

**FERMENTE TÜRK SUCUKLARINDAN İZOLE EDİLEN *LACTOBACILLUS*
PLANTARUM, *LACTOBACILLUS SAKE*, *LACTOBACILLUS CURVATUS* ve
STAPHYLOCOCCUS XYLOSUS SUŞLARININ STARTER KÜLTÜR OLARAK
KULLANILMASININ ARAŞTIRILMASI**

Arş.Grv. Yağmur Nil DEMİREL

BESİN/GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Doktora Tezi

DANIŞMAN

Doç.Dr. Zeki GÜRLER

Tez No: 2016-003

2016-AFYONKARAHİSAR

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FERMENTE TÜRK SUCUKLARINDAN İZOLE EDİLEN
LACTOBACILLUS PLANTARUM, *LACTOBACILLUS SAKE*,
LACTOBACILLUS CURVATUS VE *STAPHYLOCOCCUS XYLOSUS*
SUŞLARININ STARTER KÜLTÜR OLARAK KULLANILMASININ
ARAŞTIRILMASI

Arş.Grv. Yağmur Nil DEMİREL

BESİN/GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç.Dr. Zeki GÜRLER

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından 14.Sağ.Bil.04 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2016-003

2016-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Atılım Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi doktora programı
çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.
Tez Savunma Tarihi: 01.06.2016


Prof. Dr. Yusuf DOĞRUER

Jüri Başkanı


Prof. Dr. Ümit GURBUZ

Üye


Doç. Dr. Esra SEKER

Üye


Doç. Dr. Zeynep KUTLUER

Üye


Yrd. Doç. Dr. Recep KARA

Raportör

Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi doktora programı öğrencisi Yağmur Nil DEMİREL'in "Fermente Türk Suşularından İzole Edilen *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus* ve *Staphylococcus xylosus* Suşlarının Starter Kültür Olarak Kullanılmasının Araştırılması" başlıklı tezi ...16.06.2016...günü saat...14:00... Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde maddi, manevi destek ve tecrübeleri ile yanımda olan başta sayın danışmanım Doç.Dr. Zeki GÜRLER'e, sayın hocalarım Prof.Dr. Yusuf DOĞRUER, Prof.Dr. Ümit GÜRBÜZ, Prof.Dr. Semra KAYAARDI, Doç.Dr. Esra ŞEKER, Doç.Dr. Feride KIRCALI SEVİMLİ, Doç.Dr. Veli GÖK, ve Yrd.Doç.Dr. Recep KARA'ya,

Çalışmanın zorlu sürecinde her zaman yanımda olan Arş.Grv.Dr. Aslı SAKMANOĞLU, Arş.Grv.Dr. Elmas ULUTAŞ, Veteriner Hekim Müesser YILMAZ, Arş.Grv. Barış DENK, Uzman Biolog Fahriye KAN'a, çalışmanın istatistik analizlerini yapan Arş.Grv.Dr. İlkay DOĞAN'a, entrümental analizleri yapmamda yardımcı olan sayın Prof. Dr. Şebnem TAVMAN ve Arş.Grv.Dr. Hilal ÇOLAKOĞLU'na, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Tübitak Marmara Araştırma Enstitüsü'ne, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Projeleri Araştırma Koordinasyon Birimi'ne, sucuk üretimi sırasında anlayış, yardım ve misafirperverlikleri için Afyonkarahisar İkbal Gıda A.Ş. fabrika Müdürü Veteriner Hekim Sebahattin DOĞANTAŞ, Gıda Mühendisi Tamer UZUN ve ikbal tesis çalışanlarına, Arş.Grv. Arife Ezgi TELLİ'ye ayrı ayrı teşekkürlerimi sunuyorum.

Uzun ve zorlu bu süreçte bana karşı her türlü sabrı, sevgiyi gösteren, elimi hiç bırakmayan, maddi desteklerini esirgemeyen ailem Nilgün-Ufuk-Kutay DEMİREL ve amcam Şafak DEMİREL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Şekiller Dizini.....	vi
Tablolar Dizini.....	vii
Resimler Dizini.....	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Fermentasyon.....	4
1.1.1. Üretimde Kullanılacak Mikroorganizmaların Seçimi ve Fermentasyona Etkisi.....	5
1.1.2. Mikroorganizmaların Fermentasyon Sırasında Birbirleri ile Etkileşimi.....	13
1.2. Aroma.....	14
1.2.1. Mikroorganizmaların Aroma Üzerine Etkisi.....	17
1.3. Genetik Çalışmalar.....	20
2. MATERYAL VE METHOT	23
2.1 Materyal.....	23
2.2. Metot.....	23
2.2.1. Mikroorganizmaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	23
2.2.1.1. Laktik Asit Bakterilerinin Biyokimyasal Testleri.....	23
2.2.1.1.a. Glikozdan Gaz Oluşturma Yetenekleri.....	24
2.2.1.1.b. Farklı Sıcaklıklarda Üreme Yetenekleri.....	24
2.2.1.1.c. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Üreme Yetenekleri.....	24
2.2.1.1.d. pH 3,9'da Üreme Yetenekleri.....	24
2.2.1.1.e. Voges Proskauer-Metil Red Testi.....	24
2.2.1.1.f. Arjinin Testi.....	25
2.2.1.1.g. Karbonhidrat Fermentasyon Testi.....	25
2.2.1.2. Laktik Asit Bakterilerinin PZR ile Doğrulanması.....	26
2.2.2. <i>Staphylococcus</i> spp. İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	28
2.2.2.1. <i>Staphylococcus</i> spp. Biyokimyasal Testleri.....	28
2.2.2.1.a. Oksidaz Testi.....	28
2.2.2.1.b. Furazolidon ve Lizostafin Duyarlılık Testi.....	28
2.2.2.1.c. Jelatin Hidroliz Testi.....	29
2.2.2.1.d. Simmon Sitrat Ağarda Üreme Yeteneklerinin Belirlenmesi.....	29
2.2.2.2. <i>Staphylococcus xylosus</i> 'un PZR Yöntemi ile Doğrulanması.....	29
2.2.3. 16S-23S rRNA Genler Arası Ayırıcı Bölge Sekanslama.....	30
2.2.4. Sucuk Üretimi.....	31
2.2.5. Kimyasal Analizler.....	32
2.2.5.a. pH Değerinin Belirlenmesi.....	32
2.2.5.b. Su Aktivitesinin Belirlenmesi.....	32
2.2.5.c. Nem Miktarının Belirlenmesi.....	33
2.2.5.d. Ağırlık Kaybının Belirlenmesi.....	33
2.2.6. Fiziksel Analizler.....	33
2.2.6.a. Renk Analizi.....	33
2.2.6.b. Tekstür Profil Analizi.....	34
2.2.7. Duyusal Analiz.....	34
2.2.8. Aroma Bileşenlerinin Tayini.....	36
2.2.9. Mikrobiyolojik Analizler.....	37

2.2.9.1. Laktik Asit Bakteri Sayımı.....	37
2.2.9.2. <i>Staphylococcus</i> spp. Sayımı.....	37
2.2.9.3. Enterobacteriaceae sayımı.....	37
2.2.10. İstatistiksel Analizler.....	38
3. BULGULAR.....	39
3.1. Laktik asitbakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları.....	39
3.2. <i>S. xylosus</i> 'un İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları.....	45
3.3. Kimyasal Analizler.....	48
3.3.a. pH Analizi.....	48
3.3.b. Su Aktivitesi Analizi.....	49
3.3.c. Rutubet Analizi.....	50
3.3.d. Ağırlık Kaybı Analizi.....	51
3.4. Fiziksel Analizler.....	52
3.4.a. Renk Analizi.....	52
3.4.b. Tekstür Profil Analizi.....	54
3.5. Duyusal Analiz.....	59
3.6. Uçucu Aroma Bileşenleri Analizi.....	63
3.7. Mikrobiyolojik Analiz.....	65
3.7.1 Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı.....	65
3.7.2 <i>Staphylococcus</i> spp. Sayımı.....	67
3.7.3 Enterobacteriaceae Sayımı.....	69
4. TARTIŞMA.....	72
4.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları.....	72
4.2. <i>S. xylosus</i> İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları.....	76
4.3. Kimyasal Analiz Sonuçları.....	77
4.3.a. pH Analiz Sonuçları.....	77
4.3.b. Su Aktivitesi Analiz Sonuçları.....	78
4.3.c. Rutubet Analiz Sonuçları.....	78
4.3.d. Ağırlık Kaybı Analiz Sonuçları.....	79
4.4. Fiziksel Analiz Sonuçları.....	79
4.4.a. Renk Analizi Sonuçları.....	79
4.4.b. Tekstür Profili Analiz Sonuçları.....	81
4.5. Duyusal Değerlendirme Sonuçları.....	84
4.6. Uçucu Aroma Bileşenleri Analiz Sonuçları.....	87
4.7. Mikrobiyolojik Değerlendirme Sonuçları.....	91
5. SONUÇ.....	94
ÖZET.....	95
SUMMARY.....	97
KAYNAKLAR.....	99

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. CIELab renk uzayı.....	34
Şekil 2.2. Çiğ sucuk duyuşal analiz değerlendirme formu.....	35
Şekil 2.3. Pişmiş sucuk duyuşal analiz değerlendirme formu	36
Şekil 3.1. <i>L. plantarum</i> izolatlarına ait PZR jel görüntüsü.....	40
Şekil 3.2. <i>L. sake</i> izolatlarına ait PZR jel görüntüsü.....	40
Şekil 3.3. <i>L. curvatus</i> izolatlarına ait PZR jel görüntüsü.....	41
Şekil 3.4. <i>S. xylosus</i> izolatlarına ait PZR jel görüntüsü.....	46
Şekil 3.5. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında olgunlaşma sonu pH değerleri.....	48
Şekil 3.6. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında olgunlaşma sonu su aktivitesi değerleri..	49
Şekil 3.7. Kontrol ve denemesucuk gruplarında olgunlaşma sonu nem (rutubet) değerleri	50
Şekil 3.8. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında olgunlaşma sonu ağırlık kaybı değerleri	51
Şekil 3.9. Dış yüzey ve kesit yüzey L* değeri analiz sonuçları.....	53
Şekil 3.10. Dış yüzey ve kesit yüzey a* değeri analiz sonuçları.....	53
Şekil 3.11. Dış yüzey ve kesit yüzey b* değeri analiz sonuçları.....	54
Şekil 3.12. Kontrol ve deneme gruplarının sertlik analiz sonuçları.....	56
Şekil 3.13. Kontrol ve deneme gruplarının dış yapışkanlık analiz sonuçları.....	57
Şekil 3.14. Kontrol ve deneme gruplarının esneklik analiz sonuçları.....	57
Şekil 3.15. Kontrol ve deneme gruplarının iç yapışkanlık analiz sonuçları.....	58
Şekil 3.16. Kontrol ve deneme gruplarının çiğnenebilirlik analiz sonuçları.....	58
Şekil 3.17. Kontrol ve deneme gruplarının elastiklik analiz sonuçları.....	59
Şekil 3.18. Çiğ sucuk duyuşal değerlendirme sonuçları	62
Şekil 3.19. Pişmiş sucuk duyuşal değerlendirme sonuçları.....	63
Şekil 3.20. Sucuk ve sucuk hamurunda belirlenen laktik asit bakteri sayım sonuçları (log kob/g).....	67
Şekil 3.21. Sucuk ve sucuk hamurunda belirlenen <i>Staphylococcus</i> spp. sayım sonuçları (log kob/g).....	69
Şekil 3.22. Sucuk ve sucuk hamurunda belirlenen Enterobacteriaceae sayım sonuçları (log kob/g).....	71

TABLOLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Araştırmacılar tarafından fermentasyon öncesi ve sonrası tespit edilen laktik asit bakteri sayıları (log kob/g).....	6
Tablo 1.2. Araştırmacılar tarafından fermentasyon öncesi ve sonrası tespit edilen <i>Staphylococcus</i> spp. sayısı (log kob/g).....	7
Tablo 1.3. Araştırmacılar tarafından bulunan pH değerleri.....	8
Tablo 1.4. Araştırmacılar tarafından bulunan su aktivite değerleri.....	8
Tablo 1.5. Araştırmacılar tarafından bulunan rutubet değerleri.....	9
Tablo 1.6. Araştırmacılar tarafından tespit edilen L* değer sonuçları.....	10
Tablo 1.7. Araştırmacılar tarafından tespit edilen a* değer sonuçları.....	10
Tablo 1.8. Araştırmacılar tarafından tespit edilen b* değer sonuçları.....	11
Tablo 2.1. Laktik asit bakterileri için PZR metodunda kullanılan oligonükleotid primer çiftleri.....	26
Tablo 2.2. <i>S. xylosus</i> için PZR metodunda kullanılan oligonükleotid primer çiftleri.....	29
Tablo 2.3. Sucuk üretiminde kullanılan mikroorganizma kombinasyonları.....	31
Tablo 2.4. Üretimde kullanılan katkı maddeleri ve oranları (%).....	32
Tablo 2.5. Üretimde kullanılan yöntem.....	32
Tablo 3.1. Çalışmada elde edilen gram pozitif çomakların biyokimyasal test sonuçları.....	39
Tablo 3.2. Laktik asit bakterilerinin PZR sonuçları.....	39
Tablo 3.3. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre laktik asit bakterilerinin baz dizilimleri.....	42
Tablo 3.4. Çalışmada elde edilen Gram pozitif oksidaz negatif kokların biyokimyasal test sonuçları.....	45
Tablo 3.5. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23S rRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre <i>S. xylosus</i> 'un baz dizilimleri.....	46
Tablo 3.6. pH analiz sonuçları.....	48
Tablo 3.7. Su aktivitesi analiz bulguları.....	49
Tablo 3.8. Rutubet analiz sonuçları.....	50
Tablo 3.9. Ağırlık kaybı analiz sonuçları.....	51
Tablo 3.10. Dış yüzey ve kesit yüzey renk değerleri analiz sonuçları.....	52
Tablo 3.11. Kontrol ve deneme gruplarının tekstür analiz sonuçları.....	55

Tablo 3.12. Çiğ sucuk duyuşal analiz sonuçları.....	60
Tablo 3.13. Pişmiş sucuk duyuşal analiz sonuçları.....	61
Tablo 3.14. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında belirlenen uçucu aroma bileşenler....	65
Tablo 3.15. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme gruplarının laktik asit bakteri sayım sonuçları (log kob/g).....	66
Tablo 3.16. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme gruplarının genel laktik asit bakteri sonuçlarının karşılaştırması (log kob/g).....	66
Tablo 3.17. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme gruplarında <i>Staphylococcus</i> spp. sayım sonuçları (log kob/g).....	68
Tablo 3.18. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme genel gruplarının <i>Staphylococcus</i> spp. sayım sonuçlarının karşılaştırılması (log kob/g).....	68
Tablo 3.19. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme gruplarında Enterobacteriaceae sayım sonuçları (log kob/g).....	70
Tablo 3.20. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme genel gruplarının Enterobacteriaceae sayım sonuçlarının karşılaştırılması (log kob/g).....	70

RESİMLER DİZİNİ**Sayfa**

- Resim 3.1.**Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (4L18 Forward, *L. plantarum*)..... 42
- Resim 3.2.**Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (4L18 Reverse, *L. plantarum*)..... 43
- Resim 3.3.**Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (İH1L Forward, *L. curvatus*) 43
- Resim 3.4.**Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (İH1L Reverse, *L. curvatus*) 44
- Resim 3.5.** Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (İH17L Forward, *L. sake*) 44
- Resim 3.6.** Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (İH17L Reverse, *L. sake*) 45
- Resim 3.7.** Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (GH4S Forward, *S. xylosus*)..... 47
- Resim 3.8.** Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (GH4S Reverse, *S. xylosus*) 47

1. GİRİŞ

Et ve et ürünlerinin yüksek biyolojik değerde, doyurucu, lezzetli, içeriğindeki besin maddeleri ile insan beslenmesinde önemli protein kaynağı olduğu bilinmektedir. Değerli proteinleri, mineral maddeleri, B kompleksvitaminleri, omega 3-6 gibi yağ asitlerini yeterli miktarlarda içermesi beslenme üzerine olan değerini artırmaktadır (Gürbüz, 2009; Öztan, 2010).

Fermente gıda üretimi çok eski zamanlardan beri bilinen gıda işleme tekniğidir. Teknolojik ilerlemeler sonucunda mikroorganizmaların fermente gıdalardaki rolleri anlaşıldıktan sonra endüstriyel üretim de artmaya başlamıştır. Geleneksel olarak üretilen ürünlerin kendine özgü tat ve lezzetine erişebilmek için, ürünlerde starter kültür kullanımı zorunluluk haline gelmiştir (Kaban ve Kaya, 2007). Ülkemizde yaygın olarak üretilen ve tüketilen sucuk kuterde çekilen et ve yağın baharat, şeker, tuz ve kürlenme ajanları ile karıştırılıp doğal veya yapay bağırsak kılıflarına doldurularak belirli sıcaklık ve rutubette olgunlaştırılması ile üretilen fermente et ürünüdür (Gökalp ve ark., 2004). Türkiye’de endüstriyel olarak üretilen sucuklar tüketiciler tarafından tercih edilmemektedir. İthal yoldan elde edilen starter kültürler kullanılarak üretilen sucuklarda istenen lezzet oluşmamaktadır. Dolayısıyla, sucuk üretiminde bu arzu edilen etkinliği sağlayacak starter kültürlerin elde edilmesi gerekmektedir (Kaban ve Kaya, 2007).

Türk Gıda Kodeksi *Et ve Et Ürünleri Tebliği*’nin dördüncü maddesinde fermente sucuk, büyük ve küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler (insan tüketimine uygun baharatlar, aromatik bitkiler veya bunların özütleri) ile karıştırıldıktan sonra yapay veya doğal kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak nem oranı %40 ve altına düşürülmüş, kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan, ısı işlem uygulanmamış fermente et ürünü olarak tanımlanmıştır (Anon, 2015a).

Endüstriyel olarak üretilen sucuklarda ana bileşenlere ek olarak kimyasal maddeler ve starter kültür kullanılmaktadır. Olgunlaştırma, kontrollü şartlar altında gerçekleştirilmektedir. ‘Kasap sucuğu’ olarak adlandırılan geleneksel yöntemlerle üretilen sucuklarda ise kimyasal madde (nitrat/nitrit, askorbik asit gibi) ve starter kültür bulunmamaktadır. Kıyma, yağ, tuz ve baharatlar el yardımıyla karıştırılarak kılıflara doldurulmaktadır. Dolum sonrası hijyen şartlarının kontrol altında olmadığı çevre koşullarında olgunlaştırılmaktadır (Bozkurt ve Bayram, 2006). Geleneksel sucuk üretiminde, doğal flora ile fermentasyon zordur.

Ancak, starter kültür kullanılarak yapılan endüstriyel sucuklarda da ürünün kendine özgü koku ve tadı oluşmamaktadır (Kaban, 2013).

Gıda endüstrisinde gelişen teknoloji beraberinde bazı tehlikeler getirmektedir. Günümüzde katkı maddeleri mikroorganizmaların inaktivasyonunu sağlamak, üründe arzu edilebilir tat ve aroma gelişmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, bu katkı maddelerinin standart limitlerin üzerinde kullanılması sağlık problemlerine neden olmaktadır. Bu durum da araştırmacıların bu katkı maddelerinin yerini alabilecek doğal maddelerin neler olabileceği konusunu gündeme almalarını sağlamıştır (Gökmen ve Gürbüz, 2011). Bununla ilişkili olarak son zamanlarda tüketiciler tarafından doğal ürünlere gösterilen ilgi artmaktadır. Bu durum nitrit, nitrat ve sülfatların kullanımı gibi kimyasal koruma yöntemleri yerine laktik asit bakterilerinin bazı suşlarının kullanımı gibi alternatif koruma yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır. Gıdaların raf ömürlerini uzatmak, arzu edilen aroma oluşumunun sağlanması ve tüketici taleplerinin karşılanabilmesi için alternatif korunma yöntemleri geliştirilmesi gerekmektedir (Gürsoy ve Kımık, 2006).

Sucuk üretiminde ilk basamak, fermentasyon olup, bu aşama starter kültürlerin katkısıyla veya 'Chance Inoculation' olarak adlandırılan üretim sırasında ham maddeden ve çevreden meydana gelen bulaşma sonucu gerçekleşmektedir. Fiziksel, biyokimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin gerçekleştiği aşamadır. Ardından, endüstriyel olarak üretilen sucuklarda kontrol altında; geleneksel üretilen sucuklarda ise iklim koşullarında gerçekleşen kurutma aşaması gerçekleşmektedir. Bu iki aşama, olgunlaştırma periyodunu oluşturmaktadır. Sucuğa özgü arzu edilen fiziksel kalite kriterleri (tekstür, renk, tat ve koku) (Stahnke, 1995a; Wanasundara ve Shahidi, 1998; Bozkurt ve Bayram, 2006), florasındaki mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak fiziksel ve kimyasal etkileşimler sonucu meydana gelmektedir (Ordonez ve ark., 1999).

Etten ve çevreden köken alabilen fermentasyon için gerekli olan mikroorganizmalar 'house flora' olarak tanımlanmaktadır (Santos ve ark., 1998). Saha tipi olarak da bilinen bu mikroorganizmalar metabolik aktiviteleri ve yarışmacı özellikleri sayesinde buldukları ortamda endüstriyel kültürlerle göre daha iyi adapte olmaktadır (Leroy ve ark., 2006; Talon ve ark., 2007). Avrupa'da ise house flora olarak adlandırılan kültürlerin, kolonizasyonun ticari kültürlerle göre daha iyi olduğu savunulmakta ve ticari kültürlerin

üründe arzu edilen duyuşal özelliklerinde kayba neden olduğu bildirilmektedir (Samelis ve ark., 1998). Bu nedenle, geleneksel üretilen sucukların, starter kültür eklenmiş kontrollü şartlar altında fermente edilen sucuklara göre daha üstün kaliteli oldukları belirtilmektedir (Moretti ve ark., 2004). Arzu edilen tat ve aroma gelişimi için de küçük işletmeler starter kültür kullanmadan doğal fermentasyon yoluyla geleneksel olarak üretim yapmaya devam etmektedir (Santos ve ark., 1998).

Sucuk hamuruna homofermentatif *Lactobacillus* veya *Pediococcus* cinsi laktik asit bakterileri ve *Staphylococcus* veya *Kocuria* cinsi (Coagulase negative cocci=CNC=Koagulaz negatif kok=KNK) Gram pozitif, katalaz pozitif koklar starter kültür olarak eklenmektedir. Böylelikle ürün kalitesi, güvenilirliği ve üretim standardizasyonu sağlanabilmektedir (Campbell-Platt ve Cook, 1995; Hugas ve Monfort, 1997; Lücke, 2000). Laktik asit bakterileri ve katalaz pozitif koklar olgunlaşma sırasında önemli olduğu bilinen iki mikroorganizma grubudur (Aymerich ve ark., 2003). Saprot ve patojen mikroorganizmalara karşı inhibe edici etkiye sahiptir. Bunun yanında aroma üzerinde etki ederek lezzet gelişimine de katkı sağlamaktadırlar (Schillinger ve Lücke, 1989). Katalaz pozitif koklar, olgunlaşma süresinde proteoliz, lipoliz, peroksitlerin parçalanması, renk gelişimi (Montel ve ark., 1996; Olesen ve ark., 2004) ve aroma üzerinde etki göstermektedirler (Garcia-Varona ve ark., 2000). Avrupa'da doğal fermente sucuklarda olgunlaşma periyodu boyunca dominant florayı fakültatif homofermentatif *Lactobacillus* cinsi özellikle *Lactobacillus sake* ve *Lactobacillus curvatus*'un oluşturduğu ortaya çıkarılmıştır (Hugas ve ark., 1993; Rebecchi ve ark., 1998; Samelis ve ark., 1998; Santos ve ark., 1998; Coppola ve ark., 1998, 2000; Cocolin ve ark., 2001; Parente ve ark., 2001; Aymerich ve ark., 2003; Rantsiou ve ark., 2005). Bu periyod boyunca oldukça yarışmacı özellikte olan *L. sake* tüm laktik asit bakterilerinin 3'te 2'sini oluştururken, *L. curvatus* 4'te 1'ini oluşturmaktadır (Hugas ve ark., 1993; Rebecchi ve ark., 1998; Aymerich ve ark., 2003). *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus pentosus* ve *Lactobacillus plantarum* türleri büyük oranlarda doğal fermente sucuklarda bulunmaktadır. Bu türlerin *L. sake* ve *L. curvatus* türlerine karşı zayıf rekabetçi özellikleri bulunmaktadır (Coppola ve ark., 2000).

Koagulaz negatif *Staphylococcus* (KNS) ve *Kocuria* cinsleri olgunlaşma periyodunda arzu edilen reaksiyonlara katılmasının yanında, logaritmik üreme fazında olan asidurik mikroorganizmalar varlığında zayıf rekabetçi özellik göstermektedirler (Samelis ve

ark.,1998). Patojen olmayan KNS cinslerinden *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus saprophyticus* ve *Staphylococcus carnosus* baskın türler olarak bildirilmektedir (Arkoudeios ve ark., 1997; Rebecchi ve ark., 1998; Garcia-Varona ve ark., 2000; Gardini ve ark., 2003; Blaiotta ve ark., 2004).Kullanılacak kültürler uygulanacak fermentasyon teknolojisine ve kullanılacak sucuk hamur formülasyonuna göre seçilmelidir. Çünkü, çevresel faktörler, kullanılacak kültürlerin yarışmacı özelliklerini etkiler (Rebecchi ve ark., 1998).

Fermente sucukların organoleptik ve fizikokimyasal özelliklerini etkileyen ana faktörler; karışımdaki bileşenler, fermentasyon teknikleri ve üretim uygulamalarıdır. Coğrafi bölgelere göre üretim şekli değişmekte, ürünler farklılık göstermektedir.Örneğin, kuzey bölgelerde pH 5'in altında olacak şekilde üretim yapılırken, Akdeniz ülkelerinde pH değerinin 5,3-6,2 arasında tercih edilmesi bu farklılığın oluşmasına sebep olmaktadır (Talon ve ark., 2007). Sırbistan'da geleneksel üretimi yapılan "Petrovska Klobasa" fermente sucuğunun uzun sürede ve herhangi bir katkı maddesi veya koruyucu katılmadan yapıldığı bilinmektedir. Ayırt edilebilir kendine özgü tat, lezzet ve tekstüre sahip bu sucuk ülkeye özgü olup, yönetmelikte sahip olması gereken optimum özellikler belirtilmiştir (Vastag ve ark., 2010).Endüstriyel üretim starter kültür kullanımını ve üretim aşamalarının kontrolünü gerektirmektedir. Geleneksel üretilen ürünlerde ise duyuşsal özellikler ön plandadır. Tüketiciler daha çok duyuşsal özellikleri dikkate almaktadır (Talon ve ark., 2007; Latorre-Moratalla ve ark., 2008).

1.1.Fermentasyon

Mikroorganizmalar karbonhidratları laktik asit ve diğer organik bileşiklere dönüştürerek, pH değerini düşürürler.Fermentasyon olarak adlandırılan bu aşamada ürünün olgunlaşmasına katkıda bulunurlar. Fermentasyon süresince meydana gelen mikrobiyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlar katkı maddelerinin ete karıştırılmasıyla başlamaktadır (Bruna ve ark., 2003). Geleneksel yolla sucuk üretimini daha çok küçük aile işletmeleri yapmaktadır. Bu işletmelerde kontrolsüz şartlar altında gerçekleştirilen fermentasyon çevresel flora tarafından doğal yolla bulaşma ile meydana gelir. Bulaşma, hayvan kesimi sırasında gerçekleşmekte ve üretim süresince devam etmektedir. Doğal yolla olan bulaşma ile her bir işletme kendine özgü

'house flora''ya sahip olmakta, bu flora fermentasyon ve aroma gelişimi için yararlı mikroorganizmaları içermektedir (Ammor ve ark., 2005).

Sucukta kalite özelliklerinin oluşmasında lipolitik, proteolitik, glikolitik, oksidatif ve fermentatif reaksiyonlar önem taşımaktadır (Montel, 1999; Ordonez ve ark., 1999). Glikolitik reaksiyonlar sonucu asetik asit, propionik asit, bütirik asit, asetaldehit, diasetil, asetoin, 2,3-bütandiol, etanol, aseton, 2-propanol gibi uçucu bileşikler açığa çıkmaktadır (Demeyer ve Stahnke, 2002). Tekstür ve lezzet gelişiminde mikroorganizma kaynaklı proteazlarla katalizlenerek gerçekleşen proteolitik reaksiyonlar sonucu açığa çıkan bileşenler etkili olmaktadır. Açığa çıkan bu bileşenler polipeptidler, dipeptidler, peptidler, serbest amino asitler, aldehitler, organik asitler, nükleotidler, amonyum ve amin gibi düşük molekül ağırlıklı maddelerdir (Hughes ve ark., 2002; Benito ve ark., 2005). Bu reaksiyonda bazı katalaz pozitif koklar, laktik asit bakterilerine göre önem arz etmektedir (Hughes ve ark., 2002). Fermente ürünlerde oluşan uçucu bileşenlerin çoğunun lipaz ve fosfolipaz gibi enzimler yardımıyla lipolitik reaksiyonlar sonucu meydana geldiği bildirilmektedir. Yağ ve kas hücrelerinin endojen enzimleri ve bakteriyel kaynaklı enzimler de lipoliz reaksiyonlarında etkindir (Selgas ve ark., 1993; Ordonez ve ark., 1999). Lipolitik reaksiyonlar sonucu açığa çıkan doymamış yağ asitleri, üretim süresi boyunca oksidasyona uğrayarak aldehit ve keton gibi aroma bileşiklerine dönüşürler (Verplaetse, 1994). Doymamış yağ asitlerinin otooksidasyonu ile oluşan hidroksiperoksitlerin tat ve koku üzerinde etkili olmadığı belirtilmektedir. Bu bileşiklerin hızlıca parçalanması sonucu açığa çıkan hekzanal, nonanal gibi alkanların; 1-penten-3-ol, 1-okten-3-ol gibi alkollerin oluşumuyla ransit aroma hissedilmektedir (Ordonez ve ark., 1999).

1.1.1 Üretimde Kullanılacak Mikroorganizmaların Seçimi ve Fermentasyona Etkisi

Etten köken alan laktik asit bakterileri fermentasyon şartlarına uyum sağlamaktadırlar (Hugas ve Monfort, 1997). Böylelikle üretimde kullanılacak starter kültürler et kaynaklı laktik asit bakterilerinden olmalıdır. Starter kültür geliştirilmesinde ilk aşama, et ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin karakterizasyonunu sağlamaktır (Ammor ve ark., 2005). Laktik asit bakterileri fitik asit ve fenolik bileşikler gibi bazı antinutrisyonel bileşenler üzerinde yıkıcı etki göstermektedirler. Böylelikle ürünlerin besleyici değerleri üzerinde katkı

sağlamaktadırlar. Protein sindirilebilirliği, mikronutrisyonel biyoyararlanım, vitamin ve esansiyel amino asit senteziyle fermentasyona yardımcı olmaktadır (Holzapfel, 2002).

Starter kültür seçiminde o ürüne özgü mikroorganizmaları ve ürettiği en uygun şartları belirlemek önemlidir. Fermentasyon sırasında laktik asit bakterilerinin etkisiyle pH düşüşü ve bakteriosin salınımı gerçekleşmektedir. Böylelikle, patojen ve saprofit mikroorganizmaların inaktivasyonunu sağlayarak ürünün güvenilir ve dayanıklı olmasını sağlarlar. Ayrıca girdikleri biyokimyasal reaksiyonlarla, olgunlaşmakta olan ürünün duyu özelliklerinin gelişimine katkı sağlarlar (Lücke, 2000).

Sucuklardan elde edilen laktik asit bakterileri *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella* ve *Enterococcus* cinsleridir (Huerta ve ark., 2004; Ammor ve ark., 2005; Martín ve ark., 2005; Santos ve ark., 2005; Aymerich ve ark., 2006). *L. curvatus* ve *L. plantarum*, *Lactobacillus* cinsleri içinde sıklıkla izole edilen türler iken; bazı çalışmalarda da (Ammor ve ark., 2005; Martín ve ark., 2005) *L. sake*'nin sıklıkla izole edildiği bildirilmektedir. Fermentasyon sırasında kısa lag fazı, yüksek büyüme oranı ve final hücre yoğunluğu nedeniyle *L. sake*'nin diğer laktik asit bakterilerine oranla daha yarışmacı özellikte olduğu söylenebilmektedir (Dossmann ve ark., 1996). Bazı araştırmacılar tarafından fermentasyon öncesi ve sonrası tespit edilen laktik asit bakteri sayıları Tablo 1.1'de özetlenmektedir.

Tablo 1.1. Araştırmacılar tarafından fermentasyon öncesi ve sonrası tespit edilen laktik asit bakteri sayıları(log kob/g)

Fermentasyon öncesi	Fermentasyon sonrası	Kaynak
4,39-6,04	7,78-8,23	Samelis ve ark., 1998
-	8,59	Candoğan, 2000
-	5,5-7,0	Bozkurt, 2002
4,51-6,29	8,03-8,97	Ensoy ve Kolsarıcı, 2004
3,5-4,3	-	Soyer ve ark., 2005
3,9-4,19	-	Gök, 2006
-	7-8	Urso ve ark., 2006
7	7,14-8,13	Essid ve Hassouna, 2013
-	9,20-9,70	Öztürk, 2013

Staphylococcus spp. içinde *S. xylosus*'un en çok izole edilen mikroorganizma olduğu yapılan çalışmalar (Comi ve ark., 1992; Miralles ve ark., 1996; Coppola ve ark., 1997; Garcia-Varona ve ark., 2000; Cocolin ve ark., 2001; Blaiotta ve ark., 2004; Martin ve ark.,

2006; Morot-Bizot ve ark., 2006; Aquilanti ve ark., 2007; Drosinos ve ark., 2007; Leroy ve ark., 2010) sonucu ortaya çıkarılmıştır. Starter kültür olarak kullanılan katalaz pozitif koklardan *S. carnosus*, *S. xylosus*, *Kocuriavarians* türlerinin üçü de %10 NaCl'de gelişebilmekte, nitrat redüktaz enzimine sahip olup, anaerobik ortamda zayıf üreme göstermektedirler. Yavaş olgunlaştırılan üründe birkaç günden sonra merkezindeki katalaz pozitif kok sayısının kenar kısımlarına göre daha düşük olduğu saptanmıştır (Lücke, 1986). Kısa süreli olgunlaştırma, düşük oranda şeker kullanımı, düşük olgunlaştırma sıcaklığı, yavaş bir şekilde asit oluşumunu sağlar. Yavaş asit oluşumu ise katalaz pozitif kokların gelişimini teşvik eder (Lücke, 1986). Bazı araştırmacılar tarafından fermentasyon öncesi ve sonrası belirlenen *Staphylococcus* spp. sayısı Tablo 1.2'de gösterilmektedir.

Tablo 1.2. Araştırmacılar tarafından fermentasyon öncesi ve sonrası tespit edilen *Staphylococcus* spp. sayısı(log kob/g)

Fermentasyon öncesi	Fermentasyon sonrası	Kaynak
-	5-6	Aymerich ve ark.,2003
4,58-6,78	7,08-7,87	Ensoy ve Kolsarıcı, 2004
4,45-7,16	6,68-7,20	Essid ve Hassouna, 2013

Sucuklarda kendiliğinden gelişen fermentasyonda laktik asit bakterileri, KNK ve az da olsa maya-küf etkisi bulunmaktadır. Ticari starter kültürlerin, laktik asit bakteri ve KNK karışımları içerdiği bilinmektedir. Fermente et ürünlerinden köken alan laktik asit bakterileri çevresel şartlara iyi adapte olabilmesi nedeniyle starter kültür seçiminde önemlidir (Hugas ve Monfort, 1997).

Sucukta laktik asit fermentasyonunda esas rolü karbonhidratları fermente ederek başta laktik asit oluşturan laktik asit bakterileri almaktadır (Hugas ve Monfort, 1997; Ordonez ve ark., 1999). Mikrobiyel faaliyetler sonucu ortamın pH değerinin, kas proteinlerinin izoelektrik nokta pH değerinin altına düşmesi ile proteinler koagüle olmaktadır. Sucuk hamurunun başlangıç pH değeri 6,1-6,2 iken bu değer 5,2 civarına düşer. Böylelikle su bağlama kapasitesi azalmakta ve ürünün kurummasına katkı sağlanır (Lücke, 2000). Bunun sonucunda ise ürünün dilimlenebilme özelliği, sertliği ve yapışkanlığı oluşmaktadır (Hugas ve Monfort, 1997; Ordonez ve ark., 1999). Olgunlaşma sırasında devamlı düşen tek parametre su aktivitesidir. Su aktivitesinin düşme hızı üzerinde olgunlaşma sıcaklığı, nem, hava sirkülasyonu, bağırsak kalibrasyonu, sucuk hamurunun çekiliş derecesi etkili olmaktadır. Çeşitli araştırmacılar tarafından bulunan pH değerleri Tablo1.3'te ve su aktivite değerleri Tablo 1.4'te gösterilmektedir.

Tablo 1.3. Araştırmacılar tarafından bulunan pH değerleri

pH değerleri	Kaynak
4,76-4,78	Dinçer ve ark., 1995
4,78-5,38	Garriga ve ark.,1996
5,8-6	Coppola ve ark.,1997
5,56-6,31	Aymerich ve ark., 2003
5,42-5,59	Casaburi ve ark., 2007
4,57-5,17	Kaban, 2007
5,6-5,8	Sikes ve ark., 2009
5,3-6,6	Marty ve ark., 2012

Tablo 1.4. Araştırmacılar tarafından bulunan su aktivite değerleri

Su aktivite değerleri	Kaynak
0,81-0,87	Gürakan ve ark., 1995
0,707-0,936	Aymerich ve ark., 2003
0,91-0,94	Ensoy ve Kolsarıcı, 2004
0,76-0,79	Benito ve ark., 2007
0,80-0,84	Casaburi ve ark., 2007
0,90	Kaban ve Kaya, 2008
0,83-0,95	Marty ve ark., 2012
0,80-0,90	Öztürk, 2013

Olgunlaşma sıcaklığının mikroorganizma gelişimi üzerinde etkisi bulunmaktadır (Lücke, 1986; Özdemir ve ark., 1996). Mikroorganizmaların üreyebildikleri optimum sıcaklıkları teknolojik olarak önemlidir. *L. plantarum*, 25-35°C'de; *L. sake* ve *L. curvatus* daha düşük sıcaklıklarda iyi gelişir (Lücke, 1986; Lücke ve Hechelmann, 1987). Hammes ve Hertel (1998), *L. sake* ve *L. curvatus*'un fermentasyonda en etkili türler olduklarını belirtmişlerdir. Sucukların olgunlaşması sırasında uygulanan sıcaklık, pH değeri, su aktivitesi ve rutubet üzerinde etkilidir. pH değeri ile su aktivitesi değerlerinin düşmesi ve buna bağlı kuruma süresinin hızlanması olgunlaşma sıcaklığı ile ilgilidir. Çeşitli araştırmacılar tarafından bulunan rutubet değerleri Tablo 1.5'te gösterilmektedir.

Tablo 1.5. Araştırmacılar tarafından bulunan rutubet değerleri

Rutubet değerleri (%)	Kaynak
27,7-30,3	Samelis ve ark.,1998
42,3	Çolak ve Uğur, 2002

36-60	Kayaardı ve Gök, 2003
34-35	Gençcelep, 2006
39-40	Gök, 2006
31,8-60	Bozkurt ve Bayram, 2006
31,11-36,92	Ergönül, 2009
35-38	Öztürk, 2013

Nitrat redüktaz, mikroorganizmaların sitoplazmik membranda bulunan intrasellüler bir enzimdir (Jessen, 1995). Mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak nitratı nitrite dönüştürür. Asit ortam nitritin parçalanmasını sağlayarak renk oluşumunu hızlandırmaktadır (Hammes ve ark., 1990; Wolf ve ark., 1990). Fakat pH'nin hızla düşmesi sonucu nitrat redüktaz enzim aktivitesi engellenerek renk kusurları oluşmaktadır. Bu nedenle gerekli nitrat, nitrite indirgenene kadar pH 5,4'ün altına düşürülmemelidir (Lücke, 1986; Geisen ve ark., 1992). Bazı laktik asit bakterilerinin nitrat redüktaz, hem-bağımlı nitrit redüktaz ve hem-bağımsız nitrit redüktaz aktiviteleri olduğu bildirilmiştir (Hammes ve ark., 1990; Wolf ve ark., 1990). Nitrosomyoglobin oluşumunda etkili olan bu enzimleri taşıyan laktik asit bakterilerinin aktiviteleri düşük seviyededir (Ammor ve Mayo, 2007). Bu enzimleri taşıyan mikroorganizmaların reaksiyonları sonucu nitrosomyoglobin oluşarak ürünün kendine has rengi meydana gelmektedir (Hugas ve Monfort, 1997). Renk değerleri, kullanılan hammadde, katkı maddeleri, starter kültür ve fermentasyon koşullarına göre değişebilmektedir (Öztürk, 2013). Casaburi ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada starter kültürün ve pH'nin renk değişimi üzerinde etkili olmadığını istatistiksel olarak belirlemişlerdir. Sucuklarda renk değişiminin olgunlaşma zamanı ile ilgili olduğu belirtilmektedir. Ürünlerin piyasaya arzında öncelikli önem taşıyan dış görünüşü olup, tüketici tercihlerine bağlı olarak üründe istenilen rengin oluşması önemlidir. Essid ve Hassouna (2013), kontrol ve *L. plantarum* ve *S. xylosus* kültürleri içeren örneklerinde yaptıkları renk analizi sonucunda bu mikroorganizmaların renk parametreleri üzerinde bir etkisi olmadığı sonucuna varmışlardır. Casaburi ve ark. (2008), sucuk renk parametrelerinin yalnızca olgunlaşma zamanıyla ilgili olduğunu, kültür kullanımının bir etkisi olmadığını belirtmişlerdir. Uluslararası Aydınlatma Komisyonu'na göre (CIE=Commission Internationale de l'Eclairage) parlaklık (L*), kırmızılık (a*) ve sarılık (b*) renk değerleri ifade etmektedir.Çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenen kesit yüzey L* değeri Tablo 1.6'da gösterilmektedir.

Tablo 1.6. Araştırmacılar tarafından tespit edilen L* değer sonuçları

L* değeri	Kaynak
-----------	--------

42,79	Dellaglio ve ark.,1996
54,8	Üren ve Babayiğit, 1997
46,87-54,29	Gimeno ve ark.,2000
28	Bozkurt ve Bayram, 2006
47,01-50,23	Ercoşkun, 2006
48	Gök, 2006
35,6-42,9	Kaban, 2007
46,11-46,80	Yürür, 2007
42	Öztürk, 2013
47,03-51,95	Essid ve Hassouna, 2013

Bozkurt ve Bayram (2006) a* değeri ile duyusal renk parametreleri arasında bir ilişki olduğunu belirtmektedir. Nitrozomyoglobin oluşumu ve nem kaybının a* değerini arttırdığı belirtilmektedir (Perez-Alvarez ve ark., 1999). Bazı araştırmacılar tarafından bulunan a* değeri sonuçları Tablo 1.7’de özetlenmektedir.

Tablo 1.7. Araştırmacılar tarafından tespit edilen a* değer sonuçları

a* değeri	Kaynak
27,08	Dellaglio ve ark., 1996
20,44-26,12	Gimeno ve ark., 2000
14,90-15,78	Ensoy ve Kolsarıcı, 2004
14	Gök, 2006
8,9-17,7	Kaban, 2007
11,57-14,18	Ekşi, 2011
16,77-18,39	Öztürk, 2013
12,89-13,66	Essid ve Hassouna, 2013

b* değerinin azalması, mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak oksijenin tükenmesiyle olmaktadır. Böylelikle sarı renk oluşumuna neden olan oksimiyoglobin azalır (Perez-Alvarez ve ark., 1999). Çeşitli araştırmacılar tarafından bulunan b* değeri sonuçları Tablo 1.8’de özetlenmektedir.

Tablo 1.8. Araştırmacılar tarafından tespit edilen b* değer sonuçları

b* değeri	Kaynak
-----------	--------

7,44	Dellaglio ve ark., 1996
13,8	Üren ve Babayiğit, 1997
10,99-17,70	Gimeno ve ark., 2000
8-10	Kayardı ve Gök, 2003
12,96-14,52	Ensoy ve Kolsarıcı, 2004
12,53-15,36	Gök, 2006
11,1-12,6	Kaban, 2007
6,0	Öztürk, 2013
19,98-21,56	Essid ve Hassouna, 2013

Laktik asit bakterileri myofibriler proteinler üzerinde zayıf proteolitik etki gösterirler (Hammes ve ark., 1990; Molly ve ark., 1997; Sanz ve ark., 1999a). Ancak, *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. sake* gibi bazı laktik asit bakterilerinin sarkoplazmik proteinler üzerinde hidrolize edici etkisi bulunmaktadır (Fadda ve ark., 1999a, 1999b; Sanz ve ark., 1999b). Böylelikle mikroorganizmaların sahip olduğu aminopeptidaz aktiviteleri serbest amino asit oluşumunu ve aroma verici maddelerin oluşmasını sağlamaktadır (Papamanoli ve ark., 2003; Ammor ve ark., 2005).

Mikroorganizmalar tarafından açığa çıkan bakteriyosinler duyarlı hücrelerin sitoplazmik membranlarında porlar oluşturarak inhibe edici etkilerini göstermektedirler. Gram negatif mikroorganizmalar bakteriyosin ve molekül ağırlığı 600 Dalton'dan fazla olan diğer bileşenlerden dış membranları sayesinde korunmaktadırlar (Abee ve ark., 1995). Bakteriyosin etkisi *in vitro* sistemlere göre sucuk ortamında daha az etkinlik göstermektedir. Aktiviteleri yağ moleküllerinin bağlanması, proteaz ve diğer enzimlerin bağlanması ile önlenmektedir. Bu kararsız yapıları, hamurda bulunan tuz ve kütleme ajanlarından da etkilebileceğini göstermektedir (Leroy ve De Vuyst, 1999; Schillinger ve ark., 1996). Çeşitli araştırmacılar (Schillinger ve ark., 1991; Hugas ve ark., 1995, 1996; De Martinis ve Franco, 1998) tarafından bazı laktik asit bakterilerinin, sucuklarda patojen mikroorganizmaların üremesine engel olmak amaçlı biyoprotektif olarak kullanılabildiklerini belirtmektedirler. KNK ve laktik asit bakterileri tolere edici veya sinerjik etkileri beraber gösterirler. Örneğin, *L. sake* ile *L. curvatus*, *K. varians* gibi istenmeyen flora gelişimini beraber inhibe ederek önlerler (Hammes ve ark., 1990).

Katalaz aktivitesi üründe renk bozukluğu ve erken acılaşmaya neden olan hidrojen peroksidin, renk ve aroma üzerindeki bu olumsuz etkisini ortadan kaldırmaktadır (Geisen ve

ark., 1992). Olgunlaşma sırasında katalaz pozitif koklar ya hiç gelişmezler ya da çok az gelişme gösterirler. Bu sebeple yüksek konsantrasyonlarda (10^6 - 10^7 kob/g) kullanılması gerekmektedir (Lücke ve Hechelmann, 1987). Birçok laktik asit bakterisi laktatı okside ederek hidrojen peroksit'e dönüştürür. Oluşan bu bileşik, ürünlerde ransiditenin artmasına ve renküzünde olumsuz etki oluşturarak organoleptik özelliklerine etkir. Bazı laktik asit bakterileri (*L. sake*, *L. plantarum*, *L. pentosus*, *P. acidilactici*,..vb.) hem-bağımlı katalaz aktivitesine sahiptir. Fazla miktarda hemin (=demir protoporfirin, katalaz enziminin koenzimi olarak görev alır) içeren bu substratlar et ürünlerinde aktivitelerini göstermektedir (Mares ve ark., 1994; Abriouel ve ark., 2004; Ammor ve ark., 2005). Katalaz aktivitesine sahip mikroorganizmalarda lipit oksidasyonu daha az görülmektedir (Noonpakdee ve ark., 2004).

Starter kültürlerin sucuk ortamında metabolik aktivitelerini yerine getirebilmesi için anaerobik, yüksek oranda tuz içeren, düşük pH değerine sahip ortamda gelişebilmeleri ve hamurun florasında bulunan doğal mikrofloraya karşı rekabetçi özellikte olmaları gerekmektedir. Fermentasyon ve olgunlaşma periyodu boyunca farklı sıcaklıkta gelişme yetenekleri, farklı oranlarda tuz konsantrasyonuna olan dirençleri, pH değişimleri starter kültürlerin gelişim ve rekabet özelliğini etkilemektedir. Örneğin, genel olarak laktik asit bakterileri 15°C'de, %2 NaCl varlığında daha iyi üreyebilirken; *L. sake* ise, 4°C'de, % 6,5 NaCl ve pH'nın 4,2 olduğu daha iyi ortamda gelişebilmektedir (Ammor ve ark., 2005).

Üretim sırasında sucuk hamurundaki tuz konsantrasyonu (Lücke ve Hechelmann, 1987; Montel, 1999), hamurun yoğrulması, fermentasyon ve kuruma sırasında sıcaklık (Baracco ve ark., 1990), fermentasyon sırasında pH değişimi göz önünde bulundurulan niteliklerdir (Montel, 1999). Böylelikle mikroorganizmaların büyüme, asidifikasyon oranı, lag fazı, 4°C'de, 15°C'de, pH 4,2-5,2'de gelişebilme, %4, %10 NaCl konsantrasyonlarında varlığını sürdürebilme starter kültür seçiminde kilit noktalardır (Ammor ve ark., 2005). Seçilecek starter kültürlerin hızlı ve yüksek gelişebilme özelliği, hızlı laktik asit oluşturma yeteneği, yüksek asidifikasyon oranı, farklı sıcaklık ve farklı pH değerlerinde gelişebilme yeteneği, homofermentatif yol ile karbonhidratları parçalama özelliği, katalaz pozitif olması, aroma ve duyuşal özelliklere katkı sağlama özelliği ile patojenlere karşı antagonistik etkiye özellikleri bulunmalıdır (Buckenhüskes, 1993; Holzapfel, 2002).

1.1.2. Mikroorganizmaların Fermentasyon Sırasında Birbirleri ile Etkileşimi

Yapılan fermentasyon çalışmalarında (Hugas ve ark., 1993; Vogel ve ark., 1993) sucuklarda *L. sake* varlığının *L. curvatus*'tan fazla olmasının nedenlerinden biri, üretimin farklı bölgelerde yapılması ile ilişkilendirilmiştir. Diğer nedeni ise, fermente sucuk hamuruna *L. sake*'nin *L. curvatus*'a göre daha iyi adapte olması ile açıklanmıştır (Klein ve ark., 1996; Samelis ve ark., 1998). Bu mikroorganizmaların sucuk kalitesi üzerindeki muhtemel etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç duyulduğu vurgulanmaktadır (Klein ve ark., 1996; Samelis ve ark., 1998).

Olgunlaşmanın kısa sürede yapılması fermentasyonun erken aşamalarında *Lactobacillus* cinslerinin gelişimini desteklerken; tam tersi durum KNK gelişimini desteklemektedir (Iacumin ve ark., 2006). Kısa olgunlaşma periyodu sonunda az oranda aroma bileşenleri oluşurken, asidik bir tat algılanmaktadır. Uzun olgunlaşmada ise düşük oranda asidifikasyon ve çeşitli aroma bileşenlerinin açığa çıktığı gözlemlenmiştir (Demeyer ve ark., 1986). Fermentasyon başlangıcında laktik asit bakterilerinin aktiviteleri ile oluşan asit ortamın olgunlaşma periyodunda *Staphylococcus* cinslerinin aktivitelerine bağlı olarak nötralize edildiği söylenmektedir (Comi ve ark., 2005). *L. sake* ve *L. curvatus*, laktoz fermentasyonunda rekabetçi özellik göstermektedirler. Bu nedenle olgunlaşma döneminin sonunda glikoz, sukroz, maltoz gibi şekerler diğer laktik asit bakterileri tarafından fermente edildiği sırada *L. sake* ve *L. curvatus* oranı artmaktadır (Santos ve ark., 1998).

Samelis ve ark. (1998), 4 farklı sucuk grubunda 3 farklı dönemde yaptıkları çalışmada *L. sake* ve *L. curvatus* türlerinin baskın flora olduğunu açıklarken laktik asit bakterilerinde belirlenen farklılığın, üretimin yapıldığı çevresel flora farklılığı ile ilişkilendirildiği belirtilmiştir. Fermentasyon başlangıcında *L. sake* ve *L. curvatus*'un baskın olan *Carnobacterium* cinslerinin yerini aldığını saptamışlardır (Samelis ve ark., 1998). Papamanoli ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada fermentasyonun birinci gününde *L. sake* ve *L. curvatus* türlerinin; olgunlaşmanın sonunda ise *L. sake*'nin en baskın mikroorganizmalar olduğu sonucuna varmıştır. Yapılan başka bir çalışmada (Danilovic ve ark., 2011) fermentasyonun 9. gününden sonra *L. sake*'nin %50 oranına çıktığı, 30. gününde ise %22'ye düştüğü gözlemlenmiştir. Fermentasyonun sonuna kadar toplam popülasyonun çeyreğini *L. sake*'nin oluşturduğu, *L. curvatus*'un ise sadece 2 örnekte ve %6 oranında bulunduğu belirtilmiştir (Danilovic ve ark., 2011). *L. sake*'nin baskın olması düşük sıcaklık derecelerinde ve yüksek konsantrasyonlu (%9) tuz varlığında gelişebilmesi ile ilişkilendirilmektedir (Hüfner ve ark., 2007). Rungrasamee ve ark. (2012), kültür katılmadan, *L. plantarum* ve *Lactobacillus brevis* inoküle ederek, 3 farklı şekilde üretim yapmışlardır. Kültür katılmayan grupta

fermentasyon süresinde *L. plantarum*'un artış gösterdiği, *L. sake*'deki artışın daha fazla olduğu ancak, fermentasyonun sonuna doğru azalışa geçtiği belirtilmiştir. *L. plantarum* inokulasyonu ile üretilen sucuklarda bu etkenin sürecin sonuna doğru artış gösterdiği, *L. sake*'nin ise oransal olarak *L. plantarum*'dan az ve süreç boyunca hafif düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Fermentasyon sırasında gösterdikleri yarışmacı özellik nedeniyle sucuk üretiminde starter olarak kullanılabilen en iyi iki mikroorganizmanın *L. sake* ve *L. curvatus* olduğu bildirilmiştir (Hammes ve ark., 1990).

Starter kültür olarak kullanılabilen en iyi mikroorganizmalar ürünün kendi florasında bulunanlardır. Bu mikroorganizmalar et ortamına iyi adapte olmalarının yanı sıra ortam mikroflorasına hakim olmaktadır (Drosinos ve ark., 2005). Son zamanlarda, bu mikrofloradan elde edilen mikroorganizmalarla fermentasyon aşamasının optimizasyonunun sağlanması, daha sağlıklı ürün gelişimi, klasik kültürlerle yenilerinin sağlanması amacıyla starter kültür geliştirilmesinin önemi artmaktadır (Ammor ve Mayo, 2007).

1.2.Aroma

Tüketiciler için fermente ürünün kabul edilebilirliği önemlidir. Bunun için de ürünün tadı oldukça önem arz etmektedir. Uçucu bileşenlerin tek başına fermente sucuklarda tat ve koku (aroma) gelişmesinde etkili olmadığı (Stahnke, 1995a, 1995b; Ordonez ve ark., 1999); yüksek oranda uçucu bileşenler (alkoller, ketonlar, aldehitler, esterler, terpenler, alifatik hidrokarbonlar, aromatik hidrokarbonlar ve furanlar) ve uygun miktarlarda da uçucu olmayan bileşenlerin (aminoasitler, peptidler, karbonhidratlar, nükleotidler) bulunması tipik tat ve koku gelişimde etkili olduğu belirtilmektedir (Ordonez ve ark., 1999). Bu bileşenler hammaddelerden gelebildiği gibi (et, baharatlar gibi) mikrobiyel ve endojen enzimlerin aktivitesiyle oluşan glikoliz, lipoliz ve proteoliz yoluyla da oluşabilmektedirler (Leistner, 1985; Lücke, 1986; Bolumar ve ark., 2006; Zeuthen, 2007). Bu metabolik reaksiyonlar ise endojen enzim aktivitesi ve mikrobiyel enzim aktivitesine ek olarak uygulanan teknolojik işleme bağlı olarak şekillenen kimyasal reaksiyonlardan da etkilenmektedir (Montel ve ark., 1998).

Asitlerden, 2-metilpropanoik asit, 2- ve 3-metilbütanoik asit sırasıyla valin, löysin ve izolöysin mikrobiyel metabolizması ile oluşmaktadır. Bu bileşiklerin, ürüne karakteristik

tatlımsı bir koku verdiği bildirilmiştir (Mateo ve Zumalacarregui, 1996). 3-metil 1- bütanol ve 3-metil bütanoik asit löysinden köken almaktadır. Bu bileşikler tipik sucuk aromasında oldukça etkilidir (Stahnke, 1995a; Montel ve ark., 1996). Oluşan bu asitler aroma gelişiminde olumlu etisi olan (Stahnke, 1994), ürünün asit ve alkol içeriğinin arttığı mikrobiyel esteraz aktivitesinin oldukça az olduğu durumlarda meyvemsi tat veren 2-etil veya 3-metil bütanoat bileşiklerine dönüşebilmektedirler (Montel ve ark., 1996). Düşük oranda bulunan uçucu bileşenlerin aromaya katkısı daha fazladır. Asitler (2-metilpropanoik asit, 2- ve 3-metilbütanoik), alkoller (2- ve 3-metilbütanol, 1-okten 3-ol), ketonların (2-bütanon, asetoin) son üründe aroma üzerinde etkileri daha çok olmasına rağmen (Stahnke, 1995a,b), 2 - ve 3-metilbütanal, 2- metilpropanal, benzaldehit gibi bazı aldehit ve etil-2-ve 3-metil bütanoat gibi bazı esterlerin az miktarlarının dahi aroma oluşumunda oldukça etkili olduğu vurgulanmaktadır. Aldehitlerin çoğu lipid oksidasyonu ile oluşmakta istenmeyen lezzet oluşmalarına da sebebiyet verebilmektedirler (Stahnke, 1994). Alkan, alken, aldehit, alkol, keton, furan, karboksilik asit gruplarından açığa çıkan oksidasyon ürünleri, doymamış yağ asitlerinden köken almaktadır. Herhangi bir koku değişikliğine sebep olmayan alkan ve alkenler hariç geri kalan bileşikler ürünün duyuşsal kalitesi üzerinde oldukça kuvvetli etki gösterebilmektedirler (Chizzolini ve ark., 1998).

Dirinck ve ark.'nın (1997) yaptıkları çalışmada yüksek molekül ağırlıklı aldehitlerin aroma üzerindeki etkisi düşük molekül ağırlıklı alken ve alkanların prekürsörlüğünü yaparak ortaya çıkardığı bildirilmiştir. Etil-2-ve 3-metil bütanoat gibi etil esterlerin meyvemsi aroma verdiği ve acı kokuları baskıladığı bildirilmektedir (Stahnke, 1994). Üretim zincirinin son aşaması olan kurutma sırasında alkol oranının azalmasının, 2- ve 3-metilbütanol oranının düşmesiyle paralellik gösterdiği bildirilmiştir (Flores ve ark., 2004). Ansorena ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada tespit edilen alkollerin terpen yapısında olduğunu ve en çok 4-terpineol varlığını belirlemişlerdir. Bunlarla birlikteβ linalool (floral koku), alfa-terpineol (şeftali kokusu), geraniol (gül kokusu) ve feniletanol (tatlımsı gül kokusu) gibi alkol bileşiklerini de tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Aromatik hidrokarbonların belli miktarlarda sucuklarda bulunabildiğı bildirilmiştir (Kaban, 2010). Hayvansal yem kaynaklı bu bileşenler ksilen, stiren ve toluenedir. Toluenin lipidlerin degradasyonu yoluyla oluşabileceğine dair bilgiler bulunmaktadır (Berdague ve ark., 1993; Meynier ve ark., 1999).

Sucuğa katılan baharatlar, uçucu bileşenlerin temel grubu olan terpen oluşumunda oldukça önem arz etmektedir (Kaban ve Kaya, 2009; Kaban, 2010). Yapılan çalışmalarda

terpenlerin olgunlaşma periyodu boyunca artış gösterdiği bildirilmektedir. Olgunlaşma periyodu boyunca o-simen yüksek oranlarda tespit edilmiştir (Kaban ve Kaya, 2009). Bu bileşenin kimyondan köken aldığı bildirilmektedir (Iacobellis ve ark., 2005). Gama terpen, kimyon, kırmızıbiber ve diğer bileşenlerden köken alan ve oldukça yüksek miktarlarda bulunan bir bileşiktir. β -mirsen, α -fellandren, karene ve α -terpen starter kültürlü sucuklarda olgunlaşmanın son günlerinde oldukça yoğun olarak tespit edilmiştir (Kaban ve Kaya, 2009). Esterler, her zaman fermente sucuklarda bulunmayabilir (Berger ve ark., 1990). Laktik asit bakterilerinden ve nitrit katkısından dolayı ester yapılarının değişebildiği bildirilmiştir (Stahnke, 1995a). Sucuğa katılan önemli baharatlardan biri olan kimyonda kumin aldehitler bulunmaktadır. Kimyondan köken alan bir diğer önemli bileşik ise 2-metil 3-fenilpropanal olup, bu bileşiğin hem starter kültürlü hem de starter kültürsüz üretimi yapılmış sucuklarda varlığı rapor edilmiştir (Kaban ve Kaya, 2009). Sucuk üretiminde önemli bir yere sahip (Gökalp ve ark., 1995) olan ve sucuk formülasyonunda bulunan sarımsak, önemli bir sülfür kaynağıdır (Toldra ve ark., 2001). Alifatik sülfür bileşenlerinin (dialil disülfid, dimetil disülfid) sarımsaktan köken aldıkları bildirilmektedir (Kaban ve Kaya, 2009).

Olgunlaşma sırasında lipidlerde meydana gelen hidrolitik ve oksidatif değişiklikler sonucu da lezzet bileşikleri ortaya çıkmaktadır. Bu lipolitik değişiklikler, sucuğun kendine özgü karakteristik koku ve tadının oluşmasını sağlamaktadır (Toldra ve ark., 2001). Sucukta bulunan lipolitik enzimler, sucuk yağını hidrolize ederek diğliserit, monogliserit, serbest yağ asitleri ve gliserol oluşumunu sağlamaktadırlar. Lipoliz oluşumunda başlıca rol oynayan endojen enzim (lipaz ve fosfolipaz) (Molly ve ark.,1997) ve ekzojen enzim aktivitesi ile meydana gelen lipoliz, serbest yağ asidi miktarında artış meydana getirmektedir (Ensoy ve Kolsarıcı 2004).

1.2.1. Mikroorganizmaların Aroma Üzerine Etkisi

Uzun olgunlaşma periyodu ile geleneksel üretimi yapılan sucuklar spontan floranın metabolik aktivasyonu sonucu endüstriyel üretimi yapılanlara göre arzu edilir aromaya sahip olurlar (Samelis ve ark., 1998). Farklı teknolojilerle üretimi yapılan sucuklarda en çok izole edilen laktik asit bakterilerinin *L. sake*, *L. curvatus* ve *L. plantarum* olduğu belirtilmektedir (Hammes, 1990; Hugas ve ark., 1993; Aymerich ve ark., 2003; Papamanoli ve ark., 2003; Aquilanti ve ark., 2007; Drosinos ve ark., 2007; Cocolin ve ark., 2011; Talon ve Leroy, 2011). *L. plantarum*'un üründe sebep olduğu aşırı asidite tüketiciler tarafından arzu edilmemektedir. *L. plantarum* gibi *L. curvatus*'un da üründe arzu edilmeyen asidite oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir (Garriga ve ark., 1996). *Staphylococcus* cinsleri ise pH değerinde artış meydana getirerek oluşacak aşırı asiditenin önüne geçebilmektedirler (Selgas ve ark., 1986). *Staphylococcus* cinslerinin doku lipazları ile birlikte lipoliz reaksiyonlarında rol oynayarak aroma üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir (Hugas ve Monfort, 1997). Reuter (1971), *L. sake* ve *L. curvatus* türlerinin *in vitro* olarak lipolitik etkilerini göstermiş olmasına rağmen bu zamana kadar fermente sucuklarda *Lactobacillus* cinsleri tarafından gerçekleştirilen lipoliz reaksiyonlarının önemi araştırılmamıştır. *Lactobacillus* cinslerinin proteolitik aktivitelerinin *in vivo* çalışmalarda (Hugas ve Monfort, 1997) ortaya çıkartılmıştır. Daha fazla çalışma ile *Lactobacillus* cinslerini duyuşal ve teknolojik standartlara uygun ürün oluşumunda starter kültür olarak kullanılması araştırılmalıdır (Hugas ve Monfort, 1997).

Laktik asit bakterileri aroma üzerine etkisini; laktik asit, asetik asit üretiminin yanı sıra karbonhidrat fermentasyonu sonucu açığa çıkan uçucu bileşenler vasıtasıyla da gösterebilmektedirler (Molly ve ark., 1996). *Lactobacillus* spp. ekzopeptidazları, kas aminopeptidazları ile birlikte aromaya katkıda bulunan serbest aminoasit oluşumunu sağlamaktadırlar (Demeyer ve ark., 2000). Sucuklardan izole edilen laktik asit bakterilerinin yüksek oranda löysin ve valin aminopeptidaz aktivitesi gösterdiği bildirilmektedir (Papamanoli ve ark., 2003). Ancak, *Staphylococcus* cinslerinde olduğu gibi laktik asit bakterilerinin de düşük oranda aminoasit katabolizmasında (valin, lösin, izolosin gibi) rol oynamaları da 3-metil butanal gibi tipik sucuk aroma bileşenlerinin oluşumuna katılmadıklarını göstermektedir (Larrouture ve ark., 2000).

Mikroorganizmaların, karbonhidrat fermentasyonu yoluyla açığa çıkardıkları büyük miktarda laktik asit ve az bir miktarda asetik asit ile aroma üzerinde etki oluşturmaktadır (Molly ve ark., 1996). Açığa çıkan bu bileşenlerden laktik asit keskin tat oluşumuna neden olur. Kullanılan stater kültürün özelliğine, kullanılan karbonhidrat türü, miktarına ve katkı maddelerinin kaynağına bağlı olarak belirli oranlarda asetik asit, etanol, asetoin, karbondioksit, pürivik asit açığa çıkmaktadır (Bacus, 1986). Kaban (2010), çalışmasının bütün örneklerinde asetik asitsaptamıştır. Fakat, Ansorena ve ark. (2001) ve Meynier ve ark. (1998) yaptıkları çalışmalarda asetik asit belirlememişlerdir. Asetik asit, laktik asit bakterileri ve *Staphylococcus* spp. tarafından oluşturulabildiği gibi aminoasit katabolizması ve lipid oksidasyonu yoluyla da oluşabilmektedir (Montel ve ark., 1998). Bu mikroorganizmaların güçlü bir şekilde proteolitik ve lipolitik reaksiyon gösteremedikleri bildirilmektedir (Leroy ve ark., 2006). Yapılan bir çalışmada *L. curvatus*'un proteolizis reaksiyonlarında önemli rol aldığı söylenmektedir (Casaburi ve ark., 2007). Ürünlerde esas proteolitik etkinin laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirildiği gösterilmiştir (Ordenez ve ark., 1999). Yapılan çalışmada (Ordenez ve ark., 1999) *Staphylococcus* cinslerinin *in vivo* ortamda *in vitro* ortama göre zayıf proteolitik aktivite gösterdiği belirtilmektedir. Peptit, amino asit, aldehit, serbest yağ asitleri gibi aroma oluşmasına katkıda bulunan düşük molekül ağırlıklı bu maddeler mikroorganizmaların proteolitik ve lipolitik reaksiyonları ile açığa çıkmaktadır (Simonova ve ark., 2006). Bazı *in vitro* çalışmalarda (Hugas ve Monfort, 1997; Lopes ve ark., 1999; Papamanoli ve ark., 2003) *L. sake*, *L. curvatus* ve *L. plantarum*'un lipolitik aktivitelerinin varlığı kanıtlanmaktadır.

Laktik asit bakterilerinin gerçekleştirdiği enzimatik yıkımlanma transaminasyon yoluyla ya da 2-okzoasit (ketoasit) yoluyla gerçekleşmektedir (Yvon ve Rijnen, 2001). Bu asitler dekarboksile olarak aldehitleri oluştururlar. Aldehitlerden, alkol dehidrogenaz enziminin etkisiyle alkoller açığa çıkmaktadır (Larroure ve ark., 2000). Aroma gelişiminde asetoin üretiminin önemli bir özellik olduğu belirtilmektedir (Coppola ve ark., 1998). Laktik asit bakterilerine göre, Gram pozitif, katalaz pozitif kokların aroma üzerindeki etkisinin daha fazla olduğu bilinmektedir (Leroy ve ark., 2006). *S. xylosus*'un dallanmış amino asit metabolizması ve serbest yağ asitleri oluşturması sonucu aroma gelişimine katkı sağladığı bildirilmektedir (Stahnke ve ark. 2002; Beck ve ark., 2004; Olesen ve ark., 2004; Tjener ve ark., 2004a,b).

Aroma gelişimi, sucuk üretiminde uygulanan teknolojiye ve çeşitliliğe bağlı olarak değişmektedir. Hızlı olgunlaştırılan sucuklarda *Staphylococcus* cinslerinin sayısı artarak dallanmış metil aldehit oluşumu sağlanırken, yavaş olgunlaştırılanlarda durum daha kompleks bir hal almaktadır. Yoğun olarak dallanmış metil asit ve sülfidlerin, az miktarlarda diasetil ve etil esterlerin oluşumu aroma gelişimini sağlamaktadır (Tjener ve ark., 2004b). Arzu edilen aromanın gelişmesi sucuğa katılan *Staphylococcus* cinsinin düzeyi ile oluşturulabilmektedir. Bunlara ilave olarak ürüne katılan diğer maddeler, çevresel koşullar, üretim öncesi mevcut koşullar aroma gelişimine etki etmektedir (Olesen ve ark., 2004). Yapılan çalışmalarda *S. xylosus*'un laktik asit bakterilerine göre daha az asidik lezzet oluşumunu sağladığı ve daha çok arzu edilen aromanın oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmektedir (Samelis ve ark., 1998). Barriere ve ark. (2001) *S. xylosus*'un karbonhidrat metabolizması ile bütanol, 1,3- ve 2,3-bütanediol açığa çıkardığını belirlemişlerdir.

Staphylococcus cinslerinin tat gelişimine katkısının yanında, nitrat redüktaz enzimleri vasıtasıyla açığa çıkardıkları nitritin, antioksidan aktivitesi (Talon ve ark., 1999) istenmeyen lezzet oluşumuna engel olmaktadır (Montel ve ark., 1998). Barriere ve ark. (2001) *S. xylosus*'un lipit oksidasyonunu önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Laktik asit bakterilerinin antioksidan aktiviteleri, lipit oksidasyonunu stimüle eden metal iyonları ile şelat yapmasından ileri geldiği savunulmaktadır (Halliwell, 1994; Lin ve Yen, 1999).

Amino asitlerin sucukta bulunan mikroorganizmalar tarafından parçalanması ürünün lezzet ve aroma oluşumunda etkilidir (Ensoy ve Kolsarıcı, 2004). Yapılan çalışmada (Demeyer ve Stahnke, 2002) çeşitli *Staphylococcus* cinslerinin 2- ve 3-metilbütanal, 2-metilpropanal, 2- ve 3-metilbütanoik asit, 2-metilpropanoik asit, 2- ve 3-metilbütanol, etil-2- ve 3-metil bütanoat, metional, fenilasetaldehit, feniletanol gibi aroma bileşinlerin oluşmasında etkili olduğu bildirilmektedir.

Lactobacillus cinsleri genellikle zayıf lipolitik aktiviteye sahipken (Toldra ve ark., 2001), *Staphylococcus* cinslerinin lipolitik aktivitelerinin daha fazla olduğu bildirilmektedir (Montel ve ark., 1998). Ayrıca, lipolitik aktiviteye sahip bazı starter kültürlerin ürüne katılmasıyla lezzetin gelişmesine ek olarak, olgunlaşma daha kısa sürede meydana gelmektedir (Molly ve ark., 1997). *L. plantarum*'un lipolitik aktiviteye sahip bir mikroorganizma olduğu bildirilmektedir (Zalacain ve ark., 1997). Yapılan bir araştırmada (Berdague ve ark., 1993), lipit oksidasyonu sonucu oluşan uçucu bileşinlerin

dallanmamış alkanlar, alkenler, metil ketonlar, 1-okten 3-ol gibi alkoller ve bazı furanlar olduğu ve aroma gelişiminde etkili olduğu belirtilmektedir. Yaman ve ark. (1998) elde ettikleri *L. plantarum* suşlarından bazılarının üründe arzu edilmeyen tat oluşumuna sebep olan diasetil oluşturduğugöstermişlerdir. Bu durum suşun starter olarak kullanılması bakımından dezavantaj oluştursa da yaptıkları model çalışmada açığa çıkan diasetil miktarı oldukça az olduğundan arzu edilmeyen tat oluşumu belirlememişlerdir (Yaman ve ark.,1998).

Türkiye’deüretimi yapılan fermente sucuklarda genel mikrobiyel profil üzerinde daha çok durulmaktadır. Daha önce geleneksel metotlarla üretilmiş sucukların sahip olduğu floranın tanımlanması ve bu ürünlerde uçucu bileşen tayini ile ilgili literatür bilgisi oldukça az bulunmaktadır.

1.3.Genetik Çalışmalar

Laktik asit bakterileri, benzer çevre şartlarında ve besinler varlığında üremektedir. Bunun yanı sıra büyüme şartları hücre morfolojilerini etkileyebilmektedir. Bu nedenle gen ve tür düzeyinde doğrulama için fenotipik ve biyokimyasal metotlar zaman zaman doğru sonuçlar vermeyebilmektedir. Günümüzde laktik asit bakterilerinin identifikasyonunda daha güvenilir ve doğru sonuç veren moleküler yöntemlere karşı ilgi artmaktadır (Babalola, 2003). Mikroorganizmalarda rRNA’yı (ribozomal ribonükleotid) kodlayan 3 gen bölgesi bulunmaktadır. Bu bölgeler de ara bölgelerle ayrılır. Bu bölgeler sekansta, gen ve tür seviyesinde uzunluk bakımından farklılık gösterir. rRNA’yı kodlayan 16S ve 23S rRNA gen bölgeleri korunmuş dizileri içerirler. Bu gen bölgelerine özgü primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR, Polymerase Chain Reaction=PCR) işlemi gerçekleştirilebilmektedir (Leblond-Bourget ve ark., 1996). 16-23S rRNA gen bölgelerinin çoğaltılması iç transkribe edilen ayırıcı bölge PZR (ITS-PCR=Internal Transcribed Spacer PCR/ Genler Arası 16S-23S rRNA Ayırıcı Bölge PZR= Intergenic 16S-23S rRNA Spacer Region PCR) olarak adlandırılmaktadır (Toth ve ark.,2001).Klaenhammer (1993), taksonomik çalışmalara yardımcı olan 16S rRNA sekansları içeren veri bankaları kurulduğunu belirtmektedir. Bu gen bölgelerinin DNA sekansının laktik asit bakterilerinin belirlenmesi, doğrulanması ve sınıflandırılmasında oldukça önemli bilgiler verdiği söylenmektedir (Collins ve ark., 1991;Comi ve ark., 2005).

Mikroorganizmaların klasik sınıflandırılması; morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleriyle yapılmıştır. Bu sınıflandırma daha sonra hücre duvarı kompozisyonu, hücre yağ asitleri, organik bileşiklerin varlığı araştırılarak genişletilmiştir (Stiles ve Holzapfel, 1997).Günümüzde sınıflandırmadaki değişiklikler, mikroorganizma DNA'sındaki nükleotit oranları (G + C içeriği) ile saptanmaktadır. Kesin olmamasının yanında %50'den daha az G + C içeriği, geniş dizilimli cinslerin alt dallara ayrılmasında kullanılmaktadır (Stackebrand ve Teuber, 1988). Buna ek olarak izole edilen genlerin elektroforetik özellikleri, DNA ve RNA yapısı ve sıralanması gibi moleküler özellikleri sınıflandırmada kullanılmaktadır. Bu teknikler sınıflandırmada önemli değişikliklerin oluşmasını sağlamıştır (Stiles ve Holzapfel, 1997). İlk zamanlarda sınıflandırma fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal özelliklerin araştırıldığı fenotipik karakterlerle yapılmıştır (Stiles ve Holzapfel, 1997; Gobbetti ve ark., 2005). Günümüzde keşfedilen yeni soylar bu sebeple bilinmemekteydi (Yörük ve Güner, 2011). Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar sonucu ortaya çıkarılan temel laktik asit bakteri soylarını *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenecoccus*, *Carnobacterium* ve *Weissellacinsleri* oluşturmaktadır (Stiles ve Holzapfel, 1997; Endo ve Okada, 2005; Tangüler ve Erten, 2006).

Fizyolojik olarak birbiri ile ilgisi gözlenmeyen yakın akraba türlerin tanımlanmasında ve sınıflandırılmasında zorluk çekilmektedir. Bu zorluk moleküler tekniklerin ayırt edici olarak kullanılmasıyla aşılmıştır. Bu da daha fazla mikroorganizma tanınmasına olanak sağlamıştır (Schleifer ve ark., 1995). Fenotipik metotlar ile kesinlik arz etmeyen sonuçlar, çalışmaları DNA-DNA hibridizasyonu, dizi analizi, gen problarının kullanımı ve PZR gibi metotlara yönlendirdiği belirtilmektedir. Doğruluğu ve seçiciliği güçlü testler ile türler arası farklar tespit edilebilmektedir. PZR temelli metotlar geliştirilmesi mikroorganizmaların hızlı ve doğru şekilde tanımlanmasında yeni alternatifler oluşturur. 16S rRNA gen dizilimlerinin erişiminin kolay olması, diğer gen bölgelerine göre daha kolay ve net belirlenebilmesi sebebiyle mikroorganizma tür doğrulanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Case ve ark., 2007).Moleküler biyoloji metotlarının kullanımı ile 16S rRNA'yı kodlayan sekansların karşılaştırılmasının (Stiles ve Holzaphel, 1997) taksonomik çalışmalarda (Dykes ve Von Holy 1994; Giraffa ve Neviani, 2000) önemli yer tuttuğu bildirilmektedir Kullanılan primerler, rRNA gen bölgesini kodlayan bölgeleri hedef almaktadır. Bu gen bölgelerinde türler arasında değişkenliğin yüksek oranda olması; 16S ve 23 S rRNA'yı kodlayan rDNA sekanslarının geçerliliğini ortaya koyduğu ifade edilmektedir (Berthier ve Ehrlich, 1999). Bu moleküller üzerine kurulu genetik bilgiler birbiri ile çok yakın akraba türlerin ayrımında ve

korunmasında kullanılmaktadır. 16S ve 23S rRNA sekans analizleri bakterilerin tanımlanmasında kesin ve güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Barry ve ark., 1991; Vandamme ve ark.,1996). Bu sonuçlar; laktik asit bakterilerinin taksonomisinde birçok değişikliğe neden olmuştur. Çalışmalar sonucunda *L. casei* yeniden tanımlanmıştır (Dicks ve ark.,1996). Aynı zamanda ITS-PZR *Staphylococcus* cinslerinde başlıca ayırıcı metot olarak kullanılmaktadır (Forsman ve ark., 1997;Mendoza ve ark., 1998; Villard ve ark., 2000; Couto ve ark., 2001; Hauschild, 2001; Marsou ve ark., 2001; Rossi ve ark., 2001). Ancak bu metotla elde edilen sonuçlar birbirinden farklılık göstermiştir. Bir grup araştırmacı (Forsman ve ark., 1997; Mendoza ve ark., 1998; Villard ve ark., 2000)çalışmalarında yüksek oranda polimorfizmlere rastlarken, diğer grup araştırmacı(Couto ve ark., 2001)ise düşük oranda farklılık elde etmişlerdir.Bu sebeple sadece ITS-PZR polimorfizmleri ile tür düzeyinde *Staphylococcus* spp. ayırımı güvenilir olmamaktadır. Bu moleküler metodun güvenilirliğini arttırmak için 16S rDNA sekanslama yapılması önerilmektedir (Blaiotta ve ark., 2003). Özellikle fermente et ürünlerinin yoğun matriksi, çok sayıda PZR inhibitörü varlığına sebep olmaktadır. Çalışmaların tam ve doğru bir şekilde yapılabilmesi için klasik kültür metodlarıyla birlikte genetik doğrulamaya gidilmesi gerekmektedir (Taylor ve ark., 2005).

Geleneksel olarak üretilen sucuklarda hammadde kaynaklı house floranın arzu edilen fermentasyonu gerçekleştirmesi, kolonizasyonunun ticari kültürlerle göre üstün olması, yeni starter kültür olarak geliştirilmesinde etkili olmaktadır. Kasap sucukları olarak tanımlanan bu ürünlerde yerli kültürleri saptayarak bunların starter kültür olarak kullanımının araştırılması hedeflenmektedir. Bu sebeple, sunulan çalışmada Afyonkarahisar'da geleneksel yolla üretimi yapılan sucuk hamurlarında *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. sakeve S. xylosus*izolasyonu ve moleküler metotlarla doğrulanması ve suşların filogenetik sınıflandırılmasının yapılması amaçlanmıştır. Ayrıca, elde edilecek bu izolatlarla tüketici damak zevkine uygun aromaya sahip sucuk üretiminin gerçekleştirilmesi, bu ürünlerin uçucu bileşen tayinlerinin yapılarak Türkiye'deki mevcut çalışmalara bir yenisinin eklemesi de amaçlanmaktadır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Araştırmada *L. plantarum*, *L.sake*, *L. curvatus*, *S. xylosus* izolasyonu ve identifikasyonu amacıyla geleneksel yöntemle sucuk üretimi yapan firmalardan farklı zamanlarda toplam 16 adet sucuk hamuru toplandı. Numuneler izolasyon aşaması tamamlanana kadar 4°C’de buzdolabında muhafaza edildi. Aseptik şartlarda laboratuara getirilen sucuk numunelerinden 25’er g tartılıp, üzerine 225’er ml steril fizyolojik tuzlu su ilave edilerek, karışım stomacherde (AES Easy Mix) 1.5 dk homojenize edildi.

Sucuk numunelerinin steril fizyolojik tuzlu su ile hazırlanan uygun dilüsyonlarından laktik asit bakterileri için De Man Ragosa Sharpe agara (MRS, Merck VM694860 533), *S. xylosus* için Mannitol Salt Phenol-Red agara (MSA, Merck VM676904 516) yayma plak yöntemiyle ekimleri yapıldı. Laktik asit bakterileri 30°C’de 48 s anaerobik koşullarda, *S. xylosus* 30°C’de 48 s aerobik koşullarda inkübasyona bırakıldı (Urso ve ark., 2006; Kaban ve Kaya, 2008).

2.2. Metot

2.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu

2.2.1.1. Laktik Asit Bakterilerinin Biyokimyasal Testleri

İzolasyonun ve identifikasyonun her aşamasında *L. plantarum* ATCC 8014, *L. sake* ATCC 15521, *L. curvatus* ATCC 25601 pozitif kontrol suşları kullanıldı. Laktik asit bakterileri için rastgele seçilen De Man Ragosa Sharpe Agarların (MRS, Merck VM694860 533) her birinden renksiz 10 koloni seçilerek, her bir koloni De Man Ragosa Sharpe Brotha (MRS, Merck VM618961 404) inoküle edildi ve 37°C’de 24 s anaerobik şartlarda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüm izolatların De Man Ragosa Sharpe Agara (MRS, Merck VM694860 533) ekimi yapıldı. Bu uygulama iki kez gerçekleştirilerek izolatların saflaşması sağlandı (Gürakan ve ark., 1995). Saflaştırılan bütün izolatlar için Gram boyama yapılarak,

mikroskobik morfolojisi incelendi. Gram pozitif kokoid-çomak şeklinde morfolojiye sahip izolatlar, %30 gliserol içeren MRS brotlarda -80°C’de biyokimyasal testler uygulanıncaya kadar muhafaza edildi (Papamanoli ve ark., 2003; Kaban ve Kaya, 2008).

2.2.1.1.a. Glikozdan Gaz Oluşturma Yetenekleri

Glikozdan gaz oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla, MRS Brothlarda muhafaza edilen izolatlar öze yardımıyla alınıp MRS brotlara inoküle edilerek 37°C’de 24 anaerobik şartlarda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda kültür 5000 rpm’de 10 dk santrifüj edildi ve kültürden 1 ml alınıp durham tüpleri bulunan Metil Red-Voges Proskauer Medium’lara (MR-VP,Oxoid CM0043B) aktarıldı. Kültür, 37°C’de 24 s inkübasyona bırakıldı (Facklam ve ark., 2002).

2.2.1.1.b. Farklı Sıcaklıklarda Üreme Yetenekleri

İzolatların, farklı sıcaklıklarda üreme yetenekleri,MRSbrothlara ekimleri yapılarak, 3 gün 45°C’de, 7 gün 4°C’de inkübasyona bırakılarak belirlendi (Gürakan ve ark., 1995).

2.2.1.1.c. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Üreme Yetenekleri

Tuz konsantrasyonunda üreme yetenekleri %7, %10 ve %15 oranlarında tuz içeren MRSbrothlaraekim yapılarak 37°C’de 24 s inkübasyona bırakılarak belirlendi (Gürakan ve ark., 1995).

2.2.1.1.d. pH 3,9’da Üreme Yetenekleri

pH 3,9’da üreme yeteneklerihidroklorik asit(HCl) ile pH’sı 3,9 olarak ayarlanan MRS brotlarda 37°C’de 24 s inkübe edilerek belirlendi (Gürakan ve ark., 1995).

2.2.1.1.e. Voges Proskauer-Metil Red Testi

Voges proskauer ve metil red testi için MR-VP mediyuma öze ile alınan koloniler 37°C'de 48 s inkübasyonda bırakıldı. İnkübasyon sonunda, metil red testi için metil red ayıracı damlatıldı. Voges Proskauer testi için inkübasyon sonunda %40'lık potasyum hidroksit (KOH) ve %5'lik alfa-naftol damlatılarak oluşan renk reaksiyonuna göre değerlendirme yapıldı (Iversen ve ark., 2006).

2.2.1.1.f. Arjinin Testi

Arjinin hidrolizini tayin etmek amacı ile glikoz ve et ekstraktı içermeyen, %0,3 arjinin, amonyum sitrat yerine %0,2 sodyum sitrat içeren MRS brotlarda, 37°C'de 48 s inkübasyon sonunda civa II klorür, potasyum iyodür, potasyum hidroksit ile hazırlanan Nessler ayıracı ile değerlendirme yapıldı (Coppola ve ark., 1998).

2.2.1.1.g. Karbonhidrat Fermentasyon Testi

Karbonhidrat fermentasyon testleri, üretici firmanın belirttiği koşullarda API CHL 50 (Biomérieux) test kiti kullanılarak yapıldı. Bu amaçla; kültürlerin MRS agara ekimi yapıldı ve üretici firmanın kullanım talimatları doğrultusunda besiyerinden tüm eküvyon alınarak süspansiyon mediyumlarda aktarıldı. API 50 CHL mediyumlarda 2 McFarland bulanıklığına getirildi. Steril pipet yardımıyla bakteri süspansiyonaları test striplere dağıtıldı. Hava kabarcığı oluşmasına engel olarak anaerobik şartlar oluşması için mineral yağ damlatıldı. Test stripleri 37°C'de 48 s inkübasyona bırakıldı.

2.2.1.2. Laktik Asit Bakterilerinin PZR ile Doğrulanması

L. plantarum, *L. sake*, *L. curvatus* bakterilerinin 16S-23S rRNA genler arası ayırıcı bölgelerinde bulunan türe özgü primerler Tablo 2.1’de gösterilmektedir.

Tablo 2.1. Laktik asit bakterileri için PZR metodunda kullanılan oligonükleotid primer çiftleri

Hedef Genler	Primer Sekansı (5'-3')	Primer	Kaynak
16S rRNA 3'	F: GCTGGATCACCTCCTTTC	16	Berthier ve Ehrlich, 1998
23S rRNA 5'	R: AGTGCCAAGGCATCCACC	23	Berthier ve Ehrlich, 1998
<i>L. plantarum</i> 16S-23SrRNA SR	F: GCTGGATCACCTCCTTTC	16S	Berthier ve Ehrlich, 1998
	R: ATGAGGTATTCAACTTATG	Lpl	Berthier ve Ehrlich, 1998
<i>L. sake</i> 16S-23SrRNA SR	F: GCTGGATCACCTCCTTTC	16S	Berthier ve Ehrlich, 1998
	R: ATGAAACTATTAAATTGGTAC	Ls	Berthier ve Ehrlich, 1998
<i>L. curvatus</i> 16S-23SrRNA SR	F: GCTGGATCACCTCCTTTC	16S	Berthier ve Ehrlich, 1998
	R: TTGGTACTATTTAATTCTTAG	Lc	Berthier ve Ehrlich, 1998

DNA ekstraksiyonu üretici firmanın belirttiği koşullar altında DNA saflaştırma kiti (Thermo Scientific, GeneJET Genomic DNA Purification Kit, K0721) kullanılarak yapıldı. Laktik asit bakterileri ve pozitif kontrol suşları için ticari kit protokolü doğrultusunda DNA ekstraksiyonu şu şekilde gerçekleştirildi:

- $2,0 \times 10^9$ kob/g mikroorganizma 1,5 ml hacminde mikrosantrifüj tüpünde 10 dk 5000 rpm santrifüj edildi. Süpernatant atıldı.
- Pelete 180 µl lizis buffer eklendi ve 37°C’de 30 dk inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra 200 µl lizis solüsyonu ve 200 µl proteinaz K eklenerek vortekslendi.
- Örnek, hücreler tamamen lize olana kadar 56°C’de 30 dk vortekslendi.

- 20 µl RNase A eklenerek 10 dk oda sıcaklığında vortekslendi.
- 400 µl %50'lik etanol eklendi ve vortekslendi.
- Hazırlanan lizat, GeneJet Genomic DNA purifikasyon cümündaki tüplere aktarılarak 6000 rpm 1 dk santrifüj edildi. Örnek, 2 ml'lik tüplere aktarıldı.
- 500 µl Wash Buffer I eklenerek 1 dk 8000 rpm santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı.
- 500 µl Wash Buffer II eklenerek 3 dk 12000 rpm'de santrifüj edildi.
- 200 µl Elution Buffer eklenerek oda sıcaklığında 2 dk inkübasyona bırakıldı. 1 dk 8000 rpm'de santrifüj edildi.
- Son olarak, purifikasyon kolonu atıldı. Elde edilen DNA -20°C'de muhafaza edildi.

DNA ekstraksiyonları gerçekleştirilen laktik asit bakterileri için, PZR amplifikasyonu, Kesmen ve ark.'nın (2012) metodu ile ticari kitin kullanım talimatları doğrultusunda, toplam 50 µl hacimde gerçekleştirildi. Bileşiminde 25 µl ticari PZR master mix, her bir primerden 0,1-1,0 µM ve 10 pg-1 µg template DNA içeren 50 µl'lik karışım homojenize edildi. Amplifikasyon koşulları aşağıda belirtilmiştir;

L. plantarum için, thermal cycler'da (Thermal Cycler, Biocycler, TC-S, Programmable thermostat) 94°C'de 5 dk ilk denatürasyon işleminin ardından, 30 siklus 94°C'de 1 dk denatürasyon, 53°C'de 1 dk bağlanma ve 72°C'de 1 dk DNA uzatma ve son olarak 72°C'de 7 dk son uzatma yapıldı (Berthier ve Ehrlich, 1998).

L. sake için, thermal cycler'da 94°C'de 5 dk ilk denatürasyon işleminin ardından, 20 siklus 94°C'de 1 dk denatürasyon, 45°C'de 1 dk bağlanma ve 72°C'de 1 dk DNA uzatma ve son olarak 72°C'de 7 dk son uzatma yapıldı (Aymerich ve ark., 2003).

L. curvatus için, thermal cycler'da 94°C'de 5 dk ilk denatürasyon işleminin ardından, 20 siklus 94°C'de 1 dk denatürasyon, 50°C'de 1 dk bağlanma ve 72°C'de 1 dk DNA uzatma ve son olarak 72°C'de 7 dk son uzatma yapıldı (Aymerich ve ark., 2003).

Elde edilen PZR ürünleri yükleme boyası ile boyanıp, %6 oranında ethidium bromid içeren %1,5'lük agaroz jele yüklendi. Ürünler, 100 volt elektrik akımında 1s yürütülerek

elektroforez işlemi tamamlandı (Aymerich ve ark., 2003; Ammor ve ark., 2005). Agaroz jel, spesifik bantlar yönünden UV transilüminatörde (Syngene, GVM20, UK)değerlendirildi.

2.2.2. *Staphylococcus* spp. İzolasyonu ve İdentifikasyonu

2.2.2.1. *Staphylococcus* spp. Biyokimyasal Testleri

İzolasyon ve identifikasyonun her aşamasında *S. xylosus* ATCC 29971 pozitif kontrol suşu kullanıldı. *S. xylosus*'un belirlenmesinde, rastgele seçilen Mannitol Salt agarlardan (MSA, Merck, VM676904 516) 10 koloni toplanıp, izolatlar Tryptone Soya agar (TSA, Oxoid, CM0131B)ve Tryptone Soya brothlarda (TSB, Oxoid, CM0129B) 37°C'de 24 s aerobik şartlarda inkübasyona bırakılarak tek düşmüş koloni elde edilene kadar saflaştırıldı. Saflaştırılan izolatlar Gram boyama ve katalaz testi uygulandı. Gram pozitif ve katalaz pozitif olarak belirlenen izolatlar %30 gliserol içeren Brain Heart Infusionbrothta (BHI Broth, Oxoid, CM1135B) –80°C'de muhafaza edildi. Gram pozitif kok şeklinde ve katalaz pozitif izolatlar için *Staphylococcus* ve *Kocuriacinsleri* yönünden ayrımı için oksidaz testi, furazolidon duyarlılık testi, lizostafin duyarlılık testi, jelatin hidrolizi testi ve simmon sitrat agarda üreme yetenek testi yapıldı.

2.2.2.1.a. Oksidaz Testi

Oksidaz testi için,agarda üremiş bir koloni öze ile alınarak, oksidaz test kağıdında (Merck, Bactident, Oxidase) emdirildi. Sonuç, 20-60 sn içinde mavi menekşe renk oluşumuna göre değerlendirildi (Anon, 2015b).

2.2.2.1.b. Furazolidon ve Lizostafin Duyarlılık Testi

Furazolidon duyarlılık testi için, 0,5 McFarland bulanıklığına getirilen kolonilerin Mueller Hinton agara (MHA, Oxoid, CM0337B)ekimi yapıлып, petrilere furazolidon diskleri (Oxoid, DD 0028) yerleştirildi.Petriler, 35°C'de 18-24 s aerobik ortamda inkübasyonda tutulduktan sonra değerlendirildi (Winn ve ark., 2006).Lizostafin duyarlılığın belirlenmesinde, lizostafin test kiti(Remel, R21130) kullanıldı. Bu amaçla, saf kültürden 0,2 ml fizyolojik tuzlu su (FTS, Merck, TP1279925 530) içeren tüplere ekim gerçekleştirildi. Üzerine sıvı halde olan

antibiyotikten 0,2 ml damlatılarak inkübasyona kaldırıldı. Oluşan bulanıklığa göre değerlendirme yapıldı.

2.2.2.1.c. Jelatin Hidroliz Testi

Jelatin hidrolizasyonu için, agarda üremiş bir koloni öze ile alınarak, içerisinde %10 jelatin (Oxoid, LP0008B) bulunan Nutrient brothlara (NB, Oxoid, CM0001B) ekim gerçekleştirildi. Brothlar, aerobik şartlarda, 37°C'de 15 güne kadar yapılan inkübasyon sonrasında 1-2 s buzdolabında bırakılarak sonuçlar değerlendirildi (Anon, 2015b).

2.2.2.1.d. Simmon Sitrat Agarda Üreme Yeteneklerinin Belirlenmesi

İzolatların, simmon sitrat agarda üreme yeteneklerinin belirlenmesi için, Simmon Sitrat agara (SSA, Oxoid, CM0155) saf bakteri kültüründen ekim yapıp, petrileraerobik ortamda, 35°C'de 48 sinkübasyona alındı. Ekim hattı boyunca üremeye bağlı olarak koyu mavi rengin oluşmasına göre değerlendirildi. (Anon, 2015b).

Bu değerlendirmelerin sonucunda şüpheli olarak belirlediğimiz *Staphylococcus* izolatlarının genetik metotla doğrulanması yapılanaya kadar, izolatlar %30 gliserol içeren BHI brothlarda -20°C'de muhafaza edildi.

2.2.2.2. *Staphylococcus xylosus*'un PZR Yöntemi ile Doğrulanması

S. xylosus izolatlarının 16S-23S rRNA genler arası ayırıcı bölgelerinde bulunan türe özgü primerler Tablo 2.2'de gösterilmektedir.

Tablo 2.2. *S. xylosus* için PZR metodunda kullanılan oligonükleotid primer çiftleri

Hedef Genler	Primer Sekansı (5'-3')	Primer	Kaynak
16SrRNA3'	F: GAAGTCGTAACAAGG	<i>G1</i>	Jensen ve ark., 1993
23SrRNA 5'	R: CAAGGCATCCACCGT	<i>L1</i>	Jensen ve ark., 1993

S. xylosus 16S- F: AACGCGCAACGTGATAAAATTAATG *XYL* Morot-Bizot ve ark., 2003
23S rRNA SR R: AACGCGCAACAGCAATTACG

Pozitif kontrol ve şüpheli izolatlardan, DNA ekstraksiyonu, hızlı ekstraksiyon yöntemlerinden biri olan kaynatma metodu kullanılarak yapıldı. Bu amaçla, kontrol suşu ve izolatların TS agarda üremiş taze ve saf kolonilerden birer adet seçilerek, koloniler 500 µl steril distile su içeren ependorflar (DNase-RNase free) içerisinde süspansiyon edildi. Süspansiyon, 100°C'lik su banyosunda 10 dk bekletildikten sonra 10.000 rpm'de 5 dksantrifüj edildi. Bakteriyel DNA içeren süpernatantlar alındı ve PZR karışımında kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edildi (Gezgen ve Seker, 2016).

Amplifikasyon işlemi için, bileşiminde 2,5 µl 0,5×TBE buffer, 1,5 mM MgCl₂, her bir 0,2 mM dNTP, 0,25 µL primerler, 1,25 U Taq polimeraz enzimi, 2µl hedef DNA bulunan karışım distile su ile toplam hacme tamamlandı. Thermal cycler'da 94°C'de 5 dk ilk denatürasyon işleminin ardından, 30 siklus 94°C'de 1 dk denatürasyon, 55°C'de 1 dk bağlanma, 72°C'de 3 dk DNA uzatma ve son olarak 72°C'de 6 dk uzatma uygulandı (Morot-Bizot ve ark., 2003; Corbiere Morot-Bizot ve ark., 2004).

Elde edilen PZR ürünleri yükleme boyası ile boyanıp, %6 oranında ethidium bromid içeren %1,5'lük agaroz jelle yüklendi. Ürünler, 80 volt elektrik akımında 100 dk yürütülerek elektroforez işlemi tamamlandı (Fiorentini ve ark., 2009). Agaroz jel, spesifik bandlar yönünden UV transilüminatörde değerlendirildi.

İzolasyon ve identifikasyonu yapılan izolatlardan istenen teknolojik özelliklere sahip olanların ayrımı yapılarak, starter kültür olarak kullanılacak izolatlar 16S-23S rRNA genler arası ayırıcı bölge sekanslama işlemi için İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne gönderildi.

2.2.3.16S-23S rRNA Genler Arası Ayırıcı Bölge Sekanslama

DNA dizi analizi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Biyoteknoloji ve Biyomühendislik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. *L. plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* izolatlarına 16S-23S rRNA sekanslama işleminden önce PZR ile elde edilen ürünlerin reaksiyon artıklarından arındırabilmek için temizleme işlemi gerçekleştirildi. Bunun için sephadex dolgu maddesi ile temizlenen PZR ürünleri, daha sonra big dye terminatör protokolü uygulanarak sekans reaksiyonuna (Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer) alındı.

2.2.4. Sucuk Üretimi

Sucuk üretimi için, çalışmada izole edilen ve teknolojik özellikleri en iyi olan *L. plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* suşları kullanıldı. Suşlar 1'e 1 oranlararak 3 farklı şekilde üretime katıldı. Kontrol, deneme I (DI), deneme II (DII) ve deneme III (DIII) sucuk grupları için 10 kg sucuk üretimi 3 tekerrürlü gerçekleştirildi. Üretimi yapılan sucuk örnekleri Tablo 2.3'te gösterilmektedir.

Tablo 2.3. Sucuk üretiminde kullanılan starter kültür kombinasyonları

Grup	Starter Kültür Kombinasyonu
Kontrol	Sucuk Hamuru + Starter Kültürsüz
Deneme I	Sucuk Hamuru + <i>L. plantarum</i> , <i>L. sake</i> , <i>S. xylosus</i>
Deneme II	Sucuk Hamuru + <i>L. plantarum</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>S. xylosus</i>
Deneme III	Sucuk Hamuru + <i>L. curvatus</i> , <i>L. sake</i> , <i>S. xylosus</i>

Çalışmada, biri kontrol grubu olmak üzere 4 farklı grupta sucuk üretimi yapıldı. Starter kültür kullanılmadan hazırlanan sucuk, kontrol grubu olarak değerlendirildi. Starter kültür kullanılan gruplara *L. plantarum*, *L. sakei* ve *L. curvatus* 10^7 kob/g; *S. xylosus* ise 10^6 kob/g düzeyinde inoküle edildi. Taze kültürlerin hazırlanması için laktik asit bakterileri MRS brotha, *S. xylosus* ise TSB'ye inoküle edilerek 30°C 'de 24 s inkübe edildi (Kaban ve Kaya, 2007). İnkübasyondan sonra, taze kültür eldesi için, laktik asit bakterilerinin MRS agara, *S. xylosus*'un ise MS agara pasajları yapıldı. Taze kültürlerin, McFarland bulanıklığı standart alınarak, istenilen kob/g düzeyi elde edilinceye kadar fizyolojik tuzlu su ile dilüsyonları hazırlandı (Öztürk, 2013).

Sucuk üretimi Afyonkarahisar İkbal Gıda A.Ş. üretim tesislerinde yapıldı. Üretim için, Gökalp ve ark.'nın (2004) belirttiği formülasyon ve yöntem esas alınarak gerçekleştirildi. Bu

amaçla 800 g sığır eti ve 200 g sığır eti yağı olmak üzere 1 kg'lık sucuk hamurları hazırlandı. Sucuk formülasyonunda kullanılan katkı madde oranları Tablo 2.4'te gösterilmektedir.

Tablo 2.4. Üretimde kullanılan katkı maddeleri ve oranları

Katkı Maddesi	Oran (%)
Tuz	2,5
Şeker	0,4
Sarımsak	1
Kırmızıbiber	0,7
Karabiber	0,5
Kimyon	0,9
Yenibahar	0,25
Sodyum Nitrit	150 ppm

En iyi aroma ve yapıya sahip sucuk üretimi için Kaban ve Kaya'nın(2007) uyguladığı olgunlaştırma şartları esas alınarak yapıldı (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. Üretimde kullanılan yöntem

Günler	Sıcaklık (°C)	Rutubet (%)
1. ve 3.	24 ± 1	90±2
4. ve 7.	22±1	85±2
9. ve 14	18±1	80±2

2.2.5. Kimyasal Analizler

2.2.5.a. pH Değerinin Belirlenmesi

Kontrol ve deneme sucuk gruplarının pH analizi son üründe gerçekleştirildi. Numuneler distile su ile 1/10 oranında homojenize edilerek pH metre (WTW, Inolab) ile ölçüm yapıldı. Okumalardan önce pH metrenin, pH 4 ve 7 tampon çözeltileriyle kalibrasyonu yapıldı (Anon, 1990).

2.2.5.b Su Aktivitesinin Belirlenmesi

Kontrol ve deneme sucuk gruplarının su aktivite analizi son üründe gerçekleştirildi. Bunun için, a_w meter cihazı (Novasina AG, LabSwift-aw, Switzerland) kullanılarak cihaz kullanım talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi. Örneklerin su aktivitesi Li tuzundan oluşan bir elektrot vasıtasıyla ölçüldü. Sistemin duyarlılığı $\pm 0,01 a_w / \pm 0,15 ^\circ\text{C}$, ölçümler arası tekrarlanabilirlik $\pm 0,003 a_w / \pm 0,15 ^\circ\text{C}$ 'dir.

2.2.5.c. Nem Miktarının Belirlenmesi

Kontrol ve deneme sucuk gruplarının nem miktarı son üründe belirlendi. Nem miktarı, 10 gr örneğin sabit tartıma getirilerek kurutma kaplarına konulup, 105°C 'de, neminin uzaklaştırılmasıyla tespit edildi (Gökalp ve ark., 1995).

2.2.5.d Ağırlık Kaybının Belirlenmesi

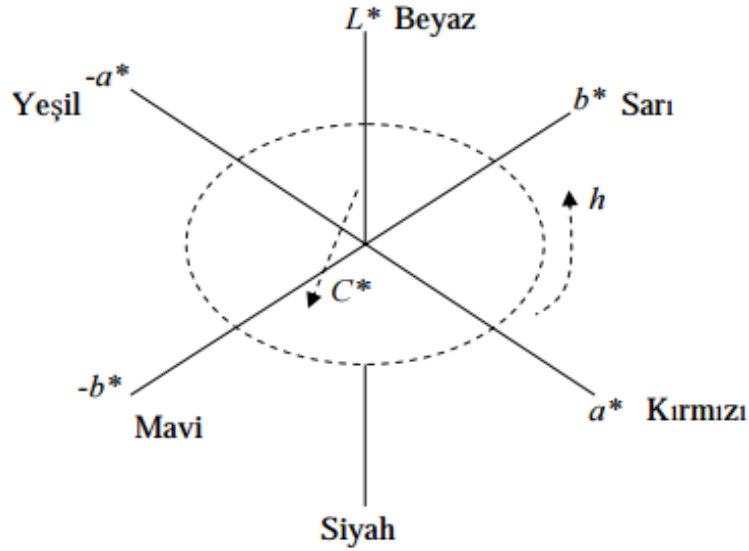
Üretimi yapılan sucuk örneklerinde ağırlık kaybını belirlemek amacıyla her deneme grubundan belirlenen bir askı seçilerek, fermentasyon başlangıcı ve olgunlaşmanın sonunda tartılarak ağırlık kaybı % olarak belirlendi (Dinçer, 1980).

2.2.6. Fiziksel Analizler

2.2.6.a Renk Analizi

Sucuk örneklerinin renk analizi Minolta (CR-A70, Japan) renk ölçüm cihazı ile son üründe yapıldı. Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (CIE=Commission Internationale de l'Eclairage) tarafından verilen kriterlere göre yapıldı. Buna göre; L^* ; $L^*=0$, siyah; $L^*=100$, beyaz (koyuluk/açıklık); a^* ; $+a^*$ = kırmızı, $-a^*$ = yeşil ve b^* ; $+b^*$ = sarı, $-b^*$ = mavi renk yoğunluklarının göstermektedir. CIELab sistemi Şekil 2.1'de gösterilmektedir. Parlaklık (L^*), kırmızılık (a^*) ve sarılık (b^*) renk değerleri yönünden her bir numune için, aletin konumu değiştirilerek kesit yüzey ve dış yüzey olmak üzere iki ayrı ölçüm yapıldı. Ürünler vakum

poşetten çıkartıldıktan sonra “bloom” olarak ifade edilen renk açılması için 1 s test ortamında bekletildi.Sonuçlar, beş farklı okuma yapılarak değerlendirildi. (Anon, 1971).



Şekil 2.1. CIELab renk uzayı (Acar, 2009)

2.2.6.b.Tekstür Profil Analizi

Analizler, Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde tekstür analiz cihazı (Stable Micro Systems TA.XT2, Texture Technologies Corp., Robbinsville, NJ)kullanılarak son üründe yapıldı. Kontrol ve deneme sucuk gruplarının kılıfları soyularak 1 cm kalınlığında dilimlendi.Analiz koşulları silindirik prob (35R), test öncesi hız 2 mm/s, test hızı 1mm/s, sıkıştırma oranı %25, yük hücresi 50 kg olacak şekilde ayarlandı (Bourne, 1978).

2.2.7. Duyusal Analiz

Örneklerin duyusal değerlendirilmesine, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi laboratuvarında yapıldı. Değerlendirmeye akademik personel, idari personel ve diğer çalışanlardan oluşan 25 adet eğitimsiz panelist katıldı. Tadımlar sırasında ağızda kalan tadın giderilmesi için masalarda su ve ekmek sunumu yapıldı.

Panelistler tarafından hem çiğ hem de pişmiş sucuk gruplarında, kesit yüzey rengi, dış yüzey rengi, tipik sucuk koku, tat ve aroması, tekstür ve genel kabul edilebilirlik özellikleri bakımından hedonik skala kullanılarak değerlendirme yapıldı. Değerlendirmede 9 çok çok iyi, 1 ise hiç iyi değil olarak puanlandırma yapıldı (Şekil 2.2, 2.3). Sucuklar değerlendirme öncesi oda sıcaklığında 25–30 dk bekletildi. Değerlendirme arasında numunelerde etkileşme olmaması için panelistlere su ve ekmek verildi. Sucuk numuneleri ızgarada her iki yüzü yaklaşık 2 dk pişirilerek pişmiş numunelerin değerlendirilmesi yapıldı (Altuğ, 1993; Soyer, 1995).

Adı soyadı:	Tarih:					Örnek no:				
ÇİĞ SUCUK PANEL DEĞERLENDİRME FORMU										
Özellikler										
	Pembemsi/kırmızı					Açık soluk/koyu				
<u>Kahverengi</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
Kesit yüzey rengi										
	Kırmızımsı/kahverengi					Çok soluk/koyu				
<u>Kahverengi</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
Dış yüzey rengi										
	Var					Yok				
Tipik sucuk kokusu	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
	Düzgün					Kaba				
Tekstür	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
	Çok iyi					Çok kötü				
Genel	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
Kabul edilebilirlik										
Belirtmek istediğiniz hususlar:										
9: Çok çok iyi, 1: Hiç iyi değil şeklinde değerlendiriniz.										

Şekil 2.2.Çiğ sucuk duyusal analiz değerlendirme formu

Adı soyadı:	Tarih:							Örnek no:	
PİŞMİŞ SUCUK PANEL DEĞERLENDİRME FORMU									
Özellikler									
Pembemsi/kırmızı									
Açık soluk/koyu									
<u>Kahverengi</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Kesit yüzey rengi									
Kırmızmsı/kahverengi									
Çok soluk/koyu									
<u>Kahverengi</u>	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Dış yüzey rengi									
Var									
Yok									
Tipik Sucuk Tat ve Aroması	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Düzensiz									
Kaba									
Tekstür	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Çok iyi									
Çok kötü									
Genel Kabul edilebilirlik	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Belirtmek istediğiniz hususlar:									
9: Çok çok iyi, 1: Hiç iyi değil şeklinde değerlendiriniz.									

Şekil 2.3. Pişmiş sucuk duyusal analiz değerlendirme formu

2.2.8. Aroma Bileşenlerinin Tayini

Sucuklarda kalitatif uçucu bileşen analizi, Tübitak Marmara Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Gaz kromatografi sistemi (GC, Gas Chromatography, Thermo, Trace GC ultra, Milan/Italy) ve kütle spektrometre dedektör (MS, Mass Selective, Thermo, Trace DSQ, USA) kullanıldı. Analiz cihaz kullanım talimatları doğrultusunda, 3 g homojenize edilmiş sucuk örneği katı faz mikroekstraksiyon enjektörü (SPME=Solid Phase Microextraction, 75µm Carboxen/PDMS) ile 10 ml'lik headspace tüplerine aktarıldı ve tüpler 40°C'de 30 dk süre ile bekletildi. Bekleme sırasında açığa çıkan uçucu bileşikler SPME enjektöründen HP Innowax (30m-0,25mm-0,25 µ m) kolonuna enjekte edildi. Kolon 60°C de 1 dk bekletildikten sonra, ısının dakikada 3°C artışla 250°C'ye çıkmasını takiben 250°C de 5dk bekletildi. Analizde taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyum gazı dakikada 1 ml akış hızında kolondan geçirildi. Enjektör sıcaklığı 200°C'de tutuldu. Mass selective dedektörünün kütle aralığı 40-450 atomik kütle birimi (m/z) aralığında, MS iyonizasyon tepkime sıcaklığı ise 200°C'de tutuldu. Analiz sırasında açığa çıkan pikler Wiley, Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST=National Institute of Standards and Technology) kütüphanesi taranarak tanımlandı ve tutulan aroma bileşenleri % olarak belirlendi.

2.2.9. Mikrobiyolojik Analizler

2.2.9.1. Laktik Asit Bakteri Sayımı

Üretimi yapılan sucuk numunelerinden 25'er g tartılıp, üzerine 225'er ml steril fizyolojik tuzlu su ilave edilerek, karışım stomacherde (AES Easy Mix) 1.5 dk homojenize edildi. Sucuk numunelerinin steril fizyolojik tuzlu su ile hazırlanan uygun dilüsyonlarından De Man Ragosa Sharpe Agara (MRS, Merck VM694860 533)yayma plak yöntemiyle ekimleri yapılarak 30°C'de 48 s anaerobik koşullarda inkübasyona bırakıldı (Urso ve ark., 2006; Kaban ve Kaya, 2008).

2.2.9.2. *Staphylococcus* spp. Sayımı

Üretimi yapılan sucuk numunelerinden 25'er g tartılıp, üzerine 225'er ml steril fizyolojik tuzlu su ilave edilerek, karışım stomacherde (AES Easy Mix) 1.5 dk homojenize edildi. Sucuk numunelerinin steril fizyolojik tuzlu su ile hazırlanan uygun dilüsyonlarından Mannitol Salt Phenol-Red agara (MSA, Merck VM676904 516) yayma plak yöntemiyle ekimleri yapılarak 30°C'de 48 s aerobik koşullarda inkübasyona bırakıldı (Urso ve ark., 2006; Kaban ve Kaya, 2008).

2.2.9.3. Enterobacteriaceae sayımı

Enterobacteriaceae sayımı için Violet Red Bile Glukoz agar (VRBG, Oxoid, CM0485) hazırlandıktan sonra uygun seri dilüsyonlardan petrilere yayma ekim yöntemiile ekim yapıldı. Ekim yapılan petrilere aerobik şartlar altında 37°C 'de 48 s inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda 1mm'den büyük ve oksidaz negatif kolonilerin sayımı yapıldı (Sağdıç ve ark., 2011).

2.2.10. İstatistiksel Analizler

Çalışmada kullanılan sucukların, her bir deneme grubunun üretimi üç kez tekrar edildi. Duyusal özellik ve bunun dışında kalan verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile değerlendirildi. Buna göre duyusal özelliklerin normal dağılım gösterdiği, kalan verilerin ise normal dağılım göstermediği belirlendi. Duyusal özellikleri belirleyen veriler tek yönlü varyans analizi ile incelendi. Bununla ilişkin verilerin çoklu karşılaştırması Duncan testi ile yapıldı. Duyusal değerlendirme dışında kalan veriler ise Kruskal-Wallis analizi ile değerlendirildi.

3. BULGULAR

3.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları

Geleneksel sucuk üretimi yapan işletmelerden temin edilen 16 adet sucuk hamur numunesinden izole edilen toplam 76 izolatın 40'ının Gram pozitif çomak şeklinde etkenler olduğu belirlendi. Elde edilen Gram pozitif çomakların biyokimyasal test sonuçları Tablo 3.1'de gösterilmektedir.

Tablo 3.1. Çalışmada elde edilen Gram pozitif çomakların biyokimyasal test sonuçları N (%)

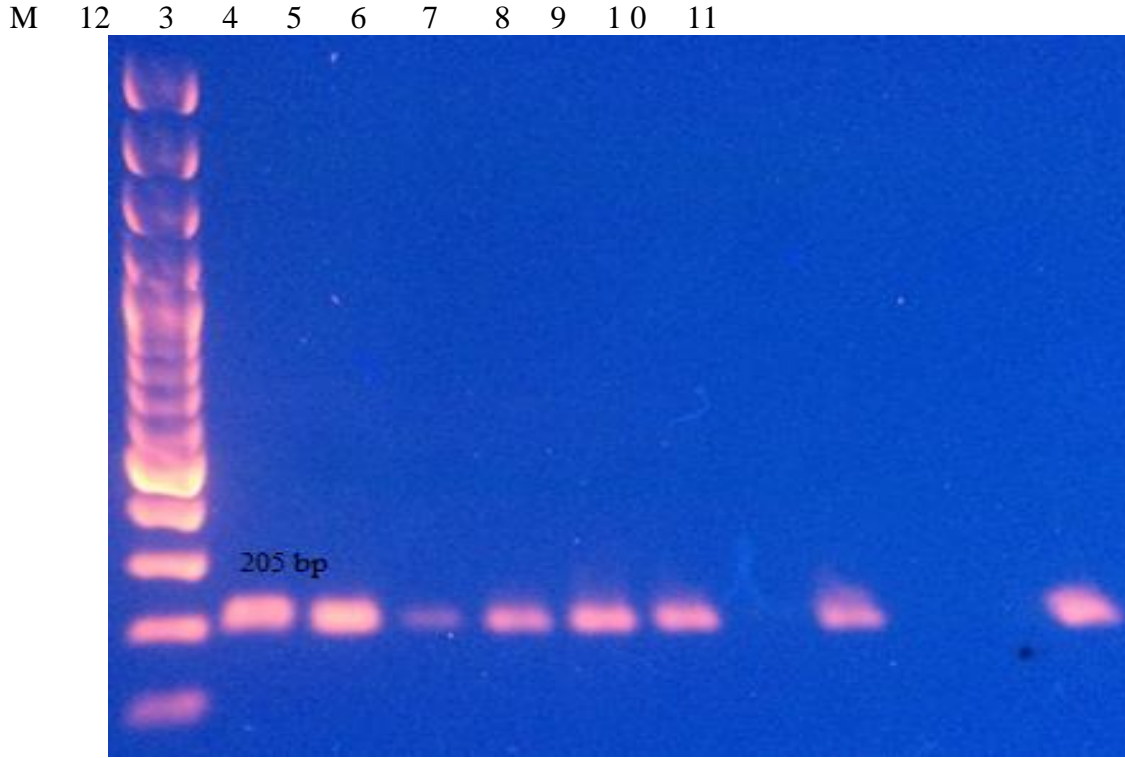
Gram pozitifçomak	40 (100)
Glikozdan gaz oluşumu	4 (10)
4°C'de üreme yeteneği	26 (65)
45°C'de üreme yeteneği	32 (80)
% 7 NaCl varlığında üreme	38 (95)
% 10 NaCl varlığında üreme	21(52,5)
% 15 NaCl varlığında üreme	15(37,5)
pH 3,9'da üreme	37(92,5)
Voges Proskauer testi	37 (92,5)
Metil red testi	39 (97,5)
Arjinin hidroliz testi	3 (7,5)

N: Pozitif çıkan izolat sayısı

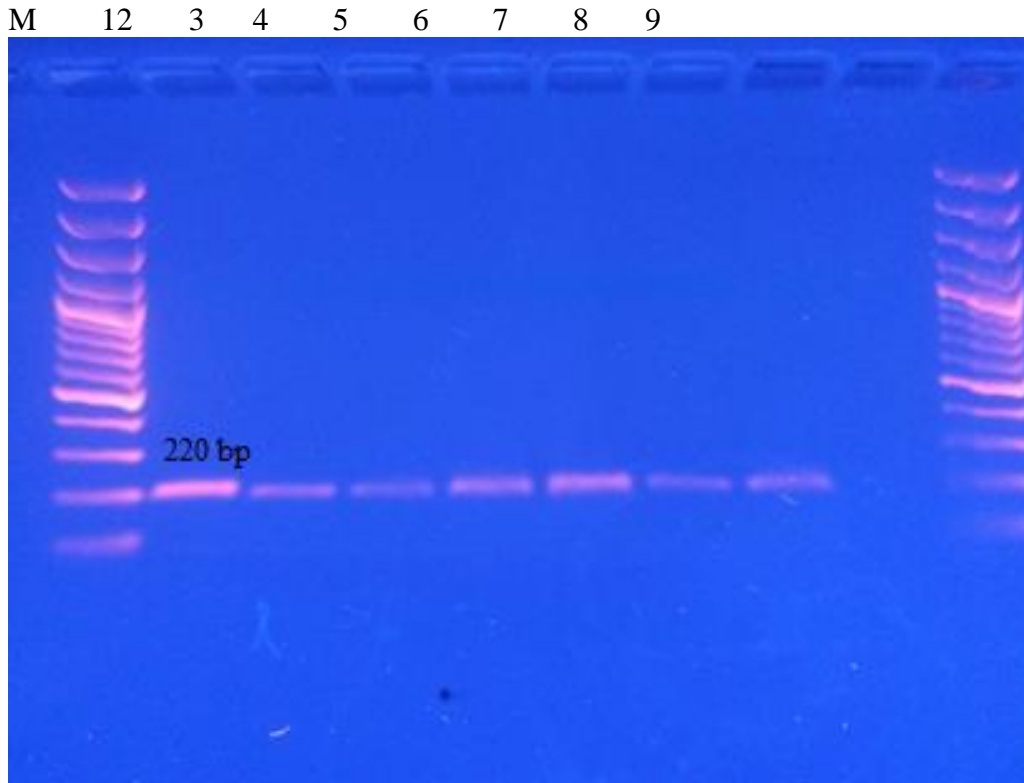
Biyokimyasal test sonuçları ve API 50CHL (Biomérieux) test kiti kullanılarak değerlendirilen karbonhidrat fermentasyon testi sonuçlarına göre 21 izolatın (% 27,6) *Lactobacillus* cinsine ait olduğu belirlendi. Bu izolatların tür bazında identifikasyonları PZR kullanılarak yapıldı. Buna göre; toplam 21 *Lactobacillus* izolatınının 12'si (%57,1) *L. plantarum*, 6'sı (%28,6)*L. sake*,3'ü (%14,3) *L. curvatus* olarak tiplendirildi (Tablo 3.2). İzolatlara ait PZR görüntüleri Şekil 3.1, 3.2, 3.3'te gösterilmektedir.

Tablo 3.2. Laktik asit bakterilerinin PZR sonuçları

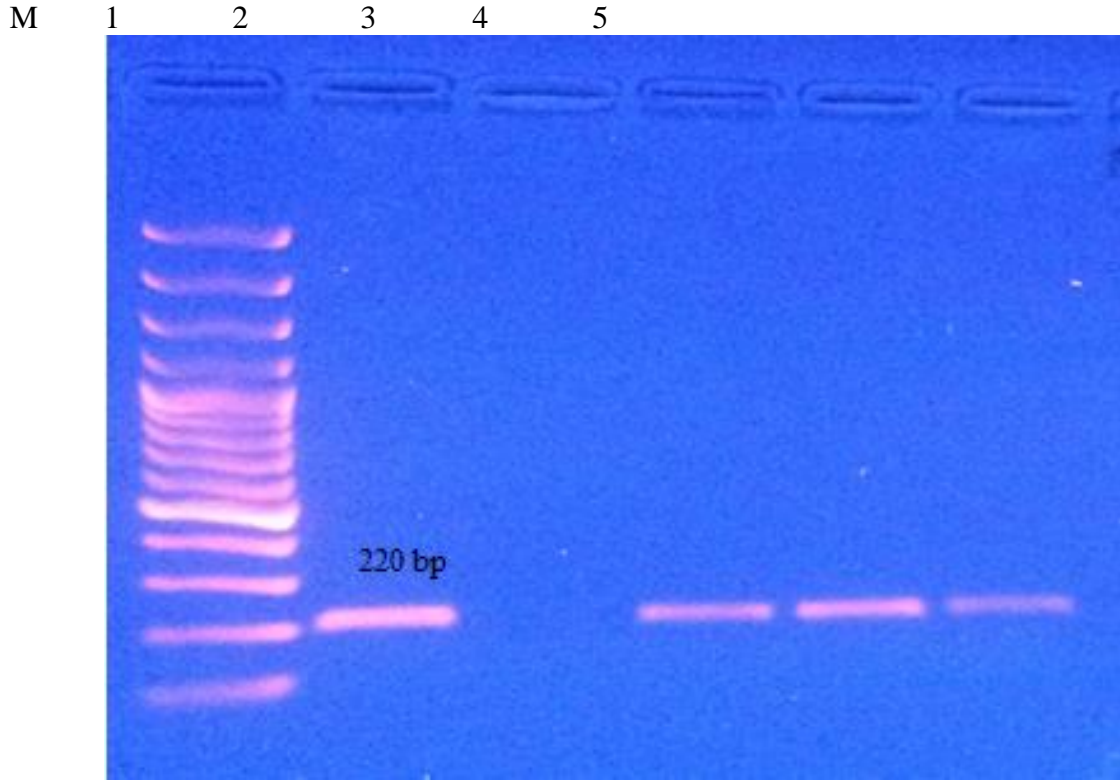
Laktik asit bakteri türleri	İzolasyon Oranı (%)
<i>L. plantarum</i>	57,1
<i>L. sake</i>	28,6
<i>L. curvatus</i>	14,3



Şekil3.1. *L. plantarum* izolatlarına ait PZR jel görüntüsü. M: 100 bp DNA Ladder, 1: *L. plantarum* ATCC 8014 (pozitif kontrol), 2-6, 8,11: İzolatlar, 7,9,10: negatif kontrol.



Şekil3.2. *L. sake* izolatlarına ait PZR jel görüntüsü. M: 100 bp DNA Ladder, 1: *L. sake* ATCC 15521 (pozitif kontrol), 2-7: İzolatlar, 8: negatif kontrol, 9: 100 bp DNA Ladder.

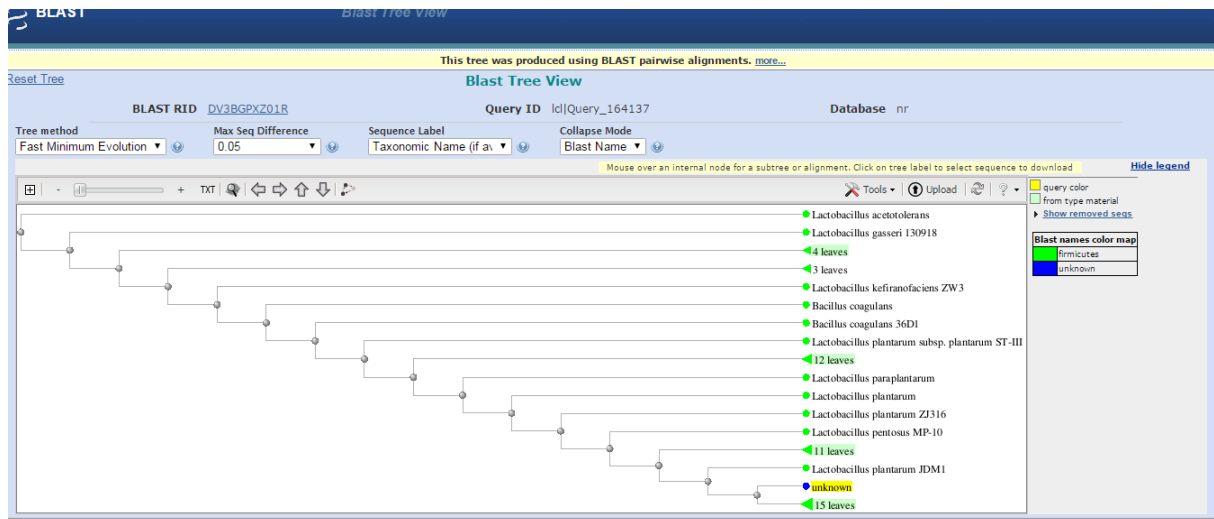


Şekil 3.3. *L. curvatus* izolatlarına ait PZR jel görüntüsü. M: 100 bp DNA Ladder, 1: *L. curvatus* ATCC25601 (pozitif kontrol), 2: negatif kontrol, 3-5: İzolatlar.

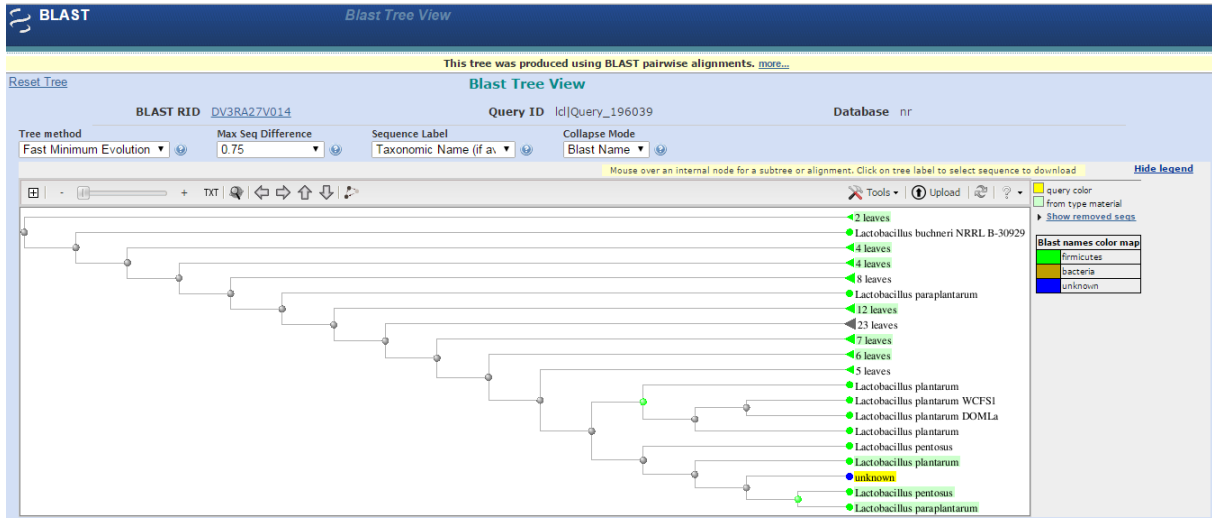
16S-23S rRNA Genler Arası Ayırıcı Bölge Sekanslama işlemi ile izolasyon ve identifikasyonu yapılan laktik asit bakterilerinin kütüphanede taranması sonucu baz dizilimleri Tablo 3.3'te ve mevcut mikroorganizmalarla benzerlikleri Resim 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6'da sunulmaktadır.

Tablo 3.3. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre laktik asit bakterilerinin baz dizilimleri

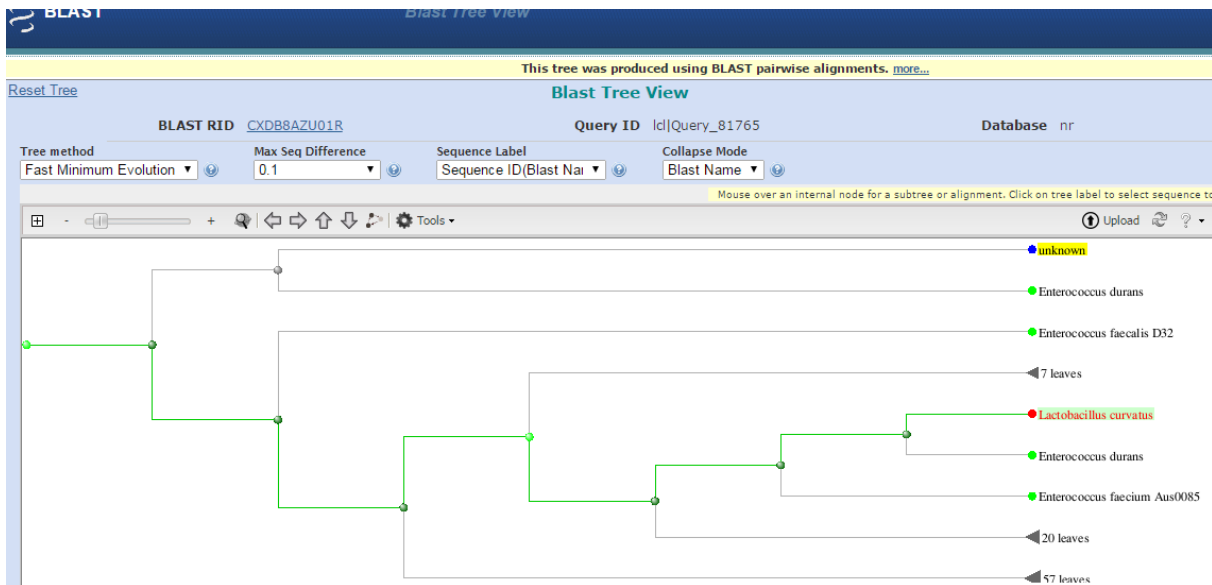
4L18 Forward (<i>L. plantarum</i>)	CGGGAAC TACCACGTCGTTTCGACTTTGTTTAGTTTTGAGAGGTCTAACTCTC AATTTAATAAGCGTTTTTTGGGCCTATAGCTCAGCTGGTTTAGAGCGCAGC CCTGATAAGCGTGAGGTTCGATGGTTCAAGTCCATTTAGGCCATTGGAACC GAACCAGTTGGTTCCATAAGTTGAATACCTCAT
4L18 Reverse (<i>L. plantarum</i>)	ATAAACCAAAATCATGGGCTAATGGACTTGACCATCGACCTCACGCTTATC AGGCGTGCGCTCTAAACCAGCTGAGCTATAGGCCCAAAAACGCTTATTA AATTGAGAGTTAGACCTCTCAAACCTAAACAAAGTTTCGAAGCATGTGTA GGTTCCGTAATATTCTTAGAAAGGAAATGATCCAGCA
İH1L Forward (<i>L. curvatus</i>)	CCTCCCCCTTTCTTCATTTGCGAAGCTCGAACTTTGTTTAGTTTTGAGAG GCCTACTCACATTGAATTAGGACGTTTTTTGGGCCTATAGCTCAGCTGGTT AGAGCGCACGCCTGATAAGCGTGAGGTTCGATGGTTTCGAGTCCATTTAGGC CCATTGTAATAAGAATTAATAGTACCAAA
İH1L Reverse (<i>L. curvatus</i>)	GTTTTCTTAATAACTTGAACATCGACTCACGCTTATCAGGCGTGCGCTCTA ACCAGCTGAGCTATAGGCCCAAAAACGTCCTAATTCAATGAGAGTAGAC CTCTCAAACCTAAACAAAGTTTCGACTTCGAAATGTACAAGTTTTCCGT ATTATTCTTAGAAAGGAGATGATCCAGCAA
İH17L Forward (<i>L. sake</i>)	TGCCTAATACTTGATCATTGCGAATCAAACCTTTGTTTAGTTTTGAGAGGTC TACTCTCATCATAAAGGACGTTTTTTGGGCCTATAGCTCAGCTGGTTAGAGC GCACGCCTGATAAAGCGTGAGGTTCGATGGTTTCGAGTCCATTTAGGCCATTG TACCAATTAATAGTTTCAT
İH17L Reverse (<i>L. sake</i>)	GTCCAAAGAATCGACATCGACTCACGCTTATCAGGCGTGCGCTCTAACCAG CTGAGCTATAGGCCCAAAAACGTCCTAATGATGAGAGTAGACCTCTCAA AACTAAACAAAGTTTTGATTTTCGAAATGTACAAGTTTTCCGTATTATTC CTTAGAAAGGAGGTGATCCAGCA



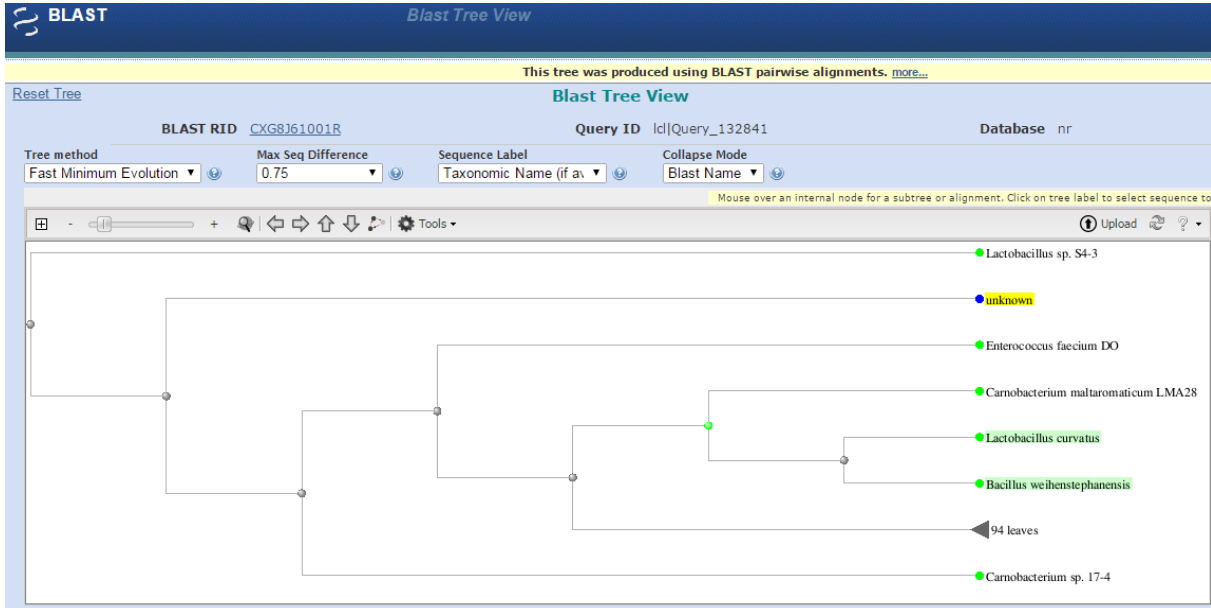
Resim 3.1. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (4L18 Forward, *L. plantarum*)



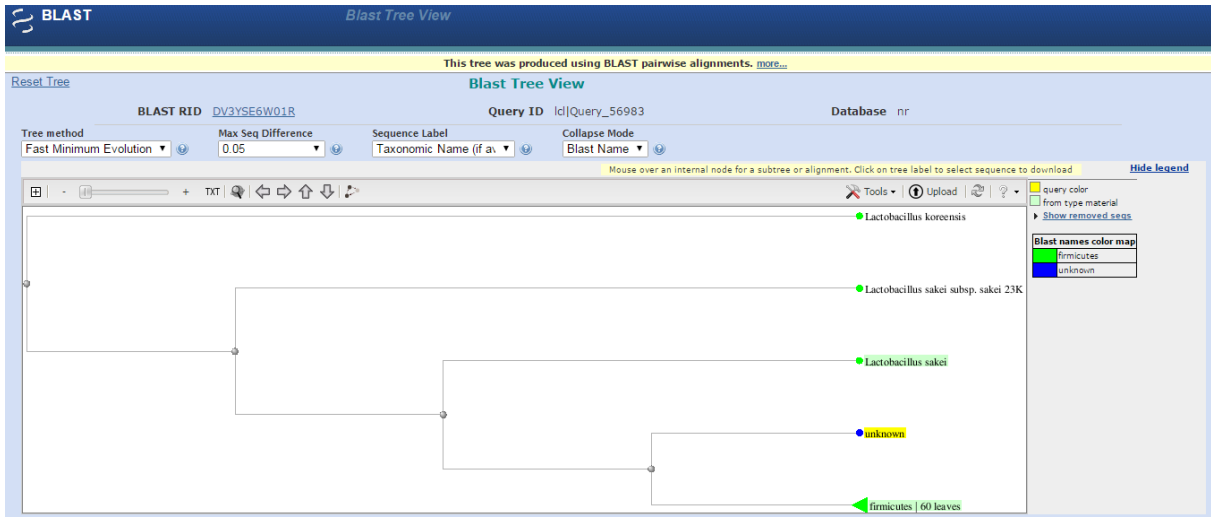
Resim 3.2. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (4L18 Reverse, *L. plantarum*)



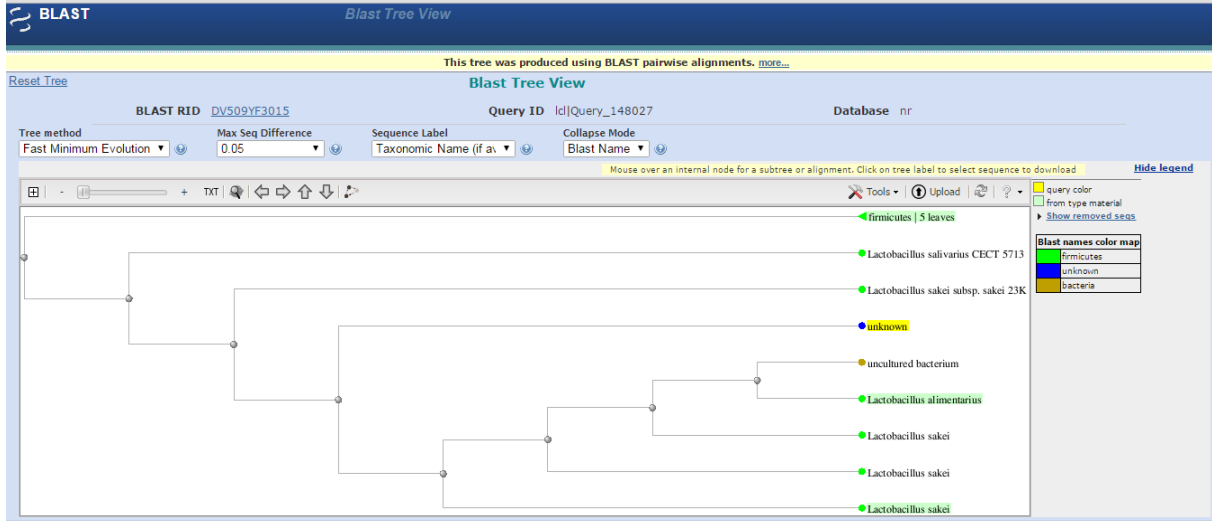
Resim 3.3. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (İH1L Forward, *L. curvatus*)



Resim 3.4. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (İH1L Reverse, *L. curvatus*)



Resim 3.5. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (İH17L Forward, *L. sakei*)



Resim 3.6. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (İH17L Reverse, *L. sakei*)

3.2. *S. xylosus*'ün İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları

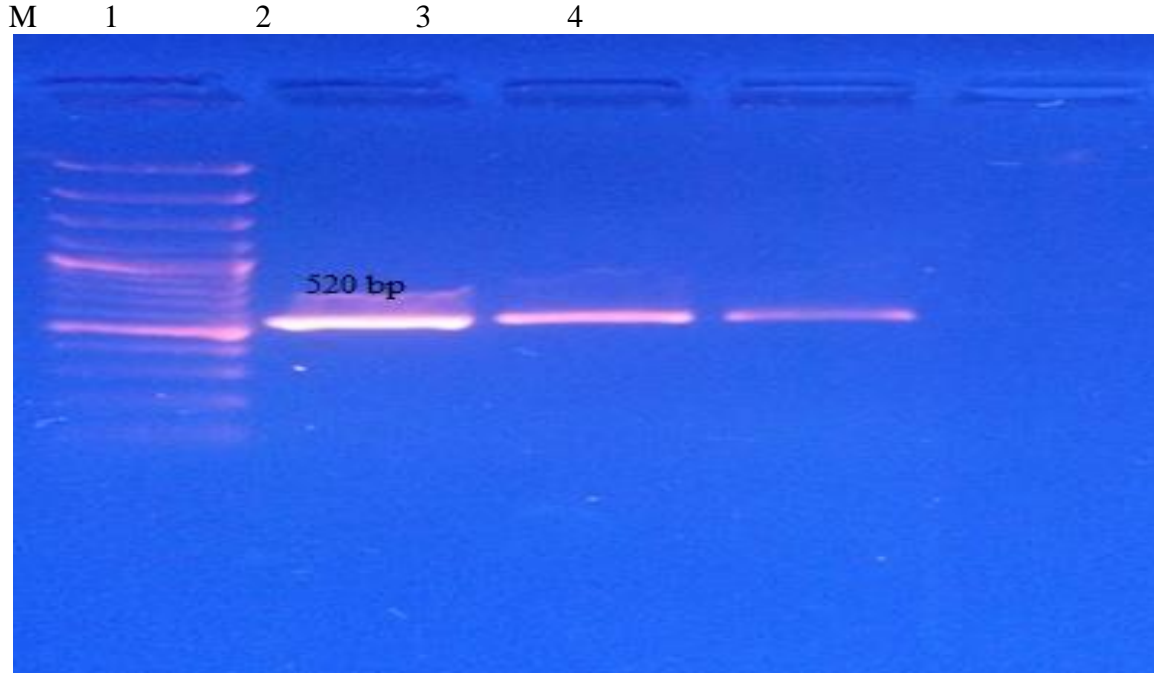
Geleneksel sucuk üretimi yapan işletmelerden temin edilen 16 adet sucuk hamur numunesinden izole edilen Gram boyaması sonucunda 64 adet izolatın Gram pozitif kok şeklinde olduğu belirlendi. Bu izolatların biyokimyasal özellikleri Tablo 3.4'te gösterilmektedir. Biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırılan izolatların 40'nin *Staphylococcus* cinsine ait olduğu tespit edildi.

Tablo 3.4. Çalışmada elde edilen Gram pozitif oksidaz negatif kokların biyokimyasal test sonuçları N (%)

Gram pozitif kok	64 (100)
Katalaz pozitif	64 (100)
Oksidaz negatif	48 (75)
Furazolidon Dirençli (zon çapı $\leq 10-15$ mm)	2 (4,1)
Lizostafin dirençli (zon çapı $\leq 10-16$ mm)	1 (2)
Jelatin hidroliz testi	1 (2)
Simmon sitrat agarda gelişebilme	4 (8,3)

N: Pozitif çıkan izolat sayısı

S. xylosus'ün kesin identifikasyonunda ise PZR kullanıldı. PZR sonuçlarına göre; 40 *Staphylococcus* izolatının 2'si (%5) *S. xylosus* olarak tiplendirildi. *S. xylosus*'a ait PZR görüntüsü Şekil 3.4'te gösterilmektedir.

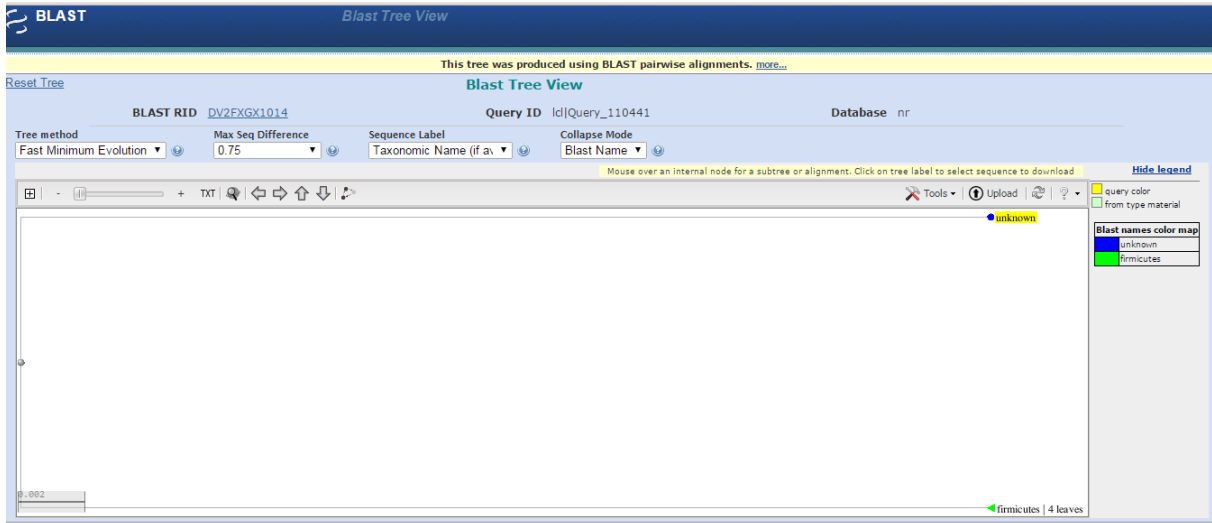


Şekil3.4. *S. xylosus* izolatlarına ait PZR jel görüntüsü. M: 100 bp DNA Ladder, 1: *S. xylosus* ATCC 29971 (pozitif kontrol), 2-3: İzolatlar, 4: Negatif kontrol

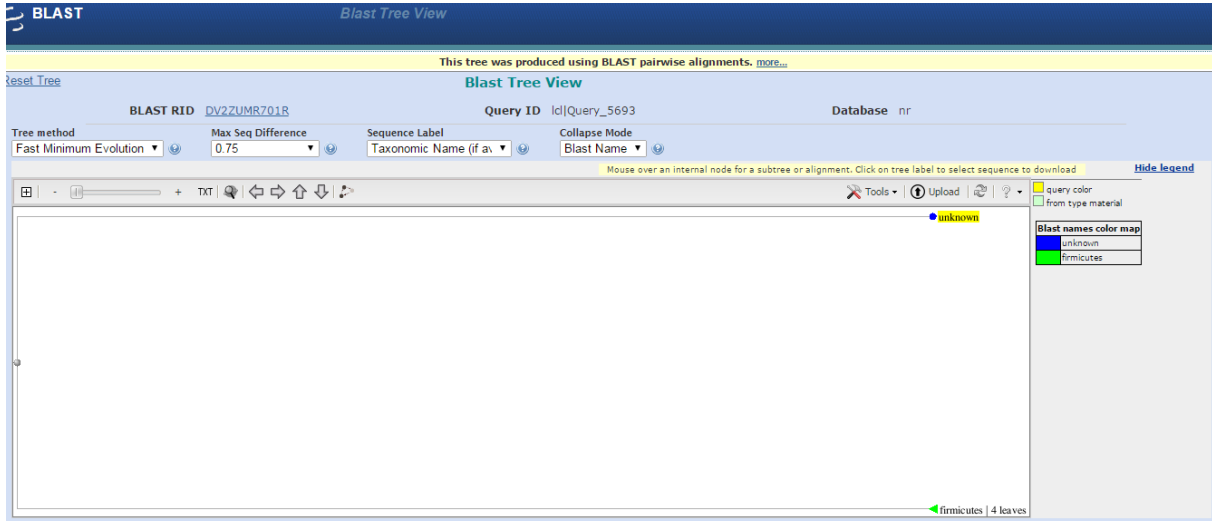
16S-23S rRNA Genler Arası Ayırıcı Bölge Sekanslama işlemi ile elde edilen veriler ile izolasyon ve identifikasyonunu yaptığımız *S. xylosus*'un baz dizilimleri Tablo 3.5'te ve kütüphanede taranarak mevcut mikroorganizmalarla benzerliği resim 3.7, 3.8'de sunulmaktadır.

Tablo 3.5. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre *S. xylosus*'un baz dizilimleri

GH4S Forward (<i>S. xylosus</i>)	GTGACTTACACAACGTTGTGATGATGATGAAGGTATTGGGGGAAATGAATT GTGCATAAGCGGAAATAAAAAGAATATTCTGAATAATGTAATAATAATAT TTGTTATGTATTCAACTAATATTTATTTTTAGAAACAAATTAAGTGTGTTATA CTAACATTCGTCGGATGAAAGCGCATACAAAAACAGCTGAGAAAGGTGTTA TTATGAATTTACTAATTGGAGTCATATTTTTAGGAATTGTTTTATGTTTGTTT ACATTATTCAGTAGTAAAGCGCCTAATGGTGGTAAAGCGATGGGGGCACCTT GCTAATGCTGCAATTGCGTCCTTTTTAGTTGAAGCATTTTCATAACTATGTAGG TGGAGATTTGATTGGCATAACATTTTTTCGAGATTTAGGAGAAGTTGCTGGT GGACTTCCCCCGTTGCTTCTGCTGGCTTAGCTGCATTAGCAATGGGGGTATC TCCTGCCTATGCATTCAAATTTGCTGTTGCGCATT
GH4S Reverse (<i>S. xylosus</i>)	GTTGGTAAATACCCATTGCTATGCACTATAACCAGCAGCTGCAGCACCACCAA GTCCACCAGCAACTTCTCCTAAATCTCCTAAAAATGGTATGCCAATCAAATC TCCACCTACATACTTATGAAATGCTTCAACTAAAAATGACGCAATTGCAGCA TTAGCAAGTGCCCCATCGCTTTACCACCATTAGGCGCTTACTAGTGAATA ATGTAAACAAACATAAAACAATTCCTAAAAATATGACTCCAATTAGTAAATT CATAATAACACCTTTCTCAGCTGTTTTGTATGCGCTTTCATCCGACGAATGT TAGTATAACAGAGGTAATTTGTTTCTAAAAATAAATATTAGTTGAATACATA ACAAATATTATTATTACATTATTCAGAATATTCTTTTTATTTCCGCTTATGC ACAATTCATTTCCCCCAATACCTTCATTCATCATCAACGTTTGTGTAATG TTCTAATTAGCTCATTAAATTTATCACGTTGCGCGTAAAA



Resim 3.7. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (GH4S Forward, *S. xylosus*)



Resim 3.8. Genotipik tanımlama sonucunda izolatların 16S-23SrRNA gen bölgesi çift yönlü sekans analizine göre BLAST sonuçları (GH4S Reverse, *S. xylosus*)

3.3.Kimyasal Analizler

3.3.a.pH Analizi

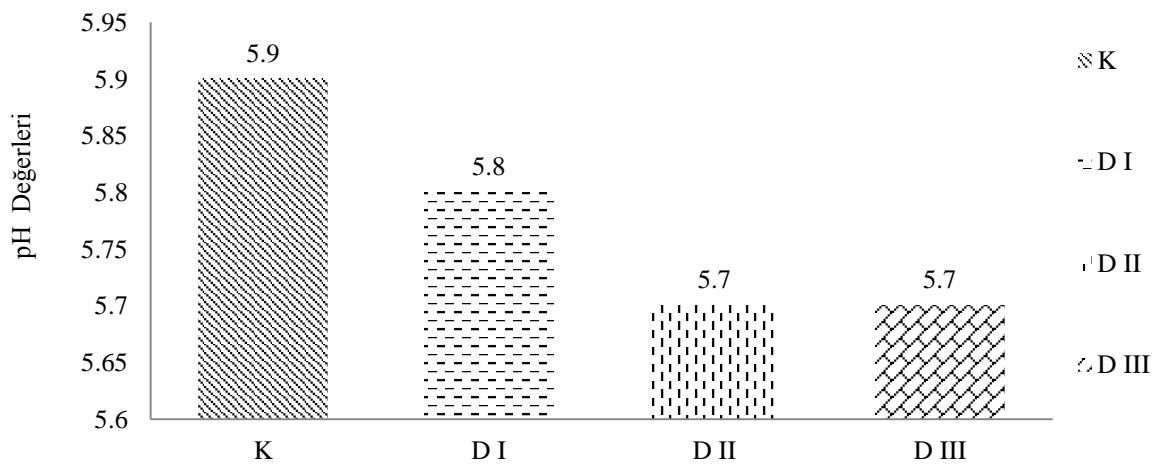
Üretilen sucukların pH değerleri Tablo 3.6’da gösterilmektedir. Deneme gruplarının pH değerleri 5,7-5,9 değerleri arasında bulundu. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu kontrol grubu ile DII ve DIII arasındaki farkın önemli olduğu sonucuna varıldı ($p < 0,05$). Diğer gruplar arasında ise fark saptanmadı.

Tablo 3.6. pH analiz sonuçları

Grup	N	q ₂	q ₁	q ₃
K	9	5,90 ^a	5,90	6,00
DI	9	5,80 ^{ab}	5,70	5,90
DII	9	5,70 ^b	5,60	5,70
D III	9	5,70 ^b	5,70	5,70

N: analiz sayısı; *** $p < 0,001$; q₂: Medyan; q₁: %25’lik çeyreklik; q₃: %75’lik çeyreklik; ^{a-b}: aynı sütundaki harfler pH analiz sonuçları karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel fark ($p < 0,001$) olduğunu gösterirken, aynı harflerle ile gösterilenler ise örnekler arasında fark bulunmadığını göstermektedir ($p > 0,05$); p: 0,000***

Grupların ortalamalarına bakıldığında DII ve DIII’ün diğerlerine göre daha fazla pH düşüşü gösterdiği belirlendi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında olgunlaşma sonu pH değerleri

3.3.b. Su Aktivitesi Analizi

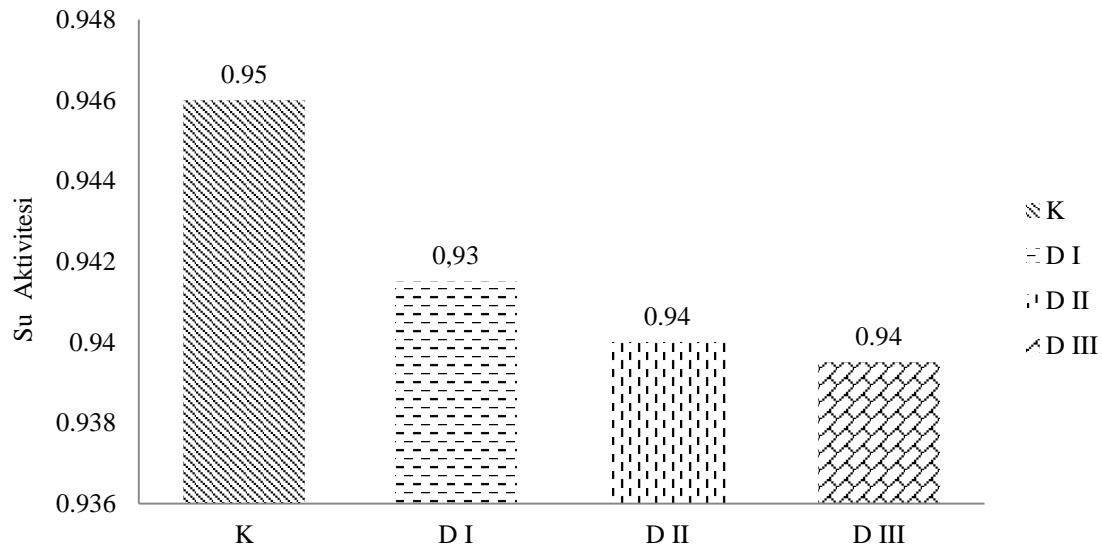
Deneme gruplarının su aktivite değeri aralığı 0,93-0,94 olarak ölçüldü. Gruplar arası farkın önem teşkil etmediği istatistiksel olarak Tablo 3.7’de gösterilmektedir ($p>0,005$).

Tablo3.7. Su aktivitesi analiz bulguları

Grup	N	q ₂	q ₁
K	3	0,94	0,94
DI	3	0,93	0,93
DII	3	0,94	0,93
D III	3	0,94	0,93

N: analiz sayısı; q₂: Medyan; q₁: %25’lik çeyreklik; p: 0,383

Bu çalışmada gruplar arası en düşük su aktivitesine DI sahip olmasına karşın, diğer gruplarla arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı sonucuna varıldı. Ayrıca, diğer deneme gruplarına su aktivite değerleri arasında da fark bulunmadı (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında olgunlaşma sonu su aktivitesi değerleri

3.3.c. Rutubet Analizi

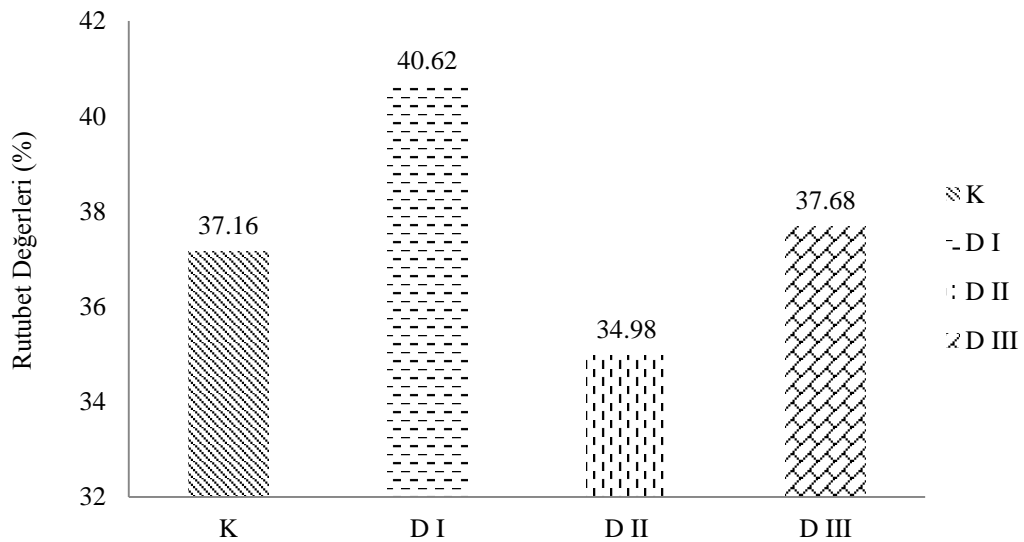
Kontrol ve deneme gruplarının rutubet değerleri %35-41 arasında bulundu (Tablo 3.8). Tablo 3.8 dikkate alındığında deneme gruplarının rutubet değerlerinin birbirlerinden istatistiksel olarak farklı bulunduğu görülmektedir ($p < 0,001$).

Tablo 3.8. Rutubet analiz sonuçları (%)

Grup	N	q ₂	q ₁	q ₃
K	9	37,16 ^{ab}	35,34	40,08
DI	9	40,62 ^a	38,25	42,77
DII	9	34,98 ^b	33,30	37,17
D III	9	37,68 ^{ab}	35,63	39,08

N: analiz sayısı; *****p<0,001;** **q₂:** Medyan; **q₁:** %25'lik çeyreklik; **q₃:** %75'lik çeyreklik; **a-b:** aynı sütundaki harfler rutubet analiz sonuçları karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler, örnekler arasında istatistiksel fark ($p < 0,001$) olduğunu; aynı harflerle ile gösterilenler ise örnekler arasında istatistiksel fark bulunmadığını göstermektedir ($p > 0,05$); **p: 0,001*****

DI ve DII arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olup; DIII ve kontrol grubunun değerlerinin ise birbirine benzer olduğu görülmektedir. Gruplar içinde en yüksek nem içeriğine sahip olan DI grubu iken, düşük nem içeriğine sahip olan ise DII grubuydu (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında olgunlaşma sonu rutubet değerleri

3.3.d. Ağırlık Kaybı Analizi

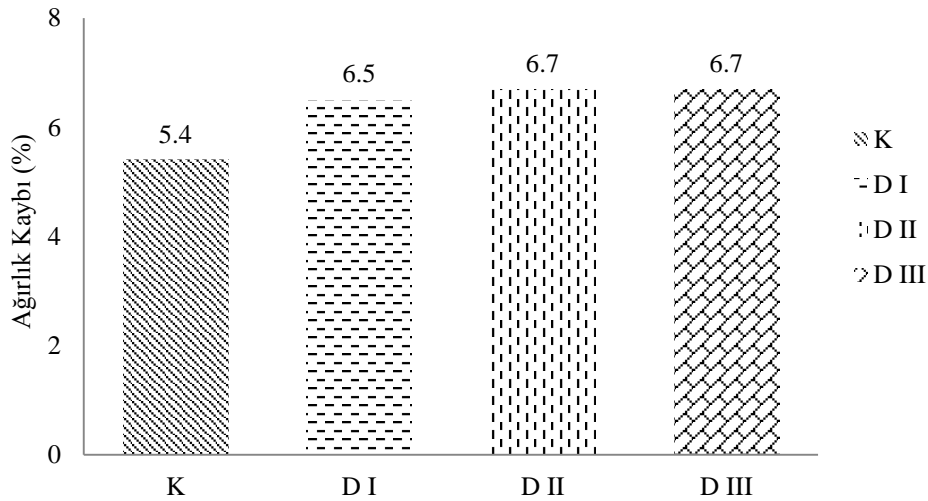
Kontrol ve deneme gruplarının ağırlık kaybı Tablo 3.9’da gösterilmektedir.

Tablo 3.9. Ağırlık kaybı analiz sonuçları (%)

Grup	N	q ₂	q ₁
K	3	5,4 ^a	5,4
DI	3	6,5 ^{ab}	6,4
DII	3	6,7 ^b	6,6
D III	3	6,7 ^{ab}	6,6

N: analiz sayısı; *p<0,05; q₂: Medyan; q₁:%25’lik çeyreklik; ^{a-b}: aynı sütundaki harfler ağırlık kaybı karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler, örnekler arasında istatistiksel fark (p<0.05)olduğunu gösterirken, aynı harflerle gösterilen örnekler arasında istatistiksel fark bulunmadığını göstermektedir (p>0.05); p: 0,029*

Tablo 3.9 incelendiğinde kontrol grubu ile DII arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu, diğerleri arasında ise fark bulunmadığı tespit edildi. Yapılan ölçümler sonucu ağırlık kaybının %5,4-6,7 arasında olduğu belirlendi (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında olgunlaşma sonu ağırlık kaybı değerleri

3.4. Fiziksel Analizler

3.4.a. Renk Analizi

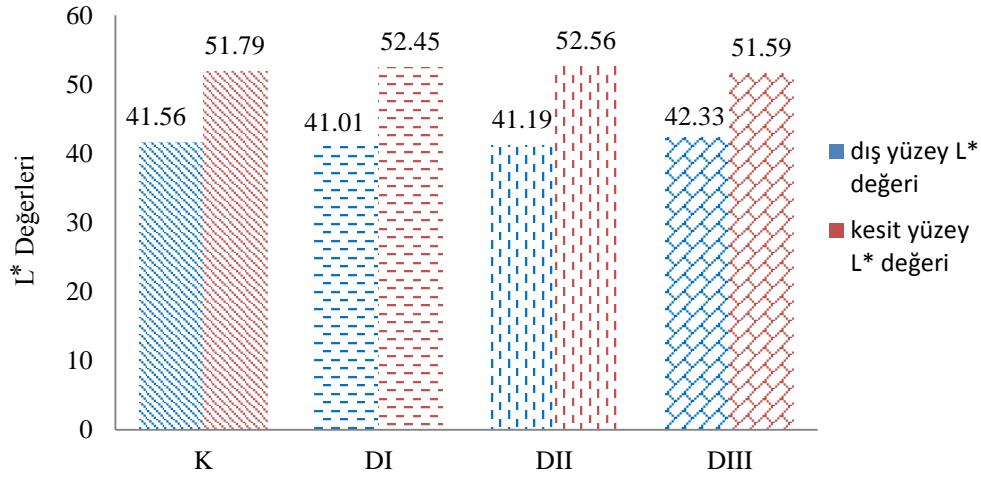
Kontrol ve deneme gruplarının renk parametreleri son üründe dış yüzey ve kesit yüzeyi olarak 5 paralelli ölçüldü. L^* parlaklığı, a^* değerinin pozitif olması kırmızılığı, negatif olması yeşilliği; b^* değerinin pozitif olması sarılığı, negatif olması maviliği göstermektedir. CIE yöntemine göre L^* , a^* ve b^* değerleri ortalamalarına göre yapılan istatistik analiz sonuçları Tablo 3.10’da gösterilmektedir.

Tablo 3.10. Dış Yüzey ve kesit yüzey renk değerleri analiz sonuçları

Renk Değerleri	Grup	N	q_2^a	q_1^a	q_2^b	q_1^b
L^* değeri	K	3	41,56	38,58	51,79	51,16
	D I	3	41,01	38,51	52,45	51,54
	D II	3	41,19	38,54	52,56	51,39
	D III	3	42,33	37,31	51,59	51,35
a^* değeri	K	3	13,93	13,60	17,43	16,85
	DI	3	10,16	9,99	17,35	17,00
	DII	3	10,45	10,06	17,11	16,56
	D III	3	11,04	10,69	17,63	17,63
b^* değeri	K	3	12,26	12,01	17,75	17,09
	D I	3	10,87	10,75	18,44	17,42
	D II	3	11,39	10,74	18,36	17,28
	D III	3	10,69	10,53	18,02	17,57

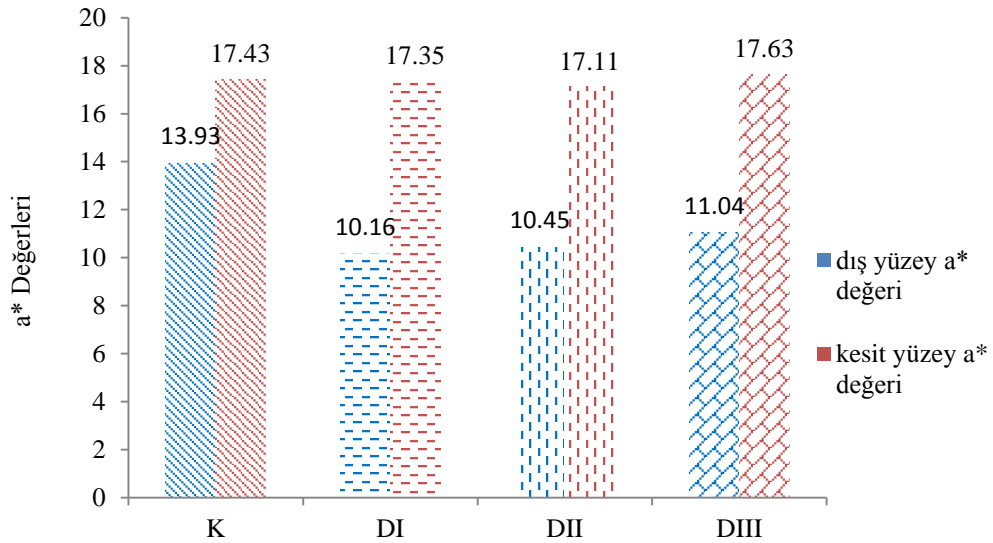
N: analiz sayısı; q_2 : Medyan; q_1 : %25’lik çeyreklik; a: Dış yüzey; b: Kesit yüzey; L_a^* değeri p: 0,863; a_a^* değeri p: 0,063; b_a^* değeri p: 0,075; L_b^* değeri p: 0,935; a_b^* değeri p: 0,204; b_b^* değeri p: 0,963.

Sucuk gruplarında dış yüzey L^* , a^* ve b^* değerleri incelendiğinde gruplar arası farkın önemli olmadığı sonucuna varıldı. Dış yüzey L^* değeri açısından incelendiğinde en yüksek değer DIII’te (42,33), en düşük değeri ise DI’de (41,01) olduğu belirlendi. Kesit yüzey açısından da en yüksek değere DII’nin (52,45), en düşük değere ise DIII’ün (51,59) sahip olduğu görüldü (Şekil 3.9).



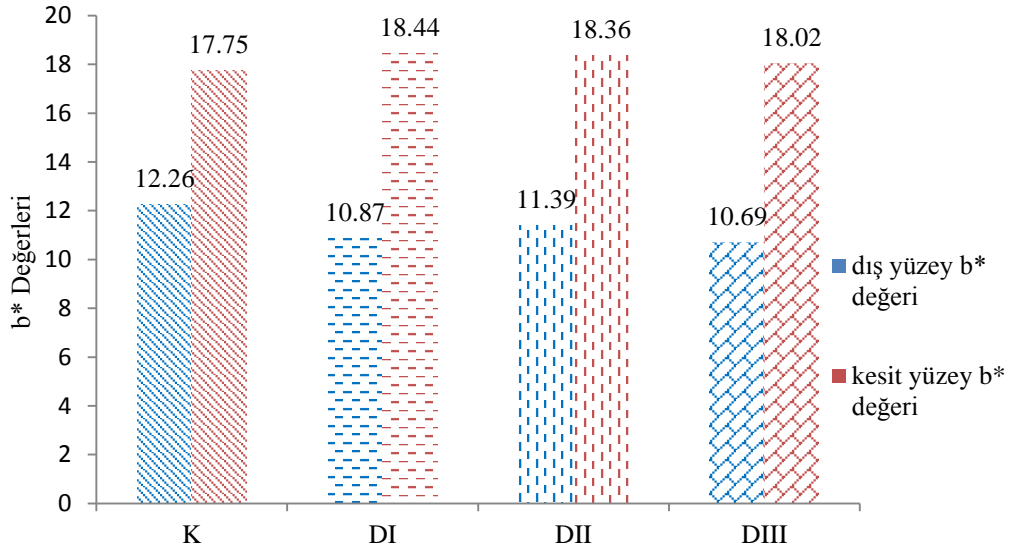
Şekil 3.9. Dış yüzey ve kesit yüzey L* değeri analiz sonuçları

Dış yüzey en yüksek a* değeri kontrol grubunda (13,93), en düşük a* değeri ise DI (10,16) grubunda belirlendi. Kesit yüzey bakımından ise en yüksek a* değeri DIII (17,63); en düşük a* değeri DII’de (17,11) saptandı (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Dış yüzey ve kesit yüzey a* değeri analiz sonuçları

Dış yüzey b* değeri en yüksek kontrol grubunda (12,26); en düşük ise DIII (10,69) grubunda tespit edildi (Şekil 3.11). Kesit yüzey b* değeri en fazla olan DI (18,44), en az olan ise kontrol grubuydu (17,75).



Şekil 3.11. Dış yüzey ve kesit yüzey b* değeri analiz sonuçları

3.4.b. Tekstür Profil Analizi

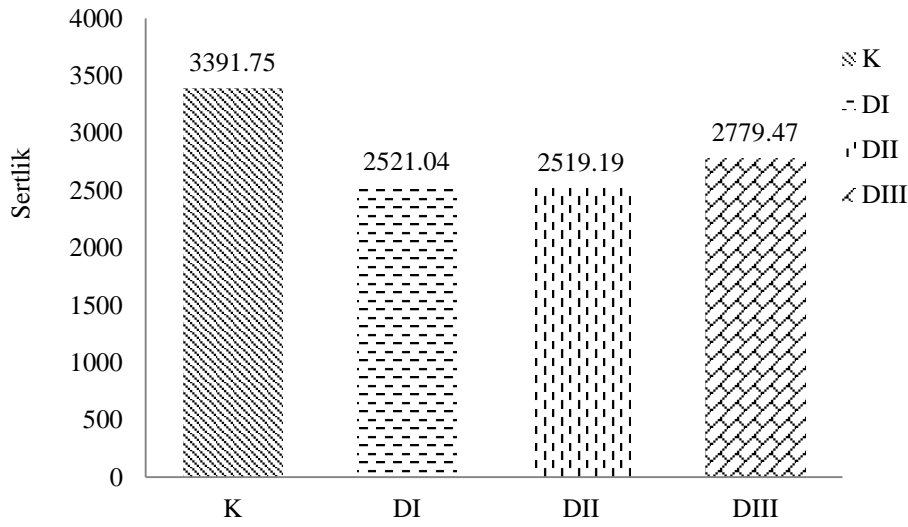
Kontrol ve deneme gruplarının tekstür özellikleri olarak sertlik, dış yapışkanlık, esneklik, iç yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve elastiklik değerleri istatistik sonuçları Tablo 3.11'de gösterilmektedir.

Tablo 3.11. Kontrol ve deneme gruplarının tekstür analiz sonuçları

Tekstür Değerleri	Grup	N	q ²	q ¹	q ³
Sertlik (g)	K	9	3391,75 ^a	2677,64	3725,54
	D I	9	2521,04 ^b	2158,50	2855,66
	DII	9	2519,19 ^b	2214,69	2839,43
	D III	9	2779,47 ^{ab}	2669,93	3155,62
Dış yapışkanlık (g.sn)	K	9	29,70	61,93	9,17
	DI	9	20,09	92,14	13,58
	DII	9	12,49	23,30	7,95
	D III	9	10,28	19,56	7,48
Esneklik	K	9	0,78	0,74	0,83
	DI	9	0,76	0,71	0,79
	DII	9	0,75	0,65	0,81
	D III	9	0,70	0,61	0,74
İç yapışkanlık	K	9	0,71 ^{ab}	0,68	0,74
	DI	9	0,70 ^a	0,66	0,70
	DII	9	0,73 ^{ab}	0,69	0,78
	D III	9	0,74 ^b	0,72	0,77
Çiğnenabilirlik (g)	K	9	1742,17	1410,93	2252,39
	DI	9	1263,43	1066,27	1453,74
	D II	9	1448,97	974,92	1652,89
	D III	9	1462,71	1302,41	1589,79
Elastiklik	K	9	0,25 ^{ab}	0,24	0,29
	DI	9	0,25 ^a	0,23	0,26
	DII	9	0,26 ^{ab}	0,23	0,29
	D III	9	0,28 ^b	0,27	0,30

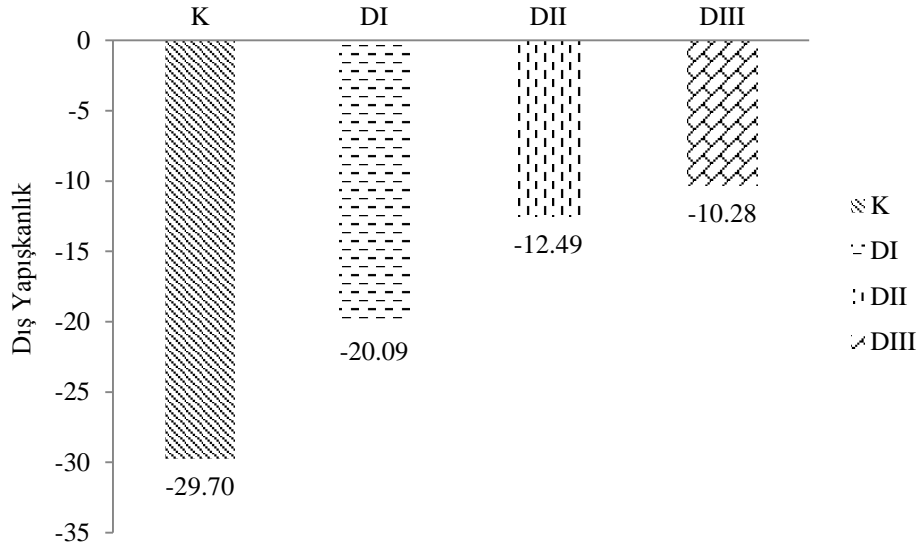
N: analiz sayısı; *p<0,05; **p≤0,01; q₂: Medyan; q₁:%25'lik çeyreklik; q₃: %75'lik çeyreklik;^{a-b}: Her bir özellik için ayrı ayrı, aynı sütundaki harfler tekstür profil analiz değerleri karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel fark (p<0,05; p≤0,01) olduğunu gösterirken; aynı harflerle gösterilenler örnekler arasında istatistiksel fark bulunmadığını göstermektedir (p>0,05); sertlik p: 0,011**; dış yapışkanlık p: 0,184; esneklik p: 0,100; iç yapışkanlık p: 0,023*; çiğnenabilirlik p: 0,052; elastiklik p: 0,018**

Kontrol ve deneme gruplarının sertlik değerleri 2519,19-3391,25 g aralığında ölçüldü. Sertlik değeri en yüksek olan kontrol grubu, en düşük olan ise DI grubuydu. Sucuk gruplarında kültür ilave edilmiş deneme gruplarının sertlik değerlerinin, kontrol grubuna göre daha düşük olduğu tespit edildi (şekil 3.12). Kontrol grubunun, DI ve DII sucuk grubu ile arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu sonucuna varıldı ($p<0,05$). Deneme grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önem arz etmediği belirlendi.

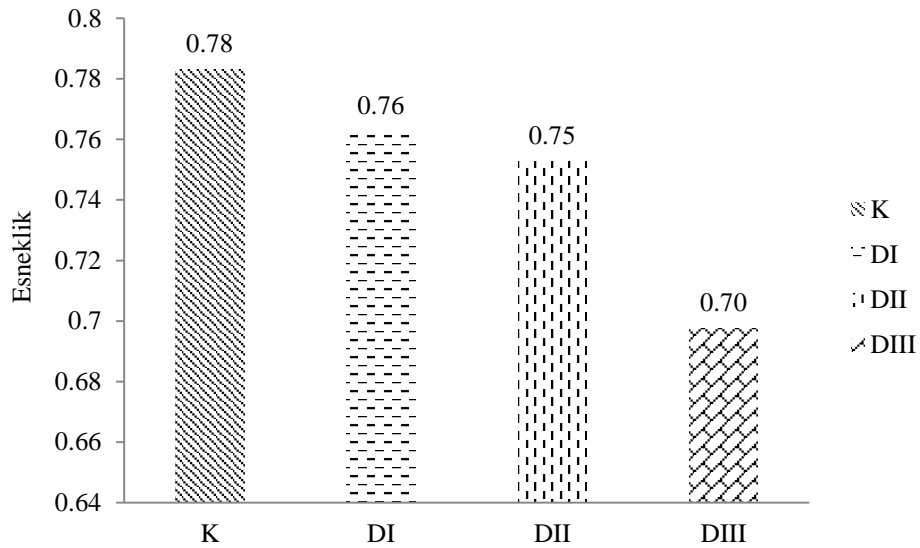


şekil 3.12. Kontrol ve deneme gruplarının sertlik analiz sonuçları

Sucuk gruplarında dış yapışkanlık (29,70-10,28 g.sn) ve esneklik değerleri (0,70-0,78) incelendiğinde, esneklik değeri bakımından en yüksek değer kontrol grubunda, en düşük değer ise DIII grubundayken; nem içeriği yüksek sucuk gruplarında dış yapışkanlık değeri en yüksek DIII, en düşük ise kontrol grubundaydı (şekil 3.13, şekil 3.14). Bu özellikler bakımından istatistiksel olarak gruplar arası farkın önemli olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

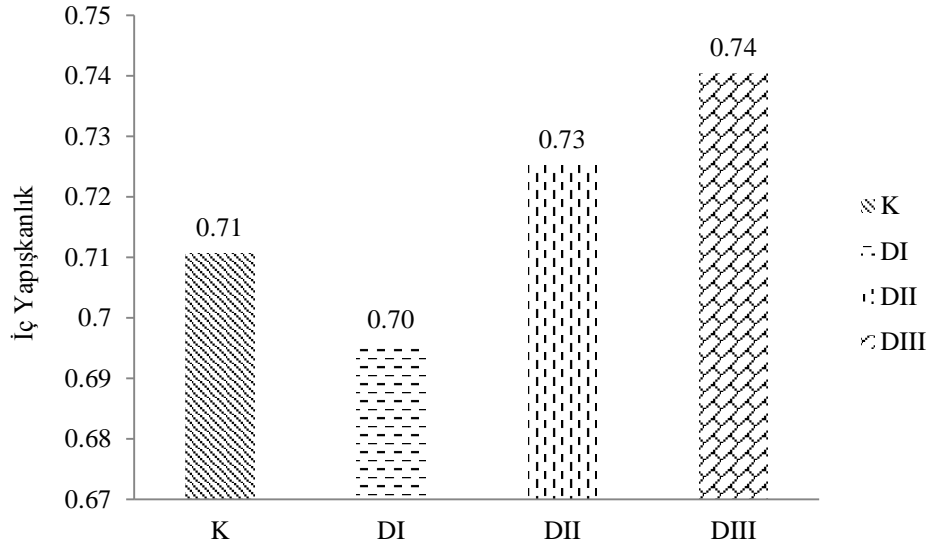


Şekil 3.13. Kontrol ve deneme gruplarının dış yapışkanlık analiz sonuçları



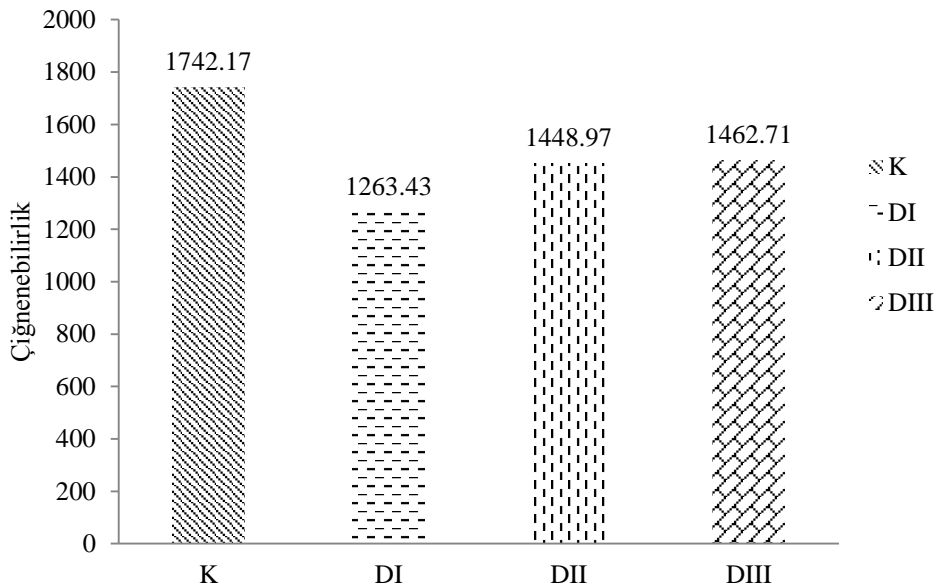
Şekil 3.14. Kontrol ve deneme gruplarının esneklik analiz sonuçları

Gruplarda iç yapışkanlık değerlerine bakıldığında en yüksek değer deneme III (0,74), en düşük değer ise DI (0,70) grubundadır (Şekil 3.15). İstatistiksel olarak gruplar arası fark önemlidir ($p < 0,05$).



Şekil 3.15. Kontrol ve deneme gruplarının iç yapışkanlık analiz sonuçları

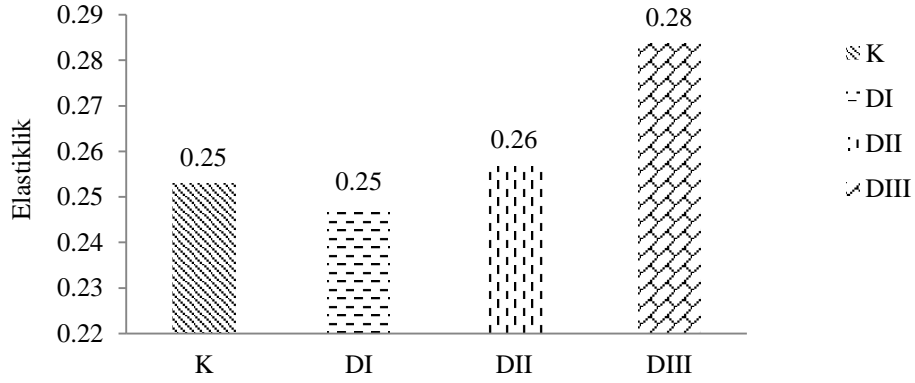
Çiğnenebilirlik özelliği bakımından elde edilen değerler 1263,43-1742,17 g arasında ölçüldü (Şekil 3.16). İstatistiksel olarak gruplar arasındaki fark önemsiz olmakla birlikte, en yüksek değer kontrol (1742,17 g), en düşük değer ise DI sucuk grubunda (1263,43 g) gözlemlendi.



Şekil 3.16. Kontrol ve deneme gruplarının çiğnenebilirlik analiz sonuçları

Tekstür profil analizinde elastiklik özelliği açısından yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu değerler ortalaması 0,25-0,28 aralığında olup, DIII ve DI grupları arası

farkın önemli olduğu sonucuna ulaşıldı ($p<0,05$). En yüksek değere sahip DIII (0,28), en düşük değere sahip gruplar ise kontrol ve DI (0,25) grupları olarak tespit edildi (Şekil 3.17).



Şekil3.17. Kontrol ve deneme gruplarının elastiklik analiz sonuçları

3.5. Duyusal Analiz

Kontrol ve deneme gruplarının duyusal değerlendirilmesi, son üründe yapıldı. Duyusal değerlendirme sonuçları çiğ sucuk için Tablo 3.12’de, pişmiş sucuk için Tablo 3.13’te gösterilmektedir.

Tablo 3.12. Çiğ sucuk duyuşal analiz sonuçları

Duyuşal Analiz Değerleri	Grup	N	Ortalama± Standart Sapma	F	p
Kesit yüzey rengi	K	25	5,56±1,60	1,236	0,301
	D I	25	5,24 ±1,56		
	D II	25	5,76±1,78		
	D III	25	6,12±1,66		
Dış yüzey rengi	K	25	6,36±1,46	0,650	0,585
	D I	25	6,08±1,35		
	D II	25	6,12±1,69		
	D III	25	6,60±1,44		
Tipik sucuk kokusu	K	25	6,76±1,80	0,917	0,436
	D I	25	5,92±1,95		
	D II	25	6,52±2,08		
	D III	25	6,60±1,80		
Tekstür	K	25	7,24 ^a ±1,26	2,970	0,036*
	D I	25	6,24 ^b ±1,47		
	D II	25	6,40 ^{ab} ±1,52		
	D III	25	7,08 ^{ab} ±1,44		
Genel kabul edilebilirlik	K	25	7,32±1,28	1,696	0,173
	D I	25	6,48±1,89		
	D II	25	6,92±1,60		
	D III	25	7,32±1,28		

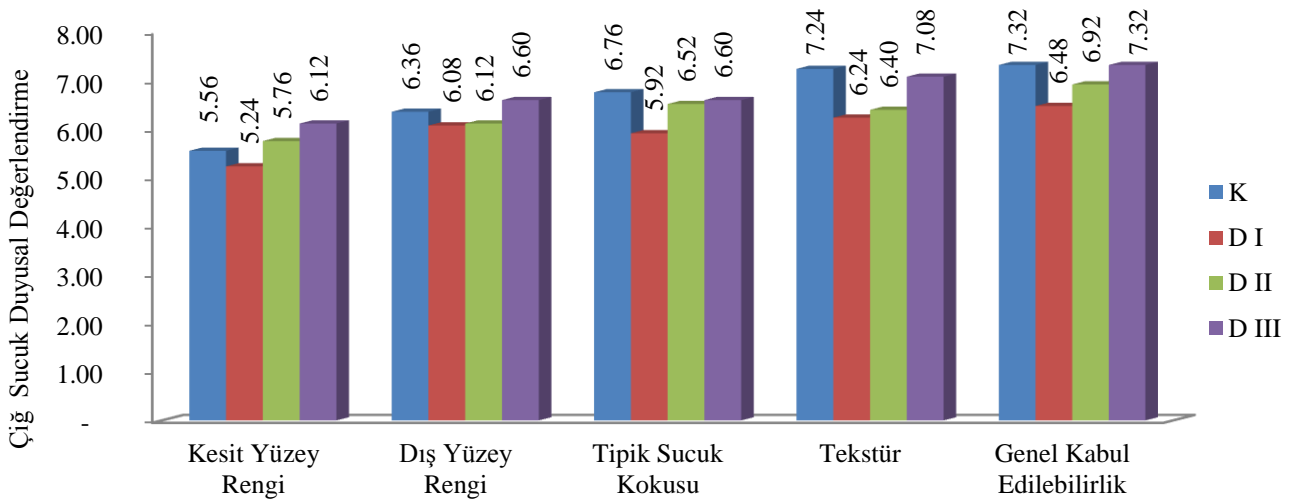
N: panelist sayısı; *p<0,05; ^{a-b}: aynı sütundaki harfler çiğ sucuk duyuşal analiz değerleri karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel fark (p<0,05) olduğunu gösterirken; aynı harflerle gösterilenler örnekler arasında istatistiksel fark bulunmadığını göstermektedir (p>0,05).

Tablo 3.13. Pişmiş sucuk duyuşsal analiz sonuçları

Duyuşsal Analiz Değerleri	Grup	N	Ortalama± Standart Sapma	F	p
Kesit yüzey rengi	K	25	7,36 ^a ±1,22	4,111	0,009**
	DI	25	6,56 ^b ±1,44		
	DII	25	7,00 ^{ab} ±1,15		
	D III	25	7,68 ^a ±0,85		
Dışyüzey rengi	K	25	7,56 ^{ab} ±1,12	5,237	0,002**
	DI	25	6,64 ^c ±1,52		
	DII	25	7,12 ^{bc} ±1,01		
	D III	25	7,88 ^a ±0,97		
Tipiksucuk tat ve aroması	K	25	7,56±0,91	1,866	0,140
	D I	25	6,84±1,67		
	D II	25	7,04±1,56		
	D III	25	7,60±1,25		
Tekstür	K	25	6,56 ^a ±1,95	4,399	0,006**
	D I	25	6,20 ^a ±1,60		
	D II	25	6,48 ^a ±1,58		
	D III	25	7,68 ^b ±0,85		
Genel kabul edilebilirlik	K	25	7,44 ^{ab} ±0,96	3,637	0,016*
	D I	25	6,80 ^b ±1,75		
	D II	25	7,12 ^b ±1,48		
	D III	25	8,00 ^a ±1,00		

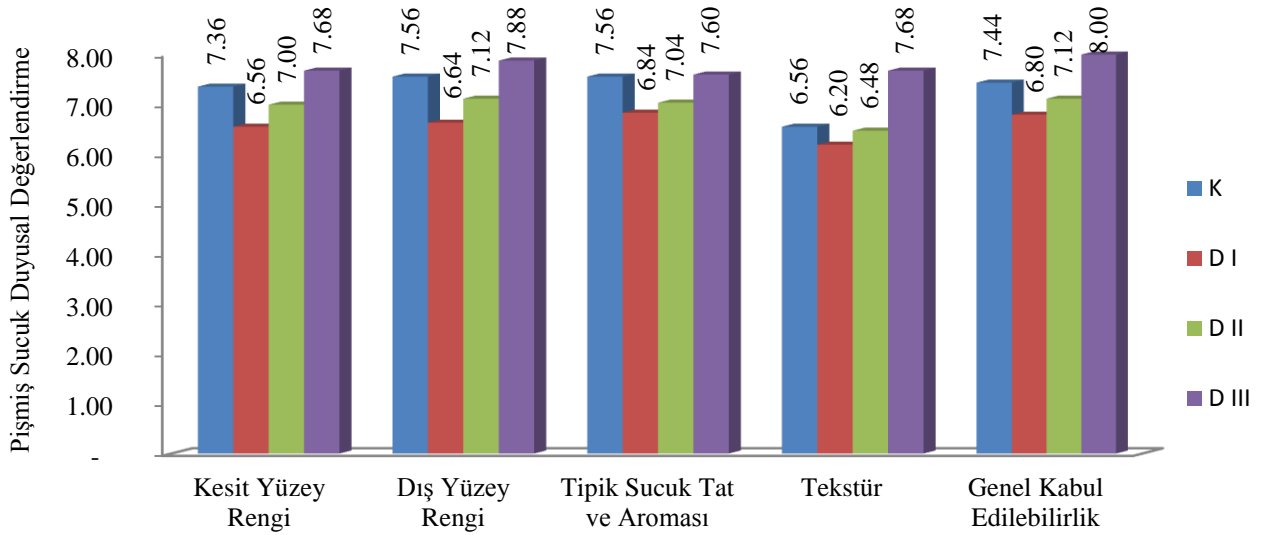
N: panelist sayısı; *p<0,05; **p<0,01; ^{a-b}: aynı sutundaki harfler pişmiş sucuk duyuşsal analiz değerleri karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler, örnekler arasında istatistiksel fark (p<0,05; p<0,01)olduğunu gösterirken, aynı harflerle gösterilenörnekler arasındaistatistiksel fark bulunmadığını göstermektedir (p>0,05).

Çiğ sucuk gruplarında kesit yüzey rengi, dış yüzey rengi, tipik sucuk kokusu ve genel kabul edilebilirlik özellikleri bakımından istatistiksel olarak fark bulunmadı. Sadece tekstür özelliği açısından kontrol ve DI sucuk grubu arasında istatistiksel fark belirlendi ($p<0,05$). Panelistler tarafından yapılan değerlendirme sonucu en düzgün tekstür kontrol grubunda (7,24), en kaba tekstür ise DI sucuk grubunda (6,24) belirlendi. Tekstürel özellik bakımından en düzgünden en kaba olana doğru sıralayacak olursak kontrol, DIII, DII, DI şeklinde sıralanmaktadır (Şekil 3.18).



Şekil 3.18 Çiğ sucuk duyuusal değerlendirme sonuçları

Pişmiş sucuk denemelerinde; kesit yüzey rengi ($p<0,01$), dış yüzey rengi ($p<0,01$), tekstür ($p<0,01$) ve genel kabul edilebilirlik özellikleri ($p<0,05$) bakımından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulundu. Kesit yüzey rengi açısından DI (6,56) ve kontrol grubu (7,36) farklılık göstermektedir. Aynı özellik bakımından DIII (7,68) ile de DI farklılık göstermektedir (Şekil 3.23). Dış yüzey rengine göre, kontrol grubu (7,56) DI (6,64) ile; DIII (7,88)'te, DI ve DII (7,12) ile farklıdır. Ancak, DIII, kontrol ile farklılık göstermemektedir (Şekil 3.24). Tipik sucuk tat ve aroması bakımından istatistiksel olarak fark gözlemlenmeyip gruplar içinde tipik sucuk tat ve aromasına en yakın gruptan, en uzağa doğru: DIII (7,60), kontrol, DII ve DI (6,84) şeklinde sıralanmaktadır (Şekil 3.25). Tekstür bakımından, DIII grubunun diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı olduğu sonucuna varılmaktadır ($p<0,01$). Pişmiş sucuk gruplarında en yüksek değere sahip olan DIII (7,68), en düşük değere sahip olan ise DI (6,20) sucuk grubu'dur (Şekil 3.26). Genel kabul edilebilirlik seviyeleri bakımından, DIII grubunun (8,0), DI (6,80) ve DII grubuyla (7,12) arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna ulaşılmaktadır ($p<0,05$) (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. Pişmiş sucuk duyuşsal değerlendirme sonuçları

3.6. Uçucu Aroma Bileşenleri Analizi

Kontrol ve deneme gruplarının, uçucu aroma bileşenleri son üründe GC-MS cihazı ile analiz edildi. Deneme sucuk gruplarında, aldehitler, alkoller, asitler, aromatik, sülfürlü bileşikler, terpenler, furanlar olmak üzere son üründe toplam 15 farklı uçucu aroma bileşeni belirlendi. Olgunlaşmasını tamamlamış sucuk gruplarında gama terpen, alfa pinen, delta 3 karen, o-simen, alfa-fellandren, kampen, metileugenol, kumik alkol, dialil disülfid, N-etil-1,3-ditiyoisindolin, 2-metil-3-fenil propanal, kumin aldehit, 2- metil propanoik asit, 2-metilfuran uçucu bileşiklerin olduğu saptandı.

Sucuk gruplarında en fazla bulunan uçucu bileşenler, gama-terpen, o-simen, alfa karen, delta 3 karen, dialil disülfid, kumin aldehit'tir. Uçucu aroma bileşenleri içerisinde sadece kontrol sucuk grubunda bulunup, diğer sucuk gruplarından bulunmayan uçucu bileşen tespit edilememiş olup kontrol örneğinde tespit edilemeyip diğer sucuk gruplarında bulunan bileşenler alfa-fellandren, kampen, 2-metil propanoik asit, 2-metilfuran'dır.

Kontrol ve deneme sucuk grupları içerisinde, terpenlerden en fazla tespit edilen, o-simen'dir. O-simen, kontrol ve deneme sucuk grupları içerisinde en fazla yüzdeye sahip olduğu grup DI, en az yüzdeye sahip olduğu grup ise DII'dir. Gama terpenin, en yüksek yüzdesi DIII, en az yüzdesi kontrol grubundadır. Alfa pinen, en az kontrol, en fazla DI

grubunda saptandı. Delta 3 karen, en fazla kontrol grubunda, en az DIII grubunda belirlendi. Deneme sucuk gruplarında bulunup, kontrol grubunda bulunmayan alfa-fellandren'dir. Ve en az yüzdede olduğu grup DI, en fazla ise DII'dedir.

Aldehitlerden, 2-metil-3-fenil propanal ve kumin aldehit açığa çıkan uçucu bileşenlerdir. Kumin aldehit, en fazla ortalama pik alanına sahip ve en yüksek yüzde kontrol grubunda en düşük yüzde ise DII'dedir. 2-metil-3-fenil propanal, DII'nin aroma bileşenleri içinden en yüksek, kontrol grubunda da en düşük yüzdeye sahiptir.

Sucuk örneklerinde asitlerden, sadece DIII grubunda, 2-metil propanoik asit açığa çıktığı belirlendi. Kontrol ve deneme gruplarında alkoller grubundan kumik alkol, DI sucuk grubunda en yüksek yüzdeye sahipken kontrol grubunda en düşük yüzdeye sahiptir.

Aromatik bileşikler, en yüksek yüzde alana DI, en düşük ise DII sucuk grubunda saptandı. Sülfürlü bileşenler içerisinde N-etil-1,3-dithioisindol, dialil disülfid bileşenleri tespit edildi. N-etil-1,3-dithioisindol, sülfürlü bileşikler içinde en fazla yüzdeye sahip bileşen olup, sadece DII sucuk grubunda belirlendi. En fazla yüzdeye DIII, en az yüzdeye DI sucuk grubunda rastlanıldı. Dialil disülfid için de en fazla yüzde, kontrol en az yüzde, DII sucuk grubunda tespit edildi. 2-metil furan ise sadece DI grubunda belirlendi. Uçucu aroma bileşenlerinin kovats indeksleri, alıkonma zamanları, ortalama pik alanları Tablo 3.14'te gösterilmektedir.

Tablo 3.14. Kontrol ve deneme sucuk gruplarında belirlenen uçucu aroma bileşenleri

UÇUCU BİLEŞEN	Kovats İndeks ^a	RT	K	DI	DII	DIII
Terpenler						
O-simen	1031	8.19	33,7	36,95	28,95	31,15
Gama-terpen	1038	9.27	22,5	30,85	27,15	33,9
Alfa-pinen	975	6.80	3,75	5,6	4,6	4,2
Delta-3-karen	1000	7.43	7,6	0,9	0,85	0,7
Alfa-fellandren	1010	7.44	-	0,1	0,8	0,785
Kampen	1285	18.41	-	-	0,47	-
Beta siklositral	1210	15.17	0,71	-	-	-
Aldehitler						
Kumin aldehit	1261	17.36	21,69	11,345	8,305	9,14
2-metil-3-fenil propanal	1273	17.88	0,28	5,41	9,66	6
Asitler						
2-metil propanoik asit	528	1.53	-	-	-	6,33
Alkoller						
Kumik alkol	1313	19.62	0,54	3,65	3,3	2,3
Aromatik Bileşikler						
Metileugenol	1419	24.08	0,88	1,05	0,785	0,82
Sülfürlü bileşikler						
N-etil-1,3- ditiyoisindolin	932	1.56	3,55	2,05	-	3,7
Dialil disülfid	1091	10.31	2,55	1,55	1,2	-
Furanlar						
2-metilfuran	1304	19.21	-	0,50	-	-

a: Kovats indeks HP INNOWAX kolonu kullanılarak hesaplanmıştır; RT: Retention Time, Altkonma Zamanı; Sonuçlar pik alanlarının ortalama yüzdesidir.

3.7. Mikrobiyolojik Analiz

3.7.1 Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Geleneksel metotlarla üretimi yapılan kontrol ve deneme gruplarının fermentasyon işlemine alınmadan önce (sucuk hamuru) ve kurutma aşamasından sonra (sucuk) belirlenen laktik asit bakteri sayıları Tablo 3.15'te gösterilmektedir. Sucuk grupları, hem kendi içlerinde hem de gruplar arası karşılaştırıldı. Tablo 3.16'da genel karşılaştırma istatistiksel analiz sonuçları gösterilmektedir.

Tablo 3.15.Hamur/Sucuk kontrol ve deneme gruplarının laktik asit bakteri sayım sonuçları (log kob/g)

Hammadde	Grup	N	q ₂	q ₁
Hamur	Kontrol	3	5,79	5,46
	DI	3	6,53	5,58
	DII	3	6,59	6,39
	D III	3	6,56	6,39
Sucuk	Kontrol	3	7,39	7,38
	DI	3	7,41	7,27
	DII	3	7,45	7,43
	D III	3	8,64	7,68

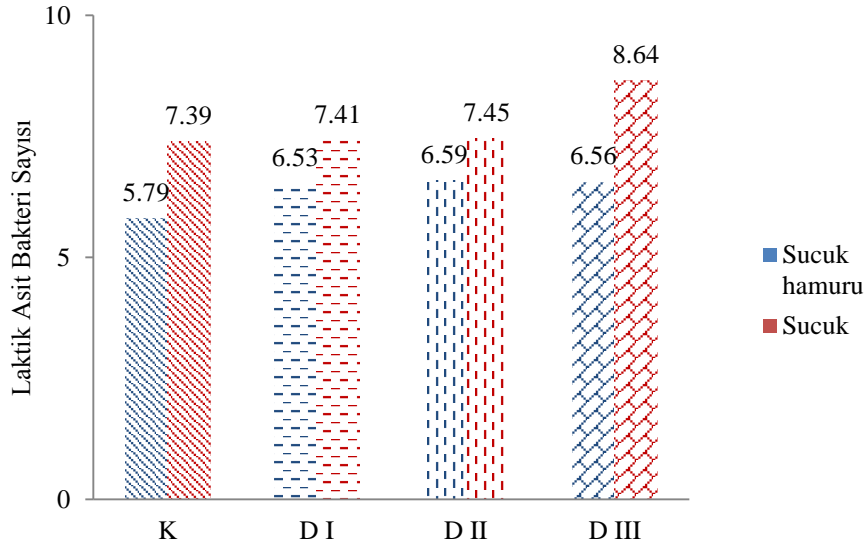
N: analiz sayısı; q₂: Medyan; q₁:%25'lik çeyreklik; Sucuk hamur p: 0,154; Sucuk p: 0,077

Tablo 3.16. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme gruplarının genel laktik asit bakteri sonuçlarının karşılaştırması (log kob/g)

Grup	N	q ₂	q ₁
Sucuk Hamur Kontrol	3	5,79 ^a	5,46
Sucuk Hamur D I	3	6,53 ^{ab}	5,58
Sucuk Hamur D II	3	6,59 ^{ab}	6,39
Sucuk Hamur D III	3	6,56 ^{ab}	6,39
Sucuk Kontrol	3	7,39 ^{ab}	7,38
Sucuk D I	3	7,41 ^{ab}	7,27
Sucuk D II	3	7,45 ^{ab}	7,43
Sucuk D III	3	8,64 ^b	7,68

N: analiz sayısı; **p<0,01; q₂: Medyan; q₁:%25'lik çeyreklik; ^{a-b}: aynı sütundaki harfler laktik asit bakteri sayımı karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel fark (p<0,01)olduğunu gösterirken, aynı harflerle gösterilenler örnekler arasında istatistiksel fark bulunmadığını ifade eder (p>0,05); p: 0,005**

Kendi içlerinde yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu herhangi bir fark olmadığı belirlendi. Yapılan genel karşılaştırma sonucunda, kontrol sucuk hamurunun, DIII sucuk grubu ile arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna varılmaktadır (p<0,01). Laktik asit bakteri sayısı, sucuk hamurunda 5,79-6,59 log kob/g; sucukta 7,39-864 log kob/g olarak belirlendi (Şekil 3.20). Sucuk hamur gruplarında en düşük değer kontrol grubundayken (5,79 log kob/g); en yüksek değer DII sucuk hamurundadır (6,59 log kob/g). Sucuk gruplarında ise en düşük değer yine kontrol grubunda (7,39 log kob/g); en yüksek değer DIII sucuk grubundadır (8,64 log kob/g).



Şekil 3.20. Sucuk ve sucuk hamurunda belirlenen laktik asit bakteri sayım sonuçları (log kob/g)

3.7.2 *Staphylococcus* spp. Sayımı

Geleneksel metotlarla üretimi yapılan kontrol ve deneme sucuk gruplarında belirlenen *Staphylococcus* spp. sayım sonuçları Tablo 3.17’de gösterilmektedir. Tablo 3.18’de genel karşılaştırma istatistiksel analiz sonuçları belirtilmektedir.

Tablo 3.17. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme gruplarında *Staphylococcus* spp. sayım sonuçları (log kob/g)

Hammadde	Grup	N	q ₂	q ₁
Hamur	Kontrol	3	5,18 ^a	5,15
	DI	3	5,90 ^{ab}	5,85
	DII	3	5,65 ^{ab}	5,60
	D III	3	5,95 ^b	5,93
Sucuk	Kontrol	3	6,36	6,26
	DI	3	7,89	6,90
	DII	3	8,66	7,59
	D III	3	7,94	7,89

N: analiz sayısı; *p<0,05; q₂: Medyan; q₁:%25'lik çeyreklik;^{a-b}: aynı sütundaki harfler *Staphylococcus* spp. sayımı karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak fark (p<0,05) olduğunu gösterirken, aynı harflerle gösterilenler ise örnekler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığını göstermektedir (p>0,05). Sucuk hamur p: 0,019*; sucuk p: 0,072

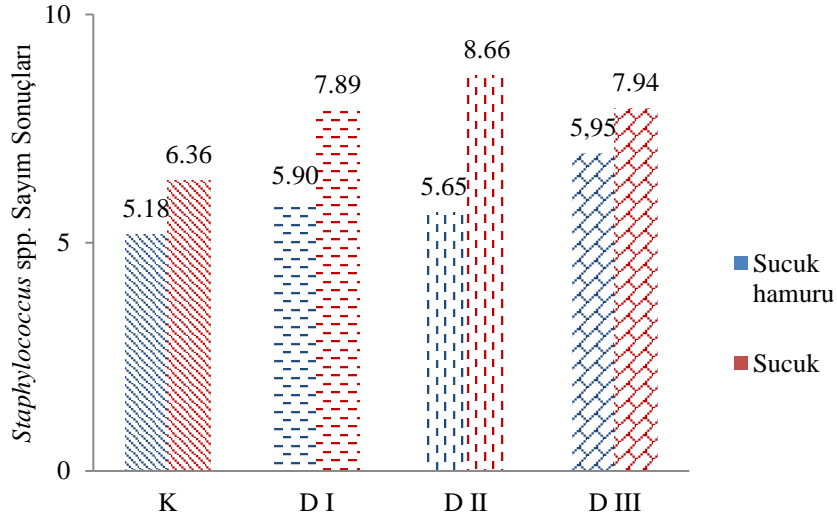
Tablo 3.18. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme genel gruplarının *Staphylococcus* spp. sayım sonuçlarının karşılaştırılması (log kob/g)

Grup	N	q ₂	q ₁
Sucuk Hamur Kontrol	3	5,18 ^a	5,15
Sucuk Hamur D I	3	5,90 ^{ab}	5,85
Sucuk Hamur D II	3	5,65 ^{ab}	5,60
Sucuk Hamur D III	3	5,95 ^{ab}	5,93
Sucuk Kontrol	3	6,36 ^{ab}	6,26
Sucuk D I	3	7,89 ^{ab}	6,90
Sucuk D II	3	8,66 ^b	7,59
Sucuk D III	3	7,94 ^{ab}	7,89

N: analiz sayısı; **p<0,01; q₂: Medyan; q₁:%25'lik çeyreklik; ^{a-b}: aynı sütundaki harfler *Staphylococcus* spp. sayımı karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel fark (p<0,01) olduğunu gösterirken; aynı harflerle gösterilenler örnekler arasında fark bulunmadığını göstermektedir (p>0,05); p: 0,007**

Kendi içlerinde yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu, herhangi bir fark olmadığı ortaya çıkarıldı. Yapılan genel karşılaştırma sonucunda, kontrol sucuk hamur grubunun, DII sucuk grubu ile arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna varılmaktadır (p<0,05). Sucuk hamurlarında *Staphylococcus* spp. sayım sonucu 5,18-5,95 log kob/g; sucuklarda ise 6,36-8,66 log kob/g olarak belirlendi (Şekil 3.21). Sucuk hamurlarında, en düşük değer kontrol grubundayken (5,18log kob/g); en yüksek değer DIII sucuk

hamurundadır (5,95 log kob/g). Sucuk gruplarında ise en düşük değer yine kontrol grubunda (6,36 log kob/g); en yüksek değer DII sucuk grubundadır (8,66 log kob/g).



Şekil 3.21. Sucuk ve sucuk hamurunda belirlenen *Staphylococcus* spp.sayım sonuçları (log kob/g)

3.7.3 Enterobacteriaceae Sayımı

Hamur/sucuk kontrol ve deneme gruplarında belirlenen Enterobacteriaceae sayım sonuçları Tablo 3.19’de gösterilmektedir. Tablo 3.20’de genel karşılaştırma istatistiksel analiz sonuçları belirtilmektedir. Kendi içlerinde yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu herhangi bir fark olmadığı sonucuna varıldı. Yapılan genel karşılaştırma sonucunda, DII sucuk hamur grubunun (3,60 log kob/g), DII ve DIII sucuk grubu (2,38 log kob/g) ile arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna varılmaktadır ($p < 0,01$).

Tablo 3.19. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme gruplarında Enterobacteriaceae sayım sonuçları (log kob/g)

Hammadde	Grup	N	q ₂	q ₁
	K	3	3,45	3,39
Sucuk Hamur	DI	3	3,54	3,36
	DII	3	3,60	3,58
	D III	3	3,73	3,74
Sucuk	K	3	2,46	2,45
	DI	3	2,48	2,45
	DII	3	2,38	2,34
	D III	3	2,38	2,34

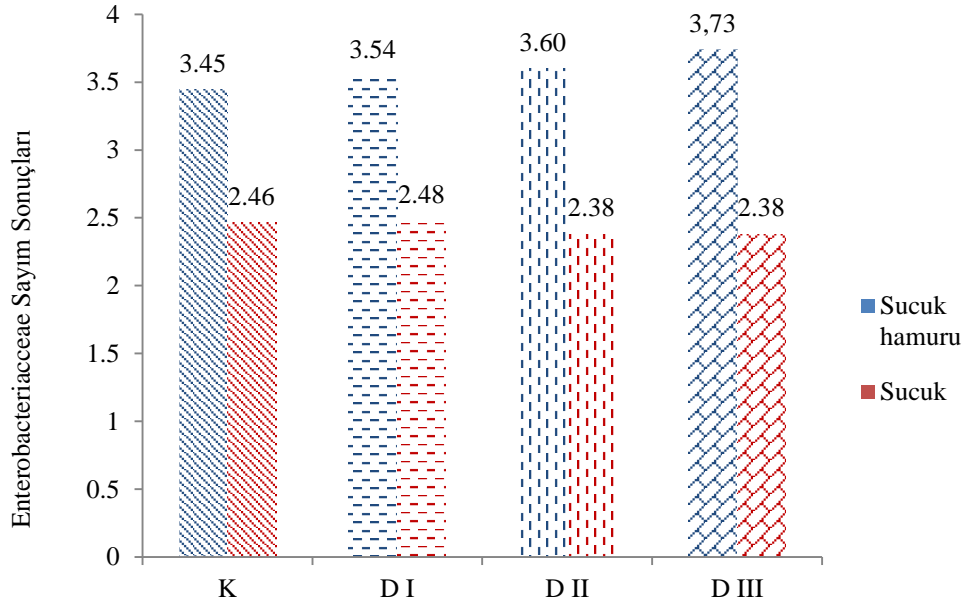
N: analiz sayısı; q₂: Medyan; q₁:%25'lik çeyreklik; Sucuk Hamur p: 0,459; Sucuk p: 0,051

Tablo 3.20. Hamur/Sucuk kontrol ve deneme genel gruplarının Enterobacteriaceaesayım sonuçlarının karşılaştırılması (log kob/g).

Grup	N	q ₂	q ₁
Sucuk Hamur Kontrol	3	3,45 ^{ab}	3,39
Sucuk Hamur D I	3	3,54 ^{ab}	3,36
Sucuk Hamur D II	3	3,60 ^a	3,58
Sucuk Hamur D III	3	3,73 ^{ab}	3,74
Sucuk Kontrol	3	2,46 ^{ab}	2,45
Sucuk D I	3	2,48 ^{ab}	2,45
Sucuk D II	3	2,38 ^b	2,34
Sucuk D III	3	2,38 ^b	2,34

N: analiz sayısı; **p<0,01; q₂: Medyan; q₁:%25'lik çeyreklik; ^{a-b}: aynı sütundaki harfler Enterobacteriaceaesayımı karşılaştırılmasıdır. Farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak fark (p<0,01)olduğunu gösterirken, aynı harflerle ile gösterilenler örnekler arasındafark bulunmadığını ifade eder (p>0,05); p: 0,006**

Sucuk hamurlarında Enterobacteriaceae sayım sonucu 3,45-3,73 log kob/g; sucuklarda ise 2,38-2,48 log kob/g olarak belirlendi (Şekil 3.22). Sucuk hamur gruplarında, en düşük değer kontrol grubunda (3,45 log kob/g); en yüksek değer DIII sucuk hamurundadır (3,73 log kob/g). Sucuk gruplarında ise en düşük değer DII ve DIII sucuk gruplarında (2,38 log kob/g); en yüksek değer DI sucuk grubundadır (2,48 log kob/g).



Şekil 3.22. Sucuk ve sucuk hamurunda belirlenen Enterobacteriaceae sayım sonuçları (log kob/g)

4. TARTIŞMA

Afyon ilinde üretimi yapılarak satışa sunulan fermente sucuk hamurlarından en fazla izole edilen *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. sake* türleri ile aroma gelişimi üzerinde etkisi olduğu bilinen ve en yoğun izole edilen *S. xylosum* izolasyonu ve moleküler metodlarla doğrulanması ve suşların filogenetik sınıflandırılmasının yapılması amaçlanmıştır. Elde edilen bu izolatların kendi aralarında kombinasyonları ile sucuk üretiminin gerçekleştirilip en uygun starter kültür karışımı belirlenmiştir. Farklı kültür karışımlarıyla üretimi yapılan bu ürünlerin uçucu bileşen tayinlerinin yapılarak Türkiye'deki mevcut çalışmalara bir yenisinin eklenmesi amaçlanmıştır.

4.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları

İzolatların glikozdan gaz oluşturma yetenekleri bakımından %90'nının homofermentatif olduğu tespit edildi (Tablo 3.1). Benzer bulgular konu ile ilgili diğer araştırmacılar (Schillinger ve Lücke, 1987; Gürakan ve ark., 1995; Ammor ve ark., 2005; Santos ve ark., 2005; Arisi ve ark., 2007; Adıgüzel ve Atasever, 2009) tarafından da elde edilmiştir. Barbu (2008), yaptığı çalışmada izolatların %60'ını homofermentatif, geri kalanını heterofermentatif bulunduğunu belirtmiştir. Sucuk üretiminde kullanılacak starter kültürlerin heterofermentatif karakterde olması arzu edilmeyen bir özelliktir. Bu nedenle gaz oluşumuna sebebiyet veren mikroorganizmaların starter kültür olarak değerlendirilmemesi gerektiği vurgulanmaktadır (Benito ve ark., 2007).

Çalışmada izole edilen bakterilerin %65'inin 4°C'de üreyebilme yeteneği olduğu belirlendi (Tablo 3.1). Bu verinin Schillinger ve Lücke, (1987), Gürakan ve ark. (1995) ile benzer; Papamanoli ve ark. (2003), Ammor ve ark. (2005) ile de benzer olmadığı tespit edildi. Elde edilen izolatların %80'ninin 45°C'de üreyebilme özelliğinde olduğu tespit edildi (Tablo 3.1). Bu bulgunun çeşitli araştırmacıların (Schillinger ve Lücke, 1987; Papamanoli ve ark., 2003; Barbu, 2008; Adıgüzel ve Atasever, 2009) sonuçları ile benzerlikleri yanında, diğer araştırmacıların (Gürakan ve ark., 1995; Coppola ve ark., 1998; Ammor ve ark., 2005; Arisi ve ark., 2007; Benito ve ark., 2007) sonuçları ile farklılıkları da vardı.

İzolatların %95'inin %7, %52,5'inin %10 ve %37,5'inin %15 tuz konsantrasyonlarında üreyebilme yeteneğinde olduğu belirlendi (Tablo 3.1). Elde edilen bu bulgular bazı

araştırmacıların (Schillinger ve Lücke, 1987; Gürakan ve ark., 1995; Coppola ve ark., 1998; Papamanoli ve ark., 2003; Ammor ve ark., 2005; Arisi ve ark., 2007; Benito ve ark., 2007) sonuçları ile benzer bulunurken farklılıkların da olduğu (Ammor ve ark., 2005; Arisi ve ark., 2007; Benito ve ark., 2007; Gürakan ve ark., 1995; Coppola ve ark., 1998) tespit edildi.

Çalışmada izole edilen suşların %92,5'i pH 3,9'da üreme yeteneğine sahipti (Tablo 3.1). Schillinger ve Lücke, (1987), Coppola ve ark. (1998), Papamanoli ve ark. (2003), Ammor ve ark. (2005), Arisi ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmalarla benzer; Benito ve ark. (2007) pH 4'te araştırdığı üreme yetenekleriyle benzer olmadığı tespit edildi.

Sunulan çalışmada izolatların Voges Proskauer ve metil red testlerindeki pozitiflik oranları sırasıyla %92,5 ve %97,5 olarak belirlenirken, %7,5'inin arjinini hidroliz edebilme özelliğinde olduğu tespit edildi (Tablo 3.1). Gürakan ve ark. (1995), izole ettikleri laktik asit bakterilerin %70,96'sının asetoin oluşturduğunu bildirirken, Barbu (2008), izolatlarının %60'ının asetoin oluşturma yeteneğinde olduğunu belirtmiştir. Voges Proskauer ve metil red testi bakımından, Coppola ve ark. (1998), Chowdhury ve ark. (2012)'nin yapmış oldukları çalışmalarla benzerlik göstermemektedir. Arjinin hidrolizi yönünden çeşitli araştırmacıların (Hugas ve ark., 1993; Gürakan ve ark., 1995) bulgularıyla benzerlik gösterdiği, bazı araştırmacılarla (Schillinger ve Lücke, 1987; Hugas ve ark., 1993; Papamanoli ve ark., 2003; Benito ve ark., 2007; Barbu, 2008) farklılıklar belirlenmiştir. Asetoin üretimi türe özgü bir özelliktir ve ürünün aromasında olumlu etkisi bulunmaktadır. Bu sebeple ürün yapımında kullanılacak starter seçimi için önem taşımaktadır (Lücke ve Hechelmann, 1987). Sucuklarda arjinin hidrolizi renk ve aroma bozukluklarına sebep olmaktadır. Bu sebeple starter kültür olarak kullanılacak tür, arjinini hidrolize ederek amonyak oluşumuna sebep olmayan tür olması istenmektedir (Hugas ve ark., 1993). Bu çalışmada izole edilen laktik asit bakterilerinin fenotipik özellikler yönünden farklılıklar gösterdiği belirlendi. İzole edilen suşların biyokimyasal özelliklerinde ortaya çıkan bu farklılıkların laktik asit bakterilerinde fenotipik özelliklerin stabil olmaması ve ayrıca suşların orjinlerinin farklılığından kaynaklanabileceği düşünüldü.

Biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesini takiben, *L. plantarum*, *L. sake* ve *L. curvatus*'un karbonhidrat fermentasyon reaksiyonlarını değerlendirmek için kullanılan API

50CHL ticari identifikasyon kitinin, *L. plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus* ATCC suşlarının doğruluğunu ispatlayamaması nedeniyle güvenilir olmayabileceği düşünöldü. Benzer şekilde Iacumin ve ark. (2006), genetik olarak doğrulama yaptıkları 617 izolatın 130'unun API 50 CHL ile doğru sonuç vermediğini göstermişlerdir. Başka bir çalışmada, Santos ve ark. (2005) tarafından karbonhidrat fermentasyonu ile yapılan fenotipik karakterizasyondalaktik asit bakterilerinin güvenilir bir şekilde identifikasyonun yapılamadığı vurgulanmıştır. Çeşitli araştırmacılar (Ammor ve Mayo, 2007) tarafından farklı fenotipik metotların laktik asit bakterilerinin doğrulaması için yeterli olmadığı söylenmektedir.

Genel olarak, fenotipik identifikasyonun, fermentatif mikrofloranın değişken biyokimyasal ve fizyolojik özellikler göstermesi sebebiyle zaman alıcı olduğu belirtilmektedir (del Carmen de la Rosa ve ark., 1990; Comi ve ark., 1992; Quere ve ark., 1997). Yapılan literatür taramaları sırasında görölen bu farklılıklardan yola çıkılarak laktik asit bakterilerinin izolasyonunda yapılan biyokimyasal testler tam olarak güvenilir olamayabilir. Bu nedenle de sunulan çalışmada elde edilen izolatların PZR ile tür düzeyinde doğrulaması yapıldı.

Çalışmada kesin identifikasyon amacı ile kullanılan PZR sonrasında örneklerin *L. plantarum* izolasyon oranları %57,1 olarak tespit edildi (Tablo 3.2). Benzer çalışmalarda (Schillinger ve Lücke, 1987; Gürakan ve ark., 1991; Kaban, 2007; Özdemir, 1999; Çon ve Gökalp, 2000; De Angelis ve ark., 2001; Aymerich ve ark., 2003; Papamanoli ve ark., 2003; Drosinos ve ark., 2005, 2007; Urso ve ark., 2006; Adıgüzel ve Atasever, 2009; Kesmen ve ark., 2012) kullanılan örnek ve izolat sayısı değişmekle birlikte *L. plantarum* oranının %2 ile %50 arasında değiştığı, ayrıca fenotipik ve genotipik çalışmalar ışığında en baskın türün *L. plantarum* olduğu bildirilmektedir (Toksoy ve ark., 1999; Drosinos ve ark., 2007; Kaban, 2007; Adıgüzel ve Atasever, 2009). Bu çalışmada da en baskın türün *L. plantarum* olduğu belirlendi.

Laktik asit bakterileri arasında *L. sake*'nin PZR sonrasında izolasyon oranı %28,6 olarak saptandı (Tablo 3.2). Bazı araştırmacılar (Kaban, 2007; Kaban ve Kaya, 2008) *L. sake* izolasyon oranını %0 olarak belirlerken, bazı çalışmalarda (Schillinger ve Lücke, 1987; Lücke, 1986; Gürakan ve ark., 1995; Dinçer ve ark., 1995; Özdemir, 1999; Çon ve Gökalp, 2000; Aymerich ve ark., 2003; Papamanoli ve ark., 2003; Drosinos ve ark., 2005; Urso ve ark., 2006; Kesmen ve ark., 2012) ise bu oranın %3 ile %93 arasında olduğu

belirtilmektedir. Bu çalışmada *L. sake*'nin *L. plantarum*'dan sonra en çok izole edilen 2. tür olarak elde edilmesi, diğer araştırmacıların (Hugas ve ark., 1993; Coppola ve ark., 1998; Santos ve ark., 1998; Parente ve ark., 2001; Papamanoli ve ark., 2003; Aymerich ve ark., 2006; Garcia-Fontan ve ark., 2007) sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen %14,3'lük *L. curvatus* oranı konu ile ilgili diğer araştırma (Gürakan ve ark., 1995; Kaban, 2007; Aymerich ve ark., 2003; Greco ve ark., 2005; Santos ve ark., 2005; Urso ve ark., 2006; Adıgüzel ve Atasever, 2009; Kesmen ve ark., 2012) sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Çeşitli çalışmalarda (Schillinger ve Lücke, 1987; Gürakan ve ark., 1995; Dinçer ve ark., 1995; Parente ve ark., 2001; Aymerich ve ark., 2003; Papamanoli ve ark., 2003; Comi ve ark., 2005; Drosinos ve ark., 2005, 2007; Greco ve ark., 2005; Santos ve ark., 2005; Urso ve ark., 2006; Benito ve ark., 2007; Kaban, 2007; Adıgüzel ve Atasever, 2009; Kesmen ve ark., 2012) *L. curvatus* oranı %1 ile %83 arasında tespit edilmiştir. Belirli oranlarda *L. curvatus* tespit edilen çalışmalar olduğu gibi hiç tespit edilemeyen çalışmaların da (Gürakan ve ark., 1995; Özdemir, 1999; Çon ve Gökalp, 2000) mevcut olduğu bildirilmiştir. Bu farklılıkların suş çalışılan örnek sayısı ve suşların coğrafik farklılıkların kaynaklanabileceği düşünüldü.

Sucukhamurunun bileşimi, fermentasyon ve olgunlaşma parametreleri mikroorganizmaların buldukları ortama adaptasyonunu etkileyen önemli kriterlerdir (Urso ve ark., 2006). Bu çalışmada *L. plantarum*'un *L. curvatus* ve *L. sake*'den fazla izole edilmesinin üretim şartlarındaki farklılıkla, *L. sake* 'nin *L. curvatus*'a göre daha yüksek oranda izole edilebilmesinin ise et ortamına daha iyi adapte olması ile ilişkilendirilebileceği düşünüldü.

4.2. *S. xylosus* İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları

Bu çalışmada en çok izole edilen tür olması ve ürünün renk ve aroma gelişimine katkıda bulunma özelliğinden dolayı izolasyonu hedef alınan tür *S. xylosus*'du. Bu nedenle öncelikle fenotipik yöntemler kullanılarak *Staphylococcus* ve *Kocuria* spp. ayrımı yapıldı. Yapılan bu testlerde Gram pozitif, katalaz pozitif ve oksidaz negatif kokların %4,1'inin furazolidona, %2'inin lizostafine karşı dirençli olduğu; %1'inin jelatini hidrolize edebildiği; %8,3'ünün simmon sitrat agarda üreyebilme özelliğinde olduğu belirlendi (Tablo 3.4). Yapılan çalışmada (Coppola ve ark., 1997) *Staphylococcus* cinslerine yönelik biyokimyasal test sonuçlarının farklılık gösterdiği görülmektedir. Samelis ve ark. (1998) yaptığı çalışmada belirledikleri bütün *Staphylococcus* spp. lizostafine duyarlı oldukları sonucuna ulaşmışlardır. Rossi ve ark. (2001) elde ettikleri 46 adet *Staphylococcus* spp.'lerin hepsinin lizostafin ve furozolidona duyarlı olduklarını belirtirken, bu izolatların çoğunu *S. xylosus* olarak bulmuşlardır. Drosinos ve ark. (2005) belirledikleri *Staphylococcus* spp.'lerin %94,6'sının oksidaz negatif olduğu saptanmıştır. Kaban ve Kaya (2008) *S. xylosus* türlerinin %86,6'sının lizostafin duyarlı olduklarını belirtmişlerdir.

Özellikle *S. xylosus*'un fenotipik identifikasyonunda yanlış pozitif ve/veya yanlış negatif reaksiyon sonuçları elde edilebildiği belirtilmektedir (Goh ve ark., 1996; Coppola ve ark., 2000; Rossi ve ark., 2001; Blaiotta ve ark., 2003). Carretto ve ark. (2005) ve Iacumin ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada API STAPH ile yaptıkları identifikasyonla moleküler identifikasyonun paralellik göstermediğini, bu sebeple yalnızca moleküler identifikasyonu dikkate aldıklarını belirtmişlerdir. Bu nedenlerden dolayı bu çalışmada da güvenilir veri eldesi için genetik temelli metoda ihtiyaç duyuldu.

Bu çalışmada PZR ile %5 oranında *S. xylosus* doğrulaması yapıldı. Coppola ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada %75 *S. xylosus* tespit etmişlerdir. Morot-Bizot ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada izole ettikleri *Staphylococcus* cinslerinin 4'ünü (%4.21) French sucuklarından identifiye ettiklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Dinçer ve ark. (1995) çalışmasında starter kültür niteliği taşıyan *S. xylosus* oranını %7,7-37,5 oranları arasında belirlerken, Kaban ve Kaya (2008), bu oranı %41,5 olarak saptadıklarını belirtmişlerdir. Aymerich ve ark. (2003) iki farklı sucuk grubunda yaptıkları çalışmada %17,6; Morot-Bizot ve ark. (2006) belirledikleri 75 adet *Staphylococcus* spp. içinde 22'sini (%29.3) *S. xylosus* olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen veri, Dinçer ve ark. (1995), Morot-Bizot ve ark. (2003) ile benzerlik göstermektedir.

4.3.Kimyasal Analiz Sonuçları

4.3.a. pH Analiz Sonuçları

Sunulan çalışmada üretilen kontrol ve deneme grupları pH değerleri ortalaması 5,7-5,9 arasında bulundu (Tablo 3.6). Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu kontrol grubu ile DII ve DIII arasındaki farkın önemli olduğu sonucuna varılırken ($p < 0.001$), diğer gruplar arasında fark saptanmadı. Ortalamalarına bakıldığında DII ve DIII'ün diğerlerine göre daha fazla düşüş gösterdiği belirlendi. Kontrol grubunun pH değerinin diğer gruplardan daha fazla bulunması starter kültür katılmadan üretimi yapılmasıyla ilgili olabileceği düşünüldü.

Yapılan çalışmalarda (Casaburi ve ark.,2007; Kaban, 2007; Sikes ve ark., 2009;Marty ve ark., 2012) kontrol grubu pH değeri diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuş olup bu çalışma ile benzerlik göstermektedir. Kontrol grubunda gözlemlenen yüksek pH, house flora olarak adlandırılan laktik asit bakterilerinin düşük asidifikasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Casaburi ve ark., 2007). Bu çalışmada elde edilen pH değer aralığı Coppola ve ark. (1997), Aymerich ve ark. (2003), Sikes ve ark. (2009), Marty ve ark. (2012) ile benzerlik göstermektedir (Tablo 1.3). Diğer çalışmalarla (Dinçer ve ark.,1995; Garriga ve ark., 1996; Casaburi ve ark., 2007)olan bu farklılığın, üretimde kullanılan karbonhidrat çeşit ve miktarı veya olgunlaşma sıcaklığı ile ilgili olabileceği söylenebilir (Tablo 1.3). Aymerich ve ark.,(2003), laktik asit bakterilerinin Gram pozitif-katalaz pozitif koklara olan oranı ile pH arasında bir denge durumu söz konusu olduğunu dile getirmiştir. İstatistiksel farkın gözlemlenmemesi bu dengenin kurulduğunun bir göstergesi olabilir. Ayrıca, bu çalışmada elde edilen pH değerlerinin diğer çalışmalardan daha yüksek bulunması *S. xylosus* ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Çünkü *Staphylococcus* spp.'lerin pH artışına sebebiyet verdiği Selgas ve ark.(1986) tarafından bildirilmiştir.

4.3.b. Su Aktivitesi Analiz Sonuçları

Bu çalışmada su aktivite değerleri 0,93-0,94 arasında olup, gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmedi (Tablo 3.7). Bununla birlikte, gruplar arası en düşük su

aktivitesine DI grubu sahipti. Elde edilen bulgular bazı araştırmacıların (Gürakan ve ark.,1995; Aymerich ve ark., 2003; Marty ve ark., 2012; Öztürk, 2013) sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Tablo 1.4).

4.3.c. Rutubet Analiz Sonuçları

Çalışmada deneme gruplarının rutubet değerleri %35-41 arasında tespit edildi (Tablo 3.8). Gruplar içinde en yüksek nem içeriğine sahip olan DI grubuydu. En düşük nem içeriğine sahip olan ise DII grubuydu. Deneme gruplarının rutubet değerlerinin birbirlerinden istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi ($p<0,001$). DI ve DII arasındaki fark önemli olupDIII ve kontrol grubunun değerlerine benzer olduğu bulundu. DII'nin hem rutubet hem de pH değeri bakımından DI'den düşük değer alması DII'deki kültür karışımının rutubet üzerinde daha etkili olduğunu düşündürür. Elde edilen bulgular Öztürk (2013), Ergönül (2009), Gök (2006), Bozkurt ve Bayram (2006) çalışmalarında elde etmiş oldukları verilerle benzerlik göstermektedir (Tablo 1.5).Sucukların nem miktar ve kaybının farklılık göstermesinin, pH değeri ile ilişkili olduğu savunulduğu gibi (Gök, 2006; Kaban, 2007), bu iki değişken arasında herhangi bir ilişki olmadığını bildiren görüşler de bulunmaktadır (Bozkurt ve Bayram, 2006). Olgunlaşma sırasında laktik asit bakterileri şekerleri kullanarak pH düşüşüne neden olmakta, bu düşüş, proteinlerin su tutma kapasitesini azaltarak nem kaybına neden olmaktadır (Gök, 2006; Kaban, 2007). pH değerleri incelendiğinde DII'nin diğerlerine göre düşük olması, nem kaybının fazla olmasıyla ilişkilendirilebileceği gibi nem kaybı bakımından ikinci sırada yer alan kontrol grubunun pH değerinin diğerlerine göre düşük olmaması yukarıda belirtilen araştırmacıların her ikisini de destekler niteliktedir. *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *S. xylosus*'un sucuklarda nem kaybını etkilemediği çeşitli araştırmacılar (Casaburi ve ark., 2007; Essid ve Hassouna, 2013)tarafından söylenmektedir.

4.3.d.Ağırlık Kaybı Analiz Sonuçları

Ağırlık kaybına yönelik değerlendirmede, kontrol grubu ile DII arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu, diğerleri arasında ise fark bulunmadığı tespit edildi (Tablo 3.9). Belirlenen ağırlık kaybı %5,4-6,7 arasındaydı. Mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak DII'nin ağırlık kaybının daha fazla çıktığı belirlendi. Ayrıca, süspansiyon şeklinde hazırlanan starter kültür karışımlarının, sucuk ağırlığının % 3'ü kadar ilave edilmesinin ağırlık kaybının az olmasına neden olabileceği düşünüldü. Düşük pH, proteinlerin izoelektrik noktasına yaklaşmasına neden olarak su tutma kapasitesini azaltmaktadır (Wismer-Pedersen, 1971). Olgunlaşma sırasında mikroorganizma faaliyetlerinin daha yoğun olduğu deneme gruplarında pH değerinin düşük çıkması ağırlık kaybının daha fazla olması ile ilişkilendirilebilir. Öztürk (2013) yaptığı çalışmada, laktik asit bakterisi ilave edilen sucuk örneklerindeki ağırlık kaybını %30,47-34,51 arasında belirlemiştir. Gök (2006) yaptığı çalışmada olgunlaşmanın 7. gününde ağırlık kaybını % 12,47-13,21; 12. gününde ise %20,07-22,44 aralığında bulmuştur. Üretim, sucukların fermentasyon koşullarıyla bağlantılı olarak kısa sürede (7 günde) tamamlandığından dolayı da, ağırlık kaybının diğer çalışmalarla (Gök, 2006; Öztürk, 2013) benzer olmadığı söylenebilir.

4.4. Fiziksel Analiz Sonuçları

4.4.a. Renk Analizi Sonuçları

Çalışmada kontrol ve deneme gruplarında dış yüzey L*, a* ve b* değerleri incelendiğinde, gruplar arası istatistiksel farkın önemli olmadığı sonucuna varıldı (Tablo 3.10).

Bu çalışmada dış yüzey L* değeri 41,01-42,33; kesit yüzey ise 51,59-52,56 aralığında olup her iki yüzey içinde farkın anlamlı olmadığı sonucuna varıldı. L* değeri açısından incelediğimizde dış yüzey en yüksek L* değerinin DIII'te, en düşük L* değerinin ise DI'de; kesit yüzey en yüksek L* değerinin DII'de, en düşük L* değerinin DIII'te olduğu görüldü. Başka bir deyişle, dış yüzey bakımından en açık renkte olan DIII'ün kesit yüzey bakımından en koyu renkli olduğu belirlendi. Dış yüzey bakımından en koyu renkte olan DI grubu iken, kesit yüzeyi en açık renkte olan ise DII grubuydu. Grupların hepsinin kesit yüzeyleri, dış yüzeylere göre daha açık renkteydi. Bu çalışmada, duyusal muayenede genel kabul edilebilirlik sırası en fazladan en düşüğe doğru kontrol grubu ile aynı puana sahip olan DIII, DII ve DI şeklinde sıralanmaktadır. Yani, L* değeri bakımından, dış yüzey rengi en açık, kesit yüzey rengi en koyu olan ürünlerin tüketici tercihi hitap ettiği söylenebilir. Duyusal

parametrelerle, L^* değeri dış yüzey rengi bakımından benzerlik göstermektedir. Elde edilen veriler kesit yüzey L^* değeri bakımından Gimeno ve ark. (2000), Üren ve Babayiğit (1997), Essid ve Hassouna (2013) çalışma verileriyle benzerlik göstermektedir (Tablo 1.6).

Bu çalışmada, deneme grupların dış yüzey a^* değeri 10,16-13,93; kesit yüzey 17,11-17,63 aralığında belirlendi (Tablo 3.10). Dış yüzey bakımından en yüksek a^* değeri kontrol grubunda, en düşük değer ise DI'de saptandı. Bu da gruplar içinde dış yüzey bakımından en kırmızı olanın kontrol grubu olduğunu gösterdi. Kesit yüzey bakımından en yüksek a^* değeri DIII; en düşük değer ise DII grubunda tespit edildi. Kesit yüzey bakımından gruplar içinde en kırmızı olan DIII grubuydu. Bu çalışmada dış yüzey a^* değeri bakımından, kültür bulunan deneme gruplarında kontrol grubuna göre daha düşük a^* değeri tespit edildi. Çiğ sucuk duyuşal parametreleriyle ilişkilendirecek olursak, kesit yüzey bakımından en kırmızı olanın tercih edildiği sonucuna varıldı. Dış yüzey bakımından en düşük a^* değerine sahip DI grubu, panelist tercihlerinin en alt sırasında yer aldı. Panelistler tarafından yapılan duyuşal değerlendirmeye göre dış yüzey bakımından en kahverengi-kırmızı olan, kesit yüzey bakımından da en pembe-kırmızı olan DIII seçildi. Deneme grupları içerisinde bu sonuç, DIII grubunun hem kesit yüzey, hem de dış yüzey a^* değeri bakımından en yüksek değeri aldığından duyuşal renk parametresi ile doğru ilişkilidir. Kontrol grubu hariç diğer deneme gruplarına katılan *S. xyloşus* nitrit indirgeyen mikroorganizmanın, DIII'te bulunan *L. sake* ve *L. curvatus* ile renk oluşumunda daha etkili olduğu söylenebilir. Bu çalışmada elde edilen bulgular Gimeno ve ark. (2000), Gök (2006), Kaban (2007), Ekşi (2011), Öztürk (2013) yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri bulgularla benzerlik göstermektedir (Tablo 1.7).

Çalışmada dış yüzey b^* değeri 10,69-12,26 değerleri arasında olup en yüksek değere kontrol; en düşük değere ise DIII sahipti. Kesit yüzey b^* değeri 17,75-18,44 arasında olup, değeri en fazla olan DI; en az olan ise kontrol grubuydu (Tablo 3.10). Duyuşal parametrelerle ilişkilendirecek olursak, çiğ sucukta dış yüzey rengi olarak en yüksek ortalamaya sahip, tercih edilebilirliği en fazla olan DIII, gruplar arası dış yüzey bakımından en az sarılık değerine sahip olmasını doğrulamaktadır. Kesit yüzey bakımından ise en düşük ortalamaya sahip olan DI'in, b^* değeri bakımından da en yüksek değere sahip olduğu saptandı. Panelistlerin, hem kesit yüzey hem de dış yüzey bakımından düşük b^* değerine sahip sucuk gruplarını tercih etmedikleri belirlendi. Bu çalışmada belirlenen değer, Gimeno ve ark. (2000), Essid ve Hassouna (2013) ile benzerlik göstermektedir (Tablo 1.8). Aynı zamanda, kesit yüzey b^* değeri laktik asit bakteri karışımlarını içeren gruplarda düşük bulunması Öztürk'ü (2013)

desteklemektedir.Essid ve Hassouna (2013), Bozkurt ve Bayram (2006), Casaburi ve ark. (2007)'nin çalışmalarında olduğu gibi bu çalışmada da yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda kültür kullanımının renk parametrelerinde etkili olmayabileceği sonucuna varıldı.

4.4.b.Tekstür Profili Analiz Sonuçları

Kontrol ve deneme gruplarının sertlik değerleri 2519,19-3391,25 g olarak ölçüldü. Sertlik değeri en yüksek olan kontrol grubu iken, en düşük olan ise DI'di (Tablo 3.11). Kültür ilave edilmiş deneme gruplarının sertlik değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu tespit edildi. Yapılan istatistiksel analiz sonucu kontrol grubunun, DI ve DII grubu ile arasındaki farkın önemli olduğu sonucuna varıldı ($p<0,05$). Deneme grupları arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli değildi. Çalışmada, rutubet oranı en düşük olandan en yüksek olana doğru yapılan sıralama sonucunda DII, kontrol, DIII ve DI şeklinde olduğu görülmektedir. Rutubet oranlarına göre sertlik sıralaması yapıldığında bu sıralamanın en sertten en yumuşağa doğru rutubet sıralaması ile doğru orantılı olması beklenir. Ancak, elde edilen verilere göre bu sıralamanın en sertten en yumuşağa doğru kontrol, DIII, DI ve DII şeklinde olduğu görülmektedir. Kontrol grubu ile DI ve DII'deki bu farklılık, starter kültür ile ilişki olabilir. Bu gruplar arasında pH değeri en düşük olan DII'nin sertlik değeri de en düşük, pH değeri en yüksek olan kontrol grubunun sertlik değeri en yüksek bulundu.

Olgunlaşma sırasında mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak düşen pH değerinin, proteinlerin izoelektrik noktasına erişmesine ve degradasyonuna neden olduğu bildirilmektedir. Bu sırada, su aktivitesinin düşerek ürünü kesilebilir hale getirdiği çeşitli araştırmacılar (Blom ve ark., 1996; Montel ve ark., 1998; Gimeno ve ark., 2000; Visessanguan ve ark., 2004)tarafından belirtilmektedir.Bu noktadan yola çıkarak çalışmada mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak düşen pH değerinin, ürünü daha kesilebilir yapmadığı görüldü.

Dış yapışkanlık (-29,70 ve -10,28 g.sn) ve esneklik değerleri (0,70-0,78) incelendiğinde,esneklik değeri bakımından en yüksek değer kontrol grubunda en düşük değer ise DIII grubundayken; nem içeriği yüksek sucuk gruplarında dış yapışkanlık değeri en yüksek DIII, en düşük ise kontrol grubundaydı (Tablo 3.11). Bu özellikler bakımından gruplar arası istatistiksel farkın önemli olmadığı belirlendi ($p>0,05$). En az dış yapışkanlık özelliğinde

olan kontrol grubu, en yapışkan özellikte olan ise DIII'tü. DIII'ün kontrol grubuna göre daha dilimlenebilir özellikte olduğu gözlenirse de, dış yapışkanlığının fazla olması sahip olduğu starter kültürlerle ilgili olabilir. Üretim sonunda, rutubet oranının en düşük olduğu grubun, en düşük esneklik değerine sahip olması beklenirken, bu çalışmada bu durumun bu şekilde gözlemlenmemesi *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Gruplarda iç yapışkanlık değerlerine bakıldığında en yüksek değer DIII (0,74), en düşük değer ise DI (0,70) grubunda belirlenirken, istatistiksel olarak gruplar arası fark önemli bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 3.11). DIII grubunda bulunan *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* türlerinin bu özellik üzerinde diğerlerine göre daha etkin olduğu söylenebilir. Üretimde hedef alınan formülasyona bağlı olarak sucukların iç yapışkanlık değerleri değişkenlik göstermektedir (Ergönül, 2009). Ancak, bunun tercih edilmeyen bir özellik olduğu da unutulmamalıdır (Kayaardı ve Gök, 2003).

Çiğnenebilirlik özelliği bakımından elde edilen değerler 1263,43-1742,17 g arasında ölçüldü (Tablo 3.11). İstatistiksel olarak gruplar arasındaki fark önemsiz olmakla birlikte en yüksek değer kontrol (1742,17), en düşük değer ise DI grubunda belirlendi (1263,43). Bununla birlikte pH değeri kontrol grubuna göre daha az olan DI sucuk grubunda, mikroorganizma faaliyetlerinin yoğun olması proteinlerin izoelektrik nokta pH'sına yaklaşarak degradasyonunu artırmasıyla su tutma kapasitesini azaltırken çiğnenebilirlik özelliğinin yüksek olması beklenir. Ancak bu durumun böyle olmaması nem miktarının fazla olmasıyla ilgili olabilir. Öztürk (2013), nem miktarı az olan örneklerin çiğnenebilirliklerini fazla bulmuştur. Bu çalışmada da, nem miktarının, kontrol grubunda DI grubuna göre daha az, çiğnenebilirlik değeri ise daha fazla bulunması Öztürk (2013) verisini desteklemektedir.

Elastiklik özelliği açısından yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu değerler ortalaması 0,25-0,28 ölçülerek, DIII ve DI grupları arası farkın önemli olduğu sonucuna ulaşıldı ($p < 0,05$). En yüksek değere sahip DIII (0,28), en düşük değere sahip gruplar kontrol ve DI (0,25)'di (Tablo 3.11). DI ve DIII grupları arasındaki farklılığın üretimde kullanılan starter kültür türleri ile ilişkili olabileceği düşünüldü. *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* kombinasyonunun elastiklik özelliği üzerinde etkili olduğu belirlendi. Panelist değerlendirmeleri de göz önüne alındığında DIII grubunda bulunan kültürlerin istenilen elastiklik için daha kullanılabilir kültürler olduğu sonucuna ulaşılabilir.

Sucuklarda elastiklik, kolay dilimlenebilirlik ve bıçağın yüzeyine sıvanmaması tercih edilmektedir (Kayaardı ve Gök, 2003; Yetim ve ark., 2001). Bu çalışmada starter kültür kullanımının sertlik, dış yapışkanlık ve esneklik özellikleri üzerinde etkili olduğu söylenilebilir. Panelistler tarafından yapılan duyuusal muayene sonucunda çiğ sucuk gruplarında tekstürel özellik bakımından en düzgün olandan en kaba olana doğru kontrol, DIII, DII, DI şeklinde sıralandığı belirlendi. Panelistler tarafından en düzgün tekstürel özellikte olan kontrol grubu seçilmiş olup, tekstür profil analizinde ön planda olan DIII, duyuusal olarak ikinci sırada yer aldığı tespit edildi. Çiğ sucuk örnekleri için tekstür profil analizinde subjektif olarak yapılan değerlendirme ile enstrümental yapılan değerlendirme sonuçlarının birbirinden farklı çıktığı belirlendi. Pişmiş sucuk örnekleri için yapılan duyuusal muayenedeki tekstürel özellik için en düzgün olandan en kaba olana doğru DIII, kontrol, DII, DI şeklinde sıralandı. Burada ise yapılan subjektif değerlendirme ile enstrümental değerlendirmenin birbirleriyle uyumlu olduğu söylenebilir.

Crehan ve ark. (2000) iç yapışkanlık değerlerini 0,59-0,64 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Gök (2006) çeşitli antioksidanlar kullanarak üretimini yaptıkları sucuklarda olgunlaşma sonunda sertlik değerleri 3,151-3,707 kg arasında belirlemiştir. Bozkurt ve Bayram (2006) olgunlaşma periyodu boyunca sertlik değerini 352-8846 g; dış yapışkanlık değerini -9,3 ve -92,6; esneklik değerini yaklaşık 0,65; çiğnenebilirlik değerini 398-3693 arasında ölçmüşlerdir. Toptancı (2007), olgunlaşma sonunda sucuk örneklerinin iç yapışkanlık değerini yaklaşık 0,32 olarak belirlemiştir. Ergönül (2009) yaptığı çalışmada iç yapışkanlık değerini 0,50-0,73 değerleri arasında bulmuştur. Essid ve Hassouna (2013) olgunlaşmanın 7. gününde kontrol örneklerinin sertlik değerini 2258 g; kültür içeren örneklerinde ise 2296,45 g olarak belirlemişlerdir. Öztürk (2013), yaptığı çalışmada örneklerin sertlik değerlerini 532-1112 g, dış yapışkanlık değerlerini -4,6 ve - 27,5 g.sn, esneklik değerini 0,56-0,67, elastiklik değerini yaklaşık 0,2, iç yapışkanlık değerini 0,57-0,63, çiğnenebilirlik değerlerini 181-469 aralığında belirlemiştir. Öztürk (2013), laktik asit bakteri katılan sucuk örneklerinin sertlik değerlerini daha yüksek bulunduğunu belirtmektedir. Bu çalışmada elde edilen verilerle, Gök'ün (2006) elde ettiği sertlik değerleri; Bozkurt ve Bayram'ın (2006) sertlik, dış yapışkanlık, çiğnenebilirlik değerleri; Ergönül'ün (2009) dış yapışkanlık değeri; Öztürk'ün (2013) dış yapışkanlık ve elastiklik verileri; Essid ve Hassouna'nın (2013) starter kültür içeren örneklerin sertlik değerleri bakımından benzerlik göstermektedir. Fermente et ürünlerinde, tekstür profilinin araştırıldığı çalışmalarda elde edilen sonuçların, kullanılan hammadde, starter kültür, üretim yöntemi, üretim şekli ve ortam şartları

gibi faktörlere bağılı olarak değiştiğibilinmektedir (Bozkurt ve Bayram, 2006). Bu nedenle benzer tekstür özelliklerine sahip çalışmalar bulmanın zor olmasının yanında sucuklarda tekstür özelliklerinin incelendiği bilimsel araştırmalar da zamanla artmaktadır.

4.5.Duyusal Değerlendirme Sonuçları

Bu çalışmada, farklı starter kültür kombinasyonlu kontrol ve deneme gruplarının duyusal değerlendirmesi olgunlaşma aşamasının sonunda yapıldı. Çiğ sucuk gruplarında sadece tekstür özelliği açısından kontrol ve DI grubu arasında istatistiksel fark belirlendi ($p<0,05$). Panelistler tarafından yapılan değerlendirme sonucu en düzgün tekstürün, kontrol grubunda (7,24), en kaba tekstürün ise DI grubunda (6,24) olduğu belirlendi (Tablo 3.12). Gruplar en dzgnden en kaba tekstüre doğru sıralandığında kontrol, DIII, DII, DI şeklinde olduğu belirlendi.çiğ sucuk gruplarında tekstür harici özelliklerde istatistiksel fark gözlenmedi. Starter kültür eklenmeden üretim yapılan kontrol grubu en fazla tekstür puanı alırken, *L. plantarum*, *L. sake* ve *S. xylosus* bulunan DI grubu en düşük puanı aldı. Duyusal değerlendirme ile en yüksek puana sahip kontrol grubunun yapılan enstrümental değerlendirme sonucunda da sertlik bakımından en yüksek puanı alması, verilerin birbirini doğruladığını göstermektedir. Aynı şekilde DI'in sertliği kontrol grubuna göre daha düşüktü. Tekstrn algılanmasında, tüketicinin yaşının, beslenme kültürünün ve alışkanlıklarının farklılığına göre de değişebileceği belirtilmektedir (Ertaş ve Doğruer, 2010).

Pişmiş sucuk denemelerinde kesit yüzey rengi, dış yüzey rengi, tekstür ve genel kabul edilebilirlik özellikleri açısından gruplar arası fark istatistiksel olarak önemli bulundu (Tablo 3.13). Kesit yüzey rengi açısından DI (6,56) ve kontrol grubu (7,36) farklılık gösterirken DIII (7,68) ile de DI grupları farklılık gösterdi. Dış yüzey rengi açısından kontrol grubu (7,56), DI grubu (6,64) ile DIII (7,88) grubu da DI ve DII grubu (7,12) ile farklılık gösterdi. Ancak, DIII, kontrol grubu ile farklılık göstermedi. Hem kesit hem dış yüzey rengi açısından en yüksek puanı DIII, en düşük puanı ise DI aldı. Hem pişmiş hem de çiğ sucuk duyusal renk parametrelerinde en yüksek puanı alan DIII grubu, yapılan renk analizinde, kırmızı renk yoğunluğunu ifade eden a^* değerinin kesit yüzeyde en fazla çıktığı gruptur. İstatistiksel bir fark gözlenmese de çiğ sucuk gruplarında da en yüksek puan alan DIII grubunda, içerisinde *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus*'un bulunması nedeniyle renk oluşumunda diğerlerine göre daha etkili olabileceği dşnld. Renk ve aroma reaksiyonu için kontrol hariç bütün

gruplarda bulunan *S. xylosus*'un, *L. sake* ve *L. curvatus* ile birlikte renk oluşumunda iyi reaksiyon gösterdiği söylenebilir. Bunun yanında fermentasyon öncesi dinlenmiş hamurda en fazla *Staphylococcus* spp. varlığı DIII sucuk grubundaydı. Renk oluşumunda en etkili mikroorganizma olduğu bilinen bu türlerin fazla olması nedeniyle, DIII grubunda renk reaksiyonun daha iyi olduğu düşünülebilir.

Pişmiş sucuk gruplarında tipik sucuk tat ve aroması bakımından istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiş olup, gruplar içinde tipik tat ve aromaya en yakın gruptan en uzağa doğru DIII (7,60), kontrol, DII ve DI (6,84) şeklinde sıralandı. Tekstür bakımından DIII grubunun, kontrol ve diğer sucuk gruplarıyla arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna varıldı ($p < 0,01$). Bu özellik bakımından en yüksek değere sahip olan DIII (7,68), en düşük değere sahip olan ise DI (6,20)'di (Tablo 3.13). Bu çalışmada tüm gruplara eşit oranlarda *S. xylosus* katıldı. Ancak, dinlenmiş hamurdaki *Staphylococcus* spp. varlığı diğer gruplardan fazla çıkan DIII grubununun tekstürel olarak daha düzgün bulunması, katalaz pozitif kokların daha fazla var olması ile ilişkilendirilebilir. Aynı zamanda düşen pH değerine bağlı olarak gelişen protein degregasyonu, tekstürü olumlu yönde etkilediği düşünüldü. DIII pH değeri en düşük gruplardan biriydi. Pişmiş DIII grubunun en düzgün tekstüre sahip olması enstrümental değerlendirme verileriyle de doğrulanmaktadır. Genel kabul edilebilirlik seviyeleri bakımından DIII sucuk grubunun (8,0) DI (6,80) ve DII sucuk grubuyla (7,12) arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna ulaşıldı ($p < 0,05$). Pişmiş sucuk duyuşal parametreleri incelendiğinde, DIII grubunun diğer gruplar içerisinde en yüksek puanı alması kabul edilebilirlik sırasında da en önde olmasını açıklayabilmektedir. Panelistler DI grubunun diğer gruplara göre daha ekşi, baharat oranı hepinde aynı olmasına rağmen daha az olduğuna dair yorumlamalarda bulunmuşlardır. *L. plantarum*'un oluşturduğu asitlik sebebiyle bu türün kullanıldığı DI grubunun tercih sırasında en altta olduğunu açıklayan nedenlerden biri olabilir.

Öztürk(2013),çiğ sucuk örneklerinde yaptığı değerlendirme sonucunda starter kültür ilave edilmeyen kontrol örneğinin tüm parametrelerde en yüksek puanı almış olduğunu belirlemiştir. Bu çalışmada da istatistiksel fark ve puan gözetmeksizin kontrol grubunun en yüksek puan aldığı tekstür, tipik sucuk kokusu ve genel kabul edilebilirlik özellikleri açısından Öztürk (2013) ile benzerlik göstermektedir. Kaban (2007), yaptığı çalışmasında çiğ sucuk starter kültürü örneklerinde kesit yüzey rengini yaklaşık 7,05, kontrol örneklerinde 5,35 olarak belirlemiş, kontrol grubunun kesit yüzey, dış yüzey rengi, tekstür açısından starter

kültür katılan örneklere göre daha düşük puan aldığını belirtmiştir. Aynı çalışmada, tat ve koku bakımından en yüksek puanı kontrol grubunun aldığı (6,45), genel kabul edilebilirlik bakımından starter kültürlü örneklerinin (7,50) en yüksek puanı aldığı belirtilmektedir. Bu çalışma, Kaban'ın (2007) elde ettiği verilerden yalnızca tipik sucuk kokusu bakımından benzerlik göstermektedir. Gök (2006) antioksidan kullanarak yapmış olduğu sucuklarda kontrol örneğinin kesit yüzey rengini 7,84 ile endüyük olarak belirlemiştir. Diğer sucuk örneklerinde ise kesit yüzey rengini 8,28–8,59 arasındasaptanmıştır. Gök (2006) sucukların tat ve aromasını 7,50-8,39; tekstürel özelliğini ise 8,0-8,25 puan aralığında bulmuş olup, en düşük tekstür puanını kontrol örneğinde belirlemiştir. Gıdaların renk, görünüş ve yapıları kişilere göre değiştiğinden dolayı bu çalışma verileri Gök (2006) ile benzerlik göstermemektedir.

Hammes ve Hertel (1998)*L. sake* ve *L. curvatus*'un et ürünleri fermentasyonunda en iyi mikroorganizma olduklarını belirtmişlerdir. Hugas ve Monfort (1997), *L. sake* ve *L. curvatus*'un et fermentasyon ve olgunlaşma aşamalarına diğer laktik asit bakterilerine göre iyi adapte olarak istenmeyen tat ve aroma oluşumuna neden olan spontan laktik asit bakterilerinin gelişmesini inhibe ettiklerini dile getirmektedir. Garriga ve ark. (1996) yaptıkları bir çalışmada *L. plantarum* ve *L. curvatus*'un *L. sake*'ye göre üründe oluşturdukları kokunun daha yoğun olduğunu söylemektedir. Asit tat oluşumu *L. plantarum*'da, *L. sake* ve *L. curvatus*'a göre daha baskındır (Garriga ve ark., 1996). Özdemir (1996) yaptığı çalışmada fermente sucuklarda *L. sake* ve *L. curvatus*'un hakim florayı oluşturduğunu belirtirken *L. sake*'nin bulunma miktarı ile organoleptik kalitenin pozitif bir ilişki içinde olduğunu belirtmektedir. Dinçer ve ark. (1995) 2:1:1 oranında *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* ile yapılan model fermente sucukların duyu kalitesinin daha iyi olduğunu belirtmektedirler. Bu çalışmada da duyu özellik bakımından en uygun starter kültür kombinasyonun *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* olduğu belirlendi.

4.6. Uçucu Aroma Bileşenleri Analiz Sonuçları

Geleneksel yöntemlerle üretimi yapılmış sucuk hamurlarından elde edilen mikroorganizma karışımları ile üretimi yapılan deneme sucuk gruplarının uçucu aroma bileşenleri son üründe GC-MS cihazı ile belirlendi. Deneme gruplarında aldehitler, alkoller, asitler, aromatik, sülfürlü bileşikler, terpenler, alifatik hidrokarbonlar, furanlar olmak üzere son üründe toplam 15 farklı uçucu aroma bileşeni belirlendi. Fermentasyon ve olgunlaşmasını tamamlamış sucuk örneklerinde gama terpen, alfa pinen, delta 3 karen, o-simen, alfa-fellandren, metileugenol, kumik alkol, dialil disülfid, N-etil-1,3-dithioisindolin,propanal, 2-metil-3-fenil-, kumin aldehit, kampen, 2-metil propanoik asit, 2-metilfuran uçucu bileşiklerinin olduğu saptandı. Bu çalışmada toplam 15 farklı olmak üzere kontrol grubunda 11, *L. plantarum*, *L. sake*, *S. xylosus* içeren grupta 12, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *S. xylosus* içeren grupta 11, *L. curvatus*, *L. sake*, *S. xylosus* içeren grupta 11 uçucu aromatik bileşen tespit edildi.

Kontrol ve deneme grupları içerisinde terpenlerden en fazla tespit edilen o-simen'di. O-simenin, kontrol ve deneme grupları içerisinde en fazla yüzdeye sahip olduğu grup DI, en az yüzdeye sahip olduğu grup ise DII'ydi (Tablo 3.14). Gama terpenin, en yüksek yüzdesi DIII, en az yüzdesi kontrol grubunda bulunudu. Alfa pinen, en az kontrol, en fazla DI grubunda, delta 3 karen, en fazla kontrol, en az DIII grubundaydı. Deneme sucuk gruplarında bulunup, kontrol grubunda bulunmayan ise alfa-fellandren'di. Ve bu bileşenin en az yüzdeye sahip olduğu grup DI, en fazla yüzdeye sahip olduğu grup ise DII'ydi. Kampen, sadece DII sucuk grubunda tespit edilirken beta siklositral, sadece kontrol grubunda tespit edilen uçucu bileşendi. Duyusal muayenede elde edilen sonuçlara göre; çiğ sucukta sucuk kokusu en tipik olandan en az olana doğru kontrol, DIII, DII, DI şeklinde sıralandı. Çiğ sucukta terpenler içinde delta 3 karenin tipik sucuk koku algısı oluşumunda katkılı olduğu söylenilebilir.

Terpenler, sucuklarda en çok belirlenen uçucu bileşenler olup baharattan ileri geldiği düşünülmektedir. O-simenin, solgun sarı renkli olup, ürüne limonumsu-meyvemsi; gama-terpenin, soluk sarımsı renkli ve otsu-meyvemsi ferahlatıcı; alfa pinenin, soluk, akıcı, reçinemsî çam benzeri; delta 3 karenin, çok soluk renkli, meyvemsi; alfa fellandren, belli belirsiz sarı renkli, acı, odunumsu,otsu; beta siklositralın, çiçeksi-otsu kokulu; kampenin, kristalimsî yapıda, *Cinnamomum camphora* diye tanımlanan kafur ağacımsı aroma verdikleri belirtilmektedir (Anon, 2015d).

Terpenler, sucuk formülasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu bileşenler, hayvanların yedikleri yemden kaynaklanacağı gibi, aynı zamandaki kullanılan baharat

karışımı ile de ilişkilidir (Verplaetse,1994; Ansorena ve ark., 2001). Bunların baharat karışımında bulunan biberden kaynaklanan bileşikler olduğu söylenmektedir (Meynier ve ark., 1999; Candoğan, 2000; Ansorena ve ark., 2001). Monoterpen bileşiklerden olan α -pinenin karabiber kullanımından ileri geldiği bildirilmektedir (Meynier ve ark., 1999).Ansorena ve ark. (2001), fermente sosislerde bulunan α -fellandren, delta 3 karen ve gama terpenin biberden köken aldığını belirtmişlerdir.Yine Edwards ve ark. (1999), İspanyol tipi kuru fermente sosislerde yaptıkları çalışmada açığa çıkan terpenlerin baharattan ileri geldiğini bildirmişlerdir.Buçalışma, Öztürk'ün (2013) çalışmasında olduğu gibi, kontrol ve deneme gruplarında baharatlardan kaynaklanan uçucu aroma bileşenlerin daha fazla olduğu tespit edildi.

Aldehitlerden, 2-metil, 3-fenil propanal ve kumin aldehit açığa çıkan uçucu bileşenlerdir (Tablo 3.14). Kumin aldehitin en fazla ortalama pik alanına sahip olduğu belirlendi. Bu bileşenin en yüksek yüzde oranı kontrol grubunda, en düşük yüzde oranı ise DII'deydi (Tablo 3.14). 2-metil, 3-fenil propanal ise DII'nin aroma bileşenleri içinde en yüksek yüzde orana, kontrol grubunda da en düşük yüzde orana sahipti. Propanal, soluk renkli, yoğun meyvemsi, tatlı balsamik aromalı olup lipit oksidasyonu sonucu açığa çıkmaktadır. Kumin aldehit, kimyon, okalüptüs, tarçın bitkilerinin esansiyel yağlarından oluşmaktadır (Anon, 2015c). Ayrıca kumin aldehit, soluk sarı renkli olup keskin, baharatımsı, acımsı bir aromaya sahiptir. Hangi bitkiden açığa çıktığına bağlı olarak o bitkiye özgü hoş koku ve aromaya sahip bir uçucu bileşendir (Anon, 2015d). Bu çalışmada belirlenen kumin aldehitin, kimyon kaynaklı olduğu söylenebilir. Öztürk (2013) yaptığı çalışmada kumin aldehiti bu çalışmada olduğu gibi, diğer uçucu bileşenler içinde yüksek ortalama alana sahip olduğunu bildirmektedir. Bu çalışmada, olgunlaşma periyodunun kısa olmasının, oksidasyon sonucu açığa çıkan uçucu bileşen miktarının az olmasına neden olmuş olabileceği düşünüldü. Hem çiğ sucuk hem pişmiş sucuk duyuşal değerdendirme tipik sucuk koku, tat ve aroması bakımından en düşük değere sahip DI grubu, kontrol ve deneme grupları içerisinde açığa çıkan aldehit ortalama pik alanı bakımından en yüksek değere sahip olmaması oluşan bu hoşnutsuz tablonun lipit oksidasyonuna bağlı olmadığını gösterebilir. Bu sonuç, bazı araştırmacıların fermentasyon koşullarında, bakteriyel lipaz enzimlerinin aktivite gösteremediğini (Demeyer ve ark., 2000) belirtmesi ile de desteklenmektedir. Yine de kültür kombinasyonları içerisinde *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* içeren DII grubu en çok aldehit yüzdesine sahip gruptu. Barriere ve ark. (2001) tarafından *Staphylococcus* spp. inoküle edilmeyen örneklerinde lipit oksidasyon sonucu daha fazla aromatik bileşen açığa çıktığı

belirtilmiştir. Buna ek olarak Talon ve ark. (2000) *S. xylosus*'un farklı türlerinin lipit oksidasyonunu engellediğini dile getirmişlerdir. Nitekim de bu çalışmada *Staphylococcus* spp. sayısının en az olduğu kontrol grubunun aldehit yüzdesinin diğer gruplara göre daha fazla çıkması bu araştırmacıları desteklemektedir. Ancak aynı durum DII ve DIII sucuk grupları için söylenemediği belirlendi. *Staphylococcus* spp. sayısının daha fazla olduğu DII grubundaki aldehit yüzdesinin, DIII'ten daha az olması beklenirken daha fazla olduğu tespit edildi.

Fermente ürünlerde lipit oksidasyonu, karbonhidrat fermentasyonu, amino asit katabolizması ile oluşanaçucu aroma bileşenlerinin az olmasının etin doğal florası ve kullanılan starterkültürün özelliklerinden kaynaklandığı belirtilmektedir. Katalaz pozitif kokların lipolitik ve proteolitik aktivitelerinin, laktik asit bakterilerinden daha iyi olduğu söylenmektedir. Yani bu mikroorganizmaların starter kültür olarak kullanılmaması lipid oksidasyonu gibi kimyasalreaksiyonların tam manasıyla gerçekleşmediğini göstermektedir. Lipid oksidasyonunun gerçekleşmesi üretimde istenmeyen bir durum olduğu belirtilmişse de, ürünün tat ve aromasının istenen şekilde gelişmesi için de gerekli olduğu söylenmektedir (Öztürk, 2013). Shahidi ve Pegg (1994) oksidasyon seviyesinin saptanmasında aldehitlerin iyi bir belirleyici olduklarını dile getirmiştir.

Sucuk örneklerinde asitlerden sadece DIII grubunda 2-metil propanoik asit açığa çıktığı tespit edildi (Tablo 3.14). DIII grubunda tespit edilmesi bu uçucu bileşenin diğerlerine göre aroma gelişimine olumlu katkısı olduğu düşünüldü. Bunun nedeninin DIII'teki starter kültür kombinasyonundan kaynaklanabileceği söylenebilir. Bu aromatik bileşen, saydam, renksiz-açık sarımsı bir renkte, fındığımsı-meyvemsi bir aromaya sahiptir (Anon, 2015d). Öztürk (2013) yaptığı çalışmada maya içeren sucuk örneklerinde propiyonik asit belirlemiştir. Anar (2012), 2-metil propanoik asitin fermente sucuk aroması üzerinde etkili olduğunu belirtmiştir. Stahnke (1995a) çalışmasında 2-metil propanoik asitin, valin amino asitinin mikrobiyel parçalanması sonucu açığa çıktığını belirtmektedir.

Fermente ürünlerde alkollerin, yağ oksidasyonu, karbonhidrat ve amino asit katabolizması ile oluştuğu ve aroma oluşumunda önemli bir yeri olduğu bildirilmektedir (Mateo ve Zumalacárregui, 1996; Purrinos ve ark., 2011). Üretim periyodu boyunca gerçekleşen yağların otooksidasyonu veya enzimatik reaksiyonlarına bağlı olarak aldehit, keton, alkan, alken ve alkol açığa çıktığı söylenmektedir (Ansorena ve ark., 2001; Sunesen ve

ark., 2001). Aynı şekilde yağların oksidasyonunda da hamur bileşimi, etin kıyma çekilme iriliği, pH değeri, tuz, nitrit, baharat, antioksidan katılması gibi birçok faktörün etkili olduğu belirtilmektedir (Ordonez ve ark., 1999).

Kontrol ve deneme gruplarında alkollerden, kumik alkol tespit edildi (Tablo 3.14). Kumik alkol, soluk sarı-renksiz arasında bir renkte, kimyonumsu aromaya sahiptir (Anon, 2015d). Kumik alkol, DI grubunda en yüksek yüzdeye sahipken, kontrol grubunda en düşük yüzdeye sahipti. Kumik alkol'un en yüksek düzeye sahip olduğu DI grubunun panelistler tarafından tercih sebebi olması, bu alkol seviyesinin aroma oluşumu için istenilen seviyenin daha üstüne çıkmış olabileceğini düşündürdü.

Eugenolün, üretimde kullanılan baharatlardan açığa çıktığı, yenibahardan kaynaklandığı belirtilmektedir (Kaefer ve Milner, 2008). Eugenol, soluk sarımsı renkli, sarımsağımsı-karanfilimsi bir aromaya sahiptir. Bu çalışmada eugenol uçucu bileşeni için tespit edilen ortalama pik alanı Kaban'nın (2007) yaptığı çalışmada eugenol için belirledikleri ortalama pik alanı ile benzerlik gösterdiği belirlendi. Çalışmada tespit edilen tüm uçucu bileşenler içerisinde sadece DIII grubunda tespit edilen aromatik bileşikler en düşük yüzdeye sahipti.

Sarımsak kullanımına bağlı ürünlerde sülfürlü bileşiklerin oluştuğunu belirten çalışmalar (Mateo ve Zumalacarregui, 1996; Schmidt ve Berger, 1998; Edwards ve ark., 1999; Meynier ve ark., 1999) vardır. Purrinos ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada sülfürlü bileşiklerin methionin, sistin ve sistein gibi kükürtlü amino asit katabolizması sonucu ortaya çıkabileceğini de belirtmektedir. Methionin, sistin ve sistein gibi kükürtlü amino asitlerin enzimatik olmayan parçalanması sonucu düşük oranda da olsa açığa çıkan sülfürlü bileşiklerin aroma gelişmesi üzerinde oldukça etkili olduğu söylenmektedir (Anar, 2012). Bu çalışmada sülfürlü bileşenler içerisinde N-etil-1,3-dithioisindol, dialil disulfid bileşenleri tespit edildi. N-etil-1,3-dithioisindol, sülfürlü bileşikler içinde en fazla yüzdeye sahip bileşen olup sadece DII grubunda tespit edilemedi. Bileşen en fazla yüzdeye DIII, en az yüzdeye DI grubunda sahipti. Dialil disulfid için de en fazla yüzde kontrol, en az yüzde DII sucuk grubundaydı. DIII grubuna katılan *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* starter kültür kombinasyonunun amino asit katabolizmasında, diğer kültürlerle göre daha iyi rol oynadığı söylenebilir. Çalışmada, kontrol ve deneme sucuk gruplarının hepsine aynı oranda sarımsak katılmasına rağmen, duyuşal değerlendirmede özellikle DI ve DII grupları için sarımsak miktarının az olduğu ile

ilgili yorumlar yapıldı. Bu duyuşal değerlendirmenin sarımsaktan ileri geldiği dūşünölen aromatik bileşenin az çıkması ile ilişkili olduğu dūşünöldü.

Öztürk (2013) yaptığı çalışmada N-etil-1,3-dithioisindolin ve diallil disülfid uçucu bileşenlerini laktik asit bakteri içeren sucuk gruplarında belirlemiştir. Araştırmacının elde ettiği yüzde oranları, bu çalışmada elde edilen yüzde oranlarından daha dūřüktür. Bu durumun kullanılan sarımsak oranıyla ilgisi olabileceği dūşünöldü.

Çalışmada, furanlardan 2-metilfuran sadece DI grubunda tespit edildi (Tablo 3.14). Bu uçucu bileşenin baharatımsı-dumanımsı bir aromaya sahip olduğu bildirilmektedir (Anon, 2015d). Furanların, uygulanan ısı işlemiyle ilişkili olabilmemesinin yanında kurutulmuş, kürlenmiş et ürünlerinde bulunabileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Flores ve ark., 1997; Ruiz ve ark., 1999; Muriel ve ark., 2004). Purrinos ve ark. (2011) çiğ materyalde furan tespiti yapılmadığını belirtmektedir. Ancak aynı araştırmacı üretimin çeşitli aşamalarında furan bileşiklerinin açığa çıktığını saptamıştır. Panelistler tarafından tercih edilmeyen DI grubunda açığa çıkan bu bileşenin ürüne kattığı aromanın hoşa gitmediği söylenebilir.

4.7. Mikrobiyolojik Değerlendirme Sonuçları

Laktik asit bakteri sayısı bakımından fermentasyon öncesi ve sonrası kontrol ve deneme gruplarının kendi içlerinde yapılan istatistiksel değerlendirmesi sonucunda herhangi bir fark gözlenmedi (Tablo 3.15). Kontrol ve deneme sucuk hamur grupları ile kontrol ve deneme sucuk grupları arasında yapılan genel karşılaştırma sonucunda kontrol sucuk hamur grubunun, DIII sucuk grubu ile arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($p < 0,01$). Sucuk hamuru laktik asit bakteri sayısı 5,79-6,59 log kob/g; sucuk laktik asit bakteri sayısı ise 7,39-8,64 log kob/g olarak belirlendi (Tablo 3.16). Sucuk hamur gruplarında en dūřük değer kontrol grubundayken (5,79 log kob/g); en yüksek değer DII sucuk hamurunda (6,59 log kob/g) saptandı. Sucuk gruplarında ise en dūřük değer kontrol grubunda (7,39 log kob/g); en yüksek değer DIII sucuk grubunda (8,64 log kob/g) tespit edildi. Fermentasyon öncesi deneme gruplarının hepsine eřit oranlarda starter kültür katılması nedeniyle gruplar arası istatistiksel fark çıkmaması bu eşitliğin sağlandığını göstermektedir. Fermentasyon sonrası deneme sucuk gruplarında laktik asit bakteri sayım sonucuna göre en yüksekten en dūřüęe

doğru DIII, DII, DI, kontrol şeklinde sıralandı. DIII sucuk grubunda bulunan *L. sake* ve *L. curvatus*'un ortam adaptasyonunun diğerlerine göre daha fazla olduğu söylenebilir. Aynı zamanda diğer kültür kombinasyonlarının yarışmacı zelliklerinin DIII sucuk grubunda bulunanlara göre daha az olduğu yorumu yapılabilir. Bu çalışmada elde edilen laktik asit bakteri sayıları Urso ve ark. (2006), Ensoy ve Kolsarıcı (2004), Samelis (1998), Essid ve Hassouna (2013) alışma verileri ile benzerlik gösterdiği belirlendi (Tablo 1.2).

Geleneksel metotlarla üretimi yapılan kontrol ve deneme sucuk hamur gruplarının ve kontrol ve deneme sucuk gruplarında belirlenen *Staphylococcus* spp. sayım sonuçlarına göre yapılan genel karşılaştırma sonucunda kontrol hamur grubunun, DII sucuk grubu ile istatistiksel fark önemli bulundu ($p < 0,05$). Sucuk hamur gruplarında *Staphylococcus* spp. sayım sonucu 5,18-5,95 log kob/g; sucuk gruplarında ise 6,36-8,66 log kob/g aralığında belirlendi (Tablo 3.18). Sucuk hamur gruplarında en düşük değer kontrol grubundayken (5,18 log kob/g), en yüksek değer DIII sucuk hamurunda (5,95 log kob/g) saptandı. Sucuk gruplarında ise en düşük değer kontrol grubunda (6,36 log kob/g), en yüksek değer DII sucuk grubunda (8,66 log kob/g) tespit edildi. Hem kontrol sucuk hamuru hem de kontrol sucuk gruplarında *Staphylococcus* spp. sayısı düşük bulundu. Diğer deneme sucuk gruplarında gözlemlenen artışın önemli düzeyde olmaması düşen pH değerine bağlı olarak mikroorganizmaların gelişmelerinin kısıtlanmasıyla ilişkili olabilir (Sanz ve ark., 1997). Fermentasyon sonrası *Staphylococcus* spp. sayısının en fazla olduğu DII sucuk grubunun içerdiği *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* kombinasyonunun, diğer kültür kombinasyonlarına göre daha sinerjik etkili olduğu söylenebilir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, Aymerich ve ark. (2003), Ensoy ve Kolsarıcı (2004), Essid ve Hassouna'nın (2013) sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Tablo 1.3).

Enterobacteriaceae sayım sonucuna göre yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu herhangi bir fark gözlenmedi. Ancak, yapılan genel karşılaştırma sonucunda DII sucuk hamur grubunun (3,60 log kob/g), DII ve DIII sucuk grubu (2,38 log kob/g) ile arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna varıldı ($p < 0,01$). Hamur Enterobacteriaceae sayım sonucu 3,45-3,73 log kob/g; sucuk Enterobacteriaceae sayım sonucu ise 2,38-2,48 log kob/g olarak belirlendi. Sucuk hamuru gruplarında en düşük değer kontrol grubundayken (3,45 log kob/g), en yüksek değer DIII sucuk hamurunda (3,73 log kob/g) saptandı (Tablo 3.19). Sucuk gruplarında ise en düşük değer DII ve DIII sucuk gruplarında (2,38 log kob/g), en yüksek değer DI sucuk grubunda (2,48 log kob/g) tespit edildi. Hem fermentasyon koşullarının hem

de artan laktik asit bakterilerinin Enterobacteriaceae sayısını azalttığı söylenmektedir (Lizaso ve ark., 1999; Gonzales ve Diez, 2002). Hamur ve sucuk gruplarının genel karşılaştırması dikkate alındığında sucuk grubunda Enterobacteriaceae sayısının azalmasında fermentasyon koşullarının ve laktik asit bakterilerinin etkili olabileceği söylenebilir. Laktik asit bakteri sayısı en fazla olan DIII sucuk grubunun Enterobacteriaceae sayısının az olması bu bilgiyi desteklemektedir.

Samelis ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada sucuk hamurunda Enterobacteriaceae ve *Enterococcus* spp. sayısını 10^4 kob/g düzeyinin altında tespit etmişlerdir. Papamanoli ve ark. (2003) bu düzeyi olgunlaşmanın 17. gününde 3 log kob/g; Kaban (2007) olgunlaşmanın ilk gününde kontrol örneğinde 3,00-3,18 log kob/g ve starter kültürlü örneklerinde 2,85-3,20 log kob/g olarak belirlemişler, starter kültürlü grupta kontrole göre daha düşük sayım yaptıklarını belirtmişlerdir. Kaban (2007) olgunlaşmanın 3. gününden itibaren Enterobacteriaceae sayısını saptanabilir sınırın altında bulduğunu dile getirmektedir. Marty ve ark. (2012) sucuk hamurunda Enterobacteriaceae sayısını 2,6-5,0 log kob/g; son üründe ise 2,5-4,4 log kob/g olarak belirlemişlerdir. Öztürk (2013) ilk gün örneklerinde Enterobacteriaceae sayısının 3,81-5,48 log kob/g arasında olduğunu gözlemiştir. Çalışmada elde edilen veriler Samelis ve ark. (1998), Kaban (2007) ve Marty ve ark.'nın (2012) verileri ile benzerlik göstermektedir.

5. SONUÇ

Bu çalışma Türkiye’de Gram pozitif çomak ve Gram pozitif katalaz pozitif kokların izolasyon ve identifikasyonuna ve genomik karakterizasyonuna yönelik yapılan çalışmalar arasındadır. Starter kültür olarak kullanılması hedeflenen *L. plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* ülkemize özgü geleneksel metotlarla üretim yapan firmalardan toplanan sucuk hamurlarının sahip olduğu floradan yararlanarak izole edildi. Bu kültürlerin, sucukların fiziksel, kimyasal, aroma, duyuşsal, mikrobiyolojik özellikleri üzerinde etkili olup olmaması bakımından araştırılması amaçlandı. Kültürlerle üretim yapıldığında tipik sucuk koku, tat, aromasına erişilmiş olmakla beraber kontrol grubu ile çeşitli özellikler bakımından farklılıklar gözlemlendi.

Türkiye’de geleneksel metotlarla üretilen fermente sucukların fiziksel ve kimyasal yapısı hakkında bir çok çalışma mevcut olmasına rağmen, bu ürünlerin florası üzerinde yapılmış çalışma az sayıda bulunmaktadır. Bu çalışmada geleneksel yöntemle üretimi yapılan sucuk hamurlarının doğal floralarından elde edilen mikroorganizma kombinasyonlarından tüketici zevkine en uygun olanının *L. curvatus*, *L. sake* ve *S. xylosus* kombinasyonu olduğu sonucuna varıldı. Türkiye’ye özgü bir ürün olan fermente sucukların, üretildikleri bölgelere özgü mikrofloralarının öncelikle halk sağlığını açısından değerlendirilmeli ardından starter kültür olarak kullanılabilinip kullanılmayacağı belirlenerek, teknolojik olarak değerlendirmesi yapılmalıdır. Teknolojik olarak kullanılacak kültür seçimi yapıldığında bunların üretime adaptasyonu gerçekleştirilmelidir. Son zamanlarda tüketiciler katkı maddesi içermeyen ürünler tercih etmektedir. Bu sebeple, sucukların içerdiği katkı maddelerinin kullanılmasına gerek kalmadan, bu maddelerin sağladığı özellikleri oluşturacak, aynı zamanda probiyotik özellikleri olabilecek kültürlerin izolasyonu yapılmalıdır. Bunun için, ticari mikroorganizmalara göre ortama daha iyi adapte olabilen, geleneksel ürünlerin ve çevrenin mikroflorasından yararlanılmalıdır. Üretimi çabuklaştıracak, mümkün olduğunca en az katkı ihtiva edecek, tüketici damak zevkine uygun sucuk üretimini sağlayacak ülkemize özgü kültürlerin piyasaya arzı sağlanmalıdır. Bu amaçla, yapılacak çalışmalarda halk sağlığını tehdit eden etkenler haricinde, Türkiye’ye özgü kültürler elde ederek starter kültür gelişimine katkı sağlamalı, ülkemize özgü starter kültür koleksiyonları oluşturma yolunda ilerlenmelidir.

ÖZET

Bu çalışma ile geleneksel metotlarla üretimi yapılmış sucuk hamularının doğal floralarından *L. plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus* ve *S. xylosus* klasik kültür yöntemleri ile elde edilerek bu mikroorganizmaların karakterizasyonu için 16S-23S rRNA gen bölgelerine göre PZR metodu ile tanımlanması sağlandıktan sonra, DNA farklılıklarının ayırımı yapılarak, mikroorganizmaların farklı kombinasyonlardaki karışımları ile geleneksel sucuk üretimi yapılarak, tüketici damak zevkine en uygun kombinasyonun belirlenmesi amaçlandı. Bunun için, Afyonkarahisar'da geleneksel yöntemle sucuk üretimi yapan farklı firmalardan farklı zamanlarda toplam 16 adet sucuk hamur numunesi toplandı. Numunelerden, çeşitli biyokimyasal özellikleri değerlendirilerek izole edilen *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. sake* ve *S. xylosus* izolatları seçildi. Seçilen izolatların PZR kullanılarak tür bazında kesin identifikasyonu yapıldı. Yapılan moleküler tanı ile %57,1 oranında *L. plantarum*, %28,6 oranında *L. sake*, %14,3 oranında *L. curvatus* ve %5 oranında *S. xylosus* belirlendi. Bu suşların, belli oranlarda ve kombinasyonlarda karışımları ile sucuk üretimi gerçekleştirildi. Buna göre; DI grubu, *L. plantarum*, *L. sake*, *S. xylosus*; DII grubu, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *S. xylosus*; DIII grubu, *L. curvatus*, *L. sake*, *S. xylosus* kombinasyonlarını içerdi. Kontrol grubuna ise starter kültür eklenmedi. Üretimi yapılan sucuklarda fiziksel ve kimyasal analizler yapıldı. pH açısından kontrol grubu ile DII ve DIII arasındaki farkın önemli olduğu ($p < 0,05$), nem miktarı açısından DI ve DII arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi ($p < 0,001$). Ağırlık kaybı bakımından kontrol grubu ile DII arasındaki fark istatistiksel olarak önemliydi ($p < 0,05$). Kontrol ve deneme gruplarında yapılan tekstür profil analizinde sertlik ($p \leq 0,01$), iç yapışkanlık ($p < 0,05$) ve elastiklik ($p \leq 0,01$) özellikleri bakımından fark belirlendi. Duyusal değerlendirmede, çiğ kontrol ve deneme gruplarında tekstürel özellik bakımından fark belirlendi ($p < 0,05$). SPME GC-MS ile uçucu bileşen tayininde, o-simen, gama terpen, alfa pinen, delta 3 karen, alfa-fellandren, kampen, beta siklositral, kumin aldehit, 2-metil-3-fenil propanal, 2-metil propanoik asit, kumik alkol, metileugenol, N-etil-1,3-ditiyoisoindolin, dialil disülfid, 2-metilfuran uçucu bileşiklerin olduğu saptandı. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucu, laktik asit bakteri sayımında kontrol sucuk hamur grubunun, DIII sucuk grubu ile arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($p < 0,01$); *Staphylococcus* spp. sayımında yapılan genel karşılaştırma sonucunda kontrol sucuk hamur grubunun, DII sucuk grubu ile arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($p < 0,05$); Enterobacteriaceae sayım sonuçları ile yapılan genel karşılaştırma sonucunda DII sucuk hamur grubunun, DII ve DIII sucuk grubu ile arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edildi ($p < 0,01$). Sonuç olarak, çalışmada ölçülen özellikler bakımından tüketicinin damak zevkine en uygun sucuk grubu DIII grubu

olup, sahip olduğu kültür kombinasyonu *L. curvatus*, *L. sake*, *S. xylosus* türlerinden oluşmaktadırdır.

Anahtar Kelimeler: Sucuk, *L. plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus*, *S. xylosus*, PZR, fiziksel ve kimyasal özellikler, aroma bileşenleri

SUMMARY

Investigation Of Use As A Starter Culture Of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus* Isolated From Fermented Turkish Sucuk

In this study, the target microorganisms obtained from Turkish sucuk are isolated by conventional culture methods. These microorganism were identified by intergenic 16S-23S rRNA Spacer Region PCR and were determined the differences between DNA sequencing for each microorganism. Turkish sucuk was produced with a mixture of different combinations of these microorganisms. It aimed to determine the most suitable combination of microorganism to the consumer palate. For this, total of 16 Turkish sucuk dough samples at different time from different company were collected in Afyonkarahisar. *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. sake*, *S. xylosum* was selected by evaluating biochemical characteristics. Selected isolates were identified by using PCR on the basis of species. The results of PCR was indicated 57,1, 28,6, 14,3 and 5% of *L. plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus* and *S. xylosum*, respectively. Producing of Turkish sucuk was performed with mixture of different combination of these microorganism. According to this, It contained *L. plantarum*, *L. sake*, *S. xylosum*; *L. plantarum*, *L. curvatus*, *S. xylosum*; *L. curvatus*, *L. sake*, *S. xylosum* of Group I, Group II, Group III groups, respectively. It wasn't been added starter culture mixture to control group. Physicochemical analyses were performed in the produced Turkish sucuk. According to statistical analysis, the differences between control group and group II – group III for pH values ($p < 0,05$); group I and group II for moisture content ($p < 0,001$); control group and group II for weight loss ($p < 0,05$) are significant. For texture profile analysis, there were differences for hardness ($p \leq 0,01$), cohesiveness ($p < 0,05$), resilience ($p \leq 0,01$) between control and groups. Statistical difference was important between raw control and raw groups for texture property in sensory evaluation ($p < 0,05$). It was determined volatile compounds with SPME GC-MS. These were o-cymene, gamma terpiene, alpha pinene, delta-3-carene, alpha-phellandrene, camphene, beta-cyclocitral, p-cumic aldehyde, propanal 2-methyl-3-phenyl-, 2-pyridinepropanoic acid, cumic alcohol, methyleugenol, N-ethyl-1,3-dithioisoindoline, diallyl disulfide, 2-methylfuran. Lactic acid bacteria counts were statistically significant between control dough and sucuk group III ($p < 0,01$). *Staphylococcus* spp. counts of between control dough and sucuk group II were statistically significant ($p < 0,05$). Enterobacteriaceae counts of between dough group II and sucuk group II-III were statistically significant ($p < 0,01$). In conclusion, Group III which contained *L. curvatus*, *L. sake*, *S. xylosum* mixture, is the most favorable for consumer palate.

Key words:Sucuk, *L. plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus*, *S. xylosum*,PCR, physical and chemical properties, volatile compounds

KAYNAKLAR

- ABEE, T., KROCKEL, L., HILL, C. (1995). Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *International Journal of Food Microbiology*, **28**: 169–185.
- ABRIOUEL, H., HERRMANN, A., STARKE, J., YOUSIF, N. M., WIJAYA, A., TAUSCHER, B. (2004). Cloning and heterologous expression of hematin- dependent catalase produced by *Lactobacillus plantarum* CNRZ 1228. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**: 603–606.
- ACAR, K., (2009). Floresans renkler içeren boyama reçetesi tahmin algoritmalarında başarının artırılmasına yönelik yeni bir yöntem, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- ADIGÜZEL, G., ATASEVER, M. (2009). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from turkish dry fermented sausage. *Romanian Biotechnological Letters*, **14 (1)**: 4130-4138.
- ALTUG, T. (1993). Duyusal test teknikleri. E.Ü.Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No.28, 56 s., İzmir.
- AMMOR, M.S., MAYO, B. (2007). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science*, **76**: 138–146.
- AMMOR, S., RACHMAN, C., CHAILLOU, S., PREVOST, H., DOUSSET, X., ZAGOREC, M. (2005). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiology*, **22**: 373–382.
- ANAR, S. (2012). Et ve et ürünleri teknolojisi. Dora Yayınları, Bursa.
- ANSORENA, D., GIMENO, O., ASTIASARÁN, I., BELLO, J. (2001). Analysis of volatile compounds by GC-MS of a dry fermented sausage: chorizo de Pamplona. *Food Research International*, **34**: 67-75.
- ANON, (1971). CIE International Commission on Illumination, Recommendations on uniform color spaces, color-difference equations, Psychometric color terms, Supplement No. 2 to CIE Publication No. 15, Colorimetry, 1971 and 1978.
- ANON, (1990). Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. IAC, Arlington, Virginia. 22001.920.153.928.950.
- ANON, (2015a). Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Mevzuat, Türk Gıda Kodeksi, Et ve Et Ürünleri Tebliği. Erişim adresi: <http://www.mevzuat.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=9.5.16821&MevzuatIliski=0&sourceXmlSearch=et%20%C3%BCr%C3%BCnleri>. Erişim tarihi: 01.03.2015.
- ANON, (2015b). Simmon sitrat agarda üreme yetenekleri, Oksidaz testi, Jelatin testi ERİŞİM ADRESİ: <http://www.mikrobiyoloji.org/> ERİŞİM TARİHİ: 03.04.2015.
- ANON, (2015c). Propanal, kumin aldehit. Erişim adresi: https://en.wikipedia.org/wiki/Main_Page Erişim tarihi: 01.01.2015.

- ANON, (2015d). JEFCA, The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Erişim adresi: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/jecfa-flav/en/>, Erişim Tarihi: 01.06.2015.
- AQUILANTI, L., SANTARELLI, S., SILVESTRI, A.G., OSIMANI, I, CLEMENTI, F.(2007). The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, **120 (1–2)**:136–145.
- ARISI, A.C.M., SAWITZKI, M.C., FIORENTINI, Â.M., ANGONESI, B.F.C., TAGLIARI, C., BERTOL, T.M., SANTANNA, E.S. (2007). Phenotypic characterization and species-specific pcr of promising starter culture strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from naturally fermented sausages. *Brazilian Journal of Microbiology*, **38**: 547-552.
- ARKOUDELOS, J.S., NYCHAS, G.J.E., SAMARAS, F. (1997). The occurrence of Staphylococci on Greek fermented sausages. *Fleischwirtschaft*, **77**: 571 – 574.
- AYMERICH, T., MARTIN, B., GARRIGA, M., HUGAS, M.(2003). Microbial quality and direct PCR identification of lactic acid bacteria and nonpathogenic staphylococci from artisanal low-acid sausages. *Applied and Environmental Microbiology*, **69**: 4583 – 4594.
- AYMERICH, T., MARTÍN, B., GARRIGA, M., VIDAL-CAROU, M. C., BOVER-CID, S., HUGAS, M. (2006). Safety properties and molecular strain typing of lactic acid bacteria from slightly fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, **100**: 40–49.
- BABALOLA, O.O. (2003). Molecular techniques: An overview of methods for the detection of bacteria. *African Journal of Biotechnology*, **2 (12)**: 710-713.
- BACUS, J. N. (1986). Fermented meat and poultry products. In A. M. Pearson & T. R. Dutson (Eds.), *Advances in meat research, meat and poultry microbiology* (pp. 123–164). London: Macmillan.
- BARACCO, P., DURAND, P., FRENTZ, J. C., JACQUET, B., ZERT, P. (1990). *Encyclopédie de la charcuterie*. Paris: Soussana.
- BARBU, V. (2008). Phenotypical characterization of several lactic acid bacteria strains isolated from wheat's epiphyte microbiota. *Roumanian Biotechnological Letters*, **13 (6)**: 4074-4085.
- BARRIÈRE, C., CENTENO, D. , LEBERT, A., LEROY-SÉTRIN, S., BERDAGUÉ J.L. , TALON, R. (2001). Roles of superoxide dismutase and catalase of *Staphylococcus xylosus* in the inhibition of linoleic acid oxidation, *FEMS Microbiology Letters*, **201 (2)**: 181-185.
- BARRY, T., COLLERAN, G., GLENNON, M., DUNICAN, L.K., GANNON, F. (1991). The 16s/23s ribosomal spacer region as a target for DNA probes to identify eubacteria. *PCR Methods Applic.*, **1**:51-62.
- BECK, H.C., HANSEN, A.M., LAURITSEN, F.R. (2004). Catabolism of leucine to branched-chain fatty acids in *Staphylococcus xylosus*. *Journal Of Applied Microbiology*, **96**: 1185–1193.

- BENITO, M.J., RODRIGUEZ, M., CORDOBA, M.G., ANDRADE, M.J., CORDOBA, J.J. (2005). Effect of the 'fungal protease EPg222 on proteolysis and texture in the dry fermented sausage 'salchichon'. *J Sci Food Agric*, **85**: 273–280.
- BENITO, M.J., MARTIN, A., ARANDA, E., PÉREZ-NEVADO, F., RUIZ-MOYANO, S., CORDOBA, M. (2007). Characterization and selection of autochthonous lactic acid bacteria isolated from traditional Iberian dry-fermented salchichón and chorizo sausages. *J. Food Sci.*, **72** (6): 193–201.
- BERDAGUÉ, J.L., MONTEIL, P., MONTEL, M.C., TALON, R. (1993). Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausage. *Meat Science*, **35** (3): 275–287.
- BERGER, R.G., MACKU, C., BRUCE, G.J., SHIBAMOTO, T. (1990). Isolation and identification of dry salami volatiles. *Journal of Food Science*, **55** (5): 1239–1242.
- BERTHIER, F., EHRLICH S.D. (1998). Rapid species identification within two groups of closely related lactobacilli using PCR primers that target the 16S/23S rRNA spacer region. *FEMS Microbiology Letters*, **161**: 97–106.
- BERTHIER, F., EHRLICH, S.D. (1999). Genetic diversity within *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* and design of PCR primers for its detection using randomly amplified polymorphic DNA. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **49**: 997–1007.
- BLAIOTTA, G., PENNACCHIA, C., PARENTE, E., VILLANI, F. (2003). Design and Evaluation of specific PCR primers for rapid and reliable identification of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from dry fermented sausages. *Systematic and Applied Microbiology*, **26** (4): 601–610.
- BLAIOTTA, G., PENNACCHIA, C., VILLANI, F., RICCIARDI, A., TOFALO, R., PARENTE, E. (2004). Diversity and dynamics of communities of coagulase-negative staphylococci in traditional fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, **97**: 271–284.
- BLOM, H., HAGEN, B.F., PEDERSEN, B.O., HOLCK, A.L., AXELSSON, L., NAES, H. (1996). Accelerated Production of Dry Fermented Sausage. *Meat Science*, **43** (1): 229–242.
- BOLUMAR, T., SANZ, Y., FLORES, M., ARISTOY, M.C., TOLDRA, F., FLORES, J. (2006). Sensory improvement of dry-fermented sausages by the addition of cell-free extracts from *Deboryomyces Hansenii* and *Lactobacillus sakei*. *Meat Science*, **72**: 457–466.
- BONOMO, M.G., RICCIARDI, A., ZOTTA, T., PARENTE, E., SALZANO, G. (2008). Molecular and technological characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented sausages of bacilicata region (Southern Italy). *Meat Science*, **80**(4): 1238–1248.
- BOURNE, M.C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technol*, **32**: 62–66.
- BOZKURT, H. (2002). Effects of some storage conditions and additives on quality and stability of sucuk (Turkish dry-fermented sausage), Ph.D, in Gaziantep University, Turkey.

- BOZKURT, H., BAYRAM, M. (2006). Colour and textural attributes of sucuk during ripening. *Meat Science*, **73** (2): 344–350.
- BRUNA, J.M., HIERRO, E. M., DE LA HOZ, L., MOTTRAM, D. S., FERNÁNDEZ, M., ORDÓÑEZ J. A. (2003). Changes in selected biochemical and sensory parameters as affected by the superficial inoculation of *Penicillium camemberti* on dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, **85**: 111 – 125.
- BUCKENHUSKES, H.J. (1993). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiology Reviews*, **12**: 253–271.
- CAMPANINI, M., PEDRAZZONI, I., BARBUTI, S., BALDINI, P. (1993). Behaviour of *Listeria monocytogenes* during the maturation of naturally and artificially contaminated salami: effect of lactic-acid bacteria starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*, **20**: 169–175.
- CAMPBELL-PLATT, G., COOK, P.E. (1995). Fermented Meats. Blackie Academic and Professional, London.
- COOK, P. E. (1995). Fungal ripened meats and meat products. In G. Campbell- Platt & P. E. Cook (Eds.), Fermented meats. London: Chapman & Hall.
- CANDOĞAN, K. (2000). Bacterial starter cultures, aging and fermentation effects on some characteristics of fermented beef sausages. PhD Thesis, Clemson University, Clemson, SC.
- CARRETTO, E., BARBARINI, D., COUTO, I., DE VITIS, D., MARONE, P., VERHOEF, J., DE LENCASTRE, H., BRISSE, S. (2005). Identification of coagulase-negative staphylococci other than *Staphylococcus epidermidis* by automated ribotyping. *Clinical Microbiology and Infection*, **11** (3): 177-184.
- CASABURI, A., ARISTOYB, M.C., CAVELLAA, S., DI MONACOA, R., ERCOLINIA, D., TOLDRÁB, F., VILLANI, F. (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science*, **76** (2): 295–307.
- CASE, R.J., BOUCHER, Y., DAHLLOF, I., HOLMSTROM, C., DOOLITTLE, W.F., KJELLEBERG, S. (2007). Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies. *Applied And Environmental Microbiology*, **73** (1): 278–288.
- CHIZZOLINI, R., NOVELLI, E., ZANARDI, E. (1998). Oxidation in traditional mediterranean meat products. *Meat Science*, **49** (1): 87–99.
- CHOWDHURY, A., NUR HOSSAIN, M., MOSTAZIR, N.J., FAKRUDDIN, M., BILLAH, M.M., AHMED, M.M. (2012). Screening of *Lactobacillus* spp. from buffalo yoghurt for probiotic and antibacterial activity. *Journal of Bacteriology and Parasitology*, **3** (8): 156-156.
- COCOLIN, L., DOLCI, P., RANTSIOU, K. (2011). Biodiversity and dynamics of meat fermentations: The contribution of molecular methods for a better comprehension of a complex ecosystem. *Meat Science*, **89** (3): 296–302.
- COCOLIN, L., MANZANO, M., CANTONI, C., COMI, G. (2001). Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in

- the bacterial population during fermentation of Italian sausages. *Applied and Environmental Microbiology*, **67**: 5113 – 5121.
- COPPOLA, R., GIAGNACOVO, B., IORIZZO, M., GRAZIA, L.(1998). Characterization of lactobacilli involved in the ripening of soppressata molisana, a typical southern Italy fermented sausage. *Food Microbiology*, **15**: 347 – 353.
- COPPOLA,R., IORIZZO,M., SAOTTA,R., SORRENTINO,E., GRAZIA,L. (1997). Characterization of *Micrococci* and *Staphylococci* isolated from soppressata molisana, a Southern Italy fermented sausage. *Food Microbiology*, **14 (1)**: 47–53.
- COPPOLA, S., MAURIELLO, G., APONTE, M., MOSCHETTI, G., VILLANI, F. (2000). Microbial succession during ripening of Naples-type salami, a southern Italian fermented sausage. *Meat Science*, **56**: 321 – 329.
- COLLINS, M.D., RODRIGUES, U., ASH C., AGUIRRE, M., FARROW, J.A.E., MARTINEZ-MURCIA, A., PHILLIPS,B.A., WILLIAMS,A.M., WALLBANKS S. (1991). Phylogenetic analysis of the genus *Lactobacillus* and related lactic acid bacteria as determined by reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *FEMS Microbiology Letters*, **77 (1)**: 5-12.
- COMI, G., CITTERIO, B., MANZANO, M., CANTONI, C., DE BERTOLDI, M.(1992). Evaluation and characterization of Micrococcaceae strains in Italian fermented dry sausages. *Fleischwirtschaft*, **72**: 1679–1685.
- COMI, G., URSO,R., IACUMIN,L., RANTSIOU,K., CATTANEO,P., CANTONI,C., COCOLIN, L. (2005). Characterisation of naturally fermented sausages produced in the north east of Italy. *Meat Science*, **69 (3)**: 381–392.
- COUTO, I., PEREIRA, S., MIRAGAIA, M., SANCHES, I.S., DE LENCASTRE, H. (2001). Identification of clinical staphylococcal isolates from humans by internal transcribed spacer PCR. *J Clin Microbiol.*, **39**: 3099–3103.
- ÇON, A. H., GÖKALP, H.Y. (2000). Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. *Meat Science*, **55 (1)**: 89–96.
- CREHAN, C.M., HUGHES, E., TROY, D.J., BUCKLEY, D.J. (2000). Effects of fat level and maltodextrin on the functional properties of frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat. *Meat Science*, **55(4)**:463-469.
- ÇOLAK, H., UGUR, M. (2002). Farklı muhafaza sıcaklığı ve süresinin fermente sucuklarda biyojen aminlerin oluşumu üzerine etkisi. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, **26**:779–784.
- DANILOVIĆ, B., JOKOVIĆ, N., PETROVIĆ, L., VELJOVIĆ, K., TOLINAČKI, M., SAVIĆ, D. (2011). The characterisation of lactic acid bacteria during the fermentation of an artisan Serbian sausage (Petrovská Klobása). *Meat Science*, **88 (4)**: 668–674.
- DE ANGELIS, M., CORSETTI, A., TOSTI, N., ROSSI, J., CORBO, M. R., GOBBETTI, M. (2001). Characterization of non-starter lactic acid bacteria from italian ewe cheeses based on phenotypic, genotypic, and cell wall protein analyses. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67 (5)**: 2011-2020.

- DE MARTINIS, E.C., FRANCO, B.D. (1998). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in a pork product by a *Lactobacillus sakei* strain. *International Journal of Food Microbiology*, **42**: 119–126.
- DEL CARMEN DE LA ROSA, M., MOHINO, M.R., MOHINO, M., MOSSO, M.A. (1990). Characteristics of *Micrococci* and *Staphylococci* isolated from semi-preserved meat products. *Food Microbiology*, **7 (3)**: 207–215.
- DELLAGLIO, S., CASIRAGHI, E., POMPEI, C. (1996). Chemical, physical and sensory attributes for the characterization of an Italian dry-cured sausage. *Meat Science*, **42 (1)**: 25–35.
- DEMEYER, D., STAHNKE, L. (2002). Quality control of fermented meat products. Meat Processing, ed: Kerry, J., Kerry, J., Ledward, D., CRC Press LLC and Woodhead Publishing Ltd., England.
- DEMEYER, D.I., VERPLAETSE, A., GISTELINCK, M. (1986). Fermentation of meat: an integrated process. Proceedings of the 32nd European Meetings of Meat Research Work. pp241–246.
- DEMEYER, D., RAEMAEKERS, M., RIZZO, A., HOLCK, A., DE SMEDT, A., TEN BRINK, B., HAGEN, B., MONTEL, C., ZANARDI, E., MURBREKK, E., LEROY, F., VANDENDRIESSCHE, F., LORENTSEN, K., VENEMA, K., SUNESEN, L., STAHNKE, L., DE VUYST, L., TALON, R., CHIZZOLINI, R., EEROLA, S. (2000). Control of bioflavour and safety in fermented sausages: first results of a European project. *Food Research International*, **33**: 171 – 180.
- DICKS, L.M.T., MELLETT, F.D., HOVMAN, L.C. (2004). Use of bacteriocin-producing starter cultures of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus curvatus* in production of ostrich meat salami. *Meat Science*, **66**: 703–708.
- DICKS L. M. T., DU PLESSIS, E. M., DELLAGLIO, F., LAUER, E. (1996). Classification of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC 393 and *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 15820 as *Lactobacillus zeeae* norn. rev., Designation of ATCC 334 as the Neotype of *L. casei* subsp. *casei*, and Rejection of the Name *Lactobacillus paracasei*. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, **46 (1)**: 337-340.
- DİNÇER, B. (1980). Yerli sucuklarda fermentasyon ve kurumada bileşimsel, lipolitik ve organoleptik değişimler üzerine araştırmalar. "TUBITAK, Proje No: VHAG - 457. Ankara.
- DİNÇER, B., MUTLUER, B., EROL, İ., ÖZDEMİR, H., YAĞLI, O., AKGÜN, S. (1995). Türk Fermente Sucuğuna özgü starter kültür bakterilerinin izolasyon, identifikasyon ve üretimleri. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.*, **42**: 285-293.
- DIRINCK, P., OPSTAELE, F.V., VANDENDRIESSCHE, F. (1997). Flavour differences between northern and southern European cured hams. *Food Chemistry*, **59 (4)**: 511–521.
- DOSSMANN, M.U., VOGEL, R.F., HAMMES, W.P. (1996). Mathematical description of the growth of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus pentosus* under conditions prevailing in fermented sausages. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **46**: 334–339.

- DROSINOS, E. H., PARAMITHIOTIS S., G. KOLOVOS, I. TSIKOURAS, I. METAXOPOULOS. (2007). Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and *Staphylococci* isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*, **24** (3): 260–270.
- DROSINOS, E.H., MATARAGAS, M., XIRAPHI, N. MOSCHONAS, G., GAITIS, F., METAXOPOULOS J. (2005). Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*, **69** (2):307–317.
- DYKES, G.A., VON HOLY, A. (1994). Strain typing in the genus *Lactobacillus*. *Letters In Applied Microbiology*, **19**: 63-66.
- EKŞİ, H. (2011). Sucuk üretiminde kaşar peyniri kullanımı. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- ENDO, A., OKADA, S. (2005). Monitoring the lactic acid bacterial diversity during shochu fermentation by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **99** (3): 216–221.
- ENSOY, U., KOLSARICI, N. (2004). Fermente et ürünlerinde flavor oluşumu. *Standard Ekonomik ve Teknik Dergi*, **43** (507): 81-93.
- ERCOŞKUN, H. (2006): Isıl işlem uygulanarak üretilen sucukların bazı kalite özelliklerine fermentasyon süresinin etkileri. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- ERGÖNÜL, B. (2009). Farklı probiyotik kültürler kullanarak hindi sucuğu üretimi ve kalite üzerine etkileri. Doktora Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A.B.D., Manisa.
- ERTAŞ, N., DOĞRUER, Y. (2010). Besinlerde tekstür. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg.*, **7** (1):35-42.
- ESSID, I., HASSOUNA, M. (2013). Effect of inoculation of selected *Staphylococcus xylosus* and *Lactobacillus plantarum* strains on biochemical, microbiological and textural characteristics of a Tunisian dry fermented sausage. *Food Control*, **32**: 707-714.
- FACKLAM, R.R., CARVALHO, M.G.S., TEIXEIRAM, L.M. (2002). History, taxonomy, biochemical characteristics, and antibiotic susceptibility testing of *Enterococci*, p. 1–54. In M. S. Gilmore, D. B. Clewell, P. Courvalin, G. M. Dunny, B. E. Murray, and L. B. Rice (ed.), *The enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*. ASM Press, Washington, D.C.
- FADDA, S., SANZ, Y., VIGNOLO, G., ARISTOY, M., OLIVER, G., TOLDRÁ, F. (1999a). Characterization of muscle sarcoplasmic and myofibrillar protein hydrolysis caused by *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**: 3540–3546.
- FADDA, S., SANZ, Y., VIGNOLO, G., ARISTOY, M., OLIVER, G., TOLDRÁ, F. (1999b). Hydrolysis of pork muscle sarcoplasmic proteins by *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**: 578–584.

- FIorentini, A.M., Sawitzki, M.C., Bertol, T.M., Santanna, E.S. (2009). Viability of *Staphylococcus xylosus* isolated from artisanal sausages for application as starter cultures in meat products. *Braz J Microbiol.*, **40**: 129–133.
- Flores, M., Durá, M.A., Marco, A., Toldrá, F. (2004). Effect of *Debaryomyces* spp. on aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages. *Meat Science*, **68**:439–446.
- Flores, J., Marcus, J.R., Nieto, P., Navarro, J., Llorenzo, P. (1997). Effect of processing conditions on proteolysis and taste of dry-cured sausages. *Z Lebensm Unters Forsch A.*, **204**: 168—172.
- Forsman, P., Tilsala-Timisjarvi, A., Alatosava, T. (1997). Identification of *Staphylococcal* and *Streptococcal* causes of bovine mastitis using 16S–23S rRNA spacer regions. *Microbiol.*, **143**: 3491–3500.
- García-Esteban, M., Ansorena, D., Astiasarán, I., Ruiz, J. (2004). Study of the effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Talanta*, **64** (2):458–466.
- García-Fontan, M.C., Lorenzo, J.M., Parada, A., Franco, I., Carballo, J. (2007). Microbiological characteristics of androlla, a Spanish traditional pork sausage. *Food Microbiol.*, **24**: 52–58.
- García-Varona, M., Santos, E.M., Jaime, I., Rovira, J. (2000). Characterisation of Micrococcaceae isolated from different varieties of chorizo. *International Journal of Food Microbiology*, **54**: 189–195.
- Gardini, F., Tofaló, R., Suzzi, G. (2003). A survey of antibiotic resistance in Micrococcaceae isolated from Italian dry fermented sausages. *Journal of Food Protection*, **66**: 937 – 945.
- Garriga, M., Hugas, M., Gou, P., Aymerich, M.T., Arnaú, J., Monfort, J.M. (1996). Technological and sensorial evaluation of *Lactobacillus* strains as starter cultures in fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, **32**: 173-183.
- Geisen, R., Lucke, F.K., Krockel, L. (1992). Starter and protective cultures for meat and meat product. *Fleischwirtsch.*, **72**:894–898.
- Gençcelep, H. (2006). Sucuk üretiminde değişik starter kültürler ve farklı nitrit seviyelerinin biyojen amin oluşumu üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
- Gezgen, C., Şeker, E. (2016). Investigation of methicillin resistance and panton-valentine leukocidin in *Staphylococci* isolated from bovine mastitis, *Acta Scientiae Veterinariae*. (Article In Press).
- Gimeno, O., Ansorena, D., Astiasarán, I., Bello, J. (2000). Characterization of chorizo de Pamplona: instrumental measurements of colour and texture. *Food Chemistry* **69**:195-200.

- GIRAFFA, G., NEVIANI, E. (2000). Molecular identification and characterization of food-associated Lactobacilli. *Italian journal of food science*, **12 (4)**: 403-423.
- GÖKALP, H.Y., KAYA, M. ZORBA, O.(2004). Et ürünleri işleme mühendisliği. Atatürk Üniversitesi, Yayın No:786, Ziraat Fak. Yayın No: 320, Erzurum.
- GÖKMEN, M., GÜRBÜZ, Ü. (2011). Use of chitosan in turkish sausage (sucuk) production and effects on quality. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **17 (Suppl A)**: 67-71.
- GÜRAKAN, G.C.,BOZOĞLU, T.F.,WEISS,N. (1995). Identification of Lactobacillus strains from turkish-style dry fermented sausages. *LWT - Food Science and Technology*,**28 (1)**:139–144.
- GÜRSOY, O., KINIK, O. (2006). Peynir üretiminde probiyotik bakterilerin kullanımı: probiyotik peynir. *Pamukkale Üniversitesi Journal of Engineering Sciences*,**12 (1)**: 105-116.
- GÜRBÜZ, Ü. (2009). Mezbaha bilgisi ve pratik et muayenesi. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, Nisan 2009.
- GOBBETTI, M., DE ANGELIS, M., CORSETTI, A., DI CAGNOA, R. (2005). Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria.*Trends in Food Science & Technology*, **16 (1–3)**: 57–69.
- GOH, S.H., POTTER, S., WOOD, J.O., HEMMINGSEN, S.M., REYNOLDS, R.P., CHOW, A.W. (1996). HSP60 gene sequences as universal targets for microbial species identification: studies with coagulase-negative *Staphylococci*. *Journal Of Clinical Microbiology*,**34 (4)**: 818–823.
- GÖK, V. (2006). Antioksidan kullanımının fermente sucukların bazı kalite özellikleri üzerine etkileri. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- GÖKALP, H.Y., KAYA M., TÜLEK Y., ZORBA O. (1995). Et ve et ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 751, Erzurum.
- GÖKALP, H.Y., KAYA, M., ZORBA, O. (2004). Et ürünleri işleme mühendisliği. Atatürk Üniv. Yayın No:786, Ziraat Fak. Yayın No: 320, Ders Kitapları serisi No:70, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum.
- GONZALES, B., DIEZ, V. (2002). The effect of nitrite and starter culture on microbiological quality of “chorizo”—a Spanish dry cured sausage. *Meat Science*, **60 (3)**:295–298.
- GRECO, M.,MAZZETTE, R., DE SANTIS, E.P.L., CORONA, A., COSSEDDU, A.M. (2005). Evolution and identification of lactic acid bacteria isolated during the ripening of Sardinian sausages. *Meat Science*,**69 (4)**:733–739.
- HALLIWELL, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?.*The Lancet*, **344 (8924)**: 721–724.

- HAMMES, W.P., HERTEL, C. (1998). New developments in meat starter cultures. *Meat Science*, **49** (1): 125–138.
- HAMMES, W.P., BANTLEON, A., MIN, S. (1990). Lactic acid bacteria in meat fermentation. *FEMS Microbiology Reviews*, **7** (1-2): 165-173.
- HAUSCHILD, T. (2001). Phenotypic and genotypic identification of *Staphylococci* isolated from wild small mammals. *Syst Appl Microbiol.*, **24**: 411–416.
- HOLZAPFEL, W.H. (2002). Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology*, **75** (3): 197–212.
- HUERTA, R., JORDANO, R., MEDINA, L. M., LÓPEZ, C. (2004). Population dynamics of the constitutive biota of French dry sausages in a pilotscale ripening chamber. *Journal of Food Protection*, **67**: 2306–2309.
- HUFNER, E., MARKIETON, T., CHAILLOU, S., CRUTZ-LE, COQ, A. M., ZAGOREC, M., HERTEL, C. (2007). Identification of *Lactobacillus sakeigenes* induced during meat fermentation and their role in survival and growth. *Applied And Environmental Microbiology*, **73** (8): 2522–2531.
- HUGAS, M., MONFORT, J. M. (1997). Bacterial starter cultures for meat fermentation. *Food Chemistry*, **59**: 547–554.
- HUGAS, M., GARRIGA, M., AYMERICH, T., MONFORT, J.M. (1993). Biochemical characterization of lactobacilli isolated from dry sausages. *International Journal of Food Microbiology*, **18**: 107 – 113.
- HUGAS, M., GARRIGA, M., AYMERICH, M. T., MONFORT, J.M. (1995). Inhibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC494. *Journal of Applied Bacteriology*, **79**: 322–330.
- HUGAS, M., NEUMEYER, B., PAGES, F., GARRIGA, M., HAMMES, W.P. (1996). Antimicrobial activity of bacteriocin-producing cultures in meat products: 2. Comparison of bacteriocin producing *Lactobacilli* on *Listeria* growth in fermented sausages. *Fleischwirtschaft*, **76**: 649–652.
- HUGHES, M.C., KERRY, J.P., ARENDT, E.K., KENNEALLY, P.M., MCSWEENEY, P.L.H., O'NEILL, E.E. (2002). Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. *Meat Science*, **62**: 205–216.
- IACOBELLIS, N.S., CANTORE, P., CAPASSO, F., SENATORE, F. (2005): Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53** (1): 57–61.
- IACUMIN, L., COMI, G., CANTONI, C., COCOLIN, L. (2006). Ecology and dynamics of coagulase-negative cocci isolated from naturally fermented Italian sausages. *Systematic and Applied Microbiology*, **29**: 480–486.

- IVERSEN, C., WADDINGTON, M., FARMER, J.J., FORSYTHE, S.J. (2006). The biochemical differentiation of *Enterobacter sakazakii* genotypes. *BMC Microbiology*, **6**:94.
- JENSEN, M.A., WEBSTER, J. A., STRAUS, N. (1993). Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**(4): 945-952.
- KABAN, G. (2007). Geleneksel olarak üretilen sucuklardan laktik asit bakterileri ile katalaz pozitif kokların izolasyonu-identifikasyonu, üretimde kullanılabilme imkânları ve uçucu bileşikler üzerine etkileri. (Doktora Tezi). Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Erzurum.
- KABAN, G. (2010). Volatile compounds of traditional turkish dry fermented sausage (Sucuk). *International Journal of Food Properties*, **13**: 525–534.
- KABAN, G. (2013). Sucuk and Pastırma: Microbiological changes and formation of volatile compounds. *Meat Science*, **95**: 912–918.
- KABAN, G., KAYA, M. (2007). *Staphylococcus xylosus* ve *Lactobacillus plantarum* suşlarının sucuğun duyu özellikleri ve renk değerleri üzerine etkileri. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.*, **38** (1): 83-89.
- KABAN, G., KAYA, M. (2008). Identification of lactic acid bacteria and gram-positive catalase-positive cocci isolated from naturally fermented sausage (sucuk). *Journal of Food Science*, **73**: 385–388.
- KABAN, G., KAYA, M. (2009). The effects of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* on the quality characteristics of dry fermented sausage “Sucuk”. *Journal of Food Science*, **74** (1): 58–63.
- KABAN, G., KAYA, M. (2010). Volatile compounds and other qualitative properties of sucuk ripened under different process conditions. TÜBİTAK Project Report Project 1070769.
- KAEFER, C.M., MILNER, J.A. (2008). The role of herbs and spices in cancer prevention. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **19** (6): 347-361.
- KAYAARDI, S., GÖK, V. (2003). Effect of replacing beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjouk (sucuk). *Meat Science*, **66**:249-257.
- KESMEN, Z., YETİMAN, A.E., GULLUCE, A., KACMAZ, N., SAGDIC O., CETIN, B., ADIGUZEL, A., SAHIN, F., YETİM, H. (2012). Combination of culture-dependent and culture-independent molecular methods for the determination of lactic microbiota in sucuk. *International Journal of Food Microbiology*, **153** (3):428–435.
- KLAENHAMMER, T.R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, **12**(1-3): 39-85.
- KLEIN, G., DICKS, L. M. T., PACK1, A., HACK, B., ZIMMERMANN, K., DELLAGLIO F., REUTER G. (1996). Emended Descriptions of *Lactobacillus sake* (Katagiri, Kitahara,

- and Fukami) and *Lactobacillus curvatus*(Abo-Elnaga and Kandler): Numerical Classification Revealed by Protein Fingerprinting and Identification Based on Biochemical Patterns and DNA-DNA Hybridizations. *International Journal Of Systematic Bacteriology*,**46 (2)**: 367-376.
- KLETTNER, P.G., ROEDEL, W.(1980). Beitrag zum Einuss des Speckanteils auf die Rohwurstreifung. *Fleischerei*,**31**: 1101-1104.
- KOMPRDA, T., SMELA, D., PECHOVA, P., KALHOTKA, L., STRENCH, J., KLEJDUS, B. (2004). Effect of starter culture, spice mix and storage time and temperature on biogenic amine content of dry fermented sausages. *Meat Science*,**67**: 607-616.
- LARROUTURE, C., ARDAILLON, V., PE'PIN, M., MONTEL, M.C. (2000). Ability of meat starter cultures to catabolize leucine and evaluation of the degradation products by using an HPLC method. *Food Microbiology*,**17**: 563 – 570.
- LATORRE-MORATALLA, M.L., VECIANA-NOGUE, T., BOVER-CID, S., GARRIGA, M., AYMERICH, T., ZANARDI, E., IANIERI, A., FRAQUEZA, M. J., PATARATA, L., DROSINOS, E.H., LAUKOVA, A., TALON, R., VIDAL-CAROU, M.C. (2008). Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. *Food Chemistry*,**107**: 912–921.
- LEBLOND-BOURGET, N., PHILIPPE, H., MANGIN, I., DECARIS B. (1996). 16s rRNA and 16s to 23s Internal transcribed spacer sequence analyses reveal inter- and intraspecific *Bifidobacterium* phylogeny, *International Journal of Systematic Bacteriology*,**46 (1)**:102-111.
- LEISTNER, L. (1985). Allgemeines über Rohwurst und Rohschinken. Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst und Rohschinken, Mikrobiologie Und Qualität Von Rohwurst Und Rohschinken, Bundesanstalt Für Fleischforschung, Kulmbach: Germany, Pp: 1–29.
- LEROY, F., DE VUYST, L. (1999). The presence of salt and a curing agent reduces bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* CTC 494, a potential starter culture for sausage fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*,**65**: 5350–5356.
- LEROY, F., VERLUYTEN, J., DE VUYST, L. (2006). Functional meat starters cultures for improved sausages fermentation. *International Journal Of Food Microbiology*,**106(3)**: 270-285.
- LEROY, S., GIAMMARINARO, P., CHACORNAC, J.P., LEBERT, I., TALON, R. (2010). Biodiversity of indigenous *Staphylococci* of naturally fermented dry sausages and manufacturing environments of small-scale processing units. *Food Microbiology*,**27 (2)**: 294–301.
- LIN, M.Y., YEN, C.L. (1999). Antioxidative ability of lactic acid bacteria, *J. Agric. Food Chem.*, **47 (4)**: 1460–1466.
- LIZASO, G., CHASCO, J., BERIAIN, M.J. (1999). Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*, **16 (3)**: 219–228.

- LOPES, M.D.S., CUNHA, A.E., CLEMENTE, J.J., CARRONDO, M.J.T., CRESPO, M.T.B. (1999). Influence of Environmental Factors on lipase production by *Lactobacillus plantarum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **51**: 249–254.
- LUCKE, F.K. (1986). Microbiological processes in the manufacture of dry sausage and raw ham. *Fleischwirtschaft*, **66 (10)**: 1505–1509.
- LUCKE, F. K. (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, **56**: 105–115.
- LUCKE, F.K., HECHELMANN, H. (1987). Starter cultures for dry sausages and raw ham. *Fleischwirtschaft*, **67 (3)**:307–314.
- MAIJALA, R., EEROLA, S., AHO, M., HIRN, J. (1993). The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *Journal of Food Protection*, **56 (2)**: 125–129.
- MARCO, A., NAVARRO, J.L., FLORES, M. (2004). Volatile compounds of dry-fermented sausages as affected by solid-phase microextraction (SPME). *Food Chemistry*, **84 (4)**:633–641.
- MARES, A., NEYTS, K., DEBEVERE, J. (1994). Influence of pH, salt and nitrite on the heme-dependent catalase activity of lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **24**: 191–198.
- MARSOU, R., BES, M., BRUN, Y., BOUDOUMA, M., IDRISSE, L., MEUGNIER, H., FRENEY, J., ETIENNE, J. (2001). Molecular techniques open up new vistas for typing of coagulase-negative *Staphylococci*. *Pathol Biol.*, **49**: 205–215.
- MARTIN, B., GARRIGA, M., HUGAS, M., AYMERICH, T. (2005). Genetic diversity and safety aspects of *Enterococci* from slightly fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, **98**:1177–1190.
- MARTIN, B., HUGAS, M., BOVER-CID, S., VECIANA-NOGUÈS, M.T., AYMERICH, T. (2006). Molecular, technological and safety characterization of Gram-positive catalase-positive cocci from slightly fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, **107 (2)**: 148-158.
- MARTY, E., BUCHS, J., EUGSTER-MEIER, E., LACROIX, C., MEILE, L. (2012). Identification of staphylococci and dominant lactic acid bacteria in spontaneously fermented Swiss meat products using PCR–RFLP. *Food Microbiology*, **29 (2)**: 157–166.
- MATEO, J., ZUMALACÁRREGUI, J.(1996). Volatile compounds in chorizo and their changes during ripening. *Meat Science*, **44 (4)**: 255-273.
- MENDOZA, M., MEUGNIER, H., BES, M., ETIENNE, J., FRENEY, J. (1998). Identification of *Staphylococcus* species by 16S–23S rDNA intergenic spacer PCR analysis. *Int J Syst Bacteriol.*, **48**: 1049–1055.
- MEYNIER, A., GENOT, C., GANDEMER, G. (1998). Volatile compounds of oxidized pork phospholipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **75 (1)**: 1-7.

- MEYNIER, A., NOVELLI, E., CHIZZOLINI, R., ZANARDI, E., GANDEMER, G. (1999). Volatile compounds of commercial Milano salami. *Meat Science*, **51** (2):175–183.
- MIRALLES, M.C., FLORES, J., PEREZ-MARTINEZ, G. (1996). Biochemical tests for the selection of *Staphylococcus* strains as potential meat starter cultures. *Food Microbiology*, **13** (3):227–236.
- MOLLY, K., DEMEYER, D., CIVERA, T., VERPLAETSE, A. (1996). Lipolysis in a Belgian sausage: relative importance of endogenous and bacterial enzymes. *Meat Science*, **43**: 235 – 244.
- MOLLY, K., DEMEYER, D., JOHANSSON, G., RAEMAEEKERS, M., GHISTELINCK, M., GEENEN, I. (1997). The importance of meat enzymes in ripening and flavor generation in dry fermented sausages. First results of a European project. *Food Chemistry*, **59**: 539–545.
- MONTEL, M. C. (1999). Fermented meat products. In C. A. Batt & P. D. Patel (Eds.), *Encyclopedia of food microbiology: fermented foods* (pp. 744–753). London: Academic Press.
- MONTEL, M.C., MASON, F., TALON, R. (1998). Bacterial role in flavour development. *Meat Science*, **49**: 111–123.
- MONTEL, M.C., REITZ, J., TALON, J.R., BERDAGUE, J.L., ROUSSET-AKRIM, S. (1996). Biochemical activities of Micrococcoceae and their effects on the aromatic profiles and odours of a dry sausage model. *Food Microbiology*, **13**: 489–499.
- MORETTI, V.A., MADONIA, G., DIAFERIA, C., MENTASTI, T., PALEARI, M.A., PANSERI, S., PIRONE, G., GANDINI, G. (2004). Chemical and microbiological parameters and sensory attributes of a typical Sicilian salami ripened in different conditions. *Meat Science*, **66**: 845 – 854.
- MOROT-BIZOT, S.C., TALON, R., LEROY, S. (2004). Development of a multiplex PCR for the identification of *Staphylococcus* genus and four *Staphylococcal* species isolated from food. *Journal of Applied Microbiology*, **97** (5):1087–1094.
- MOROT-BIZOT, S.C., LEROY, S., TALON, R. (2006). *Staphylococcal* community of a small unit manufacturing traditional dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, **108** (2):210–217.
- MOROT-BIZOT, S., TALON, R., LEROY-SETRIN, S. (2003). Development of specific PCR primers for a rapid and accurate identification of *Staphylococcus xylosus*, a species used in food fermentation. *Journal of Microbiological Methods*, **55**: 279–286.
- MURIEL, E., ANTEQUERA, T., PETRÓN, M.J., ANDRÉS, A.I., RUIZ, J. (2004). Volatile compounds in Iberian dry-cured loin. *Meat Science*, **68** (3): 391–400.
- NOONPAKDEE, W., SITTHIMONCHAI, S., PANYIM, S., LERTSIRI, S. (2004). Expression of the catalase gene *katA* in starter culture *Lactobacillus plantarum* TISTR850 tolerates oxidative stress and reduces lipid oxidation in fermented meat product. *International Journal of Food Microbiology*, **95**: 127–135.

- OLESEN, P.T., MEYER, A.S., STAHNKE, L.H. (2004). Generation of flavour compounds in fermented sausages—the influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time. *Meat Science*, **66**: 675– 687.
- ORDONEZ, J.A., HIERRO, E.M., BRUNA, J.M., HOZ, L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, **39** (4): 329–367.
- ÖZDEMİR, H.(1999). Türk fermente sucuğunun florasındaki dominant laktobasil türlerinin sucuğun organoleptik nitelikleri ile ilişkisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **46** (2-3): 189-198.
- ÖZDEMİR, H., ÇELİK, T.H., EROL, İ., ŞİRELİ, U.T., SIRIKEN, B. (1996). Yüksek sıcaklık derecesinde olgunlaştırılan Türk fermente sucuklarında laktobasillerin seyir, izolasyon ve identifikasyonu. *Gıda Dergisi*, **21** (6): 465-470.
- ÖZTAN, A. (2010). Et bilimi ve teknolojisi. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi No:1, Ankara, Türkiye, sy. 526.
- ÖZTÜRK, İ. (2013). Geleneksel fermente sucuklardan izole edilen mayaların tanımlanması, teknolojik ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi ve sucuk üretimine uygun izolatların seçilmesi. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- PAPAMANOLI, E., TZANETAKIS, N., LITOPOULOU-TZANETAKI, E., KOTZEKIDOU, P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, **65** (2): 859–867.
- PARENTE, E., GRIECO, S., CRUDELE, M.A.(2001). Phenotypic diversity of lactic acid bacteria isolated from fermented sausages produced in Basilicata (Southern Italy). *Journal of Applied Bacteriology*, **90**: 943 – 952.
- PÉREZ-ALVAREZ, J.A., SAYAS-BARBERÁ, M.E., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., ARANDA-CATALÁ, V. (1999). Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Research International*, **32** (9): 599-607.
- PURRINOS, L., BERMUDEZ, R., FRANCO, D., CARBALLO, J., LORENZO, J.M.(2011). Development of volatile compounds during the manufacture of dry-cured "lacon," a spanish traditional meat product. *Journal of Food Science*, **76** (1): 89-97.
- QUERE, F., DESCHAMPS, A., URDACI, M.C. (1997). DNA probe and PCR-specific reaction for *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, **82**: 783-790.
- RANTSIU, K., DROSINOS, E.H., GIALITAKI, M., URSO, R., KROMMER, J., GASPARIK-REICHARDT, J., TOTH, S., METAXOPOULOS, I., COMI, G., COCOLIN, L. (2005). Molecular characterization of *Lactobacillus* species isolated from naturally fermented sausages produce in Greece, Hungary and Italy. *Food Microbiol.*, **22**: 19-28.

- REBECCHI, A., CRIVORI, S., SARRA, P.G., COCCONCELLI, P.S. (1998). Physiological and molecular techniques for the study of bacterial community development in sausage fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, **84**: 1043–1049.
- REUTER, G. (1971). Designation of type strains for *Bifidobacterium* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **21**: 273-275.
- ROEDEL, W. (1986). RohwurstreifungÐklima und anderen einussgrossen. *Fleischerei*, **37 (4)**: 330-340.
- ROEDEL, W., KLETTNER, P.G. (1981). Beitrag zum einuss des huellenkalibers auf die rohwurstreifung. *Fleischerei*, **32**: 803-806.
- ROSSI, F., TOFALO, R., TORRIANI, S., SUZZI, G. (2001). Identification by 16S-23S rDNA intergenic region amplification, genotypic and phenotypic clustering of *Staphylococcus xylosus* strains from dry sausages. *J Appl Microbiol*, **90**: 365-371.
- RUIZ, J., VENTANAS, J., CAVA, R., ANDRÉS, A.I, GARCÍA, C. (1999). Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science*, **52**: 19–27.
- RUNGRASSAMEE, W., TOSUKHOWONG, A., KLANCHUI, A., MAIBUNKAEW, S., PLENGVIDHYA, V., KAROONUTHAISIRI, N. (2012). Development of bacteria identification array to detect *Lactobacilli* in Thai fermented sausage. *Journal of Microbiological Methods*, **91 (3)**: 341–353.
- SAĞDIÇ, O., ÖZTÜRK, İ., ÖZKAN, G., YETİM, H., EKİCİ, L., YILMAZ, M. T. (2011). RP-HPLC–DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. *Food Chemistry*, **126**: 1749–1758.
- SAMELIS, J., METAXOPOULOS, J., VLASSI, M., PAPPAS, A. (1998). Stability and safety of traditional Greek salami—a microbiological ecology study. *International Journal of Food Microbiology*, **44**: 69 – 82.
- SANTOS, E.M., GONZALEZ-FERNANDEZ, C., JAIME, I., ROVIRA, J. (1998). Comparative study of lactic acid bacteria house flora isolated in different varieties of chorizo. *International Journal of Food Microbiology*, **39**: 123 – 128.
- SANTOS, E.M., JAIME, I., ROVIRA, J., LYHS, U., KORKEALA, H., BJORKROTH, J. (2005). Characterization and identification of lactic acid bacteria in “morcilla de Burgos”. *International Journal of Food Microbiology*, **97**: 285–296.
- SANZ, Y., VILA, R., TOLDRA, F., NIETO, P., FLORES, J., (1997). Effect of nitrate and nitrite curing salts on microbial changes and sensory quality of rapid ripened sausages. *Int. J. Food Microbiol.*, **37**: 225–229.
- SANZ, Y., FADDA, S., VIGNOLO, G., ARISTOY, M.C., OLIVER, G., TOLDRÁ, F. (1999a). Hydrolytic action of *Lactobacillus casei* CRL 705 on pork muscle sarcoplasmic and myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**: 3441–3448.

- SANZ, Y., FADDA, S., VIGNOLO, G., ARISTOY, M. C., OLIVER, G., TOLDRÁ, F. (1999b). Hydrolysis of muscle myofibrillar proteins by *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sakei*. *International Journal of Food Microbiology*, **53**: 115–125.
- SCHILLINGER, U., LUCKE, F.K. (1987). Identification of *Lactobacilli* from Meat and Meat Products. *Food Microbiol.*, **4 (3)**: 199-208.
- SCHILLINGER, U., LUCKE, F.K. (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sakei* isolated from meat. *Applied Environmental Microbiology*, **55**: 1901–1906.
- SCHILLINGER, U., KAYA, M., LUCKE, F.K. (1991). Behaviour of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by a bacteriocin-producing strain of *Lactobacillus sakei*. *Journal of Applied Bacteriology*, **70**: 473–478.
- SCHILLINGER, U., GEISEN, R., HOLZAPFEL, W.H. (1996). Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends in Food Science Technology*, **7**: 158–164.
- SCHLEIFER, K.H., EHRMANN, M., BEIMFOHR, C., BROCKMANN, E., LUDWIG, W., AMANN, R. (1995). Application of molecular methods for the classification and identification of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, **5 (8)**: 1081–1094.
- SCHMIDT, S., BERGER, R.G. (1998). Aroma compounds in fermented sausages of different origins. *LWT - Food Science and Technology*, **31 (6)**: 559–567.
- SELGAS, M.D., ORDONOEZ, J.A., SANZ, B. (1986). Selection of *Micrococci* strains for their use as starter cultures for dry fermented sausages Proceedings of the 32th European Meat Research Workers, Gent.
- SELGAS, D., GARCIA, L., DE FERNANDO, G.G., ORDONEZ, J.A. (1993). Lipolytic and proteolytic activity of *Micrococci* isolated from dry fermented sausages. *Fleischwirtschaft*, **73 (10)**: 1164-1166.
- SHAHIDI, F., PEGG, R.B. (1994). Hexanal as an indicator of the flavor deterioration of meat and meat products. *Am Chem Soc Symp Ser.*, **558**: 256-279.
- SIKES, A.L., TOBIN, A.B., TUME, R.K. (2009). Use of high pressure to reduce cook loss and improve texture of low-salt beef sausage batters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **10**: 405-412.
- SIMONOVÁ, M., STROMPFOVÁ, V., MARCIŇÁKOVÁ, M., LAUKOVÁ, A., VESTERLUND, S., MORATALLA, M.L., BOVER-CID, S., VIDAL-CAROU, C. (2006). Characterization of *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* isolated from Slovak meat products. *Meat Science*, **73 (4)**: 559–564.
- SOYER, A. (1995). Dondurulmuş kolyoz (*Scomber japonicus*) balıklarında lipid oksidasyonu üzerine bazı antioksidanların ve vakum paketlemenin etkisi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- STACKEBRAND, E., TEUBER, M. (1988). Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. *Biochimie*, **70**: 317-324.

- STAHNKE, L.H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum*. *Meat Science*, **38**: 39–53.
- STAHNKE, L.H. (1995a). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum* at different temperatures and with different ingredient levels—part I. chemical and bacteriological data. *Meat Science*, **41** (2): 179–191.
- STAHNKE, L.H. (1995b). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosum* at different temperatures and with different ingredient levels—part II volatile components. *Meat Science*, **41** (2): 193–209.
- STAHNKE, L.H., HOLCK, A., JENSEN, A., NILSEN, A., ZANARDI, E. (2002). Maturity acceleration of Italian dried sausage by *Staphylococcus carnosus* relationship between maturity and flavor compounds. *Journal of Food Science*, **67**: 1914–1921.
- STIEBING, A., ROEDEL, W. (1987). Einfluss der Luftgeschwindigkeit auf den Reifungsverlauf bei Rohwurst. *Fleischwirtschaft*, **67**: 236–240.
- STILES, M.E., HOLZAPFEL, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.*, **36**: 1–29.
- SUNESSEN, L.O., DORIGONI, V., ZANARDI, E., STAHNKE, L.H. (2001). Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage. *Meat Science*, **58**: 93–97.
- TALON, R., LEROY, S. (2011). Diversity and safety hazards of bacteria involved in meat fermentations. *Meat Science*, **89** (3): 303–309.
- TALON, R., WALTER, D., CHARTIER, S., BARRIÈRE, C., MONTEL M.C. (1999). Effect of nitrate and incubation conditions on the production of catalase and nitrate reductase by *Staphylococci*. *International Journal of Food Microbiology*, **52** (1–2): 47–56.
- TALON, R., WALTER, D., MONTEL, M.C. (2000). Growth and effect of *Staphylococci* and lactic acid bacteria on unsaturated free fatty acid. *Meat Sci.* **54**: 41–47.
- TALON, R., LEROY-SÉTRIN, S., FADDA, S. (2002). Bacterial starters involved in the quality of fermented meat products. Fidel Toldrá (Ed.), Research Advances in Quality of Meat and Meat Products. *Research Signpost*, **10**: 175–191.
- TALON, R., LEROY, S., LEBERT, I. (2007). Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. *Meat Science*, **77**: 55–62.
- TANGÜLER, H., ERTEN, H. (2006). Gıdalarda bulunan bir laktik asit bakterisi: *Weissella*. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü, Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24–26 Mayıs, 179–182.
- TAYLOR, R., KEBAARA, B.W., NAZARENUS, T., JONES, A., YAMANAKA, R., UHRENHOLDT, R., WENDLER, J.P., ATKIN, A.L. (2005). Gene Set Coregulated by the *Saccharomyces cerevisiae* Nonsense-Mediated mRNA Decay Pathway. *Eukaryotic Cell*, **4** (12): 2066–2077.

- TJENER, K., STAHNKE, L.H., ANDERSEN, L., MARTINUSSEN, J. (2004a). A fermented meat model system for studies of microbial aroma formation. *Meat Science*, **66**: 211–218.
- TJENER, K., STAHNKE, L.H., ANDERSEN, L., MARTINUSSEN, J. (2004b). Growth and production of volatiles by *Staphylococcus carnosus* in dry sausages: influence of inoculation level and ripening time. *Meat Science*, **67**: 447–452.
- TOKSOY, A., BEYATLY, Y., ASLIM, B. (1999). Studing on metabolic and " antimicrobial activities of some *L. plantarum* strains isolated from sausages. *Tr. J. Vet. Anim. Sci.* **23**: 533–540.
- TOLDRA, F., SANZ, Y., LORES, M. (2001). Meat fermentation technology. Meat Science Applications, ed: Hui, Y.H., Marcel Dekker Incorporated, New York, USA.
- TOPTANCI, I. (2007). Effect of different thermal processing temperatures on colour and texture of sucuk. Ankara Universitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Fen Bilimler Enstitüsü, Ankara.
- TOTH, I.K., AVROVA, A.O., HYMAN, L.J. (2001). Rapid identification and differentiation of the soft rot erwinias by 16S-23S Intergenic transcribed spacer-PCR and restriction fragment length polymorphism analyses, *Applied And Environmental Microbiology*, **67 (9)**: 4070–4076.
- ÜREN, A., BABAYİĞİT, D. (1997). Colour Parameters of Turkish-type fermented sausage during fermentation and ripening. *Meat Science*, **45 (4)**: 539-549.
- URSO, R., RANTSIOU, K., CANTONI, C., COMI, G., COCOLIN, L. (2006). Technological characterization of a bacteriocin-producing *Lactobacillus sakei* and its use in fermented sausages production. *International Journal of Food Microbiology*, **110 (3)**: 232–239.
- VANDAMME, P., POT, B., GILLIS, M., DE VOS, P., KERSTERS, K., SWINGS, J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiological Reviews*, **60 (2)**: 407–438.
- VAŠTAG, Ž., POPOVIĆ, L.J., POPOVIĆ, S., PETROVIĆ, L.J., PERIČIN, D. (2010). Antioxidant and angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity in the water-soluble protein extract from Petrovac Sausage (Petrovská Kolbása). *Food Control*, **21**: 1298–1302.
- VERPLAETSE, A. (1994). In Proc. 40th Int. Congr. Meat Science Technol., p. 45. The Hague, Netherlands.
- VILLARD, L., KODJO, A., BORGES, E., MAURIN, F., RICHARD, Y. (2000). Ribotyping and rapid identification of *Staphylococcus xylosus* by 16–23S spacer amplification. *FEMS Microbiol Lett.*, **185**: 83–87.
- VISESSANGUAN, W., BENJAKUL, S., RIEBROY, S., THEPKASIKUL, P. (2004). Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nham characteristics. *Meat Science*, **66 (3)**: 579–588.

- VOGEL, R.F., POHLE, B.S., TICHACZEK, P.S., HAMMES W.P. (1993). The Competitive advantage of *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 in sausage fermentations is caused by formation of curvacin A. *Systematic and Applied Microbiology*, **16 (3)**: 457–462.
- WANASUNDARA, U.N., SHAHIDI, F. (1998). Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*, **63**: 335–342.
- WINN, W., ALLEN, S., JANDA, W., KONEMAN, E., PROCOP, G., SCHRECKENBERGER, P., WOODS, G. (2006). Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia.
- WISMER-PEDERSEN, J.(1971). Chemistry of animal tissues: water. In Price, J.F., Schweigert, B.S., (Eds.), *The Science of Meat and Meat Products*. W.H. Freeman and Co., San Francisco, CA., pp. 177-192.
- WOLF, G., ARENDT, E.K., PFAHLER, U., HAMMES, W.P. (1990). Heme-dependent and heme-independent nitrite reduction by lactic acid bacteria results in different N-containing products. *International Journal of Food Microbiology*, **10**: 323–329.
- YAMAN, A., GÖKALP H. Y., ÇON A. H. (1998). Some characteristics of lactic acid bacteria present in commercial sucuk samples, *Meat Science*, **49 (4)**: 387–397.
- YETİM, H., MULLER, W.D., EBER, M. (2001). Using fluid whey in comminuted meat products: Effects on technological, chemical and sensory properties of frankfurter-type sausages. *Food Research International*, **34 (2-3)**: 97–101.
- YÖRÜK, G.N., GÜNER, A. (2011). Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması ve *Weissella* türlerinin gıda mikrobiyolojisinde önemi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, **6 (2)**: 163-176.
- YURUR, C. (2007). Isıl işlem uygulanmış sucuklarda nitrit miktarının renk oluşumuna etkisi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 44s., Ankara.
- YVON, M., RIJNEN, L. (2001). Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *Int. Dairy J.*, **11**: 185-201.
- ZALACAIN, I., ZAPELENA, M.J., DE PENA, M.P., ASTIASARAN, I., BELLO, J. (1997). Use of lipase from *Rhizomucor Miehei* in dry fermented sausage elaboration: microbial, chemical and sensory analysis. *Meat Science*, **45 (1)**: 99 -105.
- ZEUTHEN, P.A. (2007). Historical perspective of meat fermentation, handbook of fermented meat and poultry. Ed: Toldra, F. Blackwell Publishing Professional, USA, Pp: 3–15.