asetik asit bakterilerinden oluşur. Bununla birlikte Kombucha çayı üretiminde SCOBY'nin bileşimi ve havalandırma önemli bir rol oynamaktadır. SCOBY verimi fermantasyonun 14 günü boyunca yüksek olmakla birlikte sonrasında olumsuz büyüme koşulları ve mikrobiyel büyüme nedeniyle azalarak durmaktadır. Fermantasyonda karbon kaynağı olarak kullanılan glikoz selüloz pelikülü üretmektedir ve bu pelikül baskın maya veya bakteri kültürüne sahip bir mikrobiyotaya sahiptir. Fermente çayın mikrobiyel bileşimi ve SCOBY katmanı, fermantasyon işlemi sırasında üretilen selülozun özelliklerini belirlemektedir (Selvaraj veGurumurthy 2023).

SCOBY içeriği dünya üzerinde bulunulan bölge, kullanılan hammadde, fermantasyon koşulu, asetik asit, laktik asit bakterilerinin ve mayaların hangi cins, kültür ve suşa bağlı olduğuna göre değişkenlik göstermektedir. Çeşitli mikroorganizma türlerinin metabolik aktiviteleri dikkate alındığında, Kombucha çayındaki organik asitlerin içeriği, vitaminler, enzimler ve antioksidan aktivitenin değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar sakkarozun kullanımının önemini vurgulamaktadır. İntervaz aktivitesi sonucunda, maya suşlarının sakkarozu hidrolize etmesi ile glikoz ve fruktoz gibi metabolitlerin üretiminde kullanılan substratlar serbest kalmaktadır. Genellikle *Saccharomyces* spp. ve *Zygosaccharomyces* spp. glikoz kullanarak glikoliz yoluyla etanol üretmektedir. Bazı maya türleri ise aerobik koşullarda asetik asit veya malik asit üretmektedir. Mayalar SCOBY'deki etanolün üretilmesinde büyük önem taşımaktadır ve üretilen etanol *Asetobacter* aracılığı ile asetik aside oksitlenmektedir. Asetik asit bakterileri, bakteriyel selüloz ve asetik asit üretiminin yanında sağlık açısından pek çok faydasının olduğu bilenen glukuronik asit üretimini de sağlamaktadır. Ek olarak *Gluconobacter* suşları, glikozdan sentezlenen D-sorbitolden C vitamini (L-askorbik asit) üretebilir. Çizelge 2.1'de SCOBY'nin sahip olduğu mikrobiyotanın sağladığı faydalar yer almaktadır (Antolak 2021).

Çizelge 2.1 SCOBY bileşiminin sağlık açısından etkileri (Antolak 2021)

| Asetik asit bakterileri            | Mayalar                 | Laktik asit bakterileri |
|------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| C vitamini sentezi                 | B vitamini biyosentezi  | Laktik asit sentezi     |
| Glukuronik asit sentezi            | Etanol sentezi          | B vitamini biyosentezi  |
| Asetik asit sentezi                | Amino asit üretimi      | Probiyotik potansiyeli  |
| Fenolik bileşen içeriği            | Fenolik bileşen içeriği | Fenolik bileşen içeriği |
| D-sakkarik asit 1,4 lakton sentezi |                         |                         |

Kombucha çayının sağlık üzerine etkilerinin araştırdığı çalışmalardan birinde (Marzban 2015) deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) metodu ile multiple skleroz (MS) oluşturulup farelerde Kombucha çayının hastalık üzerine etkisi incelenmiş, çalışma süresince yapılan klinik değerlendirme sonucunda immünizasyonun 21. gününde farelerden alınan kan örnekleri ile nitrik oksit (NO), total antioksidan kapasite ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ) değerlendirilmiştir. Bulgular, kombucha çayının EAE üzerinde olumlu etkiler gösterdiğini ortaya koymuş olup düşük hastalık insidansı, hastalık şiddetinin azalması ve hastalığın başlangıcında gecikme gibi etkiler gözlenmiştir. Histolojik analizler, kombucha çayı verilen farelerde infiltrasyonlu immün hücrelerin ve plakların kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığını ve beyinde, omurilikte ve sinirlerde miyelin hasarına neden olan bir durum olan demiyelinizasyonun daha az olduğunu göstermiştir. Ayrıca, Kombucha çayı ile tedavi edilen farelerde serum nitrik oksit ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin kontrol farelerine göre önemli ölçüde düşük olduğu belirlenmiştir (Marzban 2015).

Cava zerdeçalının (0.4% g/mL) bir Kombucha substratı olarak kullanımını ve karaciğer koruyucu aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada ise (Zubaidah 2024), 42 sağlıklı erkek Balb/c fare, altı gruba ayrılmıştır. Tedaviler normal diyet, normal diyet + Cava zerdeçalı kombucha (JTK), normal diyet + diethylnitrosamine (DEN), DEN + JTB, DEN + JTK, DEN + Kombucha şeklinde yapılmıştır. Çalışma bulgularında DEN ile indüklenen gruplarda JTK'nın kan SGPT, SGOT ve serum MDA düzeylerini anlamlı şekilde azalttığı ayrıca, JTK tedavisi normal gruba göre daha düşük kan SGPT ( $8.604 \pm 2.195$  U/L) ve serum MDA seviyelerine ( $2.884 \pm 0.083$  nM/mL) sahip olduğu belirtilmiştir. JTK'nın en

az hasar görmüş karaciğer hücre sayılarını ürettiği gösterilmiştir (Zubaidah 2024).

Kombucha çayının farklı şekillerde çeşitli et ve et ürünlerinin kalitesinin iyileştirilmesi amacıyla kullanıldığı çalışmalar literatürde yer almaktadır. Bu çalışmalardan birinde Rimniceanu vd. (2023), Sibiryaya mersin balığının Kombucha çayı granüllerini de içine alan fermente ürünlerle beslenmesinin et kalitesi üzerine etkilerini belirlemiştir. Beslenme gruplarından birinde yer alan Kombucha çayı granüllerinin balık etinde su, kül ve lipit içeriğini önemli ölçüde etkilediğini, ancak protein içeriği üzerinde bir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca, fermente ürünlerin eklenmesi ham protein içeriğinde artışa ve lipit içeriğinde azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir (Rimniceanu vd. 2023).

Bir başka çalışmada (Feng vd. 2009), Kombucha çayının mide-bağırsak kanserine ve diğer hastalıklara karşı etkileri incelenmiş ve *Escherichia coli* olarak sindirimi araştırılmıştır. Kombucha çayının nitriti parçalayabildiğini ve önemli miktarda nitrik oksit üretebildiğinin gösterildiği çalışmada, Kombucha çayına 100-1000 mg/L arasında sodyum nitrit eklenmiş ve nitritin 89.02-431.16 mg/L arasında parçalandığı bulunmuştur. Kombucha çayı, 2 saat içinde 5-200 mg/L sodyum nitriti etkili bir şekilde parçalayarak, 20 dakikada ise 52.3-376.1 mg/m<sup>3</sup> nitrik oksit üretmiştir (Feng vd. 2009).

Kitosan ve Kombucha çayından oluşan biyoaktif filmde Kombucha çayının etkisinin incelendiği bir çalışmada ise (Ashrafi vd. 2018), eklenen çayın su buharı geçirgenliğini iyileştirdiği, antioksidan aktiviteyi %59 DPPH temizleme aktivitesine kadar artırdığı ve filmin UV ışığına karşı koruyucu etkisini artırdığı belirtilmiştir. Üretilen bu filmin kıyılmış sığır etinde etkin bir ambalaj görevi görerek lipit oksidasyonu ve mikrobiyel gelişmeyi geciktirici özellikler göstererek sığır etinin raf ömrünü 3 güne kadar uzattığı kaydedilmiştir (Ashrafi vd. 2018).

Kombucha çayının ördek etindeki yağ ve kolesterol üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada (Adriani 2007) içme suyuna %25 oranında eklenen Kombucha çayının, ördek etinde yağ ve kolesterolü %9,54 oranında düşürmüş, kolesterol miktarı ise 65.238 mg/100g ördek eti düzeyinde kalmıştır. Ördeklerin içme suyuna %25 oranında fermente edilmiş Kombucha çayı eklenmesi, ördek etindeki yağ ve kolesterol seviyelerini azaltmak için uygun düzey olarak belirtilmiştir (Adriani 2007).

Salam üretiminde doğal ekstreler kullanarak besin değerini artırmayı amaçlayan bir çalışmada Kombucha çayı nitrit alternatifi olarak kullanılmış olup Kombucha ekstraktı içeren bir salam üretilmiştir. Araştırma sırasında su içeriği, yağ içeriği, sodyum klorür içeriği, azot içeriği ve nitrit içeriği gibi çeşitli faktörle değerlendirilmiştir. Buna ek olarak *Salmonella* spp. tespiti yapılmış olup elde edilen sonuçlar nitritin Kombucha ekstresi içeren baharat karışımı ile değiştirilerek, kimyasal katkı maddesi olmadan yüksek besin değerine sahip güvenli ürünler elde edilebileceğini göstermektedir (Bordea vd. 2017).

Temizgül (2021) tarafından yapılan bir çalışmada ise, sucuklarda formülasyondaki nitrit miktarı %50 azaltılarak %5 ve %10 Kombucha çayı ilave edilmiş ve son üründe nitrit içeren kontrol grubuna kıyasla, Kombucha çayı içeren gruplarda rengin korunduğu ve kalıntı nitrit içeriğinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

### **1.1.3 Nitrit alternatifi olarak avokado çekirdeği**

Avokado (*Persea americana* Mill.), Lauraceae çiçekli bitki familyasına ait olan iki çenekli bir bitkidir ve anavatanı Orta Amerika ve Meksika'dır. Bu bitki genellikle Meksika, Saint Dominic, Peru, Endonezya, Kolombiya, Brezilya, Kenya, Venezuela, Şili, Amerika Birleşik Devletleri, Yeni Zelanda ve Güney Afrika gibi bölgelerde yetiştirilmektedir (Bangar vd. 2022). Ülkemizde de son yıllarda yetiştiriciliği giderek artmaktadır.

Avokadonun kabuğu yeşil zeytin renginde olup, soluk sarı etli meyvesi oldukça zengin bir yağ içeriğine sahiptir (Nyakang'i vd., 2023). Avokado, içeriğindeki protein, lif, tekli doymamış yağ asitleri, antioksidanlar, vitaminler, folik asit, pantotenik asit, bakır, potasyum, sodyum, K vitamini ve B6 vitamini gibi mineraller sayesinde yüksek besin değeri içermektedir ve oldukça sağlıklı bir besin olarak kabul görmektedir. Ancak kabuk ve çekirdek kısımları, tüketim sırasında atık yan ürün olarak kabul edilmektedir. Sahip olduğu bu besin değeri nedeniyle giderek artan bir tüketici kitlesi oluşmaktadır ve bu durum avokado çekirdeği ve kabuğunun atık yan ürün olarak değerlendirilmesi gerekliliğini doğurmaktadır (Siol ve Sadowska 2023).

Avokado çekirdeği, avokado meyvesinin yaklaşık %13-17'sini oluşturur ve atık olarak değerlendirildiğinde büyük oranda çevresel kirliliğe neden olmaktadır. Diğer taraftan, avokado çekirdeği polisakkaritler, proteinler, lipitler, mineraller ve vitaminler gibi çeşitli fonksiyonel ve biyoaktif bileşenler açısından zengindir. Avokado çekirdeği, anti-hiperglisemik, anti-kanser ve anti-inflamatuar özellik gösteren fenolikler, flavonoidler ve tanenler gibi birçok biyoaktif madde içerir. Avokado çekirdekleri, içerdikleri aktif bileşenler ve sağlık açısından zararlı olabilecek bileşikler içermemeleri nedeniyle gıda, ilaç ve kozmetik sektörlerinde kullanım için uygun görülmektedir. Ayrıca, yüksek antioksidan etkisi nedeniyle oksidasyonu önleme özelliği göstermektedir (Charles vd. 2022).

Bitki bazlı antioksidanların popülerliği artarken, avokado ürünlerinin ticarileşmesiyle birlikte avokado çekirdeği atığı da çoğalmıştır. Çekirdeklerin yenilemez kabul edilmesi, geri dönüştürülemeyen atık miktarını artırmaktadır. Ancak, avokado çekirdeklerinin potansiyel kullanım alanlarını araştırarak bu atık miktarı azaltılabilir. Avokado çekirdekleri, sırasıyla nişasta, su, lipitler, protein, fitokimyasallar, antinutrientler, vitaminler ve mineraller içermektedir. Gıda uygulamalarında nişasta, biyoplastik, un, koyulaştırıcı ajan ve emülgatör olarak kullanılabilir. Ayrıca, avokado çekirdeği fitokimyasalları içeren ekstraktlar, antimikrobiyel ve koruyucu aktiviteler göstererek et ürünlerinde ve turuncu boya üretiminde potansiyel kullanıma sahip olmaktadır. Ek olarak avokado çekirdeklerinde tanımlanan belirli fenolik bileşikler arasında prosiyanidinler, kateşinler, flavonoller, hidrokisisanamik asitler ve hidrokсібenzoik asitler bulunmaktadır. Sahip olduğu biyoaktif bileşikler sayesinde oksidatif stresi azaltmaya ve hücre hasara karşı koruma sağlamaya yardımcı olacak yüksek düzeyde antioksidan aktivite, kanser hücrelerinin büyümesi ve yayılmasını engelleme potansiyeli ile antikanser aktivite, iltihaplanmayı azaltan antiinflamatuar özellikler ve çekirdek ekstraktlarının zararlı mikroorganizmaların büyümesini engelleme yeteneğine sahip olmasıyla birlikte antimikrobiyel özellikler içermektedir (Charles vd. 2022, Bangar vd. 2022).

Avokado çekirdeğinin polifenoller açısından zengin olduğu, özellikle kateşin ve proantosiyenin içerdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, kuersetin, prosiyanidin dimer A ve B tipi, kafeoilkuinik asit, kumarik asit, gallik asit, 4-hidroksibenzoik asit, vanillik asit, kafeik asit, siringik asit, rutin ve ferulik asit gibi bileşikler de içerdiği belirtilmektedir.

Yapılan alışmalar sonucunda avokado çekirdeğindeki toplam fenolik içeriğin, meyve etinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir ve avokado çekirdeklerinde genellikle A tipi ve B tipi prosiyanidinlerin bulunduğu belirtilmiştir (Gümüştepe vd. 2022).

Domuzların diyetlerine işlenmiş avokado çekirdek unu katılarak et kalitesindeki değişimin gözlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada (Ekpo ve Okon 2024) işlenmiş avokado çekirdek unu kullanılmıştır. Besleme 70 gün sürmüş ve bu süre zarfında domuzlar rastgele olarak dört diyet grubundan birine atanmıştır: %0, %2.5, %5 ve %7.5 oranlarında avokado çekirdeği unu kullanılan diyet sonucunda elde edilen bulgularda, %5 avokado çekirdeği unu kullanılan grupta karkas veriminin diğer gruplara göre yüksek olduğu, kullanılan oranın organlarda olumsuz sonuçlar doğurmadığı bildirilmiştir. Artan avokado çekirdek unu seviyeleriyle birlikte karın yağında azalma gözlenmiş ve %5'lik diyetle et-kemik oranı artmıştır. Duyusal değerlendirme sonucunda ise yine aynı grubun en yüksek puanı aldığı rapor edilmiştir. Bu çalışmanın bulguları, domuz diyetlerine %5'e kadar avokado çekirdek unu eklenmesinin karkas verimini ve domuz eti duyusal kalitesini artırabileceğini ve herhangi bir olumsuz etki yaratmadığını göstermiştir (Ekpo ve Okon 2024).

Tremocoldi vd. (2018), Hass ve Fuerte avokado çeşitlerinin çekirdeklerinin antioksidan aktivitelerini ve toplam fenolik madde miktarını araştırmışlar ve antioksidan aktiviteye önemli katkıda bulunan biyoaktif bileşiklerin trans-5-O-kafeoil-D-kinik asit, B tipi prosiyanidin, kateşin ve epikateşin olduğunu tespit etmişlerdir. Wang vd. (2010) ise normal fazlı HPLC-ESI-MS<sup>n</sup> kullanarak avokado çekirdeklerinde kateşin, epikateşin, A ve B tipi dimerler, trimerler, tetramerler, pentamerler ve heksamerler gibi prosiyanidinleri tespit etmişlerdir. Çeşitli avokado türlerinin içerdiği biyoaktif bileşiklerin ve miktarlarının farklılık gösterebileceği ortaya konmuştur. Örneğin, farklı türlerdeki avokado çekirdeklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, Hass avokado çeşidinin toplam fenolik madde miktarının (51.6 mg GAE/g) diğer çeşitlerden daha yüksek olduğu bulunmuştur (Jimenez vd. 2021).

Hass eşidi avokado çekirdeğinin polifenol kaynağı olarak potansiyelini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada (Nyakang'i vd. 2023), çekirdeklerin pişmiş gıdalarda ve

fonksiyonel içecek üretiminde kullanım olanakları değerlendirilmiştir.çalışmada avokado çekirdeği tozunun nem, kül, protein, lif, yağ ve toplam karbonhidratlar açısından proksimat analizi yapılmıştır. Çekirdek tozu karanlık, amber renkli şişelerde ve şeffaf şişelerde altı ay boyunca depolanmış ve fenol içeriği izlenmiştir. Yapılan analizler doğrultusunda fenol içeriğinde bir azalma görülmeyen avokado çekirdeğinde pişmiş kek üzerinde artan konsantrasyonlarda kullanılması ürünün fenol içeriğini artırmıştır. Yapılan duyusal analizlerde ise düşük konsantrasyonlardaki çekirdek tozu ile hazırlanan ürünler daha çok beğenilmiştir (Nyakang'i vd. 2023).

Gmez vd. (2014) tarafından yapılmış olan bir diğer çalışmada ise liyofilize edilmiş avokado çekirdeği ekstraktının diğer sebze ve meyvelerle kıyaslandığında daha yüksek miktarda antioksidan içerdiği ve oksidasyonu büyük lde engellediği belirtilmektedir. Aynı şekilde yapılan başka bir çalışmada (Rodríguez-Carpena vd. 2011) da avokado çekirdeği ekstraktlarının taze ette etin renge bozulmaya yol açan, kötü koku ve tada neden olan protein oksidasyonuna karşı iyi bir korumaya sahip olduğunu ve et köfteleri için *Escherichia coli* lipit oksidasyonuna karşı yoğun bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Ekstraktların antioksidan aktiviteleri hem kabukta hem de tohumda bulunan yüksek polifenol konsantrasyonuna bağlanmıştır (Rodríguez-Carpena vd. 2011).

Dabas vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, avokado çekirdeği ekstraktlarının sıçanlar üzerinde kan basıncını düşürmek gibi olumlu tıbbi sonuçlar doğurduğu belirtilmiştir. Buna ek olarak, avokado çekirdeğinin paraziter enfeksiyonlar, lokal anestezik etki, antikanser ve kolesterol düşürücü eğilimleri vurgulanmış, avokado çekirdeklerinin hayvan ve insan besini olarak formülasyonlarda yer alabileceği bildirilmiştir (Dabas vd. 2013).

Avokado yan ürünlerinin et ve et ürünlerinde kullanımı üzerine yapılan sınırlı çalışmalardan birinde, avokado kabuğu, pulp ve çekirdekten farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların antioksidan ve antimikrobiyel özelliklere sahip olduğu, ayrıca bu ekstraktların hamburger köftelerinde 15 günlük soğuk depolama süresince lipit ve protein oksidasyonunu geciktirdiği belirlenmiştir (Rodríguez-Carpena vd. 2011a).

Bir başka çalışmada ise, Hass ve Fuerte çeşitlerinden elde edilen avokado kabuk ve çekirdek ekstraktlarının domuz burger köftelerinde renk, protein ve lipit oksidasyonu üzerine etkileri incelenmiş; her iki ekstraktın da köftelerde kırmızılık ( $a^*$  değeri) kaybını azalttığı ve Fuerte çeşidinden elde edilen ekstraktların depolama süresince rengin korunmasında Hass çeşidinden daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Rodríguez-Carpena vd. 2011b).

Bahru vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada, avokado çekirdeğinin içerdiği okzalatin böbrek taşı oluşturabildiği, fitik asitin ve tanninlerin demir emilimini azaltabildiği ve beslenme açısından istenmeyen bazı etkileri olabildiği bildirilmiş olmakla birlikte, bu bileşiklerden kaynaklanan olumsuz etkinin yüksek sıcaklık uygulamasıyla ortadan kaldırılabileceği ileri sürülmüştür.

Bıldırcın beslenmesinde avokado çekirdeği kullanımının karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerine yapılan bir çalışmada, günlük olarak yemlerine %3, %6 ve %9 oranında katılan avokado çekirdeği tozu ile beslenen dişi bıldırcınların karaciğer ve böbrek fonksiyonları üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda avokado çekirdeği tozu kullanımının SGOT, üre, kreatinin, protein, yağ, kolesterol, et yumuşaklığı ve pişirme kaybı seviyelerini önemli ölçüde etkilediği ve karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiği rapor edilmiştir (Tugiyanti vd. 2019).

## **1.2 Gıda Kaynaklı Hastalıklar**

Gıda kaynaklı hastalıklar psikolojik ve ekonomik olarak dünya çapında önemli bir sorun teşkil etmekle birlikte hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde morbidite ve mortalitenin önde gelen kaynağıdır. Seyahatin artması ve gıda ürünlerinin kolayca taşınabilmesi ile birlikte belirli gıda zehirlenmesi sendromlarından sorumlu olan birçok toksin artık izole coğrafi bölgelerle sınırlı kalmamaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından kurulan Gıda Kaynaklı Hastalık Yükü Epidemiyoloji Referans Grubu'nun (FERG) bildirdiğine göre dünya çapında 31 gıda kaynaklı tehlike bulunmaktadır. Bu tehlikelerden 11'i diyare hastalığı etkeni, 7'si invaziv hastalık etkeni, 10 tanesi helmint ve 3'ü kimyasal ve zehir etkenleridir (WHO 2019). Bunlar arasında *Campylobacter* spp.,

*Vibrio cholera*, *norovirüs*, EPEC, ETEC ve *Shigella* spp. gibi bazı diyare gıda kaynaklı patojenler ve *Salmonella* Typhi, *Taenia solium*, hepatit A virüsü ve *Paragonimus* spp. gibi diğer gıda kaynaklı patojenler yer almaktadır.

Shiga toksin üreten *Escherichia coli* (STEC) O157 serotipi, son birkaç on yılda ortaya çıkan en çok bildirilen gıda kaynaklı patojenlerden biridir ve her yıl büyük ölçekli salgınlara ve binlerce ishal vakasına neden olmaktadır. *E. coli* O157: H7, O157 somatik ve H7 flagellar antijenleri bulunarak serolojik olarak iyi çalışılmış ve karakterize edilmiş en sık izole edilen varyantlardan biridir. Son yıllarda gıda kaynaklı hastalıklar alanında yapılan yoğun çalışmalar, STEC'in gıda kaynaklı diyarelerin önemli bir nedeni olarak geniş çapta tanımlanmasına yol açmıştır. Son birkaç yılda O157 ve birçok O157 olmayan serotip içeren STEC'in dünya çapında 2.801.000 akut enfeksiyon, 3890 HUS vakası, 270 kalıcı ESRD (son dönem böbrek yetmezliği) vakası ve 230 ölüm oluşturduğu raporlanmaktadır. Çocuk ve yetişkin ölüm oranlarına göre tüm WHO üye ülkeleri alt bölgelere ayrılmış olup gıda kaynaklı hastalık yükü, Afrika bölgelerinin en yüksek yükleri taşıdığı, ardından Güneydoğu Asya bölgesi ve Doğu Akdeniz bölgesi izlemektedir. WHO tarafından yayınlanan raporlara göre, 2030 yılında gıda kaynaklı hastalıkların nüfus artışı ve değişen tüketim alışkanlıklarına paralel olarak %70'e kadar artması beklenmektedir ve bu da her dokuz kişiden birinin hasta olmasına yol açacaktır (Lawrence vd. 2007, Singha vd. 2023).

STEC, ishal, kanlı ishal, hemorajik kolit (HC), hemolitik üremik sendrom (HUS) ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) gibi ciddi semptomlara neden olabilen en tehlikeli gıda kaynaklı patojenlerden biri olarak tanımlanıp STEC enfeksiyonlarının ciddiyeti serotipe bağlıdır. 500'den fazla STEC serotipi tanımlanmış olmasına rağmen, O157 ve O26, O45, O103, O111, O121, O104:H4 ve O145 gibi birkaç serogrup HC, HUS ve TTP ile ilişkilendirilmiştir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 265,000'den fazla STEC enfeksiyonu yaşanırken, dünya genelinde 2.8 milyon akut enfeksiyon ve 4000 HUS vakası görülmektedir ve tüm STEC enfeksiyonlarının %36'sının O157 ile bağlantılı olduğu tahmin edilmektedir. STEC, sığır bağırsaklarında normal mikroflora olarak bulunur ve uygunsuz kesim sırasında ete bulaşarak eti potansiyel bir bulaşma kaynağı haline getirir. Ayrıca, domuz

ve tavuk etinin de çevresel faktörler ve işleme sırasında yapılan hatalar nedeniyle STEC ile kontamine olabileceği bildirilmiştir. STEC kontaminasyonu, et ürünlerinin geri çağırılması nedeniyle önemli mali kayıplara yol açmaktadır. Antimikrobiyel direnç (AMR), hem insan hem de hayvan sağlığı için küresel bir tehdit oluşturmaktadır ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) her yıl en az 700.000 ölümün AMR nedeniyle gerçekleştiğini bildirmiştir. Klinik ve veterinerlik alanlarında antibiyotiklerin aşırı ve hatalı kullanımı, antibiyotik direncinin ortaya çıkmasına neden olmuş, bu da antibiyotik etkinliğinin azalmasına ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik seçeneklerinin sınırlanmasına yol açmıştır. STEC enfeksiyonlarını tedavi ederken, belirli antibiyotiklerin Shiga toksin üretimini artırabileceği göz önünde bulundurulmasının önemli olduğu belirtilmektedir (Duc vd. 2024).

### **1.3 *Escherichia coli*, Biyolojik Özellikleri ve Patojenite Mekanizmaları**

*E. coli* ilk olarak "*Bacillus coli communis*" olarak adlandırılmış ve 1885 yılında kolon ve hücre morfolojisi, glikoz fermente edebilme, asit üretimi ve süt ekşitme yetenekleriyle tanımlanmış bir bakteridir. 1919 yılında yeniden adlandırılmış ve bu türü diğer enterik türlerden ayıran özellikler eklenmiştir. 1960'larda DNA-DNA hibridizasyonu (DDH) yöntemleriyle genetik ve genomik özellikler sınıflandırmaya dahil edilmiştir. Bu yöntemle, referans suşlarla %70 veya daha fazla DNA benzerliği gösteren suşlar *E. coli* olarak kabul edilmiştir (Allocati vd. 2013).

Enterobacteriaceae familyasına ait olan *Escherichia* cinsi, adını Theodor Escherich'ten alır. Gram negatif basiller olup, tek başına veya çiftler halinde bulunabilirler (Tutak 2010). *E. coli* doğumdan kısa bir süre sonra hem insanların hem de hayvanların gastrointestinal sistemine hızla yerleşir ve hem konağa hem de bakteriye fayda sağlar. 37°C'de aerobik koşullarda yetiştirildiğinde hem genel hem de seçici agar ortamlarında güçlü bir şekilde gelişir ve belirgin yuvarlak koloniler oluşturur. *E. coli* genellikle oksidaz-negatif, katalaz-pozitif, nitratı nitrite indirgeyebilen, hareketli, aside dirençli olmayan ve spor oluşturmeyen bir bakteri olarak tanımlanır. Belirli *E. coli* suşlarının tanımlanması genellikle serotiplendirme ile gerçekleştirilir; bu yöntem, O (somatik), H

(kamçılı), K (kapsüllü) ve F (fimbria) antijenlerinin varlığını karakterize eder (Malabadi vd. 2024).

Genellikle insanların ve hayvanların normal kommensal mikroflorasının bir parçası olarak kabul edilirler. Ancak, çeşitli virülans faktörleri sayesinde enterik enfeksiyonlara yol açabilirler. Bu nedenle, *E. coli* bakterileri patojenik ve patojenik olmayan olarak sınıflandırılır. Bu bakteriler, yabani kuşlar, sağım makineleri ve sıklıkla kommensal suşların izole edildiği sığır gastrointestinal sistemi gibi çeşitli rezervuarlara sahiptir (Zaatout 2022).

*E. coli*'nin çeşitliliği antimikrobiyel direncin ortaya çıkmasına da katkıda bulunmaktadır. Genetik yapısı, geniş bir genomik çeşitlilik ve evrimsel kapasite gösterir ve kommensal (zararsız) ve patojenik varyantlar içerir. Patojenik varyantlar, ishal yapan ve ekstraintestinal patojenler olarak iki ana gruba ayrılır. Bu varyantlar, fırsatçı patojenler veya bağırsak dışında hastalıklara neden olabilen zorunlu patojenler olarak sınıflandırılmaktadır. *E. coli* suşlarının genetik değişiklikleri ve gen transferi yoluyla antimikrobiyel direnç geliştirme kapasitesi yüksektir. Bu durum, özellikle hibrit patojenlerin ortaya çıkmasıyla dikkat çeker. Örneğin, 2011'deki Avrupa salgınında görülen O104 gibi, güçlü Şiga-toksin taşıyan yeni ve tehlikeli suşları içermektedir. Bu nedenle *E. coli* enfeksiyonlarıyla mücadelede, artan antimikrobiyel direnç nedeniyle alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Braz vd. 2020).

*E. coli*, omurgalıların bağırsaklarında bulunan ve giderek daha fazla bağırsak ve bağırsak dışı enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojen olmakla birlikte heterojen ve karmaşık kriterlere dayalı olarak belirli patojenik özelliklere sahip suşları temsil eden birçok patotipi tanımlanmaktadır. Kommensal suşların çeşitliliğiyle karşılaştırıldığında, patolojilerden sorumlu olan çok az soy vardır. Bu soylar, *E. coli* evrimi sırasında, çoğunlukla hareketli elemanlar üzerinde bulunan virülans genlerini edinerek, ancak belirli bir kromozomal filogenetik arka planla, birçok kez ortaya çıkmıştır. Bu stabil ve kozmopolit soyların tekrar tekrar ortaya çıkışı, virülans belirleyicileri ile geri kalan genom arasındaki epistatik etkileşimler yoluyla suş uygunluğunun optimize edildiğini göstermektedir (Denamur vd. 2021).

Yedi enterik patojenik *E. coli* patotipi dahil olmak üzere, *E. coli*'nin çeşitli hastalıklara yol açan dokuz belirli patotipini tanımlanmaktadır. Bu patotipler arasında Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteroinvazif *E. coli* (EIEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), Diffüz Adherent *E. coli* (DAEC) ve Adherent-Invazif *E. coli* (AIEC) bulunmaktadır. Bu patotipler, çoğunlukla ishal ve bağırsak bozukluklarına neden olurken, EHEC gibi bazıları Hemolitik Üremik Sendrom (HUS) gibi bağırsak dışı hastalıklara da yol açabilir (Pakbin vd. 2021). Özellikle O157 suşu, hemorajik kolit ve hemolitik üremik sendrom (HUS) gibi ciddi hastalıklara yol açabilir. O157 suşu, gıda kaynaklı salgınlara neden olabilir ve sığır gibi hayvanların bağırsaklarında asemptomatik olarak bulunur. İnsanlara genellikle kontamine et veya sebzeler aracılığıyla bulaşır. *E. coli*'nin genomu, yüksek düzeyde çeşitlilik ve plastiklik gösterir. Farklı *E. coli* suşları arasında genetik materyal paylaşımının yaygın olması, bakterinin çevresel koşullara hızla uyum sağlamasına olanak tanır. Örneğin, üç *E. coli* suşu olan K-12, O157 ve CFT073, genlerinin yalnızca %39,2'sini paylaşmaktadır. Daha fazla suşun sekanslanması ile bu ortak gen havuzu dahada azalmış ve *E. coli* pangenomunda 16.000'den fazla gen tespit edilmiştir (Sauer ve Moraru 2009).

*E. coli* O157 gibi bazı suşlar, şiddetli mide krampları, kanlı ishal ve kusma gibi ciddi semptomlara neden olabilir. Bu tür bir enfeksiyon genellikle kirli su veya gıdalar, özellikle çiğ sebzeler ve az pişmiş kıyma tüketimi ile ilişkilidir. Sağlıklı yetişkinler genellikle bir hafta içinde iyileşir, ancak küçük çocuklar ve yaşlı yetişkinler, yaşamı tehdit edebilecek bir böbrek yetmezliği türü olan hemolitik üremik sendrom (HUS) geliştirme riski altındadır. *E. coli* O157 enfeksiyonunun belirtileri, bakteriye maruz kaldıktan üç veya dört gün sonra başlar, ancak bir gün veya bir hafta sonra da ortaya çıkabilir. Belirtiler arasında hafif ve sulu ishalden şiddetli ve kanlı ishale kadar değişen diyare, şiddetli mide krampları ve hassasiyet, bulantı, kusma, ateş, kanama, nöbetler, baş ağrısı, kafa karışıklığı ve böbrek yetmezliği yer alır. *E. coli* enfeksiyonu, ince bağırsağın zarını hasara uğratan güçlü bir toksin üreten *E. coli* suşları tarafından tetiklenir ve bu durum kanlı ishale neden olabilir.

Kirli gıda veya sudan az miktarda bile tüketmek *E. coli* enfeksiyonuna yol açabilir. Özellikle az pişmiş hamburgerler ve kirli havuz suyu, bu bakterinin yayılmasına neden olabilir. İnsan ve hayvan dışkısı yeraltı ve yüzey sularını kirletebilir, bu da akarsular, nehirler, göller ve mahsul sulamada kullanılan suları içerir. Kırsal su kaynakları daha

fazla risk altındadır ve kirli belediye su kaynakları da salgınlara yol açabilir. Kirlenmiş havuzlarda veya göllerde yüzmek, pastörize edilmemiş süt tüketmek ve kirli su kaynaklarından içmek enfeksiyon riskini artırır. Çiğ sebzeler ve meyveler, özellikle ıspanak ve marul gibi ürünler bu tür kirlenmelere karşı hassastır. Kıyma ve tavuk eti de kirlenme kaynaklarıdır. Tavuklar kesildiğinde ve işlendiğinde bağırsaklarındaki *E. coli* bakterileri ete bulaşabilir. Ayrıca, enfekte yetişkinler ve çocuklar ellerini düzgün yıkamadığında, *E. coli* kişiden kişiye kolayca yayılabilir. Özellikle küçük çocukları olan aileler enfeksiyon riski altındadır. Hamilelik sırasında *E. coli* enfeksiyonu, annede ciddi hastalıklara ve bebekte sağlık sorunlarına yol açabilir. Bu enfeksiyonun belirtileri genellikle diğer *E. coli* enfeksiyonları ile benzerdir. Hamilelik sırasında tedavi edilmezse, sepsis gibi ciddi komplikasyonlara neden olabilir ve bu durum hem anne hem de bebek için hayatı tehdit edici olabilir. *E. coli* enfeksiyonu ayrıca erken doğum riskini de artırabilir. Bu nedenle, hamilelik sırasında iyi hijyen uygulamaları, çiğ veya az pişmiş gıdalardan kaçınma ve temiz su kaynaklarından içme gibi önlemler önemlidir. *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisi genellikle destekleyici tedaviyi içerir. Hidrasyonun sağlanması ve semptomların yönetilmesi önemlidir. Antibiyotikler genellikle önerilmez çünkü bazı *E. coli* suşları antibiyotiklere karşı direnç geliştirmiştir ve bu tedavi, HUS gibi komplikasyonların riskini artırabilir. Tedavi genellikle sıvı alımının artırılması, elektrolit dengesinin korunması ve gerekirse ağrı kesicilerin kullanılması ile sınırlıdır. Şiddetli vakalarda hastanede tedavi gerekebilir (Malabadi vd. 2024).

*E. coli* enfeksiyonlarından korunmak için alınabilecek önlemler arasında çiğ etleri yeterli düzeyde pişirmek, çiğ süt ve süt ürünlerinden kaçınmak, meyve ve sebzeleri iyice yıkamak, elleri düzenli olarak yıkamak ve kirli su kaynaklarından uzak durmak sayılabilir. Bu basit önlemler, *E. coli* enfeksiyonlarına yakalanma riskini önemli ölçüde azaltabilir (Malabadi vd. 2024).

Sonuç olarak, *E. coli* bakterisi, çeşitli suşları ile sağlıklı bireylerde patojenik enfeksiyonlara neden olabilir. Özellikle bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. Ancak uygun hijyen ve gıda güvenliği önlemleri ile *E. coli* enfeksiyonlarından korunmak mümkündür. Hamilelik sırasında bu enfeksiyonlara özel dikkat gösterilmesi hem anne hem de bebek için ciddi komplikasyonların önlenmesi açısından büyük önem taşır (Malabadi vd. 2024).

Aynı zamanda *E. coli*, hayvanlarda çevresel mastitisin en yaygın nedenlerinden biridir ve bu durum hafif iltihaplanmalardan toksinemi, yüksek ateş ve süt üretiminde azalmayla birlikte şiddetli klinik iltihaplanmalara kadar değişebilir. Süt inekleri, yaşları, laktasyon evreleri ve doğum gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak *E. coli* mastitisine farklı derecelerde duyarlılık gösterebilirler (Zaatout 2022).

Duc vd. (2024)'nin marketlerde satılan çiğ sığır, domuz ve tavuk etlerinden izole edilen STEC'in prevalansını, moleküler özelliklerini ve antibiyotik direnç profilini belirledikleri bir çalışmada, Vietnam'daki etlerde STEC insidansının %5.56 olduğu bulunmuş, çoğu STEC izolatının birden fazla antibiyotik sınıfına direnç gösterdiği ve stx2 geni için pozitif test edildiği belirlenmiştir. Ayrıca, bu çalışmada blaCTX-M-55 ve mcr-1 genlerini birlikte taşıyan bir STEC izolatı tespit edilmiştir. Bu veriler, etin antibiyotik dirençli STEC için potansiyel bir kaynak olabileceğini ve müdahale stratejilerinin geliştirilmesinin önemini vurgulamaktadır.

Soğuk etlerde düşük sıcaklık koşullarında kafeik ve ferulik asidin gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyel etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada (Ijabadeniyi vd. 2021), *E. coli* ve *L. monocytogenes* ile önceden inoküle edilmiş besiyeri ve et numuneleri, 150 ppm ve 200 ppm konsantrasyonlarında kafeik asit, ferulik asit ve bunların kombinasyonları ile muamele edilerek 4°C'de depolanmıştır. 200 ppm kafeik asidin *E. coli* üzerinde 12.33 mm inhibisyon zonu, ferulik asidin ise *L. monocytogenes* üzerinde 11.00 mm inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Kafeik ve ferulik asit kombinasyonunun, 200 ppm'de hem besiyerinde hem de ette 72 saat boyunca 4°C'de *E. coli*'ye karşı en etkili sonucu verdiği rapor edilmiştir. Et numunelerinde, kafeik ve ferulik asit kombinasyonu, 150 ppm'de 3.63 CFU/g ve 200 ppm'de 2.51 CFU/g log azalması sağlamıştır. Kafeik asit tek başına, 150 ppm konsantrasyonunda kullanıldığında *L. monocytogenes*'e karşı 2.48 CFU/g ve 200 ppm'de 2.75 CFU/g log azalması sağlamıştır. Bu bulgular, kafeik ve ferulik asitlerin hem tek başına hem de ferulik asitle kombinasyonlar halinde patojenik kontaminasyonu azaltma ve soğuk etlerin güvenliğini artırma yeteneğini göstermektedir (Ijabadeniyi vd. 2021).

Siyah ve yeşil çay kullanılarak fermente edilen Kombucha çayının sekiz gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaya karşı antibakteriyel aktivitesini değerlendirildiği bir

çalışmada, doğal, nötralize edilmiş ve filtrelenmiş Kombucha çayları ile asetik asit (%4 v/v) ve kanamisin (30 µg/L) çözeltilerinin (kontrol olarak) etkinlikleri araştırılmıştır. Nötralize edilmemiş siyah ve yeşil çay kullanılarak üretilen Kombucha, *Escherichia coli* serotiplerine karşı antibakteriyel aktivite gösterirken siyah ve yeşil çay Kombucha, *Staphylococcus aureus*, *Shigella Flexneri* ve *Salmonella Typhimurium*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermemiştir. İnhibisyonun fermantasyon sürecinde üretilen asetik aside atfedebileceği belirtilmiştir. Bu nedenle, Kombucha'nın potansiyel bir antimikrobiyel ajan olabileceği çalışma bulgularında rapor edilmiştir (Barbosa vd. 2022).

Rosella çiçeği (*Hibiscus sabdarifa* L.) kullanılarak Kombucha çayı üretilen bir çalışmada (Cholidah vd. 2020) üretilen fermente içeceğin *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktivitesini incelenmiştir. Rosella Kombucha, rosella çiçeği kaynatılarak, %10 starter ve %10 şeker ile 1 gün, 3 gün, 5 gün, 7 gün, 9 gün, 11 gün, 13 gün ve 15 gün boyunca fermente edilerek hazırlanmış daha sonra, antibakteriyel aktivite kuyu dizüfyon tekniği ile test edilmiştir. Araştırma sonuçları, rosella Kombucha fermantasyonunun *E. coli* gelişimini inhibe edebildiğini göstermiştir. Fermantasyon süresi arttıkça üretilen asetik asit miktarı artmakta ve bu da antibakteriyel aktiviteyi güçlendirmektedir. *E. coli*'yi en iyi inhibe eden fermantasyon süresi, 15 gün olup, 21.5 mm inhibisyon zonu ile çok güçlü antibakteriyel aktivite olarak sınıflandırılmıştır (Cholidah vd. 2020).

*E. coli* ile indüklenen farelerde Hass ve Criollo olmak üzere iki avokado çekirdeği tozunun lenfosit sayısı üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada, 25 sağlıklı erkek fare beş gruba ayrılarak farklı tedaviler uygulanmıştır. Grup I, negatif kontrol olarak steril distile su ile tedavi edilmiştir. Grup II, pozitif kontrol olarak steril distile su ile tedavi edilmiştir. Grup III, %5 avokado çekirdeği tozunu, Grup IV %10 avokado çekirdeği tozunu, Grup V ise %15 avokado çekirdeği tozunu oral yoldan almıştır. Kan örnekleri 1., 3. ve 7. günlerde alınıp lenfosit miktarı analiz edilmiştir. Negatif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, tüm gruplar arasında önemli farklar bulunmuştur. Yalnızca Grup IV, 3. ve 7. günlerde, Grup IV hariç tüm gruplarla arasında lenfosit artışında önemli farklılıklar göstermiştir. Sonuç olarak, %10 avokado çekirdeği tozunun lenfosit miktarını etkili bir şekilde baskılayabildiği gözlenmiştir (Miramontes-Corona vd. 2024).

Avokado çekirdeklerinden biyolojik olarak aktif bileşikleri tanımlamak ve 15 mikroorganizmaya karşı etkilerini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada (Kupnik vd. 2023), avokado çekirdeği ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda mikrobiyel gelişme inhibisyon oranları (MGIRs) belirlenmiştir. Araştırma, üç Gram-negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas fluorescens*), üç Gram-pozitif (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes*) bakteri suşu ve bir mantar (*Candida albicans*) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, avokado çekirdeği ekstraktlarının çeşitli bakterilere ve mantarlara karşı etkili olduğu saptanmıştır. Üç Gram-negatif, üç Gram-pozitif bakteri ve *Candida albicans*'a karşı mikrobiyel gelişim inhibisyon oranları (MGIRs) ve minimal inhibitör konsantrasyon (MIC90) değerleri belirlenmiştir. En düşük MIC90 değeri (70 µg/mL), *Bacillus cereus* için UE ve SFE ekstraktları ile 8 saatlik inkübasyon sonrasında gözlemlenmiştir. Bu da çekirdek ekstraktlarının güçlü antimikrobiyel potansiyelini göstermektedir. Bu sonuçlar, avokado çekirdeklerinin (bio)tıp, eczacılık, kozmetik ve diğer ilgili endüstrilerde antimikrobiyel ajanlar olarak kullanım potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Kupnik vd. 2023).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Sucuk üretiminde Konya Yilet Et Entegre Tesisleri'nden temin edilen ve soğuk zincirde Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Et Teknolojisi Laboratuvarına getirilen kıyma ve kavram yağları kullanılmıştır. Baharat ve diğer ingrediyenler Afyon Ahmet İpek Et ve Et Ürünleri Paz. San. ve Tic. A.Ş.'den, sucuk kılıfları ise Konya Yilet Et Entegre Tesisleri'nden temin edilmiştir. Avokado çekirdekleri farklı zamanlarda Ankara piyasasından, Kombucha kültürü ise yerel ticari bir işletmeden; sucuk üretiminde kullanılan starter kültür (BactoFlavor® BFL-T03 (*Pediococcus pentosaceus* + *Staphylococcus carnosus*) ise Chr Hansen Gıda San. Tic. A.Ş.'den satın alınmıştır.

#### 3.2 Püskürtmeli Kurutulmuş Avokado Çekirdeği Tozu Üretimi

Yerel piyasadaki satın alınan avokadoların çekirdekleri kabuklarından ayrılıp parçalandıktan sonra, 1:5 oranında (çekirdek g/saf su g) su ile karıştırılarak homojen bir karışım elde edilmiştir (Waring 8011 EB Blender, Almanya). Bu karışım süzölmüş ve püskürtmeli kurutma işleminde kaplama ajanı olarak kullanılan maltodekstrin ile karıştırılmıştır. Süzme işleminde gerçekleştirilen örnekler %10 maltodekstrin ilave edildikten sonra 4°C'de 24 saat bekletilmiştir ve ardından püskürtmeli kurutucuya (Buchi Mini B-290, İsviçre) besleme yapılmıştır. Avokado çekirdeğinin püskürtmeli kurutma prosesi parametrelerinin optimizasyonu, laboratuvarlarımızda gerçekleştirilen bir çalışmada yapılmıştır. Çalışmada, maksimum verim elde etmek amacıyla giriş sıcaklığı, maltodekstrin oranı (%) ve besleme oranı (%) bağımsız değişkenler olarak seçilmiş ve merkez noktada üç tekrarlı üç faktörlü üç seviyeli bir Box-Behnken tasarımı (Design Experts 11 yazılımı kullanılarak) ve yüzey yanıt metodolojisi kullanılmıştır. Optimizasyon sonucunda, kurutucu giriş sıcaklığı 180°C, kaplama materyali olarak %10 maltodekstrin ve %15 besleme oranı ile en iyi sonuçlar elde edilmiştir.

### 3.3 Kombucha Çayı Üretimi

Kombucha çayı Srihari vd. (2013) ve Temizgül (2020) tarafından önerilen yöntemler modifiye edilerek üretilmiştir. Demleme sırasında cam kavanozda bulunan 100°C üzerinde sıcaklığa sahip 3 litre destile suya 60 gram/L oranında şeker eklenmiştir. Ardından 7 adet demlik poşet (Doğuş Çay ve Gıda Maddeleri Üretim Pazarlama İthalat İhracat A.Ş, İstanbul) siyah çay ilave edilmiştir. 30 dakikalık bir demleme süresinin ardından kavanoz içerisinde yer alan çaylar süzölmüş ve kavanoz oda sıcaklığına (25°C) kadar soğumaya bırakılmıştır.

Soğutma işlemi Kombucha kültürünün yüksek sıcaklıkta zarar görmesinin önlenmesi amacı ile yapılmıştır. Yerel pazardan satın alınan Kombucha kültürü oda sıcaklığına soğutulmuş infüzyona eklenmiştir. Hazırlanan çay karışımı, hava geçirgenliği sağlayan peynir bezi ile kapatılarak karanlık ortamda 15 gün boyunca fermantasyona bırakılmıştır. Sucuk üretiminde kullanılmak üzere fermente edilmiş Kombucha çayının pH değeri Orion Star™ A211 model pH metrede 10 mL çay üzerine 100 mL destile su eklenerek ölçölmüştür (Anonymous 2000).

### 3.4 Kombucha Çayının Püskürtmeli Kurutma ile Kurutulması ve Optimizasyonu

Fermantasyon süresi tamamlanan Kombucha çaylarının püskürtmeli kurutma işlemi için parametrelerin optimizasyonu, laboratuvarlarımızda daha önce gerçekleştirilen bir çalışmada Design Expert 12 yazılımı kullanılarak tamamlanmıştır. Bu optimizasyon sonucunda yazılımın öngördüğü ideal kurutma sıcaklığı 160°C, maltodekstrin oranı %10 ve pompa oranı %32.66 olarak belirlenmiştir ve püskürtmeli kurutma cihazı (Buchi Mini B-290, İsviçre) kullanılarak kurutulmuştur.

### 3.5 Sucuk Üretimi

Sucuk üretiminde kullanılan et karışımı toplamda 8 gruba ayrılmıştır; KONT: nitrit içermeyen kontrol grubu, KONT-NİT150: 150 ppm nitrit içeren kontrol grubu, AVO: %6 avokado çekirdeği tozu ilave edilmiş sucuk, KOM: %6 Kombucha çayı tozu ilave edilmiş sucuk, AVO-KOM: %6 avokado çekirdeği tozu + %6 Kombucha çayı tozu ilave edilmiş

sucuk, AVO-NİT75: 75 ppm nitrit içeren avokado çekirdeği tozu ilave edilmiş sucuk, KOM-NİT75: 75 ppm nitrit içeren Kombucha çayı tozu ilave edilmiş sucuk, AVO-KOM-NİT75: 75 ppm nitrit içeren Avokado çekirdeği tozu + Kombucha çayı tozu ilave edilmiş sucuk. Sucuk gruplarının içeriği Çizelge 3.1’de detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1 Sucuk gruplarının içeriği (g/100 g kıyma-yağ karışımı)

| Formülasyon   | KONT | KONT-<br>NİT150 | AVO | KOM | AVO-<br>KOM | AVO-<br>NİT75 | KOM-<br>NİT75 | AVO-<br>KOM-<br>NİT75 |
|---------------|------|-----------------|-----|-----|-------------|---------------|---------------|-----------------------|
| NaCl          | 1.6  | 1.6             | 1.6 | 1.6 | 1.6         | 1.6           | 1.6           | 1.6                   |
| Sarımsak      | 1.2  | 1.2             | 1.2 | 1.2 | 1.2         | 1.2           | 1.2           | 1.2                   |
| Acı biber     | 0.5  | 0.5             | 0.5 | 0.5 | 0.5         | 0.5           | 0.5           | 0.5                   |
| Tatlı biber   | 0.6  | 0.6             | 0.6 | 0.6 | 0.6         | 0.6           | 0.6           | 0.6                   |
| Karabiber     | 0.6  | 0.6             | 0.6 | 0.6 | 0.6         | 0.6           | 0.6           | 0.6                   |
| Kimyon        | 0.8  | 0.8             | 0.8 | 0.8 | 0.8         | 0.8           | 0.8           | 0.8                   |
| Askorbik asit | 0.5  | 0.5             | 0.5 | 0.5 | 0.5         | 0.5           | 0.5           | 0.5                   |
| Nitrit (ppm)  | -    | 150             | -   | -   | -           | 75            | 75            | 75                    |
| Avokado Tozu  | -    | -               | 6   | -   | 6           | 6             | -             | 6                     |
| Kombucha Tozu | -    | -               | -   | 6   | 6           | -             | 6             | 6                     |

Sucuk hamurunu hazırlanması sırasında kıyma, yağ, baharatlar ve diğer ingrediyenler karıştırıcıda (Mateka) 10 dk boyunca karıştırılmıştır. Ardından starter kültür eklenerek 5 dk. daha karıştırılmaya devam edilmiştir. Hazırlanan sucuk hamurları 200'er gram olacak şekilde 8 gruba ayrılarak her grup için ayrı ayrı tartılmış olan nitrit, avokado çekirdeği ve/veya Kombucha çayı tozları eklenerek karıştırılmış, ardından 100 gramda 1 mL olacak şekilde *E. coli* inokülasyonu yapılmıştır. Hazırlanan *E. coli*'li sucuk hamurlarından 50'şer gramı başlangıç hamurunda yapılacak olan analizler için ayrılmıştır. Hazırlanan hamurlar 4 °C'de 4 saat dinlendirildikten sonra kolajen kılıflara doldurulmuştur. Dolum işleminin ardından iğne ile havası alınan sucuklar iklimlendirme kabine (Nüve) alınarak Çizelge 3.2'de yer alan koşullara göre fermantasyon işlemi tamamlanmıştır.

Çizelge 3.2 Sucuk fermantasyon koşulları

| Saat                                    | Sıcaklık (°C) | Bağıl Nem (%) |
|---|---------------|---------------|
| <u>Dolumdan önceki ilk 4-6 saat 2-4</u> |               |               |
| <u>Dolumdan sonra</u>                   |               |               |
| 4                                       | 22-24         | 90-95         |
| 5-24                                    | 22-24         | 85-90         |
| 25-30                                   | 20-22         | 80-85         |
| 31-36                                   | 18            | 80            |
| 37-48                                   | 15            | 80            |
| 48-72                                   | 10            | 75            |

### 3.5.1 Sucuklara *E. coli* inokülasyonu

*Escherichia coli* ATCC 25922 patojeni ve sucuk içerisinde kullanılacak starter kültür BactoFlavor® BFL-T03 (*Pediococcus pentosaceus* + *Staphylococcus carnosus*) Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinde 37°C'de 24 saat süreli inkübasyona bırakılarak 2 kez pasajlanmıştır. Pasajlanmış ve üremesi gerçekleşmiş *E.coli* 10 mL olacak şekilde steril falcon tüplerine alınmış ve 4°C, 2800g, 15 dk. süre ile santrifüj edilmiştir (Sigma, 2-16KL). Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant atılarak geride kalan pelet üzerine 10 mL steril peptonlu su eklenmiş ve vortexlenmiştir. Bu işlem aynı şekilde 2 kez daha tekrarlanmıştır. Tekrar sonucunda elde edilen patojen sucuk hamuruna inoküle edilmiştir.

### **3.6 Analiz Yöntemleri**

#### **3.6.1 Nem içeriği**

Sabit ağırlığa getirilen kuru madde kaplarına yaklaşık olarak 5 gram örnek tartılmış, ardından bu kaplar 105°C'deki etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Kapların tartım farkından nem içeriği belirlenecek olan örneğin % nem miktarı hesaplanmıştır (Anonymous 2000).

#### **3.6.2 pH değerleri**

Örneklerden 10 gram tartılarak bir behere aktarılmış ve üzerine 100 mL destile su eklenerek, Micra marka homojenizatör (MICCRA D-9, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Elde edilen çözelti, manyetik karıştırıcıda sürekli karıştırılarak, pH'sı tampon çözeltilerle (pH 4 ve pH 7) kalibre edilmiş pH metre (Orion Star™ A211) ile ölçülmüştür (Anonymous 2000).

#### **3.6.3 Titrasyon asitliği**

Çözeltinin pH ölçümleri kaydedildikten sonra, titrasyon asitliği ölçümü için 0.1 M NaOH çözeltisi hazırlanmıştır. Bu NaOH çözeltisi, manyetik karıştırıcıda sürekli karışım halinde olan homojen çözeltiye, pH 8.30 değerine ulaşana kadar titrasyon işlemi uygulanarak eklenmiştir. Bulunan değer, % asitlik olarak hesaplanmıştır (Acton ve Keller 1974).

#### **3.6.4 Su aktivitesi**

Örneklerin su aktivitesi değerleri, su aktivitesi cihazı (Aqualab 4TE, USA) kullanılarak ölçülmüştür. Cihaz ölçümleri 25°C'de gerçekleştirilerek elde edilen değerler not edilmiştir (Aktaş ve Gürses 2005).

#### **3.6.5 Mikrobiyolojik analiz**

Başlangıç hamuru ve fermente sucuk örneklerinden steril ortamda 10 g alınarak stomacher poşetine konulmuş ve üzerine 90 mL steril Buffered Peptone Water (BPW,

Merck) eklenerek homojenize edilmiştir. Devamında seri dilüsyonları hazırlanarak yayma kültürü yöntemi kullanılarak uygun besiortamlarına ekim yapılmıştır.

### **3.6.5.1 Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı**

Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) sayımı için sucuk örneklerinden hazırlanan dilüsyonlar, Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyerine yayma kültürü yöntemiyle inoküle edilip, 28-30°C'de 48 saat süreyle Nüve marka inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gelişen koloniler sayılarak sonuçlar "logaritmik koloni oluşturan birim"(log kob/g) olarak ifade edilmiştir (Anonim 2000).

### **3.6.5.2 Laktik asit bakteri sayımı**

Sucuk örneklerindeki laktik asit bakterilerinin (LAB) sayısını belirlemek için, de Man Rogosa Sharpe agar (MRS, Merck) besiyerinde yayma kültürü yöntemi kullanılmıştır vepetirler anaerobik ortamda 28-30°C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılarak sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir (Anonim 2000).

### **3.6.5.3 *Escherichia coli* sayımı**

Koliform grubu bakterilerin sayımı ve *Escherichia coli*'nin tespiti amacıyla Flouracult Violet Red Bile (FVRB, Merck) Agar besiyeri kullanılarak yayma kültürü yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petri kapları 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda oluşan vişneçürüğü renkli koloniler koliform grubu bakteri olarak kabul edilmiştir. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılarak sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir. Koliform içeren petirler, 366 nm UV ışık altında incelenerek *Escherichia coli* aranmıştır. (Anonim2005).

### **3.6.7 İstatistiksel analiz**

Analiz sonuçları IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılarak incelenmiştir. Sucuk parametreleri arasındaki farklılıklar, ANOVA testi ve Tukey çoklu karşılaştırma yöntemiile tespit edilmiştir. Hamur ve sucukların birbirleriyle anlamlı ilişkisi ise Paired-SamplesT testi ile ortaya konulmuştur ( $p \leq 0.05$ ).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 Nem İçeriği

Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu ilavesinin sucuklarda nem içerikleri (%) üzerine etkileri Çizelge 4.1’de ve Şekil 4.1’de verilmiştir.

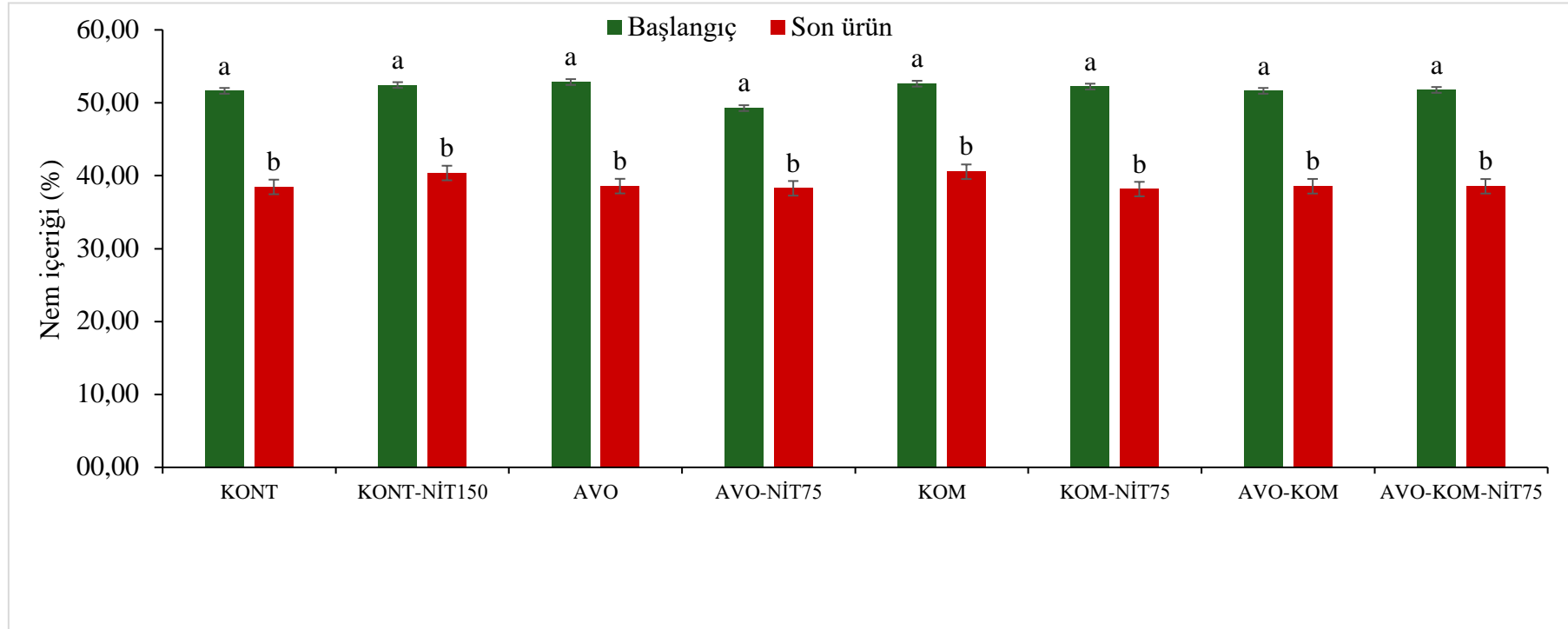
Nem içerikleri başlangıçtaki sucuk hamurunda %49.28 ile %52.85 arasında değişim göstermekteyken, fermentasyonu tamamlanmış sucuklarda %38.17 ile %40.55 arasında değişmiştir. Sucuklara eklenen avokado çekirdeği tozu, Kombucha çayı tozu ve bu iki tozun kombinasyonunun, nem içeriği açısından son üründe gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı belirlenmiştir ( $p>0.05$ ). Ancak, fermente sucuklar başlangıç hamuru ile kıyaslandığında, başlangıçta yüksek olan nem içeriğinin kurutma prosesi sırasında üründen su kaybı nedeniyle istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir ( $p\leq 0.05$ ).

Çizelge 4.1 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların nem içeriği (%)

| Grup          | Başlangıç                 | Son ürün                  |
|---------------|---------------------------|---------------------------|
| KONT          | 51.65 ± 1.61 <sup>a</sup> | 38.48 ± 1.95 <sup>b</sup> |
| KONT-NİT150   | 52.44 ± 0.64 <sup>a</sup> | 40.38 ± 1.04 <sup>b</sup> |
| AVO           | 52.85 ± 0.99 <sup>a</sup> | 38.59 ± 2.67 <sup>b</sup> |
| AVO-NİT75     | 49.28 ± 1.88 <sup>a</sup> | 38.29 ± 0.82 <sup>b</sup> |
| KOM           | 52.64 ± 1.90 <sup>a</sup> | 40.55 ± 0.86 <sup>b</sup> |
| KOM-NİT75     | 52.23 ± 0.96 <sup>a</sup> | 38.17 ± 0.75 <sup>b</sup> |
| AVO-KOM       | 51.65 ± 2.03 <sup>a</sup> | 38.57 ± 1.89 <sup>b</sup> |
| AVO-KOM-NİT75 | 51.78 ± 3.27 <sup>a</sup> | 38.55 ± 1.53 <sup>b</sup> |

\* Ortalama ± standart hata.

ab: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p\leq 0.05$ ).



Şekil 4.1 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların nem içeriği (%).

\*Hata çubukları: ortalama±standart hata.

<sup>a-b</sup> Birgrup içinde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

Temizgöl (2021) Kombucha çayı tozu kullanarak ürettiği fermente sucuklarda son ürünlerdeki nem içeriğinin %45.53 ile %48.64 aralığında olduğunu belirtmiştir. Öztürk (2023) tarafından nitrit alternatifi olarak kereviz, kırmızı pancar ve ıspanağın kullanıldığı bir diğer çalışmada ise son üründe sucuktaki nem miktarının %38.73 ile %42.81 arasında değişkenlik gösterdiği raporlanmıştır. Başgöz (2023) tarafından Atımlı UV (PUV) ışınının *E. coli* O157:H7 üzerine etkisini incelemek amacı ile üretilen sucuklarda nem miktarının %37.0 ile %42.3 aralığında olduğu belirtilmiştir. Çalışmada üretilen sucukların nem içeriklerinin literatürdeki farklı çalışmalarda elde edilen bulgularla uyum içinde olduğu söylenebilir.

## 4.2 pH Değeri

Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu ilavesinin sucuklarda pH değeri üzerine etkileri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2 de verilmiştir.

Başlangıçta sucuk hamurunun pH değerleri 5.25–5.38 aralığında değişmekte olup gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Fermantasyon sonrasında ise pH değerleri başlangıç hamuruna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde düşerek ( $p\leq 0.05$ ) son üründe 4.33–4.83 arasında değişim göstermiştir. Sucuk örneklerinde avokado çekirdeği ve/veya Kombucha çayı tozlarını içermeyen kontrol grupları, KONT ve KONT-NİT150, için sırasıyla 4.83 ve 4.81 olarak belirlenen pH değerleri, avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarından oluşan AVO-KOM ve AVO-KOM-NİT75 gruplarının pH değerlerinden ( $pH=4.33$ ) önemli ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır ( $p\leq 0.05$ ). Buna ek olarak AVO, AVO-NİT75, KOM, KOM-NİT75 gruplarının sırasıyla kaydedilen 4.65, 4.52, 4.48 ve 4.48 pH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p\leq 0.05$ ).

Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği'ne (Tebliğ No: 2018/52) göre, sucukta izin verilen maksimum pH değeri 5.4 olarak belirlenmiştir. Çalışmada, sucuk grupları için belirlenen pH değerleri kodekste belirtilen maksimum pH değerinin altında bulunmuştur.

Çizelge 4.2 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların pH değerleri

| Grup          | Başlangıç                | Son ürün                   |
|---------------|--------------------------|----------------------------|
| KONT          | 5.27 ± 0.01 <sup>a</sup> | 4.83 ± 0.06 <sup>Ab</sup>  |
| KONT-NİT150   | 5.38 ± 0.09 <sup>a</sup> | 4.81 ± 0.08 <sup>Ab</sup>  |
| AVO           | 5.38 ± 0.08 <sup>a</sup> | 4.65 ± 0.12 <sup>ABb</sup> |
| AVO-NİT75     | 5.34 ± 0.07 <sup>a</sup> | 4.52 ± 0.08 <sup>ABb</sup> |
| KOM           | 5.25 ± 0.03 <sup>a</sup> | 4.48 ± 0.13 <sup>ABb</sup> |
| KOM-NİT75     | 5.29 ± 0.07 <sup>a</sup> | 4.48 ± 0.12 <sup>ABb</sup> |
| AVO-KOM       | 5.24 ± 0.03 <sup>a</sup> | 4.33 ± 0.00 <sup>Bb</sup>  |
| AVO-KOM-NİT75 | 5.28 ± 0.04 <sup>a</sup> | 4.33 ± 0.04 <sup>Bb</sup>  |

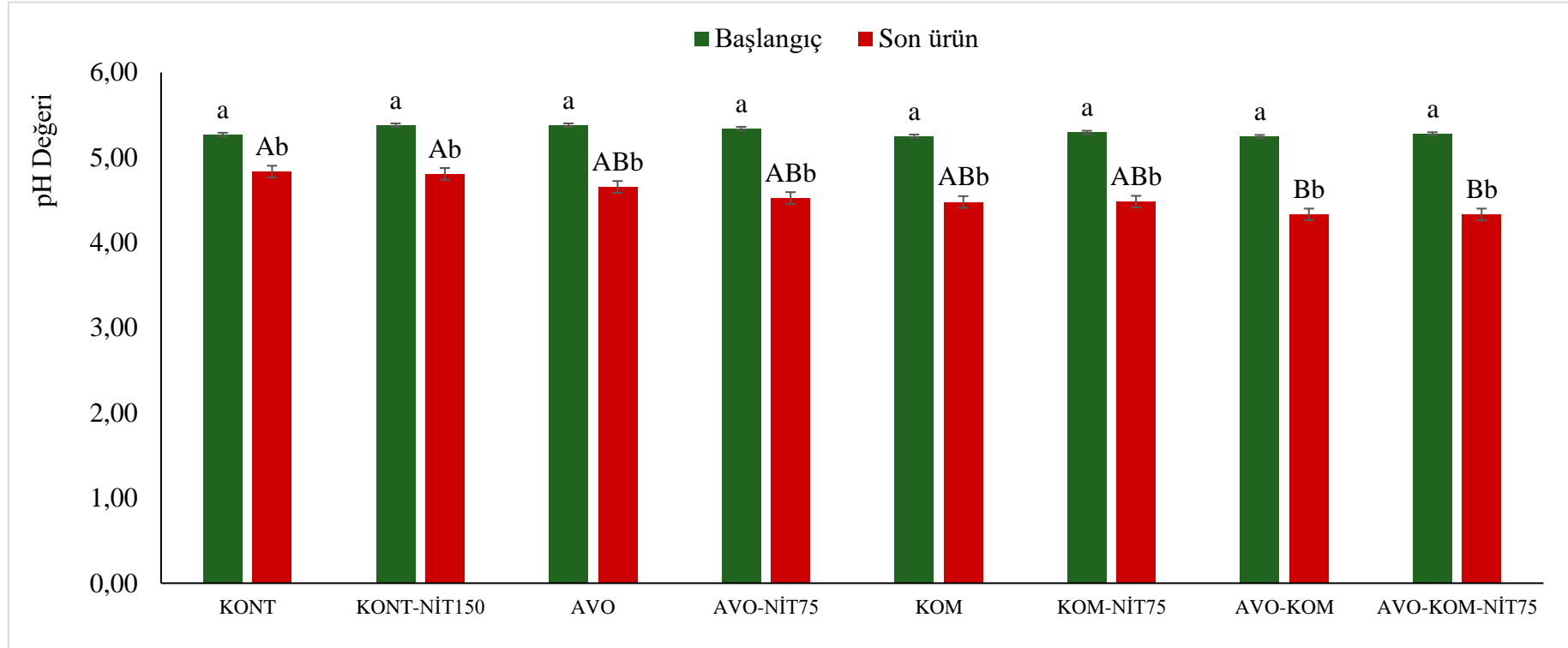
\* Ortalama ± standart hata.

AB: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

ab: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

Et ürünlerindeki pH değeri patojen mikroorganizmaların gelişimi açısından önemli bir rol oynamaktadır. Bu noktada, fermantasyonda pH'nın düşmesi veya laktik asit gibi organik asitlerin eklenmesi, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* gibi patojen mikroorganizmaların hayatta kalması ve çoğalması için elverişsiz bir ortam yaratır. Bu süreç, et ürünlerinin güvenliğini artırmakla kalmaz, aynı zamanda raf ömrünü de uzatır. Bunun yanı sıra, laktik asit bakterileri ve diğer mikroorganizmalar tarafından üretilen laktik asit gibi organik asitler, pH'ın hızla düşmesine neden olur ve amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşan potansiyel olarak zararlı azotlu bileşiklerin, yani biyojen aminlerin oluşumunu önler. Bu durum, fermente et ürünlerinin sadece daha güvenli olmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda onların besin değerini ve organoleptik kalitesini artırır (Laranjo vd. 2019).

Sucuklarda pH değerinin düşüklüğü nitrozamin oluşumunu artırsa da fermente ürünlerin mikrobiyel güvenliğininin de artmasına neden olmaktadır (Kaban vd. 2022). Bu noktada kullanılan avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının, nitrit eklenmiş versiyonları ile arasında anlamlı bir farklılık oluşturulmaması, kullanılan tozların sucuk üretiminde pH değerinin düşürülmesi noktasında başarılı bir nitrit alternatifi olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.2 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların pH değerleri.

\*Hata çubukları: ortalama±standart hata.

<sup>a-b</sup> Bir grup içinde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>A-B</sup> Sucuk grupları içinde, farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

Kurt (2016) tarafından yapılan üzüm çekirdeği ununun fermente sucuk üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada başlangıç hamurunda yaklaşık olarak 5.88 olduğu görülen pH değerinin son üründe 4.60'a kadar düştüğü rapor edilirken, ısırgan otu, *Hibiscus sabdariffa*, bütilhidroksitoluen ve nitrit kullanımının sucuk üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise kontrol grubu dahil olmak üzere toplamda 7 grup sucuğun özellikleri incelenmiştir. Her katkı maddesinin ayrı ayrı ve farklı oranlarda eklendiği sucuklarda son üründeki pH değerlerinin gruplar arasında anlamlı bir farklılığa yol açmadığı ve başlangıçta yaklaşık olarak 5.80 civarında olan pH değerinin son üründe 4.80 - 5.00 aralığında olduğu rapor edilmiştir (Karabacak ve Bozkurt 2008).

### 4.3 Titrasyon Asitliği Değeri

Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu ilavesinin sucuklarda titrasyon asitliği (% laktik asit: L.A.) üzerine etkileri Çizelge 4.3'te ve Şekil 4.3'de verilmiştir. Titrasyon asitliği değerleri göz önüne alındığında, gerek %0.66 L.A. ile %0.73 L.A. arasında değişen başlangıç değerleri ve gerekse %1.32 L.A. ile %1.62 L.A. arasında değişen son ürüne ait bulgular gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir ( $p > 0.05$ ). Bununla birlikte, başlangıçtaki ve son üründeki titrasyon asitliği değerleri karşılaştırıldığında, tüm gruplar için, istatistiksel olarak da anlamlı bir farklılık saptanmıştır ( $p \leq 0.05$ ). Titrasyon asitliğinde başlangıca göre son üründe gözlenen bu artışlar, fermantasyon sırasında laktik asit bakterilerinin gelişiminin etkisiyle üründe biriken laktik asit miktarındaki artıştan kaynaklanmaktadır.

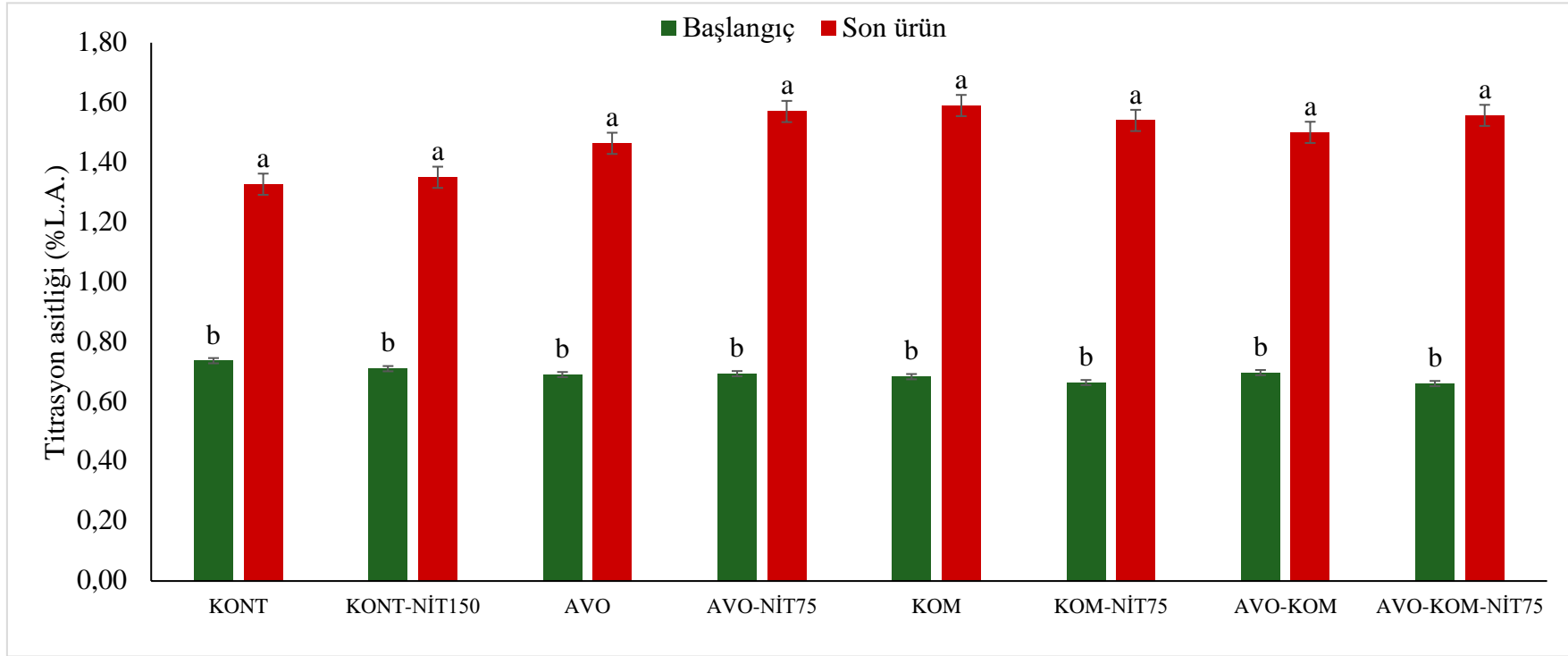
Kurt (2009) tarafından sakkaroz, glukoz ve elma suyu konsantresi kullanılarak üretilen fermente sucuklarda başlangıç hamuru ve son üründeki titrasyon değerleri sırasıyla %0.36-%0.39 ve %1.19-%1.26 L.A. arasında değişim göstermiştir. Temizgül (2021) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise nitrit alternatifi olarak Kombucha çayı kullanılan fermente sucuklardaki titrasyon asitliği değerlerinin başlangıç ve son hamurda sırasıyla %0.58 - %0.74 ve %1.13 - %1.48 L.A. arasında değişim gösterdiği belirtilmiştir. Dört farklı konsantrasyonda (%0, %1, %2.5 ve %5) acı portakal albedosu (PA) ilave edilen sucuklarda yapılan bir çalışmada ise PA eklenen örneklerdeki pH değerinin kontrol örneğine kıyasla daha düşük olduğu, en yüksek % L.A. değerinin ise (%1.37 L.A.) %5 PA içeren grupta olduğu belirtilmiştir (Çoksever ve Sarıçoban 2010).

Çizelge 4.3 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların titrasyon asitliği (% L.A.) değerleri

| Grup          | Başlangıç                | Son ürün                 |
|---------------|--------------------------|--------------------------|
| KONT          | 0.73 ± 0.06 <sup>b</sup> | 1.41 ± 0.10 <sup>a</sup> |
| KONT-NİT150   | 0.71 ± 0.07 <sup>b</sup> | 1.35 ± 0.04 <sup>a</sup> |
| AVO           | 0.69 ± 0.01 <sup>b</sup> | 1.56 ± 0.14 <sup>a</sup> |
| AVO-NİT75     | 0.69 ± 0.07 <sup>b</sup> | 1.57 ± 0.06 <sup>a</sup> |
| KOM           | 0.68 ± 0.05 <sup>b</sup> | 1.59 ± 0.04 <sup>a</sup> |
| KOM-NİT75     | 0.66 ± 0.04 <sup>b</sup> | 1.62 ± 0.09 <sup>a</sup> |
| AVO-KOM       | 0.69 ± 0.04 <sup>b</sup> | 1.50 ± 0.04 <sup>a</sup> |
| AVO-KOM-NİT75 | 0.66 ± 0.01 <sup>b</sup> | 1.51 ± 0.02 <sup>a</sup> |

\* Ortalama ± standart hata.

ab: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).



Şekil 4.3 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların titrasyon asitliği (% laktik asit) değerleri

\*Hata çubukları: ortalama±standart hata.

<sup>a-b</sup> Bir grup içinde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.4 Su Aktivitesi Değeri

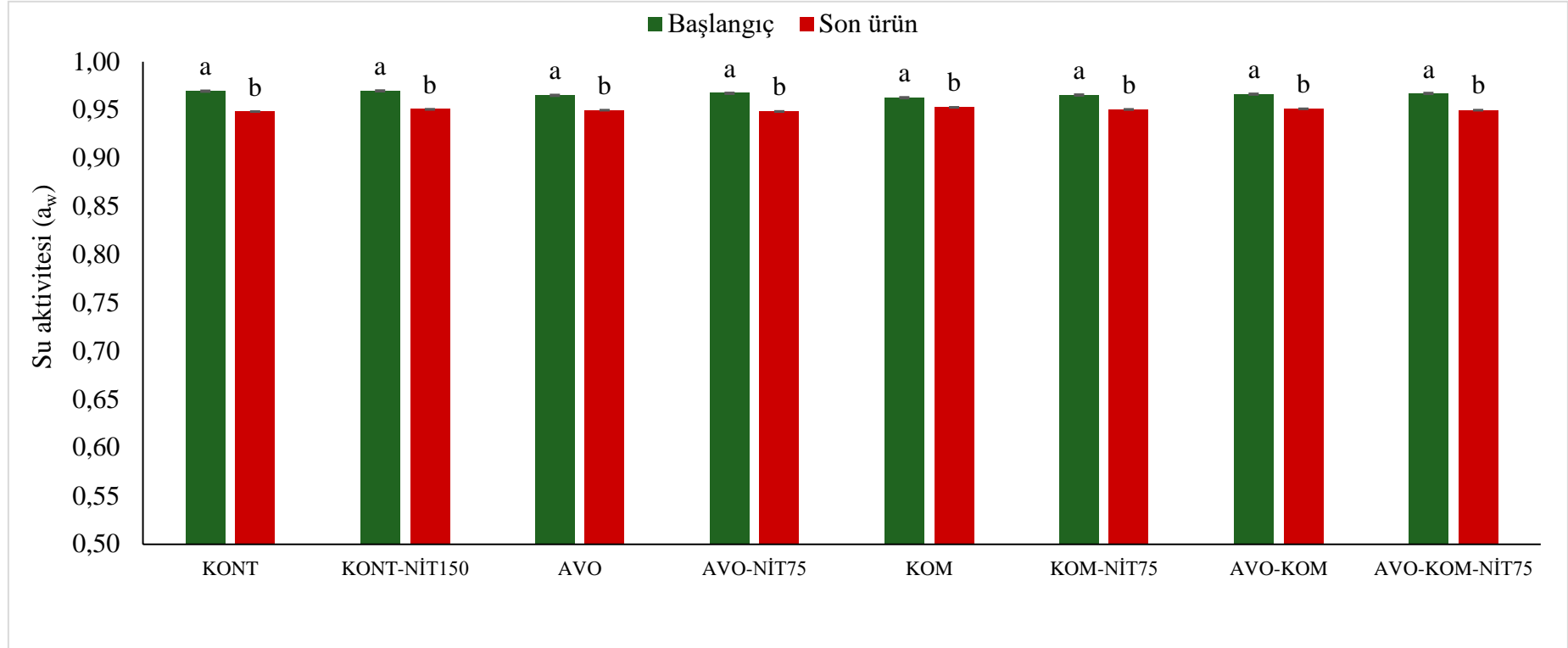
Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu ilavesinin sucuklarda su aktivitesi değerleri üzerine etkileri Çizelge 4.4’de ve Şekil 4.4’de verilmiştir. Başlangıç hamurunda 0.963 ile 0.977 ve son üründe 0.942 ile 0.949 arasında değişen su aktivitesi değerleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde kendi içerisinde yakın değerler göstererek istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı görülmüştür ( $p>0.05$ ). Her grup içinde, fermantasyon öncesi ve sonrası su aktivitelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ( $p\leq 0.05$ ) ve sucuklardaki kuruma ve pH değerindeki azalmaya bağlı olarak su aktivitesinde azalma meydana geldiği görülmektedir.

Çizelge 4.4 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların su aktivitesi değerleri

| Grup          | Başlangıç           | Son ürün            |
|---------------|---------------------|---------------------|
| KONT          | $0.970 \pm 0.001^a$ | $0.948 \pm 0.002^b$ |
| KONT-NİT150   | $0.970 \pm 0.001^a$ | $0.946 \pm 0.002^b$ |
| AVO           | $0.965 \pm 0.001^a$ | $0.949 \pm 0.003^b$ |
| AVO-NİT75     | $0.977 \pm 0.001^a$ | $0.948 \pm 0.001^b$ |
| KOM           | $0.963 \pm 0.002^a$ | $0.942 \pm 0.001^b$ |
| KOM-NİT75     | $0.965 \pm 0.002^a$ | $0.947 \pm 0.001^b$ |
| AVO-KOM       | $0.966 \pm 0.001^a$ | $0.943 \pm 0.004^b$ |
| AVO-KOM-NİT75 | $0.967 \pm 0.002^a$ | $0.945 \pm 0.001^b$ |

\* Ortalama  $\pm$  standart hata.

ab: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p\leq 0.05$ ).



Şekil 4.4 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren sucukların su aktivitesi değerleri.

\*Hata çubukları: ortalama±standart hata.

<sup>a-b</sup> Bir grup içinde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

Babaoğlu (2020) tarafından yapılan bir çalışmada fermente sucuk üretim surecinin ilk gunnde sucuk hamurundaki su aktivitesi değerinin 0.964 ile 0.974 arasında değiştiği, üretim sonunda ise bu değerlerin 0.924-0.943 seviyelerine gerilediği bildirilmiştir. Portakal lifi kullanımının sucuktaki etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada ise, sucuk hamurunun başlangıç ve son gundeki su aktivitesi değerleri sırasıyla 0.947-0.957 ve 0.881-0.933 olarak belirtilmiştir (Yalınkılıç 2009). Martn-Sanchez vd. (2011), üretim dordnc gunnde 60 saniye boyunca suya, %20 potasyum sorbat zeltisine, %5 lesitin zeltisine ve %5 lesitin ile 1 ml kekik uçucu yağı içeren zeltiye daldırılan İtalyan salchichn sosislerinde, aw değerlerinin kuruma sebebiyle 0. günde 0.96'dan 20. günde 0.80-0.82'ye düştüğünü, aw değerlerindeki düşüşte surenin önemli, ancak uygulamaların önemsiz bir etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmadan elde edilen su aktivitesi bulguları literatürde bazı sucuk ürünleri için rapor edilen değerlerle uyum içindedir.

## **4.5 Mikrobiyolojik Analiz**

### **4.5.1 Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı**

Avokado ekirdeği ve Kombucha ayı tozu ilavesinin sucuklarda toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayıları üzerine etkileri izelge 4.5 ve Şekil 4.5' de verilmiştir.

Başlangıç hamurunda KONT, KONT-NİT150, AVO, AVO-NİT75, KOM, KOM-NİT75, AVO-KOM, AVO-KOM-NİT75 gruplarında sırası ile 6.71, 6.56, 6.99, 6.55, 6.54, 6.66, 6.64 ve 6.36 log kob/g TAMB sayısı belirlenmiş ve gruplar arasında TAMB sayısı açısından anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $p>0.05$ ). Başlangıç hamuruna göre son üründe ise fermentasyonun etkisi ile TAMB sayılarında yaklaşık olarak 2.3 logluk bir artş gözlenmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede, başlangıç hamuru ve son rn TAMB sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ( $p\leq 0.05$ ).

Çizelge 4.5 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları (log kob/g)

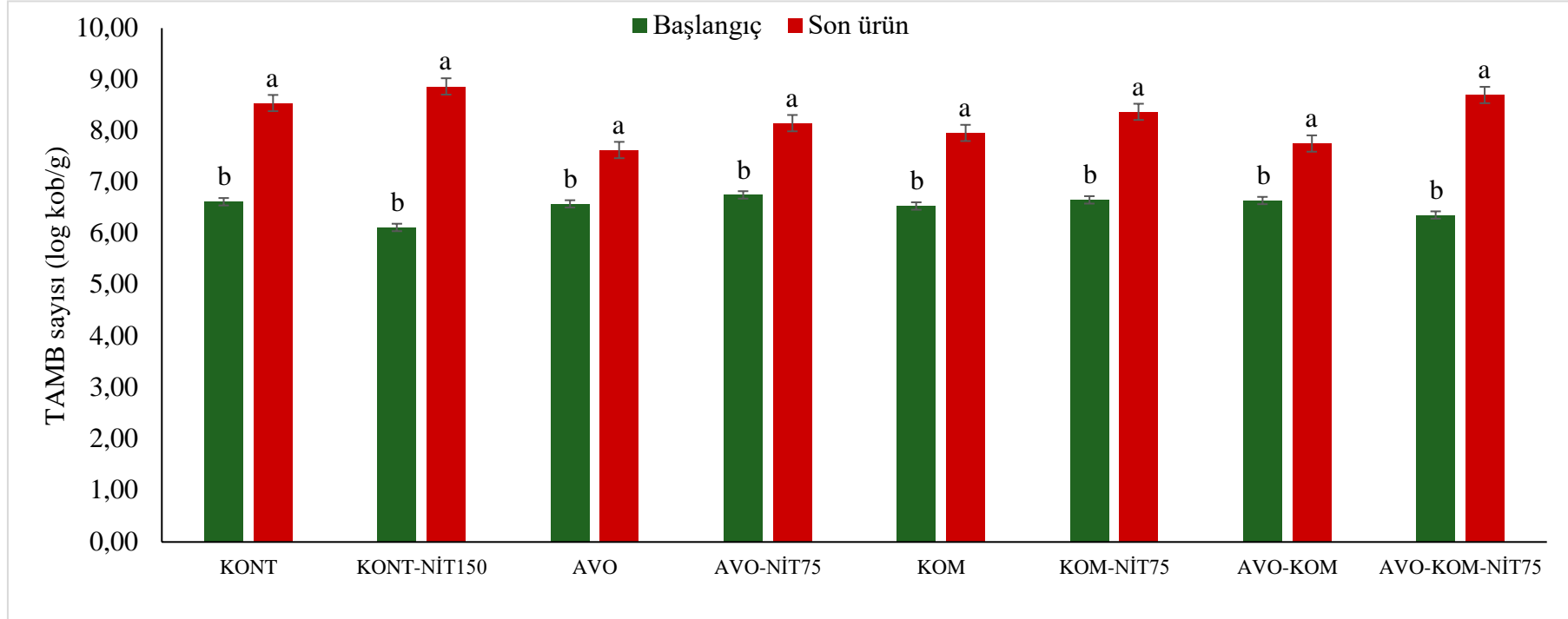
| Grup          | Başlangıç                | Son ürün                 |
|---------------|--------------------------|--------------------------|
| KONT          | 6.71 ± 0.08 <sup>b</sup> | 8.53 ± 0.07 <sup>a</sup> |
| KONT-NİT150   | 6.56 ± 0.24 <sup>b</sup> | 8.78 ± 0.08 <sup>a</sup> |
| AVO           | 6.99 ± 0.27 <sup>b</sup> | 8.40 ± 0.69 <sup>a</sup> |
| AVO-NİT75     | 6.75 ± 0.39 <sup>b</sup> | 8.15 ± 0.49 <sup>a</sup> |
| KOM           | 6.54 ± 0.48 <sup>b</sup> | 8.71 ± 0.48 <sup>a</sup> |
| KOM-NİT75     | 6.66 ± 0.21 <sup>b</sup> | 8.37 ± 0.44 <sup>a</sup> |
| AVO-KOM       | 6.64 ± 0.47 <sup>b</sup> | 7.75 ± 0.51 <sup>a</sup> |
| AVO-KOM-NİT75 | 6.36 ± 0.36 <sup>b</sup> | 8.70 ± 0.44 <sup>a</sup> |

\* Ortalama ± standart hata.

ab: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p≤0.05).

Kekik ve reyhan uçucu yağları kullanılarak üretilen fermente sucuklarda yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda fermantasyon sonucunda sucukta belirlenen toplam aerobik mezofilik bakteri sayılarının 8.43 ile 8.94 arasında değişim gösterdiği belirtilmiştir (Çetin vd. 2022). Kekik yağı içeren kitozan kaplamaların sucuk kalitesi üzerine etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada ise fermantasyon sonrası sucukta sayılan TAMB sayısı değeri 8.53 olarak bildirilmiştir (Şahin 2013).

Afyon ilindeki yüksek kapasiteli 5 işletmeden alınan sucuk örneklerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin incelenmiş olduğu bir çalışmada üç ay içinde her firmadan periyodik olarak 6 örnek alınarak analizler yürütülmüş olup çalışma sonucunda sucuk örneklerinin TAMB sayıları  $3,0 \times 10^4$  -  $2,2 \times 10^8$  kob/g arasında değişmiş, ortalama değer ise  $2,9 \times 10^7$  kob/g olarak belirlenmiştir (Çon vd. 2002). Kitosan kullanımının sucuktaki etkilerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada, deneysel sucuk üretiminde kullanılan etin (DN1) ve karışım sonrası etin (DN2) mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. DN1'de toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 5,42 log kob/g iken DN2'de ise bu değer 6,05 log kob/g olarak belirtilmiştir (Gökmen 2010).



Şekil 4.5 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayıları (log kob/g).

\*Hata çubukları: ortalama±standart hata.

<sup>a-b</sup> Bir grup içinde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.5.2 Laktik asit bakteri sayımı

Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu ilavesinin sucuklarda laktik asit bakteri sayıları üzerine etkileri Çizelge 4.6'da ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Laktik asit bakterileri (LAB), fermente sucukların olgunlaşma sürecinde kritik bir rol oynamaktadır. Bu bakteriler, ürünlerin pH değerini düşürerek patojenlerin gelişimini engeller ve mikrobiyel güvenliği sağlar. Aynı zamanda sucukların tat ve aromalarının gelişiminde önemli katkılar sağlayan laktik asit bakterileri fermente sucuk üretiminde ürün kalitesini artırmakta, antibakteriyel ve antioksidan özellikler sunmaktadır. Starter kültür olarak kullanıldığında, laktik asit bakterileri fermantasyon sürecini kontrol ederek olgunlaşma süresini kısaltır, raf ömrünü uzatır ve ürünün dokusunu ve rengini iyileştirir (Liu vd. 2024).

Çizelge 4.6 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren laktik asit bakteri bakteri sayıları (log kob/g)

| Grup          | Başlangıç                | Son ürün                 |
|---------------|--------------------------|--------------------------|
| KONT          | 6.05 ± 0.06 <sup>b</sup> | 8.29 ± 0.12 <sup>a</sup> |
| KONT-NİT150   | 6.06 ± 0.05 <sup>b</sup> | 8.67 ± 0.10 <sup>a</sup> |
| AVO           | 6.01 ± 0.07 <sup>b</sup> | 7.88 ± 0.41 <sup>a</sup> |
| AVO-NİT75     | 5.91 ± 0.08 <sup>b</sup> | 8.51 ± 0.04 <sup>a</sup> |
| KOM           | 6.07 ± 0.11 <sup>b</sup> | 8.43 ± 0.28 <sup>a</sup> |
| KOM-NİT75     | 6.05 ± 0.05 <sup>b</sup> | 8.32 ± 0.51 <sup>a</sup> |
| AVO-KOM       | 6.18 ± 0.01 <sup>b</sup> | 8.68 ± 0.22 <sup>a</sup> |
| AVO-KOM-NİT75 | 6.08 ± 0.05 <sup>b</sup> | 9.12 ± 0.12 <sup>a</sup> |

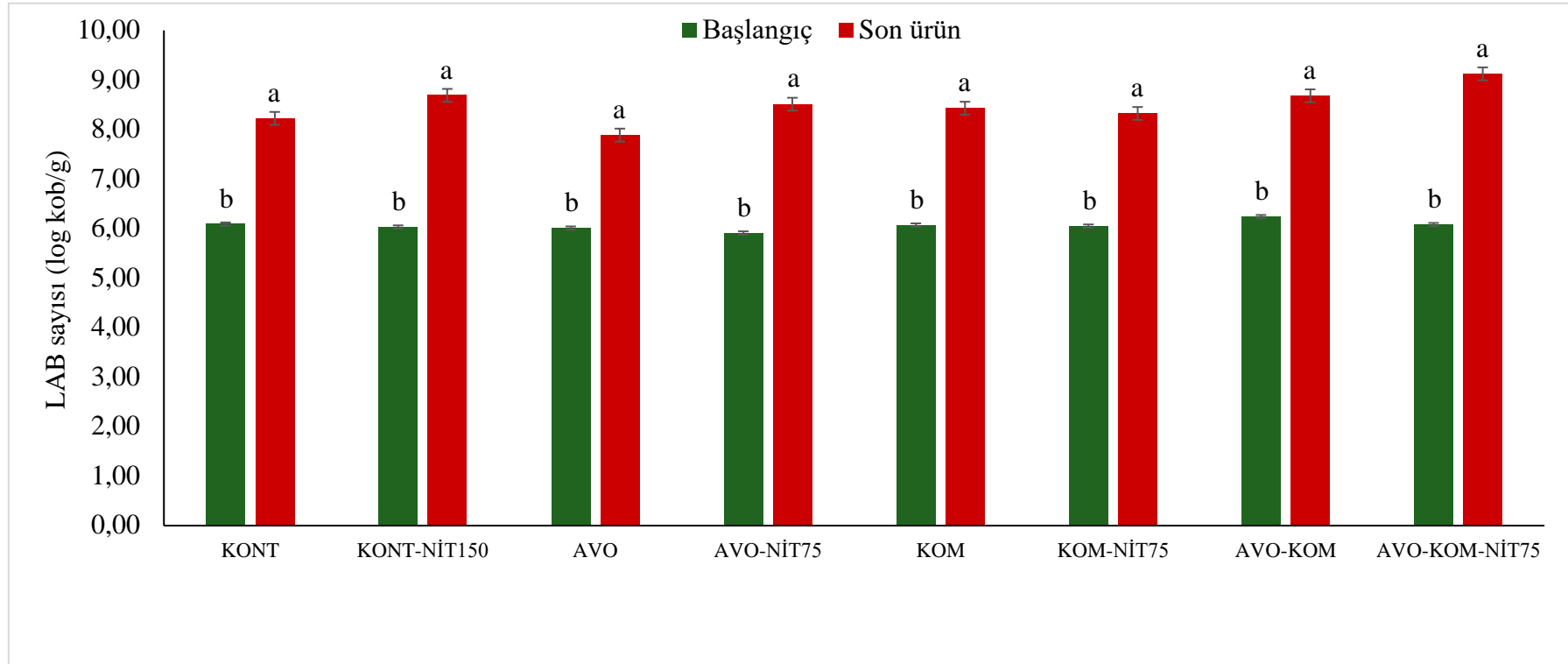
\* Ortalama ± standart hata.

ab: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

Özellikle patojenlere karşı güçlü inhibitör etkisi gösteren LAB'lar, başlangıç sucuk hamurunda 5.91 ile 6.18 log kob/g arasında belirlenmiş ve gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Ancak, son üründe LAB'ların miktarı, başlangıç hamuruna kıyasla yaklaşık 2.5 log kob/g artış göstermiştir, bu da başlangıç ve son ürün arasında AVO grubu haricinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir

( $p \leq 0.05$ ). Sucuk hamurunda olduğu gibi, son sucuk ürünlerinde belirlenen LAB sayıları açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ )

Karayığıt (2023) tarafından yapılan siyah ve beyaz sarımsağın fermente sucuk üretiminde kullanıldığı bir çalışmada grupların fermantasyon sonrası laktik asit sayısı 8.30-8.73 log kob/g olarak belirlenmiş, Acar (2022) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise fermente deve sucuğundaki laktik asit bakterilerinin miktarı 7.56 log kob/g olduğu belirtilmiştir. Sucuk üretiminde kürlleme ajanı olarak şeker pancarının farklı bölgelerinin kullanılmış olduğu bir araştırmada sodyum nitrat, melas, toz melas, % 50 sodyum nitrat + % 50 melas, % 50 sodyum nitrat+ % 50 toz melas olmak üzere 5 ayrı sucuk formülasyonu hazırlanmıştır. Elde edilen sucukların olgunlaştırma (1., 3. ve 5. gün) ve depolama (1., 20., 40. ve 60. gün) sürecinde bazı kalite karakteristiklerinin belirlendiği çalışma sonuçlarına göre kürlleme işleminin, olgunlaştırma süreci ve bu iki faktörün etkileşiminin LAB sayıları üzerinde istatistiksel olarak çok önemli ( $p < 0.01$ ) etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. 50 sodyum nitrat+ % 50 toz melas kullanılan grupta LAB sayısı en yüksekken olgunlaştırma sürecinin 1. gününde 6.09 log kob/g olan LAB sayısı, 3. ve 5. günlerde 9.08 ve 9.12 log kob/g seviyelerine artış göstermiştir (Dilek 2022).



Şekil 4.6 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren laktik asit bakterileri (LAB) sayıları (log kob/g).

\*Hata çubukları: ortalama±standart hata.

<sup>a-b</sup> Bir grup içinde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

### 4.5.3 *Esheria coli* Sayımı

Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu ilavesinin sucuklarda *Esheria coli* bakteri sayısı üzerine etkileri Çizelge 4.7’de ve Şekil 4.7’de verilmiştir. Sucukta gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda üretimde Kombucha çayı ve avokado çekirdeği tozu kullanımının son ürünlerdeki *E. coli* sayısında anlamlı bir azalmaya neden olduğu görülmektedir ( $p \leq 0.05$ ). Başlangıçta en yüksek *E. coli* miktarı AVO-KOM grubunda (6.95) ve en düşük miktar ise KONT grubunda (6.48) gözlemlenmiştir.

Son ürünlerde ise, tüm grupların *E. coli* sayılarında başlangıç hamuruna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde bir azalma gözlenmiştir ( $p \leq 0.05$ ). Sucuk ürünleri değerlendirildiğinde, KONT ve KONT-NİT150 grupları, avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren gruplara kıyasla, istatistiksel olarak önemli bulunmasa da daha yüksek *E. coli* sayısına sahip olmuştur.

Çizelge 4.7 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren *Escherichia coli* sayıları (log kob/g)

| Grup          | Başlangıç                  | Son ürün                 |
|---------------|----------------------------|--------------------------|
| KONT          | 6.48 ± 0.05 <sup>Ba</sup>  | 6.09 ± 0.08 <sup>b</sup> |
| KONT-NİT150   | 6.69 ± 0.06 <sup>ABa</sup> | 5.98 ± 0.07 <sup>b</sup> |
| AVO           | 6.55 ± 0.09 <sup>ABa</sup> | 5.96 ± 0.01 <sup>b</sup> |
| AVO-NİT75     | 6.54 ± 0.02 <sup>Ba</sup>  | 6.17 ± 0.12 <sup>a</sup> |
| KOM           | 6.70 ± 0.10 <sup>ABa</sup> | 6.11 ± 0.04 <sup>b</sup> |
| KOM-NİT75     | 6.68 ± 0.06 <sup>ABa</sup> | 6.20 ± 0.01 <sup>b</sup> |
| AVO-KOM       | 6.95 ± 0.06 <sup>Aa</sup>  | 6.21 ± 0.02 <sup>b</sup> |
| AVO-KOM-NİT75 | 6.75 ± 0.09 <sup>ABa</sup> | 5.95 ± 0.04 <sup>b</sup> |

\* Ortalama ± standart hata.

\* AB: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

ab: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

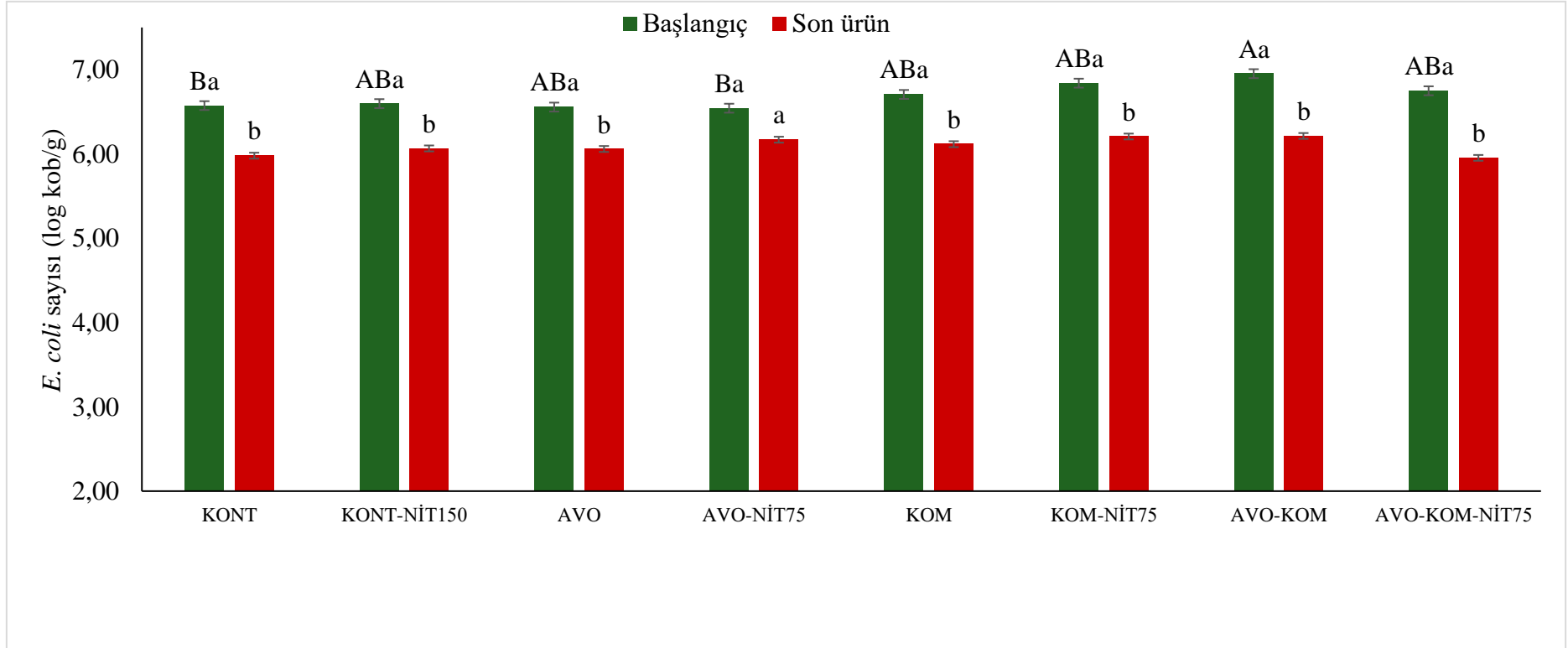
Başlangıçta inoküle edilen *E. coli* sayılarında meydana gelen log azalışlar değerlendirildiğinde, 150 ppm nitrit içeren KONT-NİT150 grubunda fermantasyondan

sonra 0.71 log azalış gözlenmiştir. Bunun yanı sıra, toz ilavesi yapılan grupların *E. coli* sayılarında fermantasyon süresince AVO, AVO-NİT75, KOM, KOM-NİT75, AVO-KOM ve AVO-KOM-NİT75 gruplarında sırasıyla 0.59, 0.37, 0.59, 0.48, 0.74 ve 0.80 log azalma meydana geldiği saptanmıştır. Görüldüğü gibi, AVO-KOM ve AVO-KOM-NİT75 gruplarının *E. coli* sayılarında fermantasyon süresince gözlenen azalış, avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının birlikte karışım olarak kullanıldığında 150 ppm nitrit ilave edilen KONT-NİT150 grubuna yakın, hatta daha etkili ihhibisyon etkisi göstermişlerdir.

Sucuk üretiminde 100, 150 ve 200 ppm olmak üzere farklı nitrit dozlarının *Escherichia coli* O157:H7 üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada inokülasyon başlangıcında  $10^6$  kob/g seviyesinde olan bakteriler olgunlaşma süresince azalış göstererek 3. günde 0.5, 14. günde ise yaklaşık 2.5 log oranında bir düşüş göstermiştir. Kullanılan nitrit düzeyinin ise istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (Öz vd. 2002).

Sucukta nitrat seviyelerinin (0, 200 ve 400 ppm) ve starter kültürünün (*Staphylococcus carnosus* + *Pediococcus pentosaceus*) *Escherichia coli* O157 üzerindeki etkilerini araştırıldığı bir çalışmada ise olgunlaşma süresinin *E. coli* O157 üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğunu, ancak starter kültür ve nitrat seviyeleri bu bakteriyi önemli ölçüde etkilemediği belirtilmiştir. *E. coli* O157 sayısı, olgunlaşma süresi boyunca önemli ölçüde azalmış ve 28. günde tespit edilemez seviyelere ulaştığı rapor edilmiştir (Apaydın vd. 2009).

*Lactobacillus sakei* ve *Pediococcus acidilactici* gibi biyokoruyucu laktik asit bakterilerinin, fermente sucukta mikrobiyel kalite ve gıda güvenliği üzerindeki etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada ise koruyucu kültürler, özellikle *L. sakei*, sucukta laktik asit bakterilerinin hızlıca baskın hale gelmesini sağlamış ve *S. aureus*, *E. coli* gibi patojenlerin baskılanmasında başarılı olduğunu, *E. coli* sayısının kontrol grubunda daha yüksek bulunduğu ancak 6. günden sonra koruyucu kültürlerin olduğu örneklerde önemli ölçüde azalma gözlemlendiği belirtilmiştir (Topcam vd. 2024).



Şekil 4.7 Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozu içeren *Escherichia coli* sayıları (log kob/g).

\*Hata çubukları: ortalama±standart hata.

<sup>a-b</sup> Bir grup içinde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>A-B</sup> Sucuk grupları içinde, farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p \leq 0.05$ ).

## 5. SONUÇ

Yapılan bu tez çalışması kapsamında ana hedef, geleneksel sucuk üretiminde gereken üretim şartlarını yerine getirirken aynı zamanda sağlık açısından zararlı bir katkı maddesi olan nitritin yerine alternatif olarak avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının kullanımının çeşitli fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kalite üzerine olan etkilerini ortaya koymak, özellikle et ürünlerinde önemli bir patojen olan *E. coli* üzerine inhibisyon etkilerini belirlemektir.

Fermantasyonu tamamlanmış sucuklarda %38.17 ile %40.55 arasında belirlenen nem içeriği açısından değerlendirildiğinde avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının son üründe önemli bir fark yaratmadığını göstermiştir ( $p>0.05$ ).

Sucuklarda pH değerleri 4.33 – 4.83 aralığında belirlenmiştir. Avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının pH'yı düşürmede önemli bir etkisi olduğu görülmüş, kontrol grubuna kıyasla avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının kombine kullanımının AVO-KOM ve AVO-KOM-NİT75 gruplarında pH değerinde önemli bir düşüşe neden olduğu gözlemlenmiştir. pH değerleriyle terst orantılı olarak titrasyon asitliği değerleri fermantasyondan sonra artış göstermiş ( $p\leq 0.05$ ), ancak, son üründe titrasyon asitliği açısından gruplar arasında önemli bir fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ).

Su aktivitesi değerlerinde, başlangıç grubu ve son ürün ayrı ayrı değerlendirildiğinde her iki grubun da kendi içerisinde yakın değerler gösterdiği ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı görülmüştür ( $p>0.05$ ). Fermantasyondan sonra kurutmanın etkisiyle tüm sucuk gruplarının su aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ( $p\leq 0.05$ ).

Mikrobiyolojik analizlerde, toplam aerobik mezofilik bakteri ve laktik asit bakteri sayılarında fermantasyondan sonra başlangıç sayılarına göre önemli ölçüde bir artış gözlenmiştir ( $p\leq 0.05$ ).

Çalışmanın temel amacını oluşturan avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının sucuklardaki *E. coli* inhibisyon etkileri değerlendirildiğinde, tüm gruplarda başlangıçta inoküle edilen *E. coli* sayılarının fermantasyondan sonra önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır ( $p \leq 0.05$ ). Gruplar içinde başlangıçtaki *E. coli* sayılarının fermantasyon süresince nitrit içeren KONT-NİT150 grubunda gözlenen 0.71 log azalmaya yakın, bir miktar da yüksek inhibisyon etkisi avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının kombine kullanıldığı AVO-KOM ve AVO-KOM-NİT75 gruplarında (sırasıyla 0.74 ve 0.80 log azalma) ortaya çıkmıştır. Bu durum, avokado çekirdeği ve Kombucha çayı tozlarının *E. coli* miktarını azaltmada, özellikle birlikte kullanıldığında 150 ppm nitrit kullanımına benzer inhibisyon etkisi gösterebileceğini ve bu çalışmadan elde edilen bulguların gelecekte bu yönde gerçekleştirilecek çalışmalara ışık tutacağını göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- A. V. 2022. Avocado seed discoveries: Chemical composition, biological properties, and industrial food applications. *Food Chemistry*: X, 16, 100507.
- Acar, F. 2022. Etnik bir et ürünü olan deve sucuğunun mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması, Yüksek lisans tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim dalı, 83. Aydın.
- Acton, J. C. ve Keller, J. E. 1974. Effect of fermented meat pH on summer sausage properties. *Journal of Food Protection*, 37(11), 570-576.
- Adriani, L., Mainah, H. S., ve Marbun, N. 2007. The effect of supplementation fermented kombucha tea on fat and cholesterol levels of duck meat. *Lucrări Stiintifice. Ser. Zooteh*, 55, 103.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., ve Di Ilio, C. 2013. *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health*, 10(12), 6235-6254.
- Anonim. 1997. Türk Sucuğu TS 1070. Türk Standardları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim.2019b.Websitesi:<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/01/201901294.htm> Erişim Tarihi: 29.06.2024.
- Anonim.2023.Websitesi:<https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/06/201306304.htm> Erişim Tarihi: 20.07.2024.
- Anonymous. 2000. Association of official analytical chemists. *Official Methods of Analysis*. 16th Edition. Washington, DC.
- Antolak, H., Piechota, D., ve Kucharska, A. 2021. Kombucha tea-A double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY). *Antioxidants*, 10(10), 1541.
- Apaydin, G., Ceylan, Z. G., ve Kaya, M. 2009. The behavior of *E. coli* O157: H7 in sucuk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(6), 827-836.
- Ashrafi, A., Jokar, M., ve Nafchi, A. M. 2018. Preparation and characterization of biocomposite film based on chitosan and kombucha tea as active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 444-454.
- Babaoğlu, A. S. 2020. Kurutulmuş bazı sebze tozlarının fermente sucuk üretiminde alternatif kürlenme ajanı olarak kullanılabilme imkanları. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 192, Konya.

- Bahru, T. B., Tadele, Z. H., ve Ajebe, E. G. 2019. A Review on Avocado Seed: Functionality, Composition, Antioxidant and Antimicrobial Properties. *Chemical Science International Journal*, 27(2), 1-10.
- Bangar, S. P., Dunno, K., Dhull, S. B., Siroha, A. K., Changan, S., Maqsood, S., ve Rusu, A. V. 2022. Avocado seed discoveries: Chemical composition, biological properties, and industrial food applications. *Food Chemistry: X*, 16, 100507.
- Barbosa, C. D., Santos, W. C. R., da Costa, E. C., Costa, I. M., Alvarenga, V. O., ve Lacerda, I. A. C. 2022. Evaluation of antibacterial activity of black and green tea kombucha. *Scientia Plena*, 18(9).
- Başgöz, B. 2023. Sucuk Dilimlerinde *Escherichia coli* O157:H7'nin Atımlı UV Işık ile İnaktivasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 80, Sivas.
- Bordea, S. A., Rădoi, P. B., Negrea, M., Cocan, I., ve Traşcă, T. I. 2017. Studies regarding the influence of natural extracts on nutritional characteristics of cold cuts meat products. *Carpathian Journal of Food Science And Technology*, 9(2), 16-20.
- Bozkurt, H. ve Erkmen, O. 2004. Effect of nitrate/nitrite on the quality of sausage (sucuk) during ripening and storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(3), 279-286.
- Braz, V. S., Melchior, K., ve Moreira, C. G. 2020. *Escherichia coli* as a multifaceted pathogenic and versatile bacterium. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 548492.
- Charles, A. C., Dadmohammadi, Y. ve Abbaspourrad, A. 2022. Food and cosmetic applications of the avocado seed: a review. *Food & Function*, 13(13), 6894-6901.
- Cholidah, A. I., Danu, D. ve Nurrosyidah, I. H. 2020. Pengaruh lama waktu fermentasi kombucha rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap aktivitas antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 186-210.
- Çetin, K., Bayizit, A. A., Bekar, E., Çelik, M. A., Özoğlu, Ö. ve Çırak, N. 2022. Fermente sucuk üretiminde kekik ve reyhan uçucu yağları kullanılarak olgunlaştırma ve raf ömrüne etkisinin araştırılması. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (27), 47-60.
- Çiçek, Ü., Kolsarici, N. ve Candoğan, K. 2015. The sensory properties of fermented turkey sausages: Effects of processing methodologies and starterculture. *Journal of food processing and preservation*, 39(6), 663-670.
- Çoksever, E. ve Sariçoban, C. 2010. Effects of bitter orange albedo addition on the quality characteristics of naturally fermented Turkish style sausages (sucuks). *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 8 (2), 82-85.

- 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. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26, 11-16.
- D. Dabas, R. Shegog, G. Ziegler, ve J. Lambert. 2013. Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals. *Current Pharmaceutical Design*, 19(34), 6133–6140.
- De Melo, LM., Soares, MG., Bevilaqua, GC., Schmidt, VCR. ve Lima, M. 2024. Kombucha ve Scoby'ye İlişkin Tarihsel Bir Bakış Ve Güncel Perspektifler: Bir Edebiyat İncelemesi Ve Bibliyometrik. *Gıda Biyobilimi*, 104081.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., ve Gordon, D. 2021. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1), 37-54.
- Dilber, A. 2012. Koyun mekanik ayrılmış tavuk ve hindi etlerinin sucuğun bazı fizikokimyasal tekstürel ve duyuşal özellikleri üzerine etkisinin optimizasyonu. Doktora tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 149, Konya.
- Dilek, N.M. 2022. Pancardan (*Beta Vulgaris Var. Saccharifera L.*) Şekere Nitrat Ve Nitrit İçeriklerinin Belirlenmesi Ve Sucuk Üretiminde Kürleme Ajanı Olarak Kullanılabilme İmkanları. 2022. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 179, Konya.
- Dilek, NM ve Karakaya, M. 2022. Fermente Sucuk Üretiminde Doğal Alternatif Kürleme Maddesi: Şeker Pancarı (*Beta vulgaris var. saccharifera L.*) Pekmezi. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi* , 36 (3), 380-386.
- Duc, H. M., Hoa, T. T. K., Ha, C. T. T., Hung, L. V., Thang, N. V., Son, H. M. ve Flory, G. A. 2024. Antibiotic Resistance Profile and Bio-Control of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Raw Milk in Vietnam Using Bacteriophages. *Pathogens*, 13(6), 494.
- Ekpo, J. S. ve Okon, U. M. 2024. Evaluation of Pork Quality and Carcass Attributes in Growing Pigs Fed Processed Avocado (*Persea americana*) Seed Meal. *Journal of Agriculture and Food Sciences*, 8(1), 51-61.
- Feng Yi, F. Y., Jiang ShengJun, J. S., Wang Chao, W. C., Luo ChangHui, L. C. ve Dan Zhong, D. Z. 2009. Study on degradation of nitrite by Kombucha tea. *Journal of Tea Science*, 29(2), 89-94.
- Flores, M. ve Toldra, F. 2011. Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. *Trends in Food Science and Technology*, 22(2-3), 81-90.
- Geiker, N. R. W., Bertram, H. C., Mejbörn, H., Dragsted, L. O., Kristensen, L., Carrascal, J. R., Bügel, S. ve Astrup, A. 2021. Meat and human health—Current knowledge and research gaps. *Foods*, 10(7), 1556.
- Gómez, F. S., Sánchez, S. P., Gallego Iradi, M. G., Mohd Azman, N. A., ve Almajano,

- M. P. 2014. Avocado seeds: extraction optimization and possible use as antioxidant in food. *Antioxidants*, 3(2), 439-454.
- Gökmen, M. 2010. Türk Sucuğu Üretiminde Kitosan Kullanımı ve Kalite Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, 67, Konya.
- Gümüştpe, L., Aydın, E., ve Özkan, G. 2022. Avokadonun biyoaktif bileşenleri ve sağlık üzerine etkileri. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 10(1), 341-359.
- Hathwar, S. C., Rai, A. K., Modi, V. K., ve Narayan, B. 2012. Characteristics and consumer acceptance of healthier meat and meat product formulations-a review. *Journal of food science and technology*, 49, 653-664.
- Hosseini, M. J., Dezhangah, S., Esmi, F., Gharavi-Nakhjavani, M. S., Hashempour-Baltork, F. ve Alizadeh, A. M. 2023. A worldwide systematic review, meta-analysis and meta-regression of nitrate and nitrite in vegetables and fruits. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 257, 114934.
- Ijabadeniyi, O. A., Govender, A., Olagunju, O. F., ve Oyedeji, A. B. 2021. The antimicrobial activity of two phenolic acids against foodborne *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* and their effectiveness in a meat system. *Italian Journal of Food Science*, 33(1), 39-45.
- İpek, G. 2019. Isıl işlem görmüş sucuk formülasyonlarında yer fıstığı yağı ve keten tohumu yağı kullanılarak hazırlanan O/W jel emülsiyonlarının (soğuk jelleşme) yağ girdisi olarak kullanımının ürün kalitesine etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 102, İzmir.
- J. R., Bügel., S. ve Astrup, A. 2021. Meat and human health-Current knowledge and research gaps. *Foods*, 10(7), 1556.
- Jayabalan, R., Malbaša, RV., Lončar, ES., Vitas, JS., ve Sathishkumar, M. 2014. Kombucha çayı üzerine bir inceleme-mikrobiyoloji, bileşim, fermentasyon, faydalı etkiler, toksisite ve çay mantarı. *Gıda bilimi ve gıda güvenliğinde kapsamlı incelemeler*, 13 (4), 538-550.
- Jimenez, P., Garcia, P., Quitral, V., Vasquez, K., Parra-Ruiz, C., Reyes-Farias, M., Garcia-Diaz, D.F., Robert, P., Encina, C. ve Soto-Covasich, J. 2021. Pulp, leaf, peel and seed of avocado fruit: A review of bioactive compounds and healthy benefits. *Food Reviews International*, 37(6), 619-655.
- Kaban, G. 2013. Sucuk and pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat science*, 95(4), 912-918.
- Kaban, G., Polat, Z., Sallan, S., ve Kaya, M. 2022. The occurrence of volatile N-nitrosamines in heat-treated sucuk in relation to pH, aw and residual nitrite. *Journal of Food Science and Technology*, 59(5), 1748-1755.

- Karabacak, S. ve Bozkurt, H. 2008. Effects of *Urtica dioica* and *Hibiscus sabdariffa* on the quality and safety of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Meat science*, 78(3), 288-296.
- Karayiğit, A. 2023. Siyah Sarımsağın Sucuğun Mikrobiyolojik, Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri ile Nitrozamin İçeriğine Etkisi, Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 64, Erzurum.
- Kargozari, M., Moini, S., Basti, A. A., Emam-Djomeh, Z., Gandomi, H., Martin, I. R., Ghasemlou, M. ve Carbonell-Barrachina, Á. A. 2014. Effect of autochthonous starter cultures isolated from Siahmazgi cheese on physicochemical, microbiological and volatile compound profiles and sensorial attributes of sucuk, a Turkish dry-fermented sausage. *Meat Science*, 97(1), 104-114.
- Kılıç B. 2009. Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. *LWT-Food Science and Technology*, 42(10), 1581-1589.
- Kitwetcharoen, H., Phung, L. T., Klanrit, P., Thanonkeo, S., Tippayawat, P., Yamada, M., ve Thanonkeo, P. 2023. Kombucha healthy drink-recent advances in production, chemical composition and health benefits. *Fermentation*, 9(1), 48.
- Kumar, P., Mehta, N., Abubakar, A. A., Verma, A. K., Kaka, U., Sharma, N., Sazili, A. Q., Pateiro, M., Kumar, M. ve Lorenzo, J. M. 2023. Potential Alternatives of Animal Proteins for Sustainability in the Food Sector. *Food Reviews International*, 1-26.
- Kupnik, K., Primožič, M., Kokol, V., Knez, Ž. ve Leitgeb, M. 2023. Enzymatic, antioxidant, and antimicrobial activities of bioactive compounds from avocado (*Persea americana* L.) seeds. *Plants*, 12(5), 1201.
- Kurdi, A., Corvianindya, Y. ve Indahyani, D. E. 2020. The effect of avocado (*Persea americana* mill) seed powder on the lymphocytes amount in *Escherichia coli* induced mice (Sprague dawley). *Biochemical & Cellular Archives*, 20.
- Kurt, E. 2009. Sucukta organik asit kompozisyonuna farklı karbonhidrat kaynaklarının etkisi. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 77, Ankara.
- Kurt, Ş. 2016. The effects of grape seed flour on the quality of Turkish dry fermented sausage (sucuk) during ripening and refrigerated storage. *Korean journal for food science of animal resources*, 36(3), 300.
- Laranjo, M., Potes, M. E. ve Elias, M. 2019. Role of starter cultures on the safety of fermented meat products. *Frontiers in microbiology*, 10, 853.
- Laureys, D., Britton, S. J., ve De Clippeleer, J. 2020. Kombucha tea fermentation: A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3), 165-174.

- Lawrence, D. T., Dobmeier, S. G., Bechtel, L. K. ve Holstege, C. P. 2007. Food poisoning. *Emergency medicine clinics of North America*, 25(2), 357-37
- Lawrie, R. A. ve Ledward, D. 2014. *Lawrie's meat science*. Woodhead Publishing. 461, England.
- Liu, H., Huang, Y., Huang, M., Wang, M., Ming, Y., Chen, W., Chen, Y., Tang, Z. ve Jia, B. 2023. From nitrate to NO: potential effects of nitrate-reducing bacteria on systemic health and disease. *European Journal of Medical Research*, 28(1), 425.
- Liu, Y., Gao, S., Cui, Y., Wang, L., Duan, J., Yang, X., Liu, X., Zhang, S., Sun, B., Yu, H. ve Gao, X. 2024. Characteristics of Lactic Acid Bacteria as Potential Probiotic Starters and Their Effects on the Quality of Fermented Sausages. *Foods*, 13(2), 198.
- Malabadi, R. B., Sadiya, M. R., Kolkar, K. P. ve Chalannavar, R. K. 2024. Pathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*) food borne outbreak: Detection methods and controlling measures. *Magna Scientia Advanced Research and Reviews*, 10(1), 052-085.
- Martín-Sánchez, A. M., Chaves-López, C., Sendra, E., Sayas, E., Fernández-López, J. and Pérez-Álvarez J. A. 2012. Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a spanish fermented dry-cured meat product (Salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Science* 89, 35–44.
- Marzban, F., Azizi, G., Afraei, S., Sedaghat, R., Seyedzadeh, M. H., Razavi, A. ve Mirshafiey, A. 2015. Kombucha tea ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in mouse model of multiple sclerosis. *Food and Agricultural Immunology*, 26(6), 782-793.
- Miramontes-Corona, C., Torres-Santiago, G., Rodriguez, M. M., Corona-González, R. I. ve Toriz, G. 2024. Phenolic profile, antioxidant activity and antimicrobial properties of avocado (*Persea americana*) seed extracts. *Chemical Papers*, 1-9.
- Nyakang'i, C. O., Marete, E., Ebere, R. ve Arimi, J. M. 2023. Physicochemical properties of avocado seed extract model beverages and baked products incorporated with avocado seed powder. *International Journal of Food Science*, 2023(1), 6860806.
- Oral, Z. F. Y. 2023a. Effect of Celery Powder as an Alternative Nitrite Source on Some Quality Properties and Nitrosamine Formation in Sucuk. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 29 (5), 545-550.
- Oral, Z. F. Y. 2023b. The effect of using Swiss chard powder as a curing agent in the production of heat-treated sucuk on nitrosamine formation and quality parameters. *Gıda*. 48(5), 1036-1046.

- Öz, F., Kaya, M., ve Aksu, M. İ. 2002. The effect of different nitrite doses and starter culture on the growth of *Escherichia coli* O157: H7 in sucuk (Turkish style dry sausage) processing. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 26(3), 651-657.
- Özkaya, P. T. ve Kayaardı, S. 2018. Et ve et ürünlerinin kalitesini geliştirmede kullanılan yeni teknikler. Akademik Gıda, 16(3), 323-331.
- Öztan, A. 2017 Et Bilimi ve Teknolojisi, Gıda Mühendisleri Odası Yayınları, 523, Ankara.
- Öztürk, B., Serdaroğlu, M. ve Ergezer, H. 2015. Et ve et ürünlerinde nitrit-nitrat; kullanım avantajları, yasal sınırlamalar ve güncel alternatif yaklaşımlar. Akademik Gıda, 13(3), 257-264.
- Öztürk, S. 2023. Bitkisel Nitrat Kaynaklarından Ön Dönüştürme ile Elde Edilen Nitritin Fermente Sucukta Kimyasal Nitrit Yerine Kullanımı. Doktora Tezi, Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 152, Ankara.
- Öztürk-Kerimoğlu, B. ve Serdaroğlu, M. 2020. Residual nitrite content of heat-treated Sucuk as affected by chard powder incorporation and processing.
- Pakbin, B., Brück, W. M. ve Rossen, J. W. 2021. Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review. International journal of molecular sciences, 22(18), 9922.
- Rımniceanu, C., Cretu, M., Grecu, I. R., Pihurov, M., Bahrım, G. ve Dedu, L. 2023. Effects of Kombucha And Milk Kefir Dietary Supplements on The Meat Body Composition of Siberian Sturgeon (*Acipenser Baerii*). Animal Science, 66(2).
- Rodríguez-Carpena J.G, Morcuende D, Andrade M.J, Kylli P. ve Estévez M. 2011. Avocado (*Persea americana Mill.*) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(10), 5625-5635.
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D. ve Estévez, M. 2011. Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. Meat science, 89(2), 166-173.
- Sauer, A. ve Moraru, C. I. 2009. Inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Escherichia coli* O157: H7 in apple juice and apple cider, using pulsed light treatment. Journal of Food Protection, 72(5), 937-944
- Selvaraj, S., ve Gurumurthy, K. 2023. An overview of probiotic health booster-kombucha tea. Chinese herbal medicines, 15(1), 27-32.
- Serdaroğlu, M. ve İpek, G. 2019. Fermente Sosis Formülasyonlarında Uygulanan Yenilikçi Yaklaşımlar. Akademik Gıda, 17(2), 281-290.

- Serdaroğlu, M., Can, H., Sarı, B., Kavuşan, H. S., ve Yılmaz, F. M. 2023. Effects of natural nitrite sources from arugula and barberry extract on quality characteristic of heat-treated fermented sausages. *Meat Science*, 198, 109090.
- Shakil, M. H., Trisha, A. T., Rahman, M., Talukdar, S., Kobun, R., Huda, N. ve Zzaman, W. 2022. Nitrites in cured meats, health risk issues, alternatives to nitrites: A review. *Foods*, 11(21), 3355.
- Singha, S., Thomas, R., Viswakarma, J. N. ve Gupta, V. K. 2023. Foodborne illnesses of *Escherichia coli* O157 origin and its control measures. *Journal of Food Science and Technology*, 60(4), 1274-1283.
- Siol, M. ve Sadowska, A. 2023. Chemical Composition, Physicochemical and Bioactive Properties of Avocado (*Persea americana*) Seed and its Potential Use in Functional Food Design. *Agriculture*, 13(2), 316.
- Sucu, C., ve Turp, G. Y. 2018. The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. *Meat science*, 140, 158-166.
- Şahin, 2013. Kekik Yağı İçeren Kitozan Kaplamaların Modifiye Atmosferde Ambalajlanan Sucukların Kalitesi Üzerine Etkisi Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 85, Ankara.
- Tang, K. X., Shi, T. ve Gänzle, M. 2018. Effect of starter cultures on taste-active amino acids and survival of pathogenic *Escherichia coli* in dry fermented beef sausages. *European Food Research and Technology*, 244(12), 2203-2212.
- Temizgül, S. 2021. Sucukta Nitrit İçeriğinin Azaltılmasında Kombucha Ekstraktının Kullanım Olanağı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 66, Ankara.
- Toldrá, F. 2010. *Handbook of Meat Processing*. Blackwell Publishing, 566, USA
- Tremocoldi, M. A., Rosalen, P. L., Franchin, M., Massarioli, A. P., Denny, C., Daiuto, É. R., Paschoal – Rizzato, J. A., Melo. P. S. ve Alencar, S. M. D. 2018. Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PloS one*, 13(2), e0192577.
- Tugiyanti, E., Iriyanti, N. ve Apriyanto, Y. S. 2019. The effect of avocado seed powder (*Persea americana* Mill.) on the liver and kidney functions and meat quality of culled female quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Veterinary world*, 12(10), 1608.
- Turp, G. Y. ve Avcı, T. 2022. Et Ürünlerinde Nitrit Kullanımını Azaltma Yöntemlerinde Güncel Yaklaşımlar ve Sanayiye Aktarılma Potansiyelleri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(3), 475-488.

- Tutak, G. A. 2010. Gastroenterit etkeni olabilen patojen *Escherichia coli*'lerin araştırılması.
- Van der Veken, D., Poortmans, M., Dewulf, L., Fraeye, I., Michiels, C. ve Leroy, F. 2023. Challenge tests reveal limited outgrowth of proteolytic *Clostridium botulinum* during the production of nitrate-and nitrite-free fermented sausages. *Meat Science*, 200, 109158.
- Wang, W., Bostic, T. R., ve Gu, L. 2010. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food chemistry*, 122(4), 1193-1198.
- World Health Organization. 2019. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution characterization and monitoring, pp 24–53. ISBN 978-92-4-151427-9
- Xiong, Y. L. 2023. Meat and meat alternatives: where is the gap in scientific knowledge and technology?. *Italian Journal of Animal Science*, 22(1), 482-496.
- Yalınkılıç, B., 2009, Sucuk Üretiminde Portakal Lifi Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 64, Erzurum.
- Yılmaz Topcam, M. M., Arslan, B. ve Soyer, A. 2024. Sucuk, Turkish-Style Fermented Sausage: Evaluation of the Effect of Bioprotective Starter Cultures on Its Microbiological, Physicochemical, and Chemical Properties. *Applied Microbiology*, 4(3), 1215-1231.
- Zaatout, N. 2022. An overview on mastitis-associated *Escherichia coli*: pathogenicity, host immunity and the use of alternative therapies. *Microbiological research*, 256, 126960.
- Zhang, Z., Zhang, B., Yang, R., ve Zhao, W. 2022. Recent developments in the preservation of raw fresh food by pulsed electric field. *Food Reviews International*, 38(sup1), 247-265.
- Zubaidah, E., Dea, E. C., Saparianti, E., Putri, R. A. C., Sujuti, H., Srianta, I., Godelive, L. ve Tewfik, I. 2024. Redefining the hepatoprotective potential of Javanese turmeric (*Curcuma xanthorrhiza*) Kombucha towards the diethylnitrosamine-induced hepatotoxicity of mice. *Nutrition & Food Science*, 54(3), 483-494.