

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FERMENTE SUCUKTAKİ MİKROBİYOLOJİK, FİZİKOKİMYASAL VE
KİMYASAL DEĞİŞMELERE *Lactobacillus sakei* VE *Pediococcus acidilactici*
KORUYUCU KÜLTÜRLERİNİN ETKİSİ

Mahide Müge YILMAZ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2019

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Mahide Müge YILMAZ tarafından hazırlanan “**Fermente Sucuktaki Mikrobiyolojik, Fizikokimyasal ve Kimyasal Değişmelere *Lactobacillus sakei* ve *Pediococcus acidilactici* Koruyucu Kültürlerinin Etkisi**” adlı tez çalışması 20/12/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Ayla SOYER
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. Nuray KOLSARICI
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Ayla SOYER
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. Halil VURAL
Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özlem YILDIRIM
Enstitü Müdür V.

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

20.12.2019



Mahide Müge YILMAZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FERMENTE SUCUKTAKİ MİKROBİYOLOJİK, FİZİKOKİMYASAL VE KİMYASAL DEĞİŞMELERE *Lactobacillus sakei* VE *Pediococcus acidilactici* KORUYUCU KÜLTÜRLERİNİN ETKİSİ

Mahide Müge YILMAZ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayla SOYER

Fermente sucukların mikrobiyolojik güvenilirliğine ve kalitesine *Lactobacillus sakei* (S2) ve *Pediococcus pentosaceus* (S3) koruyucu kültürlerinin etkisi üretim boyunca belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar ticari starter kültür ilave edilen (*Pediococcus pentosaceus* + *Staphylococcus carnosus*) (S1) ve kültür ilavesiz kontrol (K) örneklerle karşılaştırılmıştır. *L.sakei* ve *P.acidilactici* inokülasyonu, laktik asit bakterilerinin kısa sürede ortama hakim olmasına ve *S.aureus*, *E.coli* ve Enterobacteriaceae gibi gıda kaynaklı patojenlerin önemli düzeyde inhibisyonuna neden olmuştur. En hızlı pH düşüşü fermantasyon aşamasında *L.sakei* (5.79'dan 4.66'ya) ve *P. acidilactici* (5.76'dan 4.76'ya) inoküle edilen sucuklarda meydana gelmiştir. Buna karşın, spontane fermantasyonun olduğu kontrol örneklerde fermantasyon sırasında pH 5.95'den 5.36'ya düşmüş ve diğer sucuklardan yüksek kalmıştır. *L.sakei* inoküle edilen sucuklarda enterokok sayısı fermantasyon ve kuruma sırasında önemli düzeyde azalırken, *P.acidilactici* inoküle edilen sucuklarda artış belirlenmiştir. *S.aureus* ve *E.coli* sayısı, *L.sakei* ve *P.acidilactici* ilavesi ile önemli düzeylerde engellenirken, ticari starter kültür (*P.pentosaceus*+*S.carnosus*) içeren örneklerde yeterli inhibisyon görülmemiştir. Olgunlaşma sonunda proteolitik aktivite *P.pentosaceus*+*S.carnosus*, *L.sakei* ve *P.acidilactici* inoküle edilen sucuklarda kontrolden yüksek olmuştur. Starter ve koruyucu kültür ilavesi, lipid oksidasyonunu 3. günden itibaren önemli düzeyde azaltmış ve hem çiğ hem pişmiş sucuklarda duyuşsal özellikleri olumlu yönde etkilemiştir.

Aralık 2020, 111 sayfa

Anahtar Kelimeler: Fermente sucuk, koruyucu kültür, *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus acidilactici*, mikrobiyal kalite

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF *Lactobacillus sakei* AND *Pediococcus acidilactici* PROTECTIVE CULTURES ON MICROBIOLOGICAL, PHYSICOCHEMICAL AND CHEMICAL CHANGES OF FERMENTED SUCUK

Mahide Müge YILMAZ

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

Supervisor: Prof. Dr. Ayla SOYER

Turkish fermented sausages were manufactured by addition of *Lactobacillus sakei* (S2) and *Pediococcus acidilactici* (S3) as bioprotective cultures to improve their microbial quality and evaluated their effects on some physicochemical, chemical and sensory properties of sucuk during processing. The results were compared with commercial starter culture (*P.pentosaceus*+*S.carnosus*) (S1) inoculated and without inoculated control (K) sausages. Lactic acid bacteria rapidly dominated the total microbiota by *L. sakei* and *P.acidilactici* inoculation and the growth of food-borne pathogens, such as *E. coli*, *S.aureus* and Enterobacteriaceae was significantly inhibited during processing. The fastest pH reduction was seen in the sausages inoculated with *L.sakei* and *P.acidilactici* during fermentation, from 5.79 to 4.66 and 5.76 to 4.76, respectively. However, the pH of spontaneously fermented sucuk was dropped from 5.95 to 5.36. Enterococci count was significantly reduced by *L.sakei* inoculation while *P.acidilactici* inoculation was not. The growth of *S.aureus* and *E.coli* was significantly inhibited by *L.sakei* and *P.acidilactici* while commercial starter culture (*P.pentosaceus*+*S.carnosus*) showed lack of inhibition compared to bioprotective cultures. Proteolytic activity was high in *P.pentosaceus*+*S.carnosus*, *L.sakei* and *P.acidilactici* inoculated sausages at the end of ripening. Starter and bioprotective culture inoculation significantly reduced lipid oxidation and positively affected sensory attributes in both raw and cooked sausages.

December 2020, 111 pages

Key Words: Fermented sausage, protective culture, *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus acidilactici*, microbial quality

TEŞEKKÜR

Başta lisans öğrenimim süresince beni laboratuvarına kabul ederek çalışmalarına dahil eden, derslerinde mesleğime dair değerli ve önemli bilgiler vererek daha da çok mesleğini seven bir insan olmama katkı sağlayan, ileride iyi bir akademisyen olma isteğimi daima destekleyen, tavsiyeleriyle beni ileriye taşıyan, yardımlarını hiçbir zaman benden esirgemeyen, çalışma disiplini öğretti Sayın Prof. Dr. Ayla SOYER'e, laboratuvar olanaklarından faydalandığım Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a ve Sayın Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN'a, çalışmalarımın her zaman yardımcı olan ve analizlerimin yürütülmesine destek veren Sayın Arş. Grv. Betül ARSLAN'a, çalışma ortamımda her başım sıkıştığında yardıma koşan ve bilgilerini benden esirgemeyen Sayın Dr. Eda DEMİROK SONCU'ya, çalışmada kullanılan sucukların hammadde temininde yardımcı olan Sincan Et ve Süt Kombinasyonu yetkililerine ve özellikle Yüksek Mühendis Hazret ÖZDEMİR'e ve üretim aşamasında yardımcı olan üniversitemiz çalışanı Ali DEMİR'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, çalışmanın önemli ayağını oluşturan, biyokoruyucu kültürleri sağlayan Chr. Hansen Firması'na ve özellikle Sayın Selda GÜNEY'e içtenlikle teşekkür ederim.

Aldığım her kararı destekledikleri gibi akademisyen olma yolundaki ilk adımım olan yüksek lisans eğitimime başlama kararımı destekleyen, bu süreçte bana olan güvenlerini ve sevgilerini hep hissettiren sevgili annem Sultan YILMAZ, sevgili babam Bünyamin YILMAZ ve sevgili kardeşlerim Bilge YILMAZ ve Özge Naz YILMAZ'a çok teşekkür ediyorum. Lisans yıllarında kurduğumuz güzel dostluğumuzu yüksek lisans eğitimimizde de sürdürdüğümüz ve tez aşamasında bana yardımcı olan, desteklerini hissettiren kıymetli dostlarım Özge KESKİNEL ve Elvan Gökçen BULUT'a çok teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışması, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 18L0443005 No'lu proje ile desteklenmiştir.

Mahide Müge YILMAZ
Ankara, Aralık 2019

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1 Fermente Et Ürünlerinde Starter Kültürler.....	10
2.2 Biyokoruyucu Kültürler	14
2.2.1 Bakteriyosinler	16
2.3 Biyokoruyucu Kültürlerin Et ve Et Ürünlerinde Kullanılmaları.....	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	35
3.1 Materyal	35
3.1.1 Et materyali	35
3.1.2 Baharat, diğer katkı maddeleri, starter/biyokoruyucu kültür ve kılıf materyali	35
3.2 Yöntem	36
3.2.1 Sucuk üretimi	36
3.2.2 Analiz Yöntemleri	39
3.2.2.1 Mikrobiyolojik analizler	39
3.2.2.2 Nem miktarı tayini	40
3.2.2.3 Kül miktarı tayini.....	41
3.2.2.4 Yağ miktarı tayini	41
3.2.2.5 Azot/Protein tayini	41
3.2.2.6 pH analizi	41
3.2.2.7 Renk ölçümü (L^* , a^* ve b^* değerleri).....	42
3.2.2.8 Tiyobarbiturik asit reaktif maddesi	42
3.2.2.9 Proteoliz indeksi	42
3.2.2.10 Duyusal analiz	43
3.2.2.11 İstatistik analiz	44

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	45
4.1 Mikrobiyolojik sonuçlar	45
4.1.1 Toplam aerob mezofil bakteri sayısı	45
4.1.2 Laktik asit bakteri sayısı	47
4.1.3 Kuagülaz negatif kok sayısı.....	49
4.1.4 Enterokok Sayısı	51
4.1.5 <i>Enterobacteriaceae</i> sayısı	54
4.1.6 <i>Escherichia coli</i> Sayısı.....	56
4.1.7 <i>Staphylococcus aureus</i>.....	59
4.1.8 Maya-Küf Sayısı.....	62
4.2 Sucuk Bileşimi, Fizikokimyasal ve Kimyasal Analiz Sonuçları.....	64
4.3 pH Değeri	68
4.4 Renk Değeri	70
4.4 Proteoliz İndeksi.....	74
4.6 Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddesi.....	77
4.7 Duyusal Değerlendirme	78
KAYNAKLAR	85
EKLER.....	99
EK 1 SUCUK DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU	100
EK 2 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri.....	104
EK 3 Sucuklarda Üretim ve Mikrobiyolojik Analizlerle İlgili Fotoğraflar.....	106
ÖZGEÇMİŞ.....	111

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

a_w	Su Aktivitesi Değeri
BN	Bağıl Nem
GRAS	Generally Regarded As Safe
HHP	High Hydrostatic Pressure
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications
K	Kontrol grubu
KNK	Koagulaz Negatif Koklar
LAB	Laktik Asit Bakterileri
LPFP	Lightly Preserved Fish Product
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe Agar
NPN	Non Protein Nitrogen
PCA	Plate Count Agar
PDCAAS	Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores
PI	Proteoliz indeksi
RBC	Rose Bengal Chloramphenicol Agar
TMAB	Toplam Aerob Mezofil Bakteri
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
VRBD	Violet Red Bile Dextrose Agar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.2 Bakteriyosinin reseptörlere bağlanması (A, B), sitoplazmik membran gözenek oluşumu, bakteriyosinin yer değiştirmesi ve enzim aktivitesinin modülasyonunu (C) içeren genel bakteriyosin öldürme mekanizmaları.....	21
Şekil 3.1 Sucuk üretimi akış şeması.....	38
Şekil 4.1 Sucuk üretimi sırasında TAMB sayısındaki değişim	46
Şekil 4.2 Sucuk üretimi sırasında LAB sayısındaki değişim	49
Şekil 4.3 Sucuk üretimi sırasında KNK sayısındaki değişim.....	51
Şekil 4.4 Sucuk üretimi sırasında Enterokok sayısındaki değişim.....	53
Şekil 4.5 Sucuk üretimi sırasında <i>Enterobacteriaceae</i> sayısındaki değişim	56
Şekil 4.6 Sucuk üretimi sırasında <i>E. coli</i> sayısındaki değişim.....	58
Şekil 4.7 Sucuk üretimi sırasında <i>S. aureus</i> sayısındaki değişim.....	61
Şekil 4.8 Sucuk üretimi sırasında maya-küf sayısındaki değişim.....	64
Şekil 4.9 Sucuk üretimi sırasında pH değerindeki değişim.....	69
Şekil 4.10 Sucuk üretimi sırasında L^* , a^* ve b^* değerlerindeki değişim.....	72

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Fermente et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar ve işlevleri.....	11
Çizelge 2.2 Mikroorganizmaların ürettiği bakteriyosinler ve etki ettikleri mikroorganizma grupları	18
Çizelge 2.3 Bakteriyosileri sınıflandırılması, başlıca özellikleri ve bazı örnekleri.....	23
Çizelge 2.4 Bazı ticari kültürlerin <i>Listeria monocytogenes</i> 'in et ürünleri üzerine etkileri.....	26
Çizelge 3.1 Sucuk formülasyonu (100 kg et+yağ karışımı için).....	37
Çizelge 4.1 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuğun TAMB sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi	46
Çizelge 4.2 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuğun LAB sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi.....	48
Çizelge 4.3 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuğun KNK sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi.....	50
Çizelge 4.4 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuğun enterokok sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi	52
Çizelge 4.5 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta <i>Enterobacteriaceae</i> sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi.....	55
Çizelge 4.6 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta <i>E.coli</i> sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi.....	57
Çizelge 4.7 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta <i>S.aureus</i> sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi.....	60
Çizelge 4.8 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta maya-küf sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi.....	63
Çizelge 4.9 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta nem, yağ, protein ve kül miktarlarına etkisi	65
Çizelge 4.10 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta nem miktarına etkisi	66
Çizelge 4.11 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta yağ miktarına etkisi.....	66

Çizelge 4.12 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta protein miktarına etkisi.....	67
Çizelge 4.13 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta kül miktarına etkisi.....	67
Çizelge 4.14 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta pH değişimine etkisi.....	69
Çizelge 4.15 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta L^* (aydınlık) değerindeki değişime etkisi	71
Çizelge 4.16 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta a^* (kırmızılık) değerindeki değişime etkisi.....	73
Çizelge 4.17 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta b^* (sarılık) değerindeki değişime etkisi.....	73
Çizelge 4.18 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta proteolitik değişime (proteoliz indeksi, %) etkisi.....	75
Çizelge 4.19 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta TBARM değişimine etkisi.....	77
Çizelge 4.20 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin çiğ sucuğun duyusal özelliklerine etkisi	80
Çizelge 4.21 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin pişmiş sucuğun duyusal özelliklerine etkisi	81

1. GİRİŞ

Et; koyun, keçi, sığır ve manda gibi küçükbaş ve büyükbaş hayvanlar; tavuk, hindi, kaz, ördek gibi kanatlı hayvanlar ile tavşan ve domuzdan elde edilen, insan tüketimin için herhangi bir engel olmayan tüm parçalar olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2000). Et, insanlarda büyüme ve gelişme için hayati önem taşımaktadır (Pereira ve Vicente 2013). Yağ miktarı nedeniyle insan sağlığı üzerinde olumsuz sonuçlar doğurduğu, özellikle kırmızı et tüketiminin kanseri tetiklediği belirtilmektedir (Biesalski 2005). Bazı veriler, kanser, kalp hastalıkları ve metabolik hastalıklara yol açtığını gösterse de et tüketimi özellikle insan beyin gelişimi için önemlidir (Biesalski 2005, Pereira ve Vicente 2013).

Et, besin değeri açısından oldukça zengin bir gıdadır. Kırmızı et özellikle protein bakımından zengindir. Et ortalama %22 oranında protein içerirken bu değer tavuk göğsünde %34.5'a kadar çıkabilmekte ve ördek etinde % 12.3'e kadar inebilmektedir (Pereira ve Vicente 2013). Ayrıca gıdanın içerdiği proteinin sindirilebilirliği (Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores -PDCAAS), tüketici diyeti açısından önem taşımaktadır. En yüksek PDCAAS değeri yumurta beyazında 1.00 olarak kabul edilmiş olup, ette bu değer 0.92'dir (Anonim 1991). Proteince zengin olan et, aynı zamanda demir, çinko, selenyum gibi birçok mineral ve B12 gibi önemli vitaminleri içermektedir. Karaciğer gibi sakatat etleri ise A vitamini ve folik asit bakımından oldukça zengindir (Pereira ve Vicente 2013).

Ette karbonhidrat miktarı düşüktür. Bu durum obezite, diyabet ve kanser üzerine etkisi olan düşük glisemik indekse katkı sağlamaktadır. Günlük dengeli bir diyetle et, önemli vitamin ve minerallerin yeterli miktarda alınmasına yardımcı olarak enerji metabolizmasını düzenler ve gelişime katkıda bulunur (Biesalski 2005).

Büyükbaş hayvan eti tüketimi Türkiye'deki en yaygın tüketim alışkanlıklarından birisidir. Bu durum etin işlenmesini de doğrudan etkilemektedir. Türkiye'de %90 oranında et işlenmeden tüketilmektedir. İşlenmiş et ürünlerinde sucuk yaklaşık %50 oranında tüketim ile başı çekerken salam-sosis %25, pastırma %20 ve kavurma %5 oranında tüketilmektedir (Uzman 2000). Sucuk, sadece Türkiye'de değil aynı zamanda

Orta Asya, Orta Doğu, Balkanlar, Kafkaslar ve güney-doğu ve kuzey Avrupa'da da yaygın olarak tüketilen, Türk usulü fermente bir et ürünüdür. Bu ürün genel olarak küçük ölçekli tesislerde geleneksel yöntemler kullanılarak ve havada kurutma yolu ile üretilmektedir. Sucuk, koyun eti, sığır eti ve / veya manda eti, kuyruk yağı, tuz, şeker, sarımsak, karabiber, kırmızı biber, kimyon ve tarçın gibi baharatlar ve nitrit, nitrat gibi koruyucuların karışımından elde edilmektedir (Özvural ve Vural 2015).

Sucuk üretiminde fermentasyon, kuruma, proteolitik, lipolitik ve oksidatif değişmelerin yer aldığı bir et ürünüdür. Çiğ etin keskin bir aromaya sahip et ürününe dönüşümü mikrobiyal, fiziksel ve biyokimyasal değişimin meydana geldiği bir sistemde gerçekleşmektedir (Soyer 2002). Kullanılan bilim ve teknoloji, et ürününün raf ömrünü uzatmak, kalitesini ve güvenilirliğini arttırmak için önemlidir. Fermente et ürünlerinin oluşumu, üretildiği coğrafi bölgenin iklim koşullarına göre şekillenmiştir. Örnek verecek olunursa, Akdeniz tarafında fermente et ürünleri, kurak ve sıcak iklimten dolayı kuru ve düşük su aktivitesine sahipken Kuzey Avrupa tarafında ise yüksek su aktivitesine sahip, fakat fermentasyona ek olarak tütsüleme gibi başka koruma yöntemlerine de başvurulmaktadır (Toldrá ve Hui 2015). Et fermentasyonu, oluşan ürünün kendine has koku, renk, aroma, ağız hissi gibi farklı özelliklere sahip yeni ürünlerin oluşmasını sağlayan, biyolojik asit koruması sağlayan bir prosestir (Ockerman ve Basu 2015).

Fermente et ürünlerinde fermentasyon prosesi ya doğal mikrobiyotada yer alan mikroorganizmalar ile ya da starter kültürler kullanılarak yapılmaktadır (Leroy vd. 2006). Fermente et ürünlerinde starter kültürler ürün kalitesinin iyileştirilmesi, patojen gelişiminin engellenmesi, arzu edilir duyuşal özelliklerin geliştirilmesi ve daha kısa üretim süresi gibi amaçlar için kullanılmaktadırlar (Kumar vd. 2017).

Laktik asit bakterileri (LAB) etin doğal mikrobiyotasında yer almaktadırlar ve fermente et ürünlerinde oksijen düzeyi düşük ortamda karbonhidrat kaynağını kullanarak fermentasyon yapmaktadırlar. Güvenilir ve hızlı üretim için starter kültür kullanımında da sucukta bulunan mikroorganizmaları saf halde içeren kültürler tercih edilmektedir. Starter kültürler, ortama kısa sürede hakim olarak daha kısa sürede ve güvenilir ürün

üretimi sağlamaktadırlar. Bununla birlikte son yıllarda starter kültürlerin yanı sıra biyokoruyucu kültürler önem kazanmaya başlamıştır. Biyokoruyucu kültür, gıdanın duyuşsal özelliklerini değiştirmeden sağlık riskini azaltan (özellikle patojen inhibisyonu sağlayarak) ve/veya raf ömrünü uzatan organizmalardır (Katikou vd. 2005).

Son yıllarda tüketici beklentisi az işlemler görmüş, kimyasal koruyucu ve katkı maddesi içermeyen gıda tüketimi konusunda artmaktadır. Bu alandaki araştırmalar da doğal koruyucular ve katkı maddeleri kullanımına doğru değişmektedir. Biyokoruma, doğal koruma yöntemleri kullanılarak gıdaların güvenliğini ve raf ömrünü kontrol etme işlemidir. Etlerin doğal mikroflorasını oluşturan LAB, patojen ve bozulma yapan mikroorganizmalar için antagonist (düşman) etki yapmaktadırlar. Özellikle laktobasil suşları, probiyotik özellikleri, starter kültür olarak kullanım olanağı bulabilmeleri ve biyokoruyucu özellik göstermeleri sayesinde gıda endüstrisinde önem kazanmaktadırlar (Rauta vd. 2013, Gülgör ve Özçelik 2014). Yararlı bakteriler olarak kabul edilen LAB, genel olarak güvenilir (GRASS-generally recognized as safe) statüsünde olmaları yani tüketilebilir olmaları ve depolama sırasında birçok gıdada dominant mikroorganizma olmaları nedeniyle en önemli biyokoruyucular olarak değerlendirilmektedirler (Galvez vd. 2010, Garcia vd. 2010, Gaggia vd. 2011). Bu bakterilerin başlıca özellikleri; oluşturdıkları metabolitlerle gıdanın dayanıklılığını ve flavorunu artırmaları, zararlı bakteriler için antibakteriyel olmaları ve besin sağlamalarıdır. LAB'nin insan sağlığı üzerine etkileri de çok çalışılmıştır. Bu etkilerin bazıları; bağışıklık sistemini aktive etmesi, antikanserojenik etkisi, kolesterol düzeyini azaltması, karaciğeri koruması olarak sayılabilir (Kim vd. 2007, Kim vd. 2008, Ren vd. 2014). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler, geleneksel antibiyotiklerden farklı olarak gastrointestinal sistemde bulunan proteazlar tarafından parçalanabilmektedirler.

Bazı LAB suşlarının, bakteriosin ürettiği, proteolitik ve/veya antioksidatif etkileri olduğu, ürünün raf ömrünü ve et ve et ürünlerinin kalitesini olumlu yönde etkiledikleri ortaya konulmuştur (Fadda vd. 1999, Amanatidou vd. 2001, Candogan ve Acton 2004). *L. lactis* nisin, *L.sakei* sakasin, *Pediococcus acidilactici* pediosin adı verilen bakteriosinler oluşturmakta ve bu bileşikler patojen ve bozulma yapan mikroorganizmaları inhibe etmektedirler (Schillinger vd. 1996, De Martinis ve Franco

1998, Liserre vd. 2002, Kröckel 2013). *L. sakei* ette çok iyi gelişerek ortama hakim olur ve birçok fermente sosiste doğal LAB popülasyonunda yer alır (Hammes 1990). Sucukta *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactococcus lactis* spp. *lactis* (Kaban ve Kaya 2008) ve *L. sakei* (Özdemir 1999) türleri dominant mikroflorayı oluşturmaktadır.

Bakteriyosin üreten biyokoruyucu kültürlerin daha iyi kalitede ürün üretimi, daha uzun raf ömrü konularında önemli bir araç olacağı düşünülmektedir. Çalışmanın amacı, bakteriosin üretme kabiliyetinde olan ve biyokoruyucu kültürler olarak ticari üretimi yapılan *L. Sakei* ve *P. acidilactici* kullanılarak sucuk üretmek ve üretim sırasında bu koruyucu kültürlerin sucuğun mikrobiyolojik kalitesine, bazı fizikokimyasal ve kimyasal özelliklerine etkilerini ortaya koymaktır.

2. KURAMSAL TEMELLER

Fermantasyon, kolay bozulabilen gıdaların muhafazasında uzun yıllardan beri kullanılan bir yöntemdir. Geleneksel olarak meyve ve sebzeler, süt, bal, tahıllar, et ve balık fermente edilen başlıca hammaddelerdir. Fermantasyon işlemi ile farklı hammaddeler, farklı mikroorganizmalar ve uygulanan farklı koşullar ile turşu, şarap, peynir, sosis, yoğurt gibi çeşitli gıda ürünlerinin elde edilmesi mümkündür (Hansen 2002).

Et fermantasyonu sırasında bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyal değişiklikler meydana gelmektedir. Laktik asit bakterileri ortama hakim olarak, başlıca laktik asit birikimine ve pH değerinin düşmesine neden olmakta, kuruma evresinde ağırlık kaybı meydana gelmekte ve su aktivitesi de düşmektedir. Kuruma ile tuz konsantrasyonu artmakta ve tipik tekstür oluşmaktadır. Proteolitik enzimler aktif hale gelerek kas proteinlerini parçalamakta ve azotlu bileşik konsantrasyonunu arttırmaktadırlar. Lipolitik enzimlerin aktivasyonu ise lipidlerin parçalanmasına, yağ bileşiklerinin ve karbonil bileşiklerinin oluşumuna neden olmaktadır. Fermantasyon boyunca nitrit yıkımı gerçekleşmekte ve bu renk stabilizasyonunu sağlamakta, başlıca *Clostridium botulinum* olmak üzere bir çok patojenin gelişimi engellenmektedir (Soyer 2002).

Fermente et ürünleri, et tüketen toplumlarda oldukça popülerdir. Bilim ve teknoloji, özellikle Avrupa ve Amerika’da, fermente edilmiş sosislerin kalitesinin ve depolanma süresinin iyileştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte, Çin gibi ülkelerde üretim süreçleri bilimden çok beceri ve ustalık olarak düşünülmektedir. Fermente sosisler, birçok tüketici tarafından sevilmekte ve tüketici diyetinde önemli bir yer edinmektedir (Toldrá ve Hui 2015).

Fermente et ürünleri asitlik durumlarına göre düşük ve yüksek olmak üzere; ingredientlerinin büyüklüğüne göre bütün halde ve kıyılmış olmak üzere; fermantasyon türüne göre karbonhidratlı veya karbonhidratsız ve mikrobiyel inokülasyonlu ya da inokülasyonsuz olmak üzere sınıflandırılmaktadır (Soyer 2002).

Sosisler, fermentasyonun yanı sıra kürleme, tütüleme veya ısıtım işlem uygulaması ile elde edilebilmektedirler. Et formülasyonu, muhafaza çeşitleri, işlem sıcaklığı ve partikül büyüklüğü gibi farklı değişkenlerin manipülasyonu ile çok çeşitli sosislerin üretimi mümkündür. Elde edilen ürünlerin yapısında, lezzetinde, bileşiminde (nem, protein, yağ miktarı) ve veriminde değişiklikler meydana gelmektedir.

Sosisler farklı et ve baharatların benzer kombinasyonlarını içermektedir. Bu nedenle de içerisinde kullanılan et ve baharata göre sınıflandırılması mümkün değildir. Fermente sosisler genel olarak çiğ sosisler ve ısıtım işlem görmüş sosisler olmak üzere kabaca iki grupta incelenmektedir. Uygulanan yöntemlere göre ise taze ve fermente olarak gruplandırılmaktadırlar. Benzer şekilde, ısıtım işlem görmüş sosisler ise tütülenmiş pişmiş sosisler, emülsiyon tipi sosisler ve pişmiş sosisler olarak sınıflandırılmaktadırlar.

- 1) Taze sosisler, kürlenmemiş, tütülenmemiş, fermente edilmemiş ve kürlenmemiş taze etlerden yapılmaktadırlar. Tüketilmeden önce buzdolabında muhafaza edilip tüketilmeden önce tüketici tarafından ısıtım işlem uygulanmalıdır.
- 2) Fermente sosisler, kürlenmiş ya da kürlenmemiş, fermente ve genellikle tütülenmiş etten yapılmaktadırlar. Ancak fermente sosisler, ısıtım işlem uygulanmadan üretilmektedir. Kurutulmuş ya da yarı kurutulmuş olmak üzere iki grupta incelenmektedirler.
- 3) Pişirilmiş ve tütülenmiş sosisler, genellikle kürlenmiş, fermente edilmemiş ürünleridir. Isıtım işlem ile nem içeriğinin kısmi azaltılması ile raf ömrünün uzatılması sağlanmaktadır. Tüketimden önce pişirilirler.
- 4) Emülsiyon tipi sosisler yağ, su ve baharatlarla kürlenmiş ve genellikle tütülenmiş ya da az pişirilmiş “ready-to-eat” yani “yenmeye hazır” ürünleridir. Avrupa'da bu sosisler sadece haşlanmış (pastörize edilmiş) ve tamamen pişirilmemiş oldukları için “haşlanmış” olarak bilinirler. Önemli bir alt grubu

olan büyük çaplı emülsiyeye tipi sosisler küp şeklinde doğranmış veya kendine özgü küçük parçalar halinde kesilmiş ürünler içerir.

- 5) Pişmiş sosisler kürlenmiş, tütsülenmiş veya tütsülenmeden dolum yapılan ve tamamen pişirilerek üretilen, doğrudan tüketime hazır ürünlerdir. Pişmiş sosislerin alt grubu pastacılık ürünleri ile kase şekline kaplanmış, pişmiş ürünleri kapsasa da bu ürünler her zaman sosis olarak değerlendirilmemektedirler (Savic, 1985).

Sucuklar bu sınıflandırmaya göre kuru ve yarı-kuru sosisler grubunda yer almaktadır. Sucuk üretiminin diğerlerinde farkı, tütsüleme işleminin olmamasıdır (Gökalp vd. 1994).

“Sucuk” kelimesi ilk olarak 1072 yılında Kaşgarlı Mahmut tarafından yazılan Divan-ı Lügat-ı Türk’te kullanılmıştır. Esere göre sucuk, kuzu bağırsağının kıyma haline getirilmiş et ve baharatlarla doldurulması şeklinde tanımlanmıştır. Yöresel bir fermente ürün olan sucuk Türkiye’nin yanı sıra Orta Asya, Ortadoğu, Balkanlar ve Kuzey Avrupa Ülkelerinde de yaygın olarak tüketilir ve farklı şekillerde adlandırılır. Örneğin, Bulgaristan’da “sujuk”, Arnavutluk’ta “suxhuk”, Bosna, Makedonya ve Sırbistan’da “sudzuka” ya da “sujuka”, Arabistan’da “sujuq”, Yunanistan’da “soutzouki”, Romanya’da “suqiuc”, Rusya’da “sudjuk”, Türkmenistan’da “soujouk”, Kazakistan’da “shujiq” ve Kırgızistan’da “chuchuk” olarak adlandırılır (Ercoşkun ve Özkal 2010).

Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği’ne göre sucuğun tanımı şöyledir; Büyükbaş ve/veya küçükbaş hayvan karkas etlerinin ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıtılmış işlem uygulanmamış fermente et ürünü (Anonim 2019). TSE’ye göre sucuk; sığır, kuzu ve manda etinden oluşan et karışımına tuz, şeker, sarımsak ve baharat gibi diğer aroma vericilerin eklenmesiyle oluşan hamurun kuru ya da yarı kuru ürün elde edilinceye kadar fermente edilmesi ve kurutulması ile elde edilen üründür (Anonim 2002).

Sucuk üretim prosesi, hammaddelerin hazırlanması, sucuk hamurunun hazırlanması, dolum, olgunlaşma, ambalajlama ve satışa sevk etme işlemlerini içermektedir (Gökalp vd. 1994). Sucuk, Kuzey Avrupa ve Güney Avrupa tarzı fermente sosislerin tipik özelliklerine sahiptir., ancak kısa fermentasyon süresi ile Kuzey Avrupa tipi sosislerden farklılık göstermektedir. Bununla beraber, sosislerde hızlı pH düşüşü ile gıda güvenliğini sağlayan tütsüleme yöntemi sucuk üretiminde uygulanmamaktadır (Ercoşkun ve Özkal 2010).

Biyolojik bir sistem olan fermentasyon, birçok çevresel faktörden etkilenmektedir ve bu nedenle standart ürün üretimi için kontrol edilmesi gerekmektedir. Üretiminde taze ve çapraz kontaminasyona maruz kalmamış hammadde, uygun kültür ilavesi, sanitasyon kurallarının tam uygulanması, süre, sıcaklık, nem gibi önemli faktörlerin kontrol edilmesi, katkı maddelerinin ve aroma vericilerin uygun şekilde eklenmesi önem taşımaktadır (Ockerman ve Basu 2015). Hammaddenin taze olması ve mikrobiyal yükünün düşük olması dolumu, fermentasyonu ve son ürünü etkilemektedir. Bunun yanında kullanılan etin tipi de kaliteyi etkilemektedir. Örneğin DFD-et (dark-firm-dry) kullanımı su tutma kapasitenin yüksek olması nedeniyle önerilmemektedir (Gökalp vd. 1994).

Kaliteli olarak değerlendirilebilecek bir sucukta %30 oranında yağ, %30 oranında protein, %38 su ve %2 NaCl bulunurken, pH değeri 5.2 civarındadır (Çon ve Gökalp 2000). Tebliğ kapsamında Madde 9'a göre sucukta toplam et protein miktarı kütlece en az %16 ve et proteinindeki kolajen bağ doku proteini miktarı ise en fazla %20 olmalıdır. Bununla beraber nem miktarının ve yağ miktarının toplam et proteinine oranları 2.5' in altında olmalıdır. Sucuk pH değeri en yüksek 5.4 olmalıdır. Isıl işlem görmüş sucukta ise toplam et proteini kütlece %14 ü geçmemelidir. Toplam et proteinindeki kolajen bağ doku proteini oranı en fazla %25 olabilmektedir. Fermente sucuktan farklı olarak ısıl işlem görmüş sucukta nem miktarının toplam et proteinine oranı 3.6'nın altında ve yağ miktarının toplam et proteinine oranı 2.5'in altında olması istenilmektedir. Isıl işlem görmüş sucuklarda pH değeri tebliğe göre en yüksek 5.6 olabilmektedir (Anonim 2019).

Olgunlaştırma sucuk üretiminin en kritik aşamasıdır. Bu süreci etkileyen iç (tuz ve şeker miktarı, yağ miktarı, etin boyutu, kılıf tipi ve kalibrasyonu) ve dış (sıcaklık, bağıl nem (BN) ve hava akışı) etmenler vardır (Gökalp vd. 1994).

Sucuk dolumundan sonraki ilk evre olan dengeleme fazında sucuklar 2 ile 6 saat boyunca, 20-25 ° C'de ve düşük BN'li (<%60) ortamda bekletilirler. Bu evrede yüzeydeki miyogloblin ve kürlenme maddelerinin suda çözülerek uzaklaşması ve dolaylı olarak yetersiz kür rengi (gri yüzey) oluşumu engellenmektedir. Olgunlaşma evresinde ilk 3 gün 22-25 °C'de %90 BN önerilmektedir. Daha yüksek BN kurumayı güçleştirmektedir. Kuruma boyunca sucuğun içinden kenar kısmına doğru a_w değeri azalmaktadır. Olgunlaşmanın ilerlemesiyle su kaybı da zamanla azalmaktadır. Sucuk ile ortamdaki su buharı kısmi basınç farkının, kuru halka oluşumunu engellemek amacıyla %5'i aşmaması önerilmektedir. 3. günden sonra BN oranı %85'lere kadar düşürülmeli ve son gün bu değer %80'e ulaşmalıdır (Gökalp vd. 1994).

Sucuk için fermentasyon sıcaklığı kaliteyi etkileyen önemli bir parametredir. Genellikle 12 °C ile 30 ° C arasında değişiklik göstermektedir (Soyer 2005). Daha yüksek sıcaklıklar olgunlaşma sırasında istenmeyen mikroorganizma gelişimine yol açabilmektedir. Bunun yanı sıra üretimdeki sıcaklık, uygulanan olgunlaştırma yöntemine göre değişiklik göstermektedir. Bu durum fermentasyonun hızını, süresini ve aromayı etkilemektedir (Gökalp vd. 1994).

Sucuklara tuz ve şeker ilavesi ile a_w değeri düşürülerek istenmeyen mikroorganizma faaliyetleri engellenmektedir. Bununla beraber şekerler, fermentasyon işleminde metabolik enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Et proteinlerinin izoelektrik pH'sı 5.2-5.3'tür. Sucuk pH'sının bu değerlere ulaşması proteinlerin su tutma kapasitesini azaltmaktadır. Bu durum ise kurumayı hızlandırmakta, a_w değerini düşürmekte, tekstür ve yapıya katkı sağlamakta ve olgunlaşma süresini kısaltarak ekonomik açıdan kazanç sağlamaktadır. pH düşüşü kullanılan karbonhidrat çeşidine bağlıdır. Fermente çiğ sosislerde genel olarak laktoz, sakkaroz, maltoz, kuru nişasta şurubu ve glikoz kullanılmaktadır. Ayrıca nitrat ilavesi ile hızlı pH düşüşü sağlanabilmektedir (Gökalp vd. 1994).

Nitrit, tipik ürün rengini elde etmek için ve diğer duysal özellikleri desteklemek için et ürünlerine üretim sırasında ilave edilmektedir. Bunun yanı sıra *Clostridia* cinsine karşı antimikrobiyal etki de göstermektedir. Nitratin nitrite indirgenmesi, etkili olabilmesi açısından önemlidir. *Staphylococcus* ve *Kocuria* nitratin nitrite indirgenerek nitrosomiyoglobin oluşumuna neden olan mikroorganizmalardır. Bu reaksiyon et ürünündeki kırmızı rengi oluşturmaktadır (Cocconcelli ve Fontana 2015).

2.1 Fermente Et Ürünlerinde Starter Kültürler

Starter kültür kullanımı ilk kez 1940'lı yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde, fermantasyon işlemini yönetmek ve hızlandırmak amacıyla kullanılmıştır. 1950'li yıllarda Finish Niinivaara, *Micrococcus* spp. ve *Pediococcus cereviciae* içeren kültür karışımını Avrupa'ya tanıtmıştır. Et ürünlerinde ilk olarak fermente sebzelerden izole edilen *Pediococcus* spp. ve *L. plantarum* gibi mikroorganizmalar kullanılmıştır. Daha sonraki yıllarda *L. sakei* ve koagulaz negatif kok (KNK) gibi ikinci nesil starter kültürler geliştirilmiştir (Vignolo vd. 2015).

Starter kültür seçiminde kullanılan hammadde ve substrat uygunluğu önem taşımaktadır. Et, süt, sebze-meyve ve hububat ürünleri, farklı starter kültürler kullanılarak üretilmekte ve değişik oranlarda bu organizmaları içermektedirler. Gıda üretiminde patojen olmayan ve starter kültür olarak kullanılan başlıca 6 farklı laktik asit bakterisi cinsi bulunmaktadır; *Lactococcus* (süt ürünleri), *Lactobacillus* (süt, et, sebze, hububat), *Pediococcus* (sebze, et), *Streptococcus* (özellikle *S. thermophilus*) (süt), *Leuconostoc* (sebze, süt) ve *Oenococcus* (Şengün 2011). Starter kültür olarak seçilen mikroorganizmaların güvenilir olması ve son ürünlerinin gıdada kabul edilebilir bileşenler olması gerekmektedir. Antibiyotiğe dirençli metabolitlerin, patojenik bakterilerden kaynaklı plazmitlerin ve virülens genlerin bulunması bu durum için verilebilecek örneklerdendir (Hansen 2002). Fermente et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar ve işlevleri çizelge 2.1'de verilmiştir.

Ticari ürünlerde starter kültür ilave edilerek istenilen bakteri türü ortamda baskın tür olmakta, daha iyi aroma elde edilmekte, raf ömrü uzatılmakta, renk oluşumu

hızlandırılmakta, patojen bakteriler inhibe edilmekte ve tek tip ürün elde edilebilmektedir (Rebecchi vd. 1998). Ticari starter kültürlerin doğrudan inokülasyonu ile en yüksek düzeyde güvenilir ve kaliteli, çeşitli ürünler elde etmek mümkündür. Bu ticari kültürler dondurma ya da liyofilizasyon işlemi ile üretilmekte ve üreticilere ulaştırılmaktadırlar. Starter kültürlerin her bir üretim basamağı, elde edilecek son ürünün karakteristik özellikleri, saflığı ve kalitesi için önem taşımaktadır. Tehlike analizi kritik kontrol noktası (HACCP) ilkesi, yüksek kaliteli ürün eldesi için kültür üreticileri tarafından uygulanmaktadır (Hansen 2002). Ayrıca sucukta starter kültür kullanımı kalıntı nitrit kalıntısı miktarını azaltmaktadır (Gençcelep vd. 2007). Starter kültür kullanmaksızın elde edil-

Çizelge 2.1 Fermente et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar ve işlevleri (Lücke 1994)

Mikrobiyel Grup	Türler	Aktivite	Fermente sosislere katkıları
LAB	• <i>L. plantarum</i> • <i>L. pentosus</i> • <i>L. sake</i> • <i>L. curvatus</i> • <i>P. pentosaceus</i> • <i>P. acidilactici</i>	• Laktik asit formasyonu	• Patojenlerin ve bozulma yapan mikroorganizmaların inhibisyonu • Renk oluşumu • Kuruma
KNK	• <i>S. carnosus</i> • <i>S. xylosus</i> • <i>M. varians</i>	• Nitriti ve nitratı azaltma • Peroksit yıkımı • Lipoliz • Proteoliz	• Renk oluşumu ve stabilizasyonu • Ransitleşmeyi önleme • Aroma oluşumu • Fazla nitratın indirgenmesi
Mayalar	<i>Debaryomyces hansenii</i>	• Oksijen tüketimi • Lipoliz	• Ransitleşmenin önlenmesi • Aroma oluşumu
Küfler	<i>Penicillium nalgiovense</i> biotypes 2, 3, 6	• Oksijen tüketimi • Peroksitin yıkımı • Laktat oksidasyonu • Proteoliz • Lipoliz	• Renk stabilizasyonu • Ransitleşmeyi önleme • Aroma oluşumu

en sucuklarda kimyasal ve mikrobiyolojik kompozisyon bakımında çeşitlilik gözlemlenmektedir (Çon vd. 2001).

Starter kültürler çiğ kurutulmuş jambolar; pastörize-soğuk dilimli et ürünleri ve fermente edilmiş sosisler olmak üzere genel olarak üç temel alanda kullanılmaktadırlar. Fermente et ürünleri kullanılan kültüre göre sınıflandırılabilir. Bu durumda eğer *Lactobacillus sakei* ve *Lactobacillus curvatus* kullanılıyorsa Avrupa tipi; *Pediococcus acidilactici* ve *Pediococcus pentosaceus* kullanılıyorsa ABD tipi fermente sosis olarak sınıflandırılmaktadır (Pilevar ve Hosseini 2017).

Starter kültürlerin et ürünlerine eklenmesinin 4 temel sebebi vardır; (i) patogen ve bozulma yapan mikroorganizmaların aktivesini sonlandırarak gıda güvenliğini sağlamak, (ii) istenmeyen reaksiyonları engelleyerek raf ömrünü uzatmak, (iii) hammaddeye değişik duysal özellikler kazandırarak ürün çeşitliliğini arttırmak, (iv) bağırsak florasına katkı sağlayarak tüketici sağlığını desteklemek (Lücke 2000).

LAB ve *Micrococcaceae* et endüstrisinde, starter kültür olarak yaygın kullanılmaktadırlar. *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Debaryomyces hansenii* ve *Micrococcus (Korucia varians)* sucuk üretiminde kullanılan starter kültürlerdir (Rebecchi vd. 1998, Dalmış ve Soyer 2008, Lücke 2000). Buna ek olarak İspanyol fermente et ürünü “chorizo”da *L. sakei*, *L. curvatus* ve *Pediococcus*, “alheira” olarak adlandırılan Portekiz salamında *L. plantarum*, *E. faecalis*, *L. paraplantarum*, *L. brevis*, *L. sakei*, *L. zae*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Weissella cibaria*, *Weissella viridescens* ve *Ec. Faecium*, Yunan salamında ise *L. sakei/curvatus*, *Weissella genus*, *L. plantarum*, *L. farciminis* ve *Enterococcus faecium* fermentasyonda rol alan başlıca starter kültürlerdir (Kröckel 2013).

Birçok fermente üründe LAB'den yararlanılmaktadır. Taze etlerde LAB, kesimden sonra “kontaminasyon florası” olarak bulunmaktadır. Belirli koşullarda, et ürünlerinde rekabetçi florayı baskılayarak ortamda dominant hale gelebilmektedirler. Metabolitler

üretebilmekte ve böylelikle istenmeyen mikroorganizmaların inhibasyonunu sağlayabilmektedirler. Bu olumlu özelliklerinin yanı sıra bazı LAB gıdalarda bozulmaya sebep olabilmektedirler. *Carnobacterium*, *Leuconostoc* ve *Weisella* gibi bozulmaya sebep olan “heterofermantatif LAB” zararlı; *Lactobacillus* ve *Pediococcus* gibi “homofermantatif LAB” ise yararlı olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle endüstride starter kültür olarak homofermantatif türler tercih edilmektedir. Homofermantatif LAB gıdalarda, dışarıdan eklenen karbonhidratı fermente ederek laktik asit üretmekte, pH değerini düşürmekte ve koruma sağlamaktadırlar. (Ancak bazı koşullarda *Lactobacillus* spp. de asetik asit ve buna bağlı olarak yeşil renk ile mukoza yapısı oluşumuna neden olduğu bilinmektedir.) Heterofermantatif LAB ise CO₂, asetik asit, etil alkol, aseton ve bütanoik asit gibi son ürünler meydana getirmekte ve gıda kalitesini, tat ve kokusunu olumsuz etkilemektedir (Kröckel 2013, Laranjo vd. 2017).

KNK bakterilerinin starter kültür olarak kullanılması ise nitrat redüktaz aktivitelerine bağlı olarak renk gelişimine katkıda bulunmaktadır. Öte yandan, KNK katalaz aktivitesi, oksidatif hasarları azaltmakta ve ürettikleri metabolitler tada katkıda bulunmaktadır. Tada katkının yanı sıra *Staphylococcus* ve *Kocuria* aynı zamanda nitrat-redüktaz ve antioksidan aktiviteye sahiptir. Kısacası KNK bakterileri, renk stabilizasyonu sağlamak, proteolitik ve lipolitik etkileri ile oluşturdukları metabolitler aromayı desteklemekte ve son ürün kalitesine olumlu etki yapmaktadırlar (Kaban ve Kaya 2008, Laranjo vd. 2017).

LAB'nin rekabetçi florayı baskılaması laktik asit, asetik asit ve muhtemelen bakteriyosin oluşumu ile sağlanmaktadır. LAB'nin diğer bazı metabolitleri, Gram-negatif bakterileri in-vitro ortamda inhibe edebilmektedir. Ancak her zaman kullanımları güvenilirliği ve stabiliteyi sağlayamayabilir. Örneğin, bazıları uygun miktarlarda oluşmaz (reuterin), bazıları mevzuat ve düzenlemelerle ilgili kaygılara yol açar (benzoik asit) ya da bazıları duyu kaliteyi etkiler (diasetil, hidrojen peroksit). Besin maddeleri için mikroorganizmalar arasında oluşan rekabet, et ürünleri gibi besin yönünden zengin gıdalarda olası değildir. Antibiyotik oluşturan mikroorganizmalar fermantasyonu başlatıcı veya koruyucu kültürler olarak kabul edilemez (Lücke 2000).

Tüketiciler, bütün gıda ürünlerinde olduğu gibi et ürünlerinin de güvenilir olmasını talep etmektedir. Almanya’da yapılan tüketici araştırmalarının sonuçlarına göre tüketiciler et ürünlerinin güvenilirliği hakkında diğer ürünlere kıyasla daha fazla şüphe duymaktadırlar. Et ürünlerinde kullanılan hammaddenin kalitesi, hayvanın beslenmesi, taşınması ve hayvana karşı olan davranışlardan etkilenmektedir. Bu nedenle tüketiciler, kesimden önce hayvan refahının ve kesimden sonra ise işleme koşullarını, güvenilir gıdaya ulaşmak için önemli olduğunu düşünmektedirler. Bunlara ek olarak et ürünleri kontaminasyona son derece yatkın ürünlerdir. Bu nedenle patojenlerin ve bozulma yapan bakterilerin elimine edilmesi hem tüketici memnuniyeti hem de endüstri için önem taşımaktadır (Lücke 2000).

Raf ömrü uzun ve stabil ürün elde etmek, gıdaya kolay ve sürekli olarak erişemeyen tüketiciler için önem taşımaktadır. Ürünler “taze” olarak tüketilmek istenmekte ve “son kullanma tarihi” ya da “best-before date” (bozulmaya yatkın ürünlerde kullanılan SKT etiketleme kriteri) ürün seçiminde önem taşımaktadır. Bununla beraber üreticiler de depolama ve taşıma süreçleri için ürünün dayanıklı ve uzun raf ömürlü olmasını tercih etmektedirler. Bu nedenle koruyucu kültürlerle raf ömrünün uzatılması istenen bir durumdur (Lücke 2000).

Et endüstrisi, güvenli ve istikrarlı ürünler sağlamada sorunlarla karşı karşıya kalmaktadır. Tüketiciler, geçmişe kıyasla daha fazla hazır gıda tüketmeye yönelmektedirler ve koruyucu madde eklenmeden " taze ve doğal " yiyecek tüketmek istemektedirler. “Rekabetçi flora”nın kullanımı dahil olmak üzere “hurdle” olarak adlandırılan “engellerin” ustaca bir kombinasyonu bu tür yiyeceklerin üretimine olanak sağlamaktadır. Bu yaklaşım “Minimal processing” (Minimal işlem) ve “Hurdle technology” (Engel teknolojisi) ifadeleri ile açıklanmaktadır (Leistner 2000).

2.2 Biyokoruyucu Kültürler

Az işlenmiş ve doğal katkı maddeleri ile muamele edilmiş gıda maddeleri gün geçtikçe daha fazla tercih edilmektedir. Bu nedenle günümüzde biyokontrol yöntemleri geliştirilmektedir. Bu yöntemde antagonistik mikroorganizmaların ve metabolitlerinin

kullanımı ile istenmeyen mikroorganizmalar ve bozulmaya sebep olan etmenlerin ortadan kaldırılması amaçlanmaktadır (De Martinis vd. 2002). Ayrıca koruyucu kültür olarak nitelendirilen mikroorganizmalar duyuşal özelliklerde mümkün olduğunca az değişmeye yol açmaktadır (Lücke 2000). Biyokoruyucu olarak GRAS olarak nitelendirilen bakteriler kullanılmaktadır (Akkoç vd. 2009).

Gıda güvenliği, son yıllarda Avrupa'da önemli bir yer edinmiştir. Bu nedenle de araştırmacılar yeni sistemler geliştirmeye ve gıda güvenliğini arttırmaya odaklanmışlardır. Ayrıca bu büyük ilgi gıda ve yem ürünleri üzerine yasal düzenlemelerin yapılması için talep oluşturmuştur. Güvenilir starter kültürlerin elde edilmesi için bakterilerin tanımlanması ve taksonomisinin yapılması gerektirmektedir ve bunlar için de moleküler yöntemler geliştirilmektedir (Hansen 2002). Uygun şekilde seçilen psikrotrofik laktik asit bakterilerinin kullanılması, et ürünlerinin fermentasyonu boyunca *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*'in gibi patojen bakterilerin ve bozulmaya yol açan mikroorganizmaların gelişme riskini azaltabilir. Biyokoruyucu kültür seçiminde üründe duyuşal özellikleri olumsuz etkilemeyecek kültürlerin seçilmesi önemlidir. Koruyucu kültürlerin en etkin yok etme mekanizmaları laktik asit ve bakteriyosin üretmeleridir (Lücke 2000).

Biyokültürlerin veya ürettikleri metabolitlerin üretimde kullanılması "biyokoruma" olarak adlandırılmaktadır. Biyokoruyucu kültürler gıda güvenliğini arttırmak, çiğ materyalden yeni duyuşal özelliklere sahip farklı ürünler üreterek çeşitliliği sağlamak, istenmeyen mikroorganizmaları inhibe edip raf ömrünü arttırmak, stabiliteyi sağlamak, bağırsak florasına katkı sağlamak ve tüketici sağlığını olumlu yönde etkilemek üzere kullanılmaktadır (Lücke 2000). Biyokoruyucu kültürler, ürün dönüştürme kabiliyetlerinin az olmaları nedeniyle normal starter kültürlerden farklılık gösterirler (Kröckel 2013).

Gıdalarda koruyucu kültürler ve metabolitlerinin kullanımı ile raf ömrü uzatılabilmekte, patojen mikroorganizmaların gıda zincirindeki dolaşım ve dağılma riski azaltılmakta, bozulmaların önüne geçilerek ekonomik kayıplar en aza indirilmekte, gıda daha az

işlenmekte ve kimyasal korucuların kullanımı azaltılmakta, gıdaların besin değerleri korunmaktadır (Dinçer vd. 2009).

LAB, “biyokoruyucu” ajanlar olarak rol oynamaktadırlar. Biyokoruyucu LAB, fermantasyon işleminde spontan gelişen LAB’nin gelişmesini engeller, fermantasyon ve olgunlaşma evrelerini kontrol ederler. LAB’nin ürünlerde hızlı pH düşüşü ile asitliği arttırması rekabetçi floranın inhibe edilmesi için önem taşımaktadır (Kröckel 2013). LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin, fermantasyon prosesinin erken safhalarında et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* üzerine bakteriyosidal etkisi olduğu bilinmektedir. Özellikle Grup IIA’da (bakınız Çizelge 2.3) yer alan bakteriyosinler (pediosin PA1 ve AcH) et ürünlerinde *L.monocytogenes* kontaminasyonunu engellemek amacıyla kullanılmaktadır (Dinçer vd. 2009).

2.2.1 Bakteriyosinler

Biyokoruyucu kültürler, “bakteriyosin” olarak adlandırılan protein yapıdaki maddeler sentezlemektedirler. Ribosomal olarak sentezlenen bu maddeler, özellikle üreten türe yakın akraba olan bakteri türlerine karşı bakteriyostatik (gelişmeyi durdurucu) ve bakteriyosidal (öldürücü) etki göstermektedirler (Bruno ve Montville 1993, Akkoç vd. 2009). 1925 yılında *E. coli*’nin sentezlediği “colicin” maddesinin keşfedilmesi ile bakteriyosinlere yönelik ilk çalışmalar başlatılmıştır. İlerleyen yıllarda *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Staphylococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* ve *Leuconostoc* gibi birçok bakteri türünün de bakteriyosin sentezleyebildiği ortaya konulmuştur (Chen ve Hoover 2003). Bununla beraber bazı arke türlerinin de bakteriyosin ürettiği bilinmektedir. *Listeria*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* ve *Propionibacterium* da bakteriyosin sentezleyebilen mikroorganizmalar arasında yer almaktadır (Akkoç vd. 2009). Fakat bu bakterilerin, gıda endüstrisinde kullanımları uygun bulunmamaktadır (Şimşek vd. 2002). Bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen bakteriyosinler ve etki ettikleri mikroorganizmalar Çizelge 2.2’de gösterilmektedir.

“Mikrosinler” olarak adlandırılan ve gram negative bakterilerin ürettiği bakteriyosinler, farklı protein büyüklüğüne sahiptirler. Bu bakteriyosinler farklı etki mekanizmasına,

mikrobiyal hedef ve direnç mekanizmasına sahiptirler. Colisin, gram negatif bir bakteri olan *E.coli* tarafından üretilen ve üzerinde en çok çalışılmış olan bir bakteriyosindir (Akkoç vd. 2009).



Çizelge 2.2 Mikroorganizmaların ürettiği bakteriyosinler ve etki ettikleri mikroorganizma grupları (Gürsel 1999)

Üreten mikroorganizmalar	Bakteriyosinler	Etki Spektrumları
<i>L.lactis</i> , <i>spp.lactis</i>	Nisin	<i>Lactococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Micrococcus sp.</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Corynebacterium sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Listeria sp.</i>
<i>L.lactis spp.lactis</i>	Laktostrepsinler	<i>Lactococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i>
<i>L.lactis ssp lactis bc.</i> , <i>Diacetylactis</i> UL720	Diasetin B	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus.</i> , <i>Clostridium sp.</i>
<i>L.lactis ssp.lactis</i>	İsimsiz	<i>Lactococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Pediococcus sp.</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Clostridium sp.</i>
<i>L.lactis ssp.lactis</i>	İsimsiz	<i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>
<i>L.lactis</i> CNRZ 481	Laktisin 481	<i>Lactococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
<i>Streptococcus cremoris</i> 346	Diplokokin	<i>Lactococcus sp.</i>
<i>L.lactisssp cremoris</i>	Laktokokin A	<i>Lactococcus sp.</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> DDS14	Bulgarikan	<i>Bacillus subtilis.</i> , <i>E.coli.</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i> LP27	Laktosin 27	<i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i> 481	Helvitisin J	<i>Lactobacillus helveticus</i> 1846, <i>Lactobacillus helveticus</i> 1244, <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 1373, <i>Lactobacillus bulgaricus</i> 1489, <i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus fermentii</i>	İsimsiz	<i>Lactobacillus sp.</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Reuterin	<i>Salmonella sp.</i> , <i>Shigella sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Staphylococcus sp.</i> , <i>Candida</i> , <i>Trypanosoma</i>

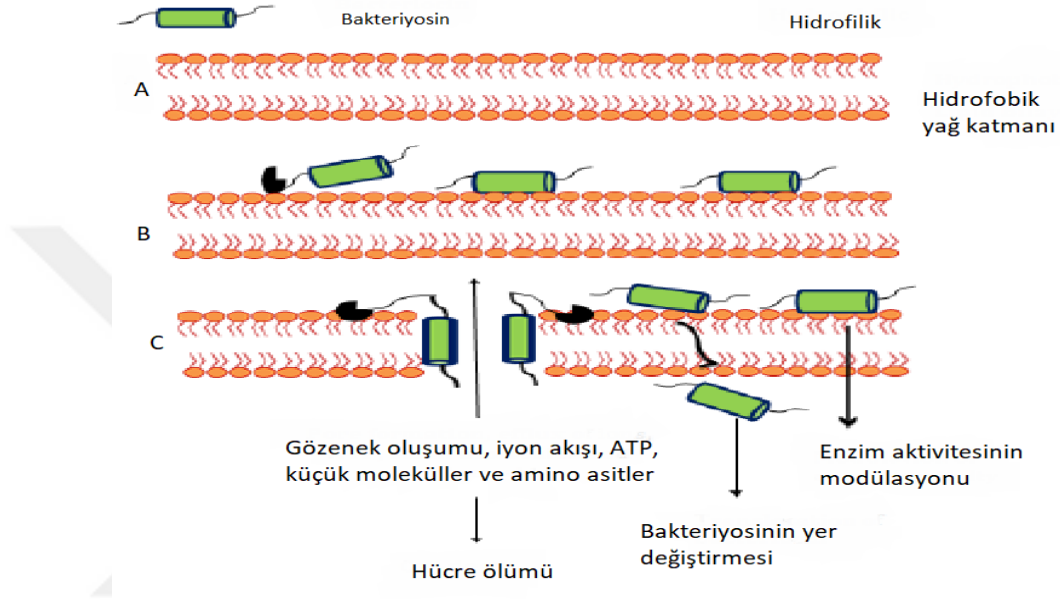
Çizelge 2.2 Mikroorganizmaların ürettiği bakteriyosinler ve etki ettikleri mikroorganizma grupları (Gürsel 1999) (devam)

<i>Lactobacillus acidophilus</i> N2	Laktasin B	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus leichmanni</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 11088	Laktasin F	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus leichmanni</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> 1750
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Laktosidin	Gram (+) ve Gram (-) bakteriler
<i>Lactobacillus casei</i>	Kazeisin 80	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	İsimsiz	<i>Clostridium</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Salmonella</i> sp., <i>E.coli</i> , <i>Bifidobakterium</i>
<i>Lactobacillus olantarum</i> C-11	Plantarisin A	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactococcus paramesenteroides</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i> NCDO1193	Plantarisin B	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Pediococcus damnosus</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Plantarisin S	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Lactococcus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp.
<i>Lactobacillus sake</i> 706	Sakasin A	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Lactobacillus sake</i> L 45	Laktosin S	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	Brevisin 37	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Leuconostoc</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp.
<i>Pediococcus pentosaceus</i> L-7230	Pediyosin A	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>L.lactis ssp.lactis</i> ATCC 11454, <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Clostridium sporogenes</i>
<i>Pediococcus acidilactici</i> PAC	Pediyosin PA-1	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp. Dextranicum</i> , <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Pediococcus</i> sp., <i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Pediococcus acidilactici</i> H	Pediyosin AcH	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Listeria ivanovii</i> , <i>Listeria innocua</i>
<i>Carnobakterium piscicola</i> CP5	Karnosin CP5	<i>Listeria monocytogenes</i>

Bakteriyosinler, farklı mikroorganizmalar üzerinde farklı etki mekanizmalarına sahiptir. Pozitif yüklü olan LAB'nin ürettikleri bakteriyosinlerin hidrofobik kısımları sitoplazmik zar üzerinde rol oynamaktadır. Hücre zarında meydana gelen negatif yüklü fosfat grupları ile pozitif yük arasında elektrostatik etki oluşmaktadır. Böylece bakteriyosin hücre zarına tutunmakta ve hücre içine girip zarda gözenek oluşturmaktadır. Düşük molekül ağırlığındaki bileşenler, oluşan gözeneklerden hücre dışına çıkmakta ve ATP tüketimine yol açmaktadır. Sonuç olarak bu değişimler DNA ve RNA degradasyonuna, protein sentezi gibi biyolojik reaksiyonların aksamasına neden olmaktadır (Kurt ve Zorba 2005). Lantibiyotikler (Grup I bakteriyosinleri) hücre membranında por oluşturup, sitoplazmanın iyon dengesini bozarak mikroorganizma inhibisyonunu gerçekleştirmektedir. Nisin ve bazı bakteriyosinler ise hücre duvarına etki ederken, bağlanmak için herhangi bir reseptöre ihtiyaç duymamaktadır. Bu nedenle de birçok mikroorganizma üzerinde etkili olabilmektedirler. Küçük peptit zincirlerinden meydana gelen bakteriyosinler hücre duvarından absorbe edilmekte ve hücreyi etkisiz hale getirmektedir. Colisin bakteriyosini iki farklı mekanizmaya sahiptir. Birinci etki mekanizmasında bakteriyosin, hücre duvarında iyon kanalları oluşturmak vasıtasıyla sitoplazma kaybına neden olmaktadır. İkinci mekanizmada ise bakteriyosin, duyarlı organizmanın hücre zarındaki özel bölgeden hücre içine girmekte ve nükleaz aktivitesi göstermektedir. Her iki mekanizmada da mikroorganizma tahrip olmaktadır (Kuleasan ve Çakmakçı 2003). Şekil 2.2'de bakteriyosinlerin etki mekanizması gösterilmektedir.

Gıdaların kimyasal kompozisyonu ve fiziksel koşullar bakteriyosin aktivitesini etkilemektedir. Örneğin, nisinin pH 2'de, pH 8'e kıyasla 228 kat daha iyi çözündüğü bilinmektedir (Akkoç 2009). Bakteriyosinlerin, et hücre membranları ile interaksiyonları, et ürünlerindeki yetersiz stabilitelelerinin temel nedenidir (Lücke 2000). *P. pentosaceus*, *P. acidilactici* ve *L. sakei*'nin bazı suşları sucukta *L. monocytogenes* gelişmesini önleyebilirken *L. plantarum*'un bazı suşlarının *L. monocytogenes* gelişimi üzerine etkisi yoktur. Suşlar arasındaki bu farklılığın bakteriyosin üretebilme kabiliyetinden ileri geldiği ve ayrıca ortamın pH değeri ve su aktivitesi ile alakalı olabileceği düşünülmektedir (Kaya ve Gökalp 2005).

Ette bakteriyosinlerin et hücre memranı ile interaksyonu sonucu, gram-negatif patojenlerin bakteriyosinlere karşı direnç kazanması, bakteriyosinlerin etkisinin azalmasına neden olabilmektedir. Bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin kullanımının Gram-negatif bakterilerin neden olduğu et kaynaklı enterik hastalıkların (EHEC enfeksiyonları dahil) önelen-



Şekil 2.2 Bakteriyosinin reseptörlere bağlanması (A, B), sitoplazmik membran gözenek oluşumu, bakteriyosinin yer değiştirmesi ve enzim aktivitesinin modülasyonunu (C) içeren genel bakteriyosin öldürme mekanizmaları (Bharti vd. 2015).

mesi ve aerobik koşullarda depolanmış etin raf ömrünün uzamasına önemli oranda katkı sağlaması beklenmez. Koruyucu kültürler yalnızca gıda güvenliğini sağlar ve iyileştirirler. Sınırlı etkileri nedeniyle, kötü üretim koşullarından kaynaklı eksiklikleri telafi etmek için kullanılamazlar (Lücke 2000).

Bakteriyosinler gıdada 3 farklı türde bulunabilirler. Bu durumlar; (i) doğal floranın fermentasyon süresince sentezlemesi, (ii) gıdalara yarı ya da tam saflaştırılmış olarak ve (iii) bakteriyosin üreticisi olan mikroorganizmanın gıdaya ilavesi olarak sıralanmaktadır (Akkoç vd. 2009). Bakteriosinler, diğer gıda koruma uygulamaları ile birlikte

uygulanarak “hurdle technology” yani “engeller teknolojisi” olarak bilinen gıda koruma yönteminin bir parçası olmaktadır (Leistner 2000).

Bazı bakteriyosinler özellikle grup II’de yer alanlar, otoklavlama işlemi gibi yüksek sıcaklıkların kullanıldığı işlemlerde bile özellikleri bozulmadan kalabilmektedirler. Bu özellikleri nedeniyle et ve süt ürünleri başta olmak üzere gıda endüstrisinde kullanımları problem teşkil etmemektedir (Kurt ve Zorba 2005). Bakterilerin sentezlediği ürünün “bakteriyosin” olarak nitelendirilmesi için biyolojik olarak aktif bir proteine sahip olması, dar bir etki spektrumuna sahip olması, refakatçi floraya karşı bakteriyosidal ya da bakteriyostatik etki göstermesi, üretiminin letal biyosentez yoluyla gerçekleştirilmesi ve spesifik hücre reseptörlerine tutunabilmesi önemli kriterlerdir (Gürsel 1999).

Bakteriyosinler, etki spektrumları, molekül ağırlıkları, biyokimyasal özellikleri ve genetik kökenine göre dört grupta incelenmektedir (Akkoç vd. 2009). Bakteriyosinlerin sınıflandırılması çizelge 2.3’te gösterilmektedir.

Lactococcus lactis tarafından üretilen nisin, en iyi karakterize edilmiş LAB bakteriyosinidir (Bruno ve Montville 1993). Acidocin 8912, acidophilucin A, lactacin B (*Lactobacillus acidophilus*), brevicin 37 (*Lactococcus lactis*), nisin A ve Z, lacticin 481, lactococcin (*Lactococcus lactis*), plantaricin A, C, S ve T (*Lactobacillus plantarum*) LAB tarafından üretilen bazı bakteriyosinlerdir (Kışla ve Ünlütürk 2003). Gıda endüstrisinde sadece bakteriyosin olarak nisin ve pediosin PA1/AcH kullanımına izin verilmektedir (Akkoç vd. 2009).

Çizelge 2.3 Bakteriyosileri sınıflandırılması, başlıca özellikleri ve bazı örnekleri

Gruplar		Temel Özellikler	Bakteriyosinler	Kaynaklar
Grup I (Lantibiyotikler)	Grup IA	• Net pozitif yüke sahiptirler. • Bakteri zarında gözenek oluşturarak aktivite gösterirler.	• Nisin	(Chen ve Hoover, 2003)
	Grup IB	• Yüksüz ya da negatif yüklüdürler. • Spesifik enzimleri inhibe ederek ativite gösterirler.		(Dinçer vd. 2009) (Twomey vd. 2002)
Grup II	Grup II A	• <i>Listeria monocytogenes</i> 'e karşı aktivite gösterirler. • Hücre zarını etkileyerek aktivite gösterirler.	• Pediocin PA-1 • Sakacin P • Leucocin A • Curvacin A	(Chen ve Hoover, 2003) (De Martinis vd. 2002)
	Grup II B	• Farklı farklı aktivite gösteren iki polipeptid içermektedirler.	• Lactococcin G • Lactococcin M • Lactacin F	(De Martinis vd. 2002)

Çizelge 2.3 Bakteriyosileri sınıflandırılması, başlıca özellikleri ve bazı örnekleri (Devam)

Grup II C	• Aktivite gösterebilmeleri için indirgenmiş “cystine” rezidüsüne ihtiyaç duyarlar. • Ağırlıklı olarak et endüstrisi ile ilgilidir. • <i>Listeria monocytogenes</i> ‘e karşı aktivite gösterirler.	• Lactococin B • Curvacin A8 • Sakacin A, P ve K9	(De Martinis vd. 2002) (Erkkilä 2001)
Grup III	• Büyük molekül ağırlığına sahiptirler. • Isıya karşı duyarlıdırlar.	• Helveticin J ve V-1829 • Acidophilucin A • Lactacins A ve B	(De Martinis vd. 2002)
Grup IV	• Büyük ve kompleks moleküllerdir. • Aktiviteleri için karbonhidrat ya da lipid moleküllerine ihtiyaç duyarlar.	• Plantaricin S • Leuconocin S • Lactocin 27 • Pediocin SJ-1	(Chen ve Hoover, 2003) (De Martinis vd. 2002)

Nisin, kürlenmiş et ürünlerinde koruyucu olarak eklenen nitritin kullanımını azaltmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. 75 ppm nisin ilavesinin, 150 ppm nitrit kullanımından daha fazla etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. Isıl işlem kullanılarak üretilen et ürünlerinde 75 ile 100 ppm aralığında nisin ile düşük oranda nitrit kombinasyonunun kullanımı önerilmektedir (Üstündağ ve Yalçın 2017). Birçok homofermentatif LAB, 200 ppm'ye kadar nitrit'e direnç gösterebilmektedirler (Kröckel 2013). Nisin, raf ömrünü uzatmak ve işleme süresini kısaltmak amacıyla su ürünlerinde de kullanılmaktadır. Etkin koruma sağlamak amacıyla CO₂ gazı altında paketlenme yöntemi ile nisinin beraber kullanılması önerilmektedir (Serdaroğlu ve Özsümer 2000).

Tuzlanmış, kurutulmuş bir fermente et ürünü olan "charqui"den izole edilmiş olan ve nisin üreten *Lactococcus lactis*, %20 oranında NaCl konsantrasyonunda bile bakteriyosin üretebilmektedir (Biscola vd. 2013).

2.3 Biyokoruyucu Kültürlerin Et ve Et Ürünlerinde Kullanılmaları

Taze etlerde ve et ürünlerinde *Listeria monocytogenes* sıklıkla görünen bir patojendir. Fermente et ürünlerinde üremeye devam edebilmektedir. Ancak fermente et ürünlerinin tüketilmesi ile meydana gelen herhangi kayıtlı bir listeriosis vakası yoktur. Mikrobiyolojik spesifikasyonları belirleyen uluslararası komisyon (International Commission on Microbiological Specifications- ICMSF), et ürünlerinde en fazla 100 kob/g'a kadar *Listeria monocytogenes*'in tolere edilebileceğini bildirmiştir. *L. monocytogenes*, ancak fermantasyon süreci süresince yavaşça etkisiz hale getirilmektedir ve "ready-to-eat" et ürünlerinde yok edilmesi arzu edilmektedir. Bakteriyosin üreten mikroorganizmaların, *L. monocytogenes*'i bakteriyosin üreticisi olmayan LAB'ne kıyasla 1-2 log daha fazla azalttığı tespit edilmiştir (Lücke 2000).

LAB, ortam asitliğini arttırmanın yanı sıra ürettikleri bakteriyosin ya da benzeri metabolitler sayesinde *L. monocytogenes* 'e karşı antagonistik etki gösterebilmektedirler. Ancak, proteazlar bakteriyosinleri etkisiz hale getirip etkilerini kaybetmelerine yol açabilmektedirler. Bunu yanında, patojenlerin bakteriyosinlere karşı direnç kazanması,

ürün içerisinde bakteriyosinlerin homojen bir şekilde dağılmaması ve et partikülleri tarafından absorbe edilmeleri de bakteriyosinlerin etkilerini kaybetmelerine yol açabilir. Bütün bu ihtimallere karşın, yürütülen çalışmalar bakteriyosinlerin ve üreticisi olan LAB'nin, sucukta *L. monocytogenes*'e karşı etkili bir şekilde kullanılabileceklerini göstermektedir (Kaya ve Gökalp 2005). Çizelge 2.4'te bazı çalışmalarda et ürünlerinde kullanılan LAB' nin *L. monocytogenes* üzerine etkisi gösterilmiştir.

Bazı durumlarda starter kültürler ortamda tam bir koruma sağlayamayabilirler. Örneğin, *L. monocytogenes* et ürünlerinin fermentasyonu sırasında çok yavaş inhibe olmaktadır. *E.coli* (EHEC), yüksek asitli ve su aktivitesi düşük ortamlarda varlığını sürdürerek enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Lücke 2000).

Çizelge 2.4 Bazı ticari kültürlerin *Listeria monocytogenes*'in et ürünleri üzerine etkileri (Lücke 2000)

Ürün	Depolama Koşulları	Hedef Organizmalar	Etki
Dana kıyma	Vakum paket, 4 °C	<i>Listeria monocytogenes</i>	2 log azalma
Bologna-usulü sosis	Vakum paket, 9 °C	<i>Listeria monocytogenes</i>	1±2 log azalma
Bacon	10% CO ₂ , 90% N ₂ , 2 ya da 15 °C	<i>Listeria monocytogenes</i>	0.5±2 log azalma
British sosis	Çiğ vakum paketleme, 5 °C	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	1±1.5 log azalma
Pişmiş ham	Vakum paket, 4 °C	Bozulma yapan mikroorganizma	Raf ömründe uzama (7 gün)
Frankfurter	Vakum paket, 6±8 °C	Bozulma yapan mikroorganizma	Raf ömründe uzama (18 gün)

L. sakei 23K, *L. curvatus* CRL705 ve *L. plantarum* CRL681 inoküle edilen et ürünlerinde 15 gün 7°C'de depolama sonucunda, ürettikleri bakteriyosinlerin *Brochothrix thermosphacta*, *Clostridium* ve *L. monocytogenes* üzerine etkili oldukları gözlemlenmiştir (Fadda vd. 2010). Vakum ambalajlı etlerde *Listeria innocua* ve *Brochothrix thermosphacta* inhibisyonu için *L. curvatus* CRL705, et yüzeyine spreylenecek inoküle edilmiş ve 36 gün depolandığında 14. günden sonra *Brochothrix*

thermospact sayısında azalma olduğu ve *Listeria innocua* 'nın da bakteriyosinlere karşı hassas olduğu belirtilmiştir (Castellano ve Vignolo 2006).

Sucuklardan izole edilen iki önemli bakteri türü *L. plantarum* ve *L. sakei*'dir. *L. curvatus*, *L. brevis*, *L. pentosus*, ve *L. fermentum* sucuktan izole edilen diğerk önemli türlerdir. Yerli kültür olarak nitelendirilen bu kültürlerle ilgili birçok çalışma bulunmasına rağmen “*Lactobacillus plantarum* ve sucuk” ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Kamiloğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *L. plantarum* 'un sucuğa inokule edilen *L. monocytogenes* 'i etkisiz hale getirdiğı ortaya konulmuştur (Kamiloğlu vd. 2019).

Patojen bakteriler, bazı genler tarafından kontrol edilen proteinleri sentezleyerek asidik ortamlara direnç kazanmaktadırlar. Bu durum, belli bir süre boyunca orta derecede asidik (pH 5.0-6.0) ortama maruz kalma-sonucunda gerçekleşmektedir. Aside karşı direnç mekanizması *E. coli* O157:H7'ye asidik ortamlarda buna bağılı olarak da fermente ürünlerde canlılığını sürdürme imkanı sağlamaktadır. Fermente gıdalardaki starter kültürlerin ürettikleri antimikrobiyal metabolitlerin, düşük pH ve a_w değerine sahip ortamın genellikle patojen ve bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimlerini engelleyeceği düşünülmektedir. Ancak son yıllarda asit direnci nedeniyle *E. coli* 'nin güvenilir olabileceğı düşünülen gıdalarda canlılığını sürdürebildiğı gözlemlenmiştir (Öztürk ve Halkman 2015).

Asit mekanizmasının yanı sıra *E. coli* O157:H7, sığırlarda temel bulaşı kaynağı olarak bilinmektedir. Bu nedenle de hammaddesi sığır eti olan gıdalarda enfeksiyon kaynağı olarak görölmektedir. Sucukta *E. coli* sayısı olgunlaşma evresinde azalmakta ancak tamamen elimine edilememektedir. Yapılan bazı çalışmalarda, starter kültürün *E. coli* sayısı üzerine etkili olmadığı ileri sürölmüştür (Öz vd. 2002). Asitlere duyarlılık farklı bakteriler arasında değişiklik göstermektedir ve ayrıca su aktivitesi ve nitrit gibi diğerk faktörlerin eş zamanlı etkisine de bağılıdır. Bu nedenle, birçok et ürününde hüküm süren koşullar altında, asit konsantrasyonlarındaki küçük farklılıkların bile aside duyarlı mikroorganizmalar üzerinde önemli bir etkisi vardır (Lücke 2000).

Gıdalarda enterohemorajik *E.coli* (EHEC) varlığı, şiddetli enfeksiyonlara neden oldu için büyük endişe uyandırmaktadır. Bu nedenle bu ürünün fermantasyon süresince yok edilmesi amaçlanmaktadır. LAB'lerin pH'yı düşürmesi ve kuruma evresi *E. coli*'nin ölmesini sağlayabilir. Ancak bazı çalışmalar uzun olgunlaşma süresi, düşük pH ve su aktivitesi şartlarında bile *E. coli*'nin 5 log düzeyinde azalmasının zor olduğunu göstermiştir (Lücke 2000).

Yüzeylerdeki istenmeyen mikroorganizma gelişimini engellemek amacıyla püskürtme yöntemi ile kültür ya da bakteriyosin uygulaması yapılabilmektedir. Et yüzeyine yalnız nisin uygulaması *L. casei*'nin çoğalmasını önlemektedir. Yine nisin ve laktik asit kombinasyonunun et yüzeyinde *L. casei*, *E. coli* ve *Pseudomonas fluorescens* gelişimini önlediği bildirilmiştir (Üstündağ ve Yalçın 2017). Bakteriyosin üreticisi olan *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *L. sakei* ve *L. curvatus*'un pH 5.8'de domuz etlerindeki *L. monocytogenes*'i inhibe ettiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Héquet vd. 2007).

Fermente salam ve sosis gibi ürünlerde *L. curvatus* ve *L. sakei* yaygın olarak kullanılan türlerdir. *L. versmoldensis*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. alimentarius*, *L. farciminis*, *Wisella*, *Leuconostoc* ve *Pediococci* suşları ise nadir olarak kullanılan bakteri türleridir. *Cb. divergens*, *Cb. maltaromaticum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *L. delbrückii*, *L. sakei*, *L. curvatus* ve *Lc. raffinolactis* taze bifteklerde kullanıldığı zaman *E. coli* O157:H7 gelişimini engellemektedir (Kröckel 2013).

L. curvatus CRL 705 ve *L. lactis* CRL 1109 koruyucu kültürlerinin, EDTA ile beraber kullanılması durumunda *E. coli* gelişimi önemli ölçüde azalttıkları bildirilmiştir (Castellano vd. 2012).

Spor oluşturan *Clostridium botulinum* ve *S. aureus*, birçok gıda zehirlenmesine neden olan toksinler üretebilmektedirler. *S. aureus*, fermantasyon işleminin başlarında çiğ ette enterotoksin üretmekte ve gıda zehirlenmelerine yol açmaktadır (Pilevar ve Hosseini 2017). *S.aureus*'un gıdalarda 10^7 kob/g'dan sonra önemli hastalıklara yol açtığı bilinmektedir ve bu uygun yöntemlerin kullanılmasıyla önlenebilmektedir. Bu nedenle

S. aureus 'un inhibe edilmesi için ek bir koruma uygulanması gerekli görülmemekte ve bakteriosinogenik kültürlerin de ilavesine ihtiyaç duyulmamaktadır (Lücke 2000).

Et ve et ürünleri Avrupa'daki gıda kaynaklı hastalıkların ana kaynakları arasında yer almaktadır. *Salmonella* başta olmak üzere, *Enterobacteria*, *S. aureus*, *E. coli* O157, *Clostridium perfringens* ve *L. monocytogenes* gibi patojenler starter kültür kullanımı ile baskılanabilmektedir (Pilevar ve Hosseini 2017).

Sucuk ve diğer fermente et ürünlerinde çiğ hammaddeden kaynaklı patojenlerin ve bozulma yapan mikroorganizmaların inhibisyonu ortam asitliği, su aktivitesi, fermentasyon sıcaklığı ve bağıl nem, ortamdaki LAB sayısı, asitliğin artış hızı ve ortama eklenen nitrit, tuz ve şeker gibi katkı maddeleri tarafından etkilenmektedir (Kaya ve Gökalp 2005).

Az işlem görmüş su ürünleri (Lightly Preserved Fish Product- LPFP) olarak nitelendirilen gıdalarda, psikotolerant patojenler ve bozulma yapan bakteriler gelişebilmektedir. LPFP'de tuzlama, kürlenme ya da vakum veya MAP gibi ambalajlama yöntemlerinin kullanılmasıyla LAB baskın tür haline getirilebilir. Yapılan çalışmalarda, *Leuconostoc gelidum* ve *Lactococcus piscium* kombinasyonunun vakum paketlenmiş somon balıklarında *Bifidobacterium bifidum*, *Pseudomonas* spp. ve *P. phosphoreum* 'u inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca *L. casei*, *L. plantarum*, *Pediococcus* ve *S.xylosus* starter kültürlerinin histamin, putresin, triptamin ve kadeverin biyojen aminlerinin oluşumunu azalttığı bilinmektedir (Pilet ve Leroi 2011). Biyokoruyucu olan *Lactococcus piscium* CNCM-4031 ' in, MAP altında depolanan pişirilmiş karideslerde *Brochothrix thermospacta* 'yı inhibe ettiği ve raf ömrünü uzattığı belirlenmiştir (Leroi vd. 2012).

L. casei, *L. gasseri*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* ve *L. Plantarum* türlerine ait bakteri gruplarının et ürünlerinde starter kültür olarak denendiği bir çalışmada, bu starter kültürlerin %2.5 'dan %7.5'a kadar olan tuz konsantrasyonlarında gelişme gösterebildikleri ve 10°C ile 25°C sıcaklıklarda optimum gelişme gösterdikleri tespit

edilmiştir. *Lactobacillus* spp. 'nin raf ömrünü uzattığı ve rekabetçi florayı baskıladığı belirtilmiştir (Vinnikova vd. 2016).

Lactobacillus fermentum ACADC179 ve *Enterococcus faecium* PCD71 çiğ tavukta *L. monocytogenes* ve *Salmonella* üzerine bakteriyosidal etki göstermektedir. *L. sakei* bakteriyosinleri, vakum paketli etlerde; *L. curvatus*'un ise vakum paketli etlerin yüzeyinde etkili sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. *L. sakei*, hindi etlerinde *B. thermospacta* ve *Leuconostoc mesenteroides* 'e karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Gaggia vd. 2011).

18 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda fermente edilen ürünlerde, pH değerinin 5.3'ün altına hızla düşürülmesi *Salmonella*'nın inhibe edilmesi için önemlidir. Bu, seçilen fermantasyon sıcaklığında yeterince aktif bir şekilde çalışabilen starter kültürün eklenmesi ile sağlanabilir. İtalyan tütülenmemiş kuru sosisler gibi ürünlerde LAB'nin tadı etkilemeleri istenmez. Ancak patojen ve bozulma yapan bakterilerin de inhibe edilmesi gereklidir. Bu iki amaca da ulaşabilmek için laktik asit oluşumu belirli bir düzeyde sınırlandırılmalıdır. Bu sınırlama ise şeker ilavesi ile ya da su aktivitesinin 0.91'in altına indirilmesi ile gerçekleştirilmektedir (Lücke 2000).

MAP yöntemi kullanılarak paketlenmiş tavuk etleri *Leuconostoc pseudomesenteroides* PCK18 koruyucu kültürü ile muamele edildiğinde *L. monocytogenes* inhibe olmakta ve *C. jejuni* sayısında azalma gözlemlenmektedir (Melero vd. 2013).

Buzdolabı koşullarında (4°C) saklanan taze etlerde ve işlenmiş et ürünlerinde, raf ömrünü arttırmak için koruyucu kültür ilavesi uygulanmaktadır (Dinçer vd. 2009). Soğukta depolanan et ürünlerinde patojen bakteri inhibisyonunu sağlamak amacıyla mezofil laktik asit bakterileri tercih edilmektedir (Üstündağ ve Yalçın 2017). Et ürünlerinde sıklıkla rastlanan *Clostridium botulinum*'un LAB'nin ürettiği bakteriyosinler tarafından inhibe edildiği bilinmektedir. *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* ve *P. pentosaceu*, *Cl. botulinum*'a karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Dinçer vd. 2009).

Sucuk örneklerinden izole edilen bakteriyosin üreticisi *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. pentosus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii*, *L. sakei*, *P. pentosaceus* ve *P. acidilactici* suşlarının *B. cereus*, *C. perfringens*, *C. botulinum*, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Micrococcus luteus* ve *Yersinia enterocolitica* üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Çon ve Gökalg 2000).

Kuru fermente et ürünlerinde biyojenik amin oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerden biri kullanılan starter kültürdür. Sucukta olgunlaşması sırasında önem taşıyan mikroorganizmalar *Korucia*, *Staphylococcus*, *Pediococcus* ve *Lactobacillus* türlerine ait katalaz pozitif koklardır. Laktik asit bakteri kültürlerinin eklenmesi ve doğal fermantasyonun kontrolü ile biyojenik aminlerin birikmesi önlenmektedir. Sucuk genellikle geleneksel yöntem ile doğal floranın kullanılması ile üretilmektedir. Bu mikroorganizmalar biyojenik amin üretebilmektedirler. Ancak starter kültürlerin kullanımı biyojenik amin oluşumunu azaltmaktadır. Starter kültür kullanımı ile beraber nitrit kullanımı ve olgunlaşma süreci de biyojenik amin oluşumu üzerine etki göstermektedir (Gençcelep vd. 2007).

“Probiyotik” kültürler ise yeterli miktarda alındıklarında, tüketici sağlığına yarar sağlayan kültürlerdir. Bu bakteriler tüketildiklerinde laktoz sindirimini iyileştirilmesi, kan kolesterolünün düşürülmesi, seyahat ishalinin ve antibiyotiklerle ilişkili ishal ve ishallerin önlenmesi, bağışıklık sisteminin uyarılması ve patojenlerin neden olduğu enfeksiyonun önlenmesi gibi birçok sağlık yararı sağlamaktadır (Yuksekdag ve Aslim 2010). Günümüzde probiyotik kültürlerin süt endüstrisi dışında kullanımı yaygın değildir, ancak gelecekte bu durumun değişeceği düşünülmektedir (Lücke 2000). Süt ürünlerini dışında bebek mamaları, tahıl ürünleri, meyve suları ve dondurmalarda da probiyotikler kullanılmaktadır. Probiyotik mikroorganizmalar olarak *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi LAB yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmalar genel olarak ısıya dayanıklı değildirler. Gıdalardaki kullanımlarından maksimum fayda sağlayabilmek amacıyla sindirim sistemindeki asidik koşullara ve ısıl işleme dayanıklı mikroorganizmaların seçilmesi önemlidir. Bu nedenle *Bacillus* cinsine ait bazı türler et ürünlerinde kullanılmaktadır (Konuray vd. 2017).

Et ürünlerinde probiyotik kültür kullanımı bazı problemlerden dolayı kolay değildir. Bu sorunlardan bazıları şöyledir; kür tuzlarının fazla oranlarda olması, asitliğin yüksek olması ve su aktivitesinin düşük olması mikroorganizmayı inhibe edebilir ve rekabetçi flora gelişimi engelleyebilir (Konuray vd. 2017). Bu nedenle de starter kültürlerin aksine probiyotiklerin, ürün içerisinde sayılarının artması beklenmez. *P. acidilactici* ve *L. sakei* bu stresli ortam koşullarına ayak uydurabilse de *Bifidobacterium* direnç gösterememektedir. *Lactobacillus* ve *Pediococcus* 'un probiyotik türleri, oluşturdukları aroma profili ve teknolojiye uyumluluğu nedeniyle kuru sosislerde kullanılmaktadır. Probiyotik olan *Bifidobacterium animalis* ve *L. acidophilus* sağladıkları daha iyi tekstür ve aroma sayesinde fermente et ürünlerinde tercih edilmektedirler (Pilevar ve Hosseini 2017).

Probiyotik et ürünleri, laktoz sindirimini sağlayabilir, mukoza bariyerlerini güçlendirebilir ve gastrointestinal enfeksiyonları önleyebilirler (Pilevar ve Hosseini 2017). Et ürünlerinde kullanılan *Bacillus* cinsine ait probiyotik bakterilerin ısıl işleme dayanıklı oldukları ve ürettikleri bakteriyosinler ile *L. monocytogenes* gelişimini önledikleri yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Konuray vd. 2017). Yüksekdağ ve Aslım (2010), sucuktan izole edilen ve probiyotik özellikte farklı *Pediococcus* suşlarının laktik asit, hidrojen peroksit gibi ürettiği metabolitler sayesinde *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *E. coli* O-157: H7 ve *M. Flavus* 'a karşı inhibe edici etkileri olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca *Pediococcus* suşlarının düşük pH ve safra tuzuna karşı dirençli oldukları ve patojenlere karşı antagonistik etki gösterdikleri için potansiyel probiyotikler olduğunu belirtmişlerdir.

Ülkemizde sucuk üretiminde starter kültür kullanımı bazı büyük işletmeler haricinde çok yaygın değildir. Sucuklar kısa bir fermantasyon sürecinden sonra (2-3 gün) piyasaya verilmektedir. Bu durum, mikroorganizma üremesine açık olan sucuk gibi ürünler için risk oluşturmaktadır. Çiğ olarak da tüketilebilen bir ürün olan sucuğun *L. monocytogenes* gibi patojenleri içirme ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca bu patojenler ısıya da dayanıklılık gösterebilmektedirler. Isıl işlemler boyunca bu patojenler canlılıklarını koruyabilmektedirler. Diğer taraftan depolama boyunca üreme ihtimali de değerlendirilmelidir (Kaya ve Gökalg 2005).

L.sakei ve *P. acidilactici* gibi bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen bakteriyosinler, diğer bazı bakteriler üzerine bakterisidal ya da bakteristatik etki yapmaktadırlar (McAuliffe vd. 2001, Ross vd. 2002). *P.acidilactici*'nin antilisterial, antibiyotik direnci olmayan iyi bir biyokoruyucu potansiyeli olduğu bildirilmiştir (Albano vd. 2009). *L.sakei* ise, et ortamlarına iyi adaptasyonu, bakteriyosin (sakasin) üretme kabiliyeti, patojenler (*S.aureus* ve *Enterobacteriaceae* gibi) üzerine inhibe edici etkisi ve proteolitik niteliği ile (Zdolec vd. 2008, Gaggia vd. 2011) biyokoruyucu olarak starter kültürler ile ya da tek başına kullanılması önerilmektedir.

P. acidilactici yaygın kullanılan özellikle de *P. pentosaceus* ile karışım halinde kullanılan kültürlerdir. Homofermantatif olan *L. sakei*'nin fermente sosislerde düşük pH ve a_w değerlerine dayanabildiği ve antimikrobiyal etkisi olan bakteriyosin sakasin S salgıladığı bilinmektedir (Pilevar ve Hosseini 2017).

Kaban ve Kaya'nın yaptığı çalışmaya göre (2008), *L. plantarum* sucukta dominant flora oluşturmaktadır ve bunu *L. curvatus* takip etmektedir. Sucuk örneklerinden izole edilen KNK'ların hemen hepsi *Staphylococcus* cinsine aittir ve en önemlisi *S. xylosus*'tur. *S. carnosus* ise yaygın olarak kullanılan ticari starter kültürdür.

Et ürünlerinde starter kültürler daha güvenilir, tat açısından daha standart ürün üretmek ve ürün kusurlarını azaltmak için kullanılmaktadır. Zira geleneksel üretimlerde fermentasyonun arzu edilen şekilde gelişmesini sağlamak zordur ve ürünün bozulması söz konusudur. Fakat starter kültürler uygun hammadde, istenilen hijyenik parametreler ve uygun işleme koşulları sağlanmadığı takdirde iyi üretim uygulamalarının yerini alamaz. Örneğin enterohemorajik *E. coli* ile ilişkili bir sağlık riski karşısında starter kültürler bir işe yaramaz. Zira bu bakteri asidik ortama tolerans gösterir ve çok düşük dozda bile insanlarda enfeksiyona neden olur (Kröckel 2013). Bu nedenle güvenli çığ fermente et ürünleri üretmek için starter kültürlerin yanı sıra biyokültür kullanımı önemli olmaktadır. Starter kültürlerin yetersiz kaldığı veya ürün oluşturma kapasitelerinin azaldığı durumlarda koruyucu kültürler etkili olmaktadır. Koruyucu kültürler patojen kontrolü, özellikle *L. monocytogenes*, protein hidrolizi, oksidasyonu sınırlama, renk gelişimi gibi etkileri nedeniyle et ürünlerinde önem kazanmışlardır.

Sucuklarda koruyucu kùltürlerin ürünün mikrobiyolojik ve diğér kalite özelliklerine etkilerini belirlemek üzere yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, bakteriosin üreten *L. sakei* ve *P. acidilactici* biyokùltürlerinin fermente sucuğın mikrobiyal kalitesine, proteolitik ve oksidatif değışimlere etkilerinin belirlenmesidir. Elde edilecek bulguların gerek bilimsel çalışmalar gerekse et endüstrisi için önemli bir çıktı oluşturacağı düşünölmektedir.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Et materyali

Sucuk üretimi için aynı gün kesimi yapılan ve 24 saat dinlendirilen 3 adet Simmental ırkına ait 2 yaşında erkek sığırdan elde edilen boyun eti kullanılmıştır. Yağ materyali olarak sığırın kavram yağı kullanılmıştır. Et ve yağ ayrı ayrı 3 mm aynadan kıyma çekilmiş (AlveoRed 32, İzmir) ve dondurulmuştur. Et ve yağ, kullanılacağı zaman 4°C’de 12 saat bekletilerek çözündürülmüş ve bekletilmeden sucuk üretiminde kullanılmıştır.

3.1.2 Baharat, diğer katkı maddeleri, starter/biyokoruyucu kültür ve kılıf materyali

Üretimde Ankara piyasasından temin edilen aynı markanın aynı üretim tarihli baharat çeşitleri (acı kırmızı biber, tatlı kırmızı biber, karabiber, kimyon, yenibahar) ile sarımsak kullanılmıştır. Tuz (106404 Merck), dekstroz (108337 Millipore- Merck) ve sodyum nitrit (106549 Merck) analitik saflıkta kullanılmıştır.

Çalışmada koruyucu kültürler olarak *Lactobacillus sakei* (B2 SafePro®, CHR-Hansen) ve *Pediococcus acidilactici* (B-LC-20 SafePro®, CHR-Hansen) ve normal üretim için *Pediococcus pentosaceus* ve *Staphylococcus carnosus* (BFL-T03, CHR-Hansen) starter kültürleri kullanılmıştır.

Kılıf materyali olarak ise 38 mm çapında (kalibre) düz formda kolajen kılıf kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Sucuk üretimi

Sucuk üretimi, Çizelge 3.1’de verilen formülasyona göre ve şekil 3.1 ‘de belirtilen işlem basamaklarına uygun olarak Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Et İşleme Teknolojisi Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Donuk kıyma et ve yağ bir gece buzdolabında bekletilerek çözündürülmüştür. Et ve yağ karıştırılmış (%18 yağlı), 100 kg karışıma sırasıyla %2 tuz, %1.8 sarımsak (bir miktar su ile püre haline getirilmiştir), %1 tatlı kırmızı biber, %0.7 acı kırmızı biber, %0.8 kimyon, %0.6 karabiber, %0.2 yenibahar, %0.5 dekstroz ve %0.015 sodyum nitrit ilave edilerek mutfak tipi mikserde karıştırılmıştır. Sucuk hamuru dört gruba ayrılmış ve gruplardan biri startersiz kontrol grubunu (K) olarak ayrılmıştır. İkinci gruba normal starter kültür ilaveli grubu oluşturmak üzere *P.pentosaceus* ve *S.carnosus* starter kültür karışımı (S1), üçüncü gruba *L.sakei* koruyucu kültürü (S2) ve dördüncü gruba *P.acidilactici* koruyucu kültürü (S3) ilave edilmiştir. Starter kültürler %0.025 oranında (yaklaşık 10^6 adet/g) ilave edilmiştir. Her bir grup mutfak tipi kıyma makinasının (Bosch, Almanya) dolum aparatı kullanılarak 38 mm çapında kolajen kılıfa (100 ± 2 ’er g lık kangallar) doldurulmuştur. Bağlama işleminden sonra kangallar askılara asılarak sıcaklık, BN ve hava hızı ayarlı kabine (BİOGEN, Ankara) yerleştirilmiştir. Sucuklar 21-22°C’de, %90-92 bağıl nemde ve 0.8-1 m/s hava hızında 3 gün fermentasyona, 18-20°C’de, %80-90 bağıl nemde ve 0.5 m/s hava hızında 9 gün kurumaya bırakılarak 12 günde üretilmiştir. Sucuk üretimi 15’er gün ara ile 3 kez (tekerrür) yapılmış ve toplam 20 kg sucuk üretilmiştir. Mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve kimyasal analizler için örnekler üretimin başında (0. gün) ve 3., 6., 9. ve 12. günlerde alınmıştır.

Çizelge 3.1 Sucuk formülasyonu (100 kg et+yağ karışımı için)

İngrediyen/katkı maddesi	%
Tuz	2
Sarımsak	1.8
Tatlı Kırmızıbiber	1
Acı kırmızı biber	0.7
Kimyon	0.8
Karabiber	0.6
Yenibahar	0.2
Dekstroz	0.5
Sodyum Nitrit E 250 (Koruyucu)	0.015
Starter/koruyucu kültür	0.025

3.2.2 Analiz Yöntemleri

3.2.2.1 Mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analizler, AOAC (1998)'a göre yapılmıştır. Bu analizler için, kılıf materyali steril bıçak ve pens kullanılarak uzaklaştırılmış, 10 g sucuk, aseptik koşullarda steril torbaya aktararak 90 ml steril peptonlu tuzlu su (Maximum recovery diluent, MRD, Merck, Almanya) çözeltisi ile karıştırılmış ve Stomacher'de (Seward 400, London, UK), 230 rpm'de 2 dakika homojenize edilmiştir. Homojenattan MRD kullanılarak ardışık seyreltiler hazırlanmıştır. Uygun seyreltilerden alınan hacimler, plaklara aşağıda belirtilen besiyerlerine dökme (1 ml) ya da sürme/yayma (0.1 ml) yoluyla ilave edilerek uygun sıcaklık koşullarında inkübe edilmiştir. Paralel plaklarda yapılan adet/ g örnek sayım sonuçları $\log_{10}$ kob/g örnek olarak hesaplanmıştır.

Toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayımı: Uygun seyreltilerden ekim yapılan plaklara Plate Count Agar (PCA, Merck 1.05463) besiyeri yaklaşık 14 ml dökülmüş ve plaklar 28°C'de 3 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra oluşan tüm koloniler sayılmıştır.

Laktik asit bakteri (LAB) sayımı: Uygun seyreltilerden ekim yapılan plaklara De Man, Rogosa and Sharpe (MRS, Merck 1.10660) agar besiyeri çift kat dökülmüş (yaklaşık 20 ml) ve plaklar 28°C'de 3 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra oluşan krem rengi yuvarlak/mekik şeklindeki tüm koloniler sayılmıştır.

Koagulaz negatif kok (KNK) bakteri sayımı: Uygun seyreltilerden ekim yapılan plaklara Mannitol Salt Phenol Red (MSPR, Merck 1.05404) agar besiyeri yaklaşık 14 ml dökülmüş ve plaklar ile 37°C'de 48 saat inkübasyondan sonra oluşan zon oluşturmamış siyah koloniler sayılmıştır.

S. aureus sayımı: Plaklara Egg-yolk tellurit ilaveli Baird Parker Agar (BPA, Merck 1.05406) besiyeri yaklaşık 14 ml dökülmüş ve katılaşmış yüzeye sürme yöntemi ile ekim yapılmıştır. Plaklar 37°C'de 48 saat inkübasyondan sonra plak ortamında gelişen

yuvarlak, pürüzsüz, konveks, çevresinde berrak bir zon bulunan, 1.5-2.5 mm çapında siyah-gri parlak koloniler koagulaz pozitif stafilokok kolonileri olarak sayılmıştır. Kolonilerden 5 tanesi seçilerek katalaz testi uygulanmış, test pozitif olan kolonilerin sayısı, şüpheli kolonilerin sayısı ile çarpılıp, 100'e bölünerek katalaz pozitif *S.aureus* sayısı belirlenmiştir (ICMSF 1982).

Enterobacteria-E.coli sayımı: Uygun seyreltilerden ekim yapılan plaklara Chromocult TBX Agar (Merck 1.16122) yaklaşık 14 ml besiyeri dökülmüş ve plaklar 42°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra oluşan tipik koloniler sayılmıştır. Besiyeri bileşimindeki kromojen substrat 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide (X-β-D-glucuronide) *E. coli* 'deki β-D-glucuronidase enzimi ile bu substratı 5-bromo-4-chloro-3-indolyl ve β-D-glucuronide'e parçalaması sonucu oluşan mavi-yeşil renkli koloniler *E. coli* olarak sayılmıştır.

Enterococcus sayımı: Uygun seyreltilerden ekim yapılan plaklara Kanamisin Aesculin agar (Merck, Millipore 105222) besiyeri yaklaşık 14 ml dökülmüş ve 42°C'de 48 saat inkübasyondan sonra oluşan tipik koloniler sayılmıştır.

Maya ve küf sayımı: Plaklara Rose Bengal Chloramphenicol (RBC, Merck 1.00467) agar besiyeri dökülmüş ve katılaşmış yüzeye sürme yöntemi ile ekim yapılmıştır. Plaklar 25°C'de 5 gün inkübasyondan sonra tipik maya-küf kolonileri sayılmıştır.

3.2.2.2 Nem miktarı tayini

Kuru madde kapları, sıcaklığı 105 °C'ye ayarlanan etüvde en az iki saat tutularak sabit tartıma getirilmiştir. Desikatöre alınarak oda sıcaklığına soğutulmuş ve hassas terazide 0,0001g hassasiyetle darası alınan kuru madde kaplarına, homojen hale getirilmiş yaklaşık 5 g örnek 0,0001g hassasiyetle tartılmıştır. Örnekler aynı sıcaklıktaki etüvde yaklaşık 18 saat süreyle, sabit ağırlık elde edilinceye kadar kurutulmuştur. Kuru madde kapları desikatöre alınarak oda sıcaklığına soğutulmuş ve hassas olarak tartılmıştır. Nem miktarı, ağırlık kaybından yararlanılarak % olarak hesaplanmıştır (950.46 AOAC 2010).

3.2.2.3 Kül miktarı tayini

Kül miktarı için, darası alınan kül kapsülüne 2-3 g örnek tartılmış ve suyu uçurulan örnekler kül fırınında kademeli olarak yakılarak tamamen kül haline getirilmiş ve sabit ağırlığa gelen kap tartılmıştır. Meydana gelen ağırlık farkından % kül miktarı hesaplanmıştır (920.153, AOAC 2010).

3.2.2.4 Yağ miktarı tayini

Sucuk örneklerinin yağ miktarı Soxhlet yöntemine göre (991.36, AOAC 2010) ve çözgen olarak petrol eteri kullanılarak yapılmıştır. Suyu uçurulan örnekler kartuşlara alınarak, 200 ml petrol eteri ilave edilmiş ve Soxhlet düzeneğine yerleştirilmiştir. Yaklaşık 6-8 saat geri destilasyon yaptırılarak, ekstrakte edilen yağ miktarı hesaplama yolu ile % olarak belirlenmiştir.

3.2.2.5 Azot/Protein tayini

Örneklerin ham protein miktarları, Makro Kjeldahl Yöntemine göre (955.04, AOAC 2010) % azot (N) miktarı belirlenerek ve % protein miktarı, %N miktarı 6.25 faktörü ile çarpılarak hesaplanmıştır.

3.2.2.6 pH analizi

Ölçüm yapılmadan önce pH metre, pH 4, pH 7 ve pH 9 tampon (buffer) çözeltileri kullanılarak kalibre edilmiştir. Örneklerden 10'ar gram tartılarak 100 ml destile su eklenmiş ve homojenizatörde homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan örnekler manyetik çubuk eşliğinde, manyetik karıştırıcıda karıştırılırken pH metre probu daldırılmıştır. pH metre göstergesinde okunan değer kaydedilmiştir (Gökalp vd. 1993).

3.2.2.7 Renk ölçümü (L^* , a^* ve b^* değerleri)

Renk ölçüm cihazı (Minolta CR300 Reflectance Colorimeter, Osaka, Japonya) kullanılarak örneklerin yüzey renk değerleri (L^* aydınlık, a^* kırmızılık ve b^* sarılık) belirlenmiştir. Renk okumaları, sucuk dilimi kesit yüzeylerinden dört farklı noktadan yapılmış ve aritmetik ortalamaları alınarak hesaplanmıştır.

3.2.2.8 Tiyoarbiturik asit reaktif maddesi

Tiyoarbiturik asit reaktif maddesi (TBARM) analizi için, sucuk örneğinden 5 g, 50 ml'lik falkon tüp içerisine tartılmış ve 15 ml destile su ile ultra-turrax kullanılarak yüksek hızda 15 saniye homojenize edilmiştir. Örnek 2000xg'de 10 dakika santrifüjlendikten (Hermle Z326K, Almanya) sonra 1 ml süpernatant cam test tüpüne aktarılmış ve üzerine 2 ml TCA-TBA-HCl (%15 w/v TCA, %0.375 w/v TCA, 0.25 M HCl) reaktifinden katılarak renk gelişimi için kaynar su banyosunda (WNB 7-45, Memmert, Almanya) 15 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda tüpler hızla soğutulmuş ve 2000xg'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatantın absorbansı 531 nm dalga boyunda şahit çözeltiye (1 ml destile su ve 2 ml TCA-TBA-HCl reaktifi) karşı spektrofotometrede (Evolution 201, Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) okunmuştur. TBARM sayısı 1,1,3,3-tetra-etoksipropan (TEP) standardı kullanılarak çizilen kurve denkleminden mg MA (malondialdehit)/kg olarak hesaplanmıştır (Ahn vd. 1998).

3.2.2.9 Proteoliz indeksi

Proteoliz indeksi, Careri vd. (1993)'nın önerdiği yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Bu amaçla önce sucuk örneklerinin % azot miktarları Kjeldahl yöntemine göre (3.2.2.5) belirlenmiştir. Protein olmayan azot içeriğini belirlemek için, 10 g sucuk örneği, 90 ml destile su ile karıştırılmış, 1000 rpm'de ve 5°C'de 15 dakika santrifüjlenmiştir (Sigma 3K15 model, Almanya). Süpernatant, Whatman no.4 filtre kağıdından filtre edilmiş, 25 ml filtrat 25 ml %10 TCA çözeltisi ile karıştırılmış ve 30

dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra tekrar 1000 rpm’de ve 5°C’de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant Whatman no.4 kağıdından filte edilmiştir. Filtrattan 20 ml alınmış ve azot içeriği, Kjeldahl yöntemi ile (AOAC 2010) belirlenmiştir. Hesaplanan azot içeriği, 100 g ette protein olmayan azot miktarıdır. Proteoliz indeksi protein olmayan azotun, toplam azot miktarına bölünmesi ve 100 ile çarpılması ile hesaplanmıştır.

$$\text{Proteoliz indeksi} = \frac{\text{Protein olmayan azot \%} \times 100}{\text{Protein azotu \%}}$$

3.2.2.10 Duyusal analiz

Duyusal analizin amacı, farklı biyokoruyucu kültürlerin ve starter kültür karışımının, sucukların duyusal özelliklerini etkileyip etkilemediğini belirlemektir. Bu amaçla, 12 gün üretim sonunda çiğ ve pişmiş sucuk örnekleri renk, tat, koku, tekstür ve genel beğeni yönlerinden, EK 1’de yer alan duyusal değerlendirme formuna göre değerlendirilmiştir. Örnekler arası etkileşimi engellemek amacıyla panelistlerden kokuyu nötürlemek için su koklamaları, bir önceki örneğin tadını gidermek için ise tuzsuz galeta ve su tüketmeleri istenmiştir. Duyusal analizde 10 puanlık hedonik ölçek kullanılmıştır. Skalada en beğenilen özellik 10 puan, hiç beğenilmeyen özellik ise 1 puan olarak kabul edilmiştir. Panelistler bir oturumda; kontrol, S1, S2 ve S3 gruplarından 4 çiğ ve 4 pişmiş olmak üzere toplam 8 örnek değerlendirmişlerdir. Sucuk grupları, rastgele seçilen üç basamaklı sayılarla kodlanmıştır ve bu kodlar panelistlere sunulacak olan kapaklı küçük plastik kaplara etiketler yardımı ile yapıştırılmıştır. Sucuk örnekleri 4 mm kalınlığında kesilmiştir. Çiğ sucuk örnekleri doğrudan plastik kaplara konulurken pişmiş örnekler için ızgarada (SM606 Model, Kenwood, Çin) pişirme işlemi uygulanmıştır. Sucuk dilimlerinin bir tarafı 1 dakika 30 saniye pişirildikten sonra diğer tarafı çevrilerek 1 dakika daha pişirilmiş ve panelistlere ılık olarak sunulmuştur. Duyusal değerlendirme, havalandırılmış duyusal analiz laboratuvarında ve beyaz floresan ışık altında yapılmıştır.

3.2.2.11 İstatistik analiz

Üretim süresince 0., 3., 6., 9. ve 12. günlerde (zamanın 5 faktörü) ve K, S1, S2 ve S3 sucuk gruplarında (uygulamanın 4 faktörü) mikrobiyolojik, pH, renk, protein, proteoliz indeksi analizleri sonuçları değerlendirilmiştir. Duyusal değerlendirme üretimin sonunda, gruplar arası farklılığı belirlemek üzere yapılmıştır. Sonuçlara ait farklılık Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Analizlerde SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), Minitab 17 ve MSTAT-C istatistik paket programları kullanılmıştır. Çalışma, 3 tekerrür ve her tekerrürde analizler 2 paralel yapılmıştır. Sonuçlar 3 tekerrür “ortalama $\pm$ standart sapma” olarak verilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bakteriyosin üretme kabiliyetinde olan ve bu nedenle biyokoruyucu olarak kabul edilen *Lactobacillus sakei* ve *Pediococcus acidilactici* kültürlerinin sucuğun mikrobiyolojik kalitesine, bazı fizikokimyasal ve kimyasal özelliklerine etkileri üretim süresince, sucuğun duyuşsal özelliklerine etkisi ise üretimin sonunda belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar, normal starter kültürü (*Pediococcus pentosaceus* ve *Staphylococcus carnosus*) sucuk ve startersiz kontrol sucuk örnekleri ile karşılaştırılarak, aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir.

4.1 Mikrobiyolojik sonuçlar

4.1.1 Toplam aerob mezofil bakteri sayısı

Farklı biyoaktif starter kültürler kullanılarak hazırlanan sucukların üretim süresince toplam aerob mezofil bakteri (TAMB) sayılarındaki değişim şekil 4.1’de ve çizelge 4.1’de görülmektedir. Sucuklarda üretimin başında TAMB sayısı en düşük starter kültür içermeyen K örneklerde ($5.48 \log_{10}\text{kob/g}$) olmuştur. S1, S2 ve S3 örnekleri sırasıyla 7.05, 6.95 ve 6.77 $\log_{10}\text{kob/g}$ bulunmuştur. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre TAMB sayısı üzerine grup ve sürenin birlikte etkisi önemlidir ($P<0.05$) (Çizelge 4.1). Sucukların TAMB sayılarında en fazla artış 3. günde yani fermantasyon sürecinde gözlenmiş (Şekil 4.1) ve 0. ve 3. gün TAMB sayıları arasındaki fark önemli olmuştur ($P<0.05$). Üretimin 6. gününde de TAMB sayısı tüm gruplarda az da olsa artarken, 9. ve 12. günlerde azalış gözlenmiştir. Bu azalma ortama hakim olan LAB’nin diğer mikroorganizmalar üzerine inhibe edici etkisinden kaynaklanmaktadır. Ortamın asitliğe doğru değişmesi ve kurumaya bağlı olarak a_w değerinin düşmesi bu azalmanın nedenidir. Her bir analiz döneminde en düşük TAMB yüküne kültür içermeyen K örnekleri sahip olurken, diğer gruplarla aralarındaki fark önemlidir ($P<0.05$). Bununla birlikte üretim sonunda en yüksek TAMB yükü 9.16 ile S1 grubunda belirlenmiştir. Koruyucu kültür içeren örneklerin TAMB sayıları arasında önemli bir fark ($P>0.05$) gözlenmemiştir. Üretim sonunda TAMB sayıları ilk güne kıyasla önemli ölçüde artarak ortalama $8.78 \log_{10}\text{kob/g}$ ’a ulaştığı belirlenmiştir. En az TAMB sayısı K gurubunda

(8.22 log₁₀kob/g) sayılmıştır ve S3 grubu onu takip etmiştir (8.68 log₁₀kob/g). Sırasıyla 9.16 log₁₀kob/g ve 9.05 log₁₀kob/g olarak sayılan S1 ve S2 grupları arasındaki fark önemli değildir (P>0.05).

Çizelge 4.1 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuğun TAMB sayısına (log₁₀kob/g) etkisi

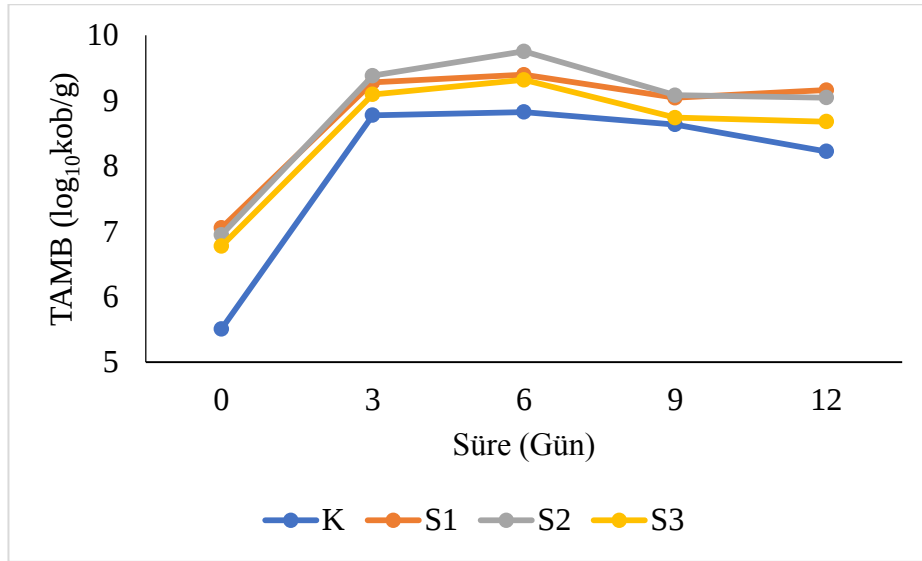
Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	5.48±0.20 ^{Aa}	8.78±0.24 ^{Ac}	8.83±0.06 ^{Ac}	8.63±0.12 ^{Ac}	8.22±0.07 ^{Ab}
S1	7.05±0.10 ^{Ba}	9.28±0.16 ^{Cb}	9.40±0.13 ^{Cc}	9.29±0.03 ^{Cb}	9.16±0.20 ^{Cb}
S2	6.95±0.32 ^{Ba}	9.38±0.17 ^{Cc}	9.75±0.35 ^{Dd}	9.08±0.11 ^{Bb}	9.05±0.16 ^{Cb}
S3	6.77±0.33 ^{Ba}	9.09±0.39 ^{Bc}	9.32±0.20 ^{Bd}	8.74±0.24 ^{Ab}	8.68±0.17 ^{Bb}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

Üretimin 9. ve 12. günlerinde gözlenen az miktardaki düşüş, ortama hakim olan LAB'nin diğer mikroorganizmalar üzerine inhibe edici etkisinden kaynaklanmaktadır. Ortamın asitliğe doğru değişmesi ve kurumaya bağlı olarak a_w değerinin düşmesi bu azalmanın nedenidir (Arslan ve Soyer 2018).



Şekil 4.1 Sucuk üretimi sırasında TAMB sayısındaki değişim

Hammadde ve diğer eklenen ingredientlerin başlangıç mikrobiyal yükü, starter/koruyucu kültür ilavesi ve fermentasyon sıcaklığı sucuktaki TAMB sayısını etkileyen başlıca faktörlerdir (Soyer 2002).

4.1.2 Laktik asit bakteri sayısı

Farklı starter/koruyucu kültür kullanılarak hazırlanan sucuklarda üretim sırasında LAB sayısındaki değişim çizelge 4.2’de ve şekil Şekil 4.2’de verilmiştir. Sucuk mikrobiotasında dominant organizmalar olan LAB, oluşturulan ortam ve starter kültür ilavesi ile ortama hakim olmaktadır. Sucukların LAB sayısına starter/koruyucu kültür ilavesi ve üretim süresinin birlikte etkisi önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Starter/koruyucu kültür ilavesinin etkisi 0. günden itibaren gözlenmiştir. Nitekim kültür ilave edilmeden üretilen kontrol örnekler en düşük LAB sayısına ($5.22 \log_{10}\text{kob/g}$), starter kültür ilave edilen S1, S2 ve S3 örnekler en yüksek LAB sayılarına sahip olmuşlar (sırasıyla 6.64, 6.68 ve $6.80 \log_{10}\text{kob/g}$) ve K örnekler ile starter/koruyucu kültür örnekleri arasındaki fark önemli ($P<0.05$) olmuştur. Uygulamanın etkisi üretimin 3., 6., 9 ve 12. günlerinde de etkili olmuş ve starter/koruyucu kültür içermeyen örneklerin LAB sayıları, diğer örneklerden önemli düzeyde ($P<0.05$) daha düşük bulunmuştur. LAB sayısı en fazla 3. ve 6. günlerde (sırasıyla 10.03 ve $10.14 \log_{10}\text{kob/g}$) *L. sakei* koruyucu kültür ilave edilen örneklerde belirlenmiştir. S1, S2 ve S3 gruplarının LAB sayıları arasındaki fark 3., 6. ve 9. günlerde önemli olurken ($P<0.05$), 12. günde S1 ve S2 örnekleri en yüksek LAB sayısına sahip olmuşlar ve aralarındaki fark önemsiz ($P>0.05$) olurken, S3 ve K ile aralarındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Sucukların LAB sayısındaki artışa üretim süresinin etkisi de önemlidir. En fazla artış beklendiği üzere 3. günde yani fermentasyonun en yoğun meydana geldiği dönemde meydana gelmiş, 6. günde de az da olsa bir artış, 9. ve 12. günlerde ise K, S1 ve S3 örneklerinde düşüşler gözlenmiştir. Fermentasyonun 3. gününde K örneklerinde 2.3 log düzeyi ile en az artış, S2 örneklerinde 3.35 log düzeyi ile en fazla artış gözlenmiştir.

Bunun yanı sıra, 0. gün S1 ($6.64 \log_{10}\text{kob/g}$), S2 ($6.68 \log_{10}\text{kob/g}$) ve S3 ($6.80 \log_{10}\text{kob/g}$) örneklerinin birbirine yakın LAB sayılarına sahip olmalarına karşın, 3., 6., 9. ve 12. günlerde S2’nin en yüksek LAB sayılarına sahip olduğu gözlenmiştir. Bu

durum *L. sakei*'nin sucuk ortamına adaptasyonunun *P. acidilactici*'den daha iyi olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni, 18-22 °C olan sucuk üretim sıcaklığının, optimum gelişme sıcaklığı 40 °C olan *P.acidilactici* (Ockerman ve Basu 2007) için düşük olması olabilir.

Çizelge 4.2 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuğun LAB sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	5.22±0.13 ^{Aa}	7.48±0.16 ^{Ab}	8.53±0.11 ^{Cd}	8.47±0.03 ^{Ad}	8.34±0.04 ^{Ac}
S1	6.64±0.08 ^{Ba}	9.31±0.15 ^{Bc}	9.48±0.04 ^{Bd}	9.30±0.14 ^{Cc}	9.11±0.27 ^{Cb}
S2	6.68±0.07 ^{Ba}	10.03±0.22 ^{Cd}	10.14±0.16 ^{Ad}	9.62±0.27 ^{Dc}	9.25±0.19 ^{Cb}
S3	6.80±0.23 ^{Ba}	9.46±0.18 ^{Bd}	9.53±0.10 ^{Bd}	9.02±0.03 ^{Bc}	8.86±0.08 ^{Bb}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

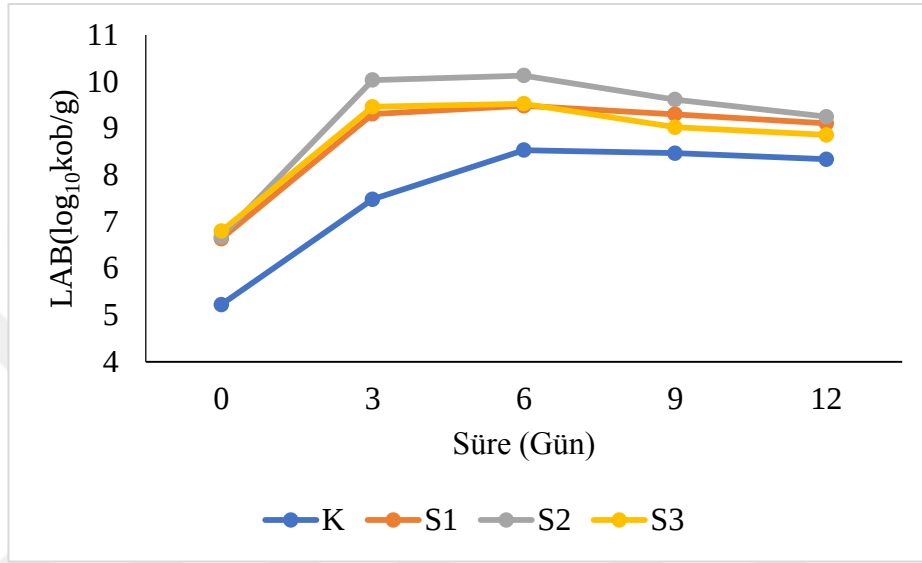
A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

Sucuklarda üretim boyunca TAMB ve LAB sayılarındaki değişim diğer çalışmalarla uyumludur (Soyer vd. 2005, Dalmış ve Soyer 2008, Arslan ve Soyer 2018). Rantsiou vd. (2005), bakteriosin üreten *L. sakei* inoküle ettikleri fermente sosislerde LAB sayısının hızla 10^8 - 10^9 kob/g düzeylerine arttığını ve fermentasyon sırasında stabil kaldığını ifade etmişlerdir. Öz vd. (2018), sucuğa 10^7 kob/g düzeyinde *P.acidilactici* S147 suşu ilave ettikleri çalışmalarında, LAB sayısının 7.66 $\log_{10}$ kob/g'dan 24 saat fermentasyondan sonra 8.85 $\log_{10}$ kob/g düzeyine arttığını bildirmişlerdir. Starter kültür kullanılarak üretilen sucuklarda LAB gelişme hızı olgunlaşma evresinde ilk 3 gün en hızlıdır (Kaya ve Gökalp 2005).

Pediococcus acidilactici, *Lactobacillus curvatus*, *Staphylococcus xylosus* karışımı ve *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus* bakteri karışımından oluşan kültürlerle hazırlanan sucuklarda, starter kültür ve olgunlaşma süresinin LAB sayısını etkilediği bulunmuştur (Kaban ve Kaya 2006).

Farklı starter kültürlerin karışımları ile üretilen fermente sosislerde ilk gün LAB sayısı 3.07 ile 7.11 log₁₀kob/g arasından değişiklik gösterirken, bu sayı üretimin 21. gününde 6.41 ile 9.18 log₁₀kob/g arasında değişim göstermiştir. LAB sayısındaki bu değişimin, sosis pH değerlerindeki değişim ile uyumlu olduğu bildirilmiştir. Fermente sosislerde asit düzeyinin



Şekil 4.2 Sucuk üretimi sırasında LAB sayısındaki değişim

hızlıca artması, *L. sakei*, *S. xylosus*, *S. carnosus*, *L. sakei* + *S. carnosus*, ve *P. pentosaceus* + *S. xylosus* starter kültürlerini içeren ürünlerdeki LAB gelişiminin bir sonucudur (Aro Aro vd. 2010).

4.1.3 Kuagülaz negatif kok sayısı

Sucuklarda KNK sayılarına starter/koruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları çizelge 4.3’de ve değişim şekil 4.3’de gösterilmektedir. Sucuk hamurunda (0. gün) K, S1, S2 ve S3 örneklerinde KNK sayıları sırasıyla 4.17, 6.86, 4.30 ve 4.21 log₁₀kob/g olarak belirlenmiştir. S1 örneklerinde KNK sayısının diğer gruplardan önemli düzeyde ($P<0.05$) yüksek olma nedeni, starter kültürlerden birinin *S. carnosus* yani koagülaz negatif koklardan oluşmasıdır. KNK sayıları 3. güne kadar tüm gruplarda artarken, 6. günden itibaren starter/koruyucu kültür

ilaveli örneklerde azalma göstermiştir. En yüksek KNK sayısına sahip S1 örneklerinde analiz periyotları arasında 9. güne kadar önemli bir farklılık ($P>0.05$) saptanmazken, 12. gün KNK sayısı ile diğer günler arasındaki fark önemli ($P<0.05$) olmuştur. Üretimin sonunda, S2 ve S3 gruplarındaki KNK sayıları arasındaki fark önemli değilken ($P>0.05$), K, S1, S2 ve S3 sayıları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Üretimin sonunda önceki analiz dönemlerine göre azalmasına karşın en yüksek KNK sayısına *P. pentosaceus*/*S. carnosus* karışımı ilave edilen sucuk örnekleri ($6.37 \log_{10}\text{kob/g}$), en düşük sayılara ise sırasıyla *P. acidilactici* ($4.22 \log_{10}\text{kob/g}$) ve *L.sakei* ($3.97 \log_{10}\text{kob/g}$) koruyucu kültür ilave edilen örnekler sahip olmuşlardır.

Çizelge 4.3 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuğun KNK sayısına ($\log_{10}\text{kob/g}$) etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	4.17 ± 0.02^{Aa}	5.35 ± 0.99^{Ab}	5.71 ± 0.97^{Cd}	5.77 ± 1.14^{Bd}	5.57 ± 1.03^{Bbc}
S1	6.86 ± 0.13^{Bb}	7.00 ± 0.12^{Bb}	6.90 ± 0.06^{Db}	6.85 ± 0.14^{Cb}	6.37 ± 0.38^{Ca}
S2	4.30 ± 0.15^{Ab}	4.88 ± 0.17^{Ad}	4.68 ± 0.15^{Ac}	4.31 ± 0.14^{Ab}	3.97 ± 1.12^{Aa}
S3	4.21 ± 0.09^{Aa}	5.14 ± 0.16^{Ad}	4.93 ± 0.26^{Bc}	4.43 ± 0.16^{Ab}	4.22 ± 0.07^{Aa}

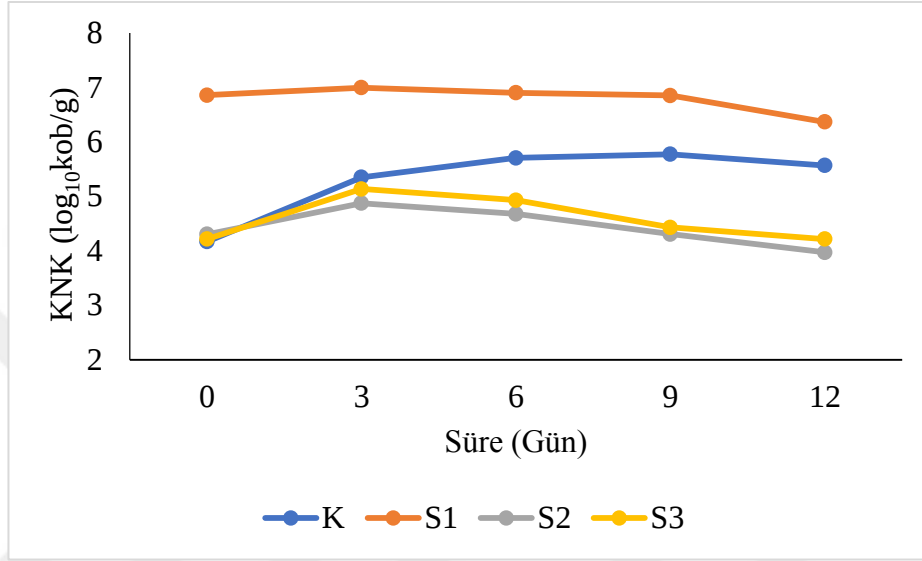
*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması $\pm$ standart sapması olarak verilmiştir

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

Fermantasyon boyunca KNK sayılarında artış olması, bu mikroorganizmaların LAB ile rekabet edebilmesiyle ilişkilidir. Fakat fermantasyonun ilerleyen günlerinde pH'ın düşmesi ve kuruma KNK'ların inhibe olmasına ve sayılarının azalmasına neden olmaktadır. Mikrokok/Stafilokok bakteriler, asidik ve anaerobik şartlardan etkilenirler ve olgunlaşma sürecinde sayılarında azalma meydana gelir (Aksu ve Kaya 2004, Kaban ve Kaya 2006). Fermente et ürünlerinde LAB'den sonra ikinci dominant mikroorganizmalar olan KNK organizmaları hem mikrokokları hem de koagülaz negatif stafilokokları içerirler (Aquilanti vd. 2016). Fermente et ürünlerinde KNK başlıca renk gelişiminden ve stabilizasyonundan, lipolitik ve proteolitik değişimlerden sorumludur (Talon vd. 2004, Iacumin vd. 2006, Talon ve Leroy 2006, Kamiloğlu vd. 2016).

Bir çalışmada, antimikrobiyel *S. sciuri* ve *L. sakei* iCTC 494 ile fermente edilen sosislerde KNK sayıları maksimum 10^7 ve 10^8 kob/g' ulaşp devam eden süreçte ise 10^6 kob/g'ın altına düşmeyecek şekilde azalmıştır. Bu durum kullanılan fermentatif starter kültür *L. Sakei*'nin, KNK'ları fermantasyon boyunca baskıladığını göstermektedir (Mainar vd. 2016).



Şekil 4.3 Sucuk üretimi sırasında KNK sayısındaki değişim

Talon vd (2007), Fransız usulü fermente sosislerin hammadde, çevre ve işleme materyali ve daha sonrasında ise fermantasyon ve depolama boyunca değişen mikroflorasını incelemişlerdir. Bu çalışmada, geleneksel fermantasyon yöntemi ile elde edilen sosislerde KNK'ların ortama hakim ikinci grup olduğu belirtilmiştir. Başlangıçta 3.1 ile 4.4 $\log_{10}$ kob/g olan sayının olgunlaşma sonunda 6-8 $\log_{10}$ kob/g'a ulaştığı gözlemlenmiştir. KNK'lar bazen fermantasyon boyunca gelişme göstererek 10^6 - 10^8 kob/g' a ulaşabilir ya da olgunlaşma süresince de gelişmelerini sürdürebilirler (Talon vd. 2007).

4.1.4 Enterokok Sayısı

Enterokoklar, et ve süt ürünlerinin fermantasyonu sırasında canlı kalabilir ve çoğalabilirler. Özellikle ortamda rekabet edecekleri starter kültürler olmadığında daha

kolay çoğalırlar (Hugas vd. 2003, Zdolec vd. 2008). Yapılan varyans analizi sonucunda sürenin ve kültürlerin *Enterococcus* sayısı üzerine etkisi olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Sucuk hamurunda enterokok sayısı 2.40-4.18 $\log_{10}\text{kob/g}$ arasında değişmiş, özellikle *P. acidilactici* starter kültürü içeren örnekler (S3) en yüksek sayıya, *L. sakei* içeren örnekler (S2) ise en düşük sayıya sahip olmuştur. Üretimin 3. ve 6. günlerinde K, S2 ve S3 örneklerinin enterokok sayılarında artış gözlenirken, S1 örneklerinde 3. günden sonra azalış gözlenmiştir (Şekil 4.4). Üretim sonunda en yüksek enterokok sayıları K (6.37 $\log_{10}\text{kob/g}$) ve S3 (4.28 $\log_{10}\text{kob/g}$) örneklerinde belirlenmiş ve birbirleri ve diğer gruplar ile aralarındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. *P. acidilactici* inoküle edilen örneklerde yüksek enterokok sayısı, bu organizmaların enterokokların gelişimini teşvik ettiğini göstermiştir. *L.sakei* inokülasyonu ise enterokokların sayısında önemli düzeyde azalmaya neden olmuş ($P<0.05$) ve üretimin sonunda 2.28 $\log_{10}\text{kob/g}$ ile en düşük sayı bu örneklerde belirlenmiştir.

Çizelge 4.4 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuğun enterokok sayısına ($\log_{10}\text{kob/g}$) etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	4.48±0.21 ^{Ac}	4.68±0.26 ^{Ab}	4.79±0.22 ^{Bb}	5.90±0.11 ^{Aab}	6.37±0.36 ^{Aa}
S1	3.49±0.40 ^{Aa}	4.35±0.44 ^{Ba}	4.04±0.55 ^{Cab}	3.79±0.45 ^{Cb}	3.51±0.38 ^{Cb}
S2	2.40±0.16 ^{Bb}	3.19±0.17 ^{Ca}	3.30±0.25 ^{Da}	2.68±0.21 ^{Db}	2.28±0.20 ^{Db}
S3	4.18±0.47 ^{Aab}	4.63±0.32 ^{Aab}	5.01±0.30 ^{Aa}	4.87±0.41 ^{Ba}	4.28±0.54 ^{Bb}

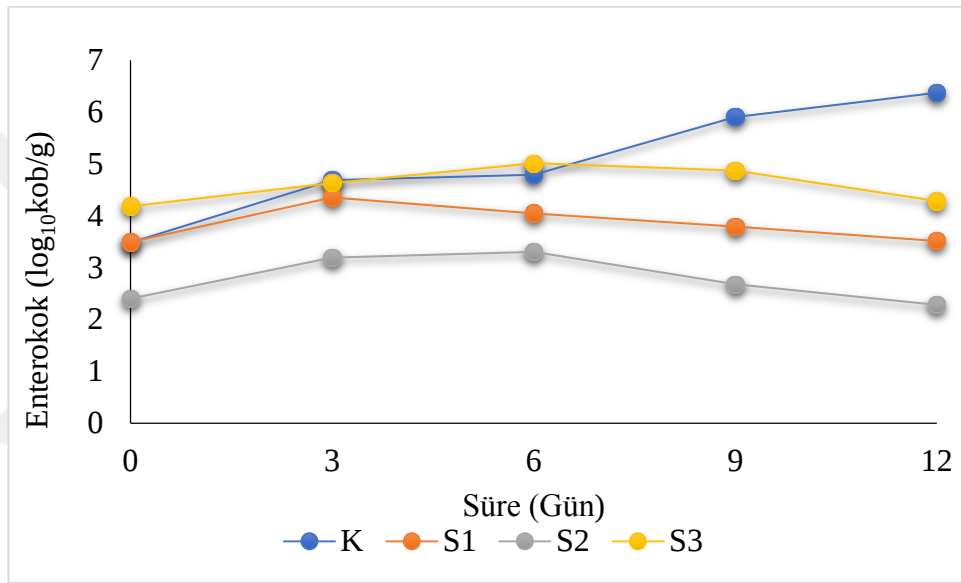
*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

Literatürde bildirildiği gibi, et fermentasyonunda enterokokların varlığı sabittir. GRAS olarak değerlendirilmeleri hala tartışmalıdır (Talon vd. 2007). Ancak, son çalışmalar, gıda ve et enterokoklarının, özellikle *Enterococcus faecium*'un klinik suşlardan çok daha düşük bir patojenite potansiyeline sahip olduğuna işaret etmektedir. Enterokoklar, fermente et ürünlerinde diğer mikroorganizmalara göre rekabet üstünlüğüne sahiptir. Sosislerden izole edilen birçok enterokok, et patojenlerine ve bozulmaya neden olan mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösteren enteroksin (*E. faecium* tarafından üretilen bakteriyosin) üretme kabiliyetine sahiptir (Hugas vd. 2003).

Enterokoklar fermente et ürünlerinde kontaminasyon durumuna göre önemli sayılarda bulunabilmektedirler. Avrupa’da üretilen fermente sosislerde enterokok sayıları 1.9 ile 6.9 $\log_{10}\text{kob/g}$ arasında değişmektedir (Gounadaki vd. 2008, Ferreira vd. 2006). Enterokoklar, özellikle starter kültür içermeyen fermente et ürünlerinde canlı kalabilmekte ve çoğalabilmektedirler (Giraffa 2002). Enterokoklar, et ve süt ürünlerinin fermantasyonu sırasında canlı kalabilir ve çoğalabilirler. Özellikle ortamda rekabet edecekleri starter kültürler olmadığında daha kolay çoğalırlar (Hugas vd. 2003, Zdolec vd. 2008). Enterokoklar genellikle



Şekil 4.4 Sucuk üretimi sırasında Enterokok sayısındaki değişim

fermantasyonun başlarında gelişme göstermekte ve sonrasında sayıları sabitlenmektedir. Fermantasyon prosesinin sonlarında sayıları 4-6 $\log_{10}\text{kob/g}$ 'a kadar ulaşabilmektedir. Enterokoklar ortam asitliğe doğru değiştikçe rekabet güçleri zayıflar. Bu nedenle genellikle yüksek pH'lı geleneksel sosislerde hayatta kalma ve çoğalma için elverişli koşullar bulurlar (Lopez vd. 2004, Talon vd. 2007). Montel (2000), Akdeniz kuru sosislerinde üretim sonunda enterokok sayılarının 4 $\log_{10}\text{kob/g}$ düzeylerine ulaştığını bildirmiştir. Lopez vd. (2004) ise, farklı starter kültürlerle üretilen Akdeniz fermente kuru sosislerinde, üretimin başında enterokok sayılarının 3.12- 4.20 $\log_{10}\text{kob/g}$ aralığında değiştiğini, 15 gün üretim sonunda ise 3.49-4.50 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Asitliği düşük sosislerde enterokokların rekabet edemediği ve

sayılarının azaldığı gözlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile literatür sonuçları birbirini desteklemektedir.

4.1.5 *Enterobacteriaceae* sayısı

Sucuklarda üretim boyunca belirlenen *Enterobacteriaceae* sayısındaki değişim çizelge 4.5’de verilmiştir. Fermantasyon ve kuruma süresince sucuklarda *Enterobacteriaceae* sayıları giderek azalmış ve starter/koruyucu kültür inoküle edilen sucuklarda daha fazla azalma gözlenmiştir. *Enterobacteriaceae* sayısına uygulama ve sürenin birlikte etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Üretimin başında farklı sucuk örneklerinde *Enterobacteriaceae* sayısı 4.03-3.53 $\log_{10}$ kob/g aralığında değişmiş ve gruplar arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir ($P>0.05$). Sucuk örneklerinde sürenin etkisi 3. günden sonra gözlenmiş ve asitlik artışına bağlı olarak eğilim, özellikle starter/koruyucu kültür ilave edilen sucuklarda daha fazla olmak üzere *Enterobacteriaceae* sayısında azalma yönünde değişmiştir (Şekil 4.5). Starter/koruyucu kültür ilavesinin etkisi de 3. günde ortaya çıkmış ve en fazla azalma S1 ve S2 örneklerde olmuş ve K ve S3 grupları ile aralarındaki fark önemli ($P<0.05$) düzeyde düşük bulunmuştur. Üretimin 6. ve 9. günlerinde en yüksek *Enterobacteriaceae* yükü K örneklerinde, en düşük S1, S2 ve S3 örneklerinde belirlenmiştir. *Enterobacteriaceae* sayısı üretimin sonunda en yüksek starter/koruyucu kültür içermeyen K örneklerde (2.82 $\log_{10}$ kob/g), en düşük starter/koruyucu kültür içeren S1, S2 ve S3 örneklerinde (sırasıyla 1.33, 1.45 ve 1.89 $\log_{10}$ kob/g) belirlenmiştir. Üretim sonunda, S1 ve S2 örneklerinin *Enterobacteriaceae* sayıları arasındaki fark önemli olmazken ($P>0.05$), bu gruplarla K ve S3 grupları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.5 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta *Enterobacteriaceae* sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi

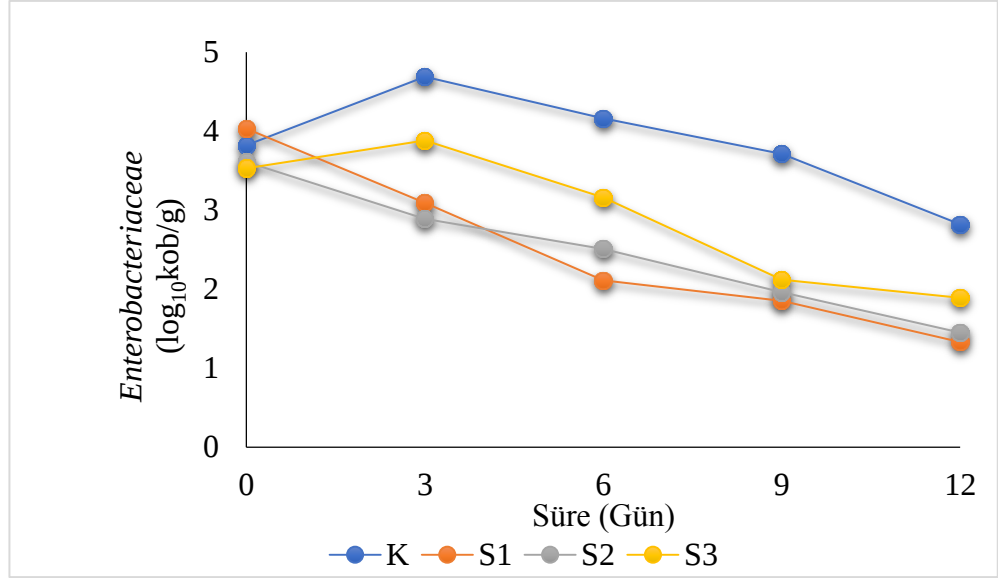
Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	3.82±0.73 ^{Ab}	4.66±0.36 ^{Aa}	4.16±0.18 ^{Ab}	3.71±0.48 ^{Ac}	2.82±0.50 ^{Ac}
S1	4.03±0.62 ^{Aa}	3.09±0.31 ^{Cb}	2.11±0.53 ^{Dc}	1.85±0.64 ^{Bc}	1.33±0.46 ^{Cd}
S2	3.61±0.14 ^{Aa}	2.89±0.09 ^{Cb}	2.51±0.35 ^{Cc}	1.96±0.25 ^{Bd}	1.45±0.63 ^{Ce}
S3	3.53±0.28 ^{Aa}	3.88±0.04 ^{Ba}	3.16±0.31 ^{Bb}	2.12±0.43 ^{Bc}	1.89±0.41 ^{Bc}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

Enterobacteriaceae, asidik ortama ve düşük su aktivitesine karşı direnci olamayan ve fermente et ürünlerinde olgunlaşma sürecinde elimine edilen mikroorganizma grubudur (Lorenzo vd. 2014, Wang vd. 2019). *L. sakei*, *L.sakei* + *S.xylosus*, *L.sakei* + *S.xylosus* + *S.carnosus* inoküle edilerek ve starter inoküle edilmeden üretilen koyun fermente sosislerinde *Enterobacteriaceae* sayısının 12 gün üretim sırasında kademeli olarak azaldığı ve bu azalmanın en fazla starter inoküle edilen örneklerde olduğu diğer araştırmacılar tarafından da ifade edilmiştir (Arslan ve Soyer 2018, Wang vd. 2019). Benzer şekilde Kaban ve Kaya (2009) da, *L. plantarum* ve *S. xylosus* kültürlerinin faaliyetleri sonucu ilk gün 10^3 kob/g olan *Enterobacteriaceae* sayısının 3. günden ve kontrol grubunda ise 7. günden sonra sayılabilir seviyenin altına düştüğünü belirlemişlerdir. Sucuk gibi kuru fermente et ürünlerinde düşük *Enterobacteriaceae* sayısı ürünün mikrobiyal kalitesinin ve güvenilirliğinin bir göstergesidir (Lu vd. 2010, Ma vd. 2015). Farklı starter kültür (*L. plantarum*) kullanılarak hazırlanan sucuklarda *Enterobacteriaceae* sayısında önemli ölçüde düşüş gözlenmekte olup 3. günden sonra sayılarının $2 \log_{10}$ kob/g'dan daha az olduğu (Kamiloğlu vd. 2019) ve benzer olarak *L. plantarum*, *L. sakei* ve *P. acidilactici* kültürlerinin kullanıldığı sucuklarda 3. günden sonra *Enterobacteriaceae* sayısının saptanabilir düzeyin altında olduğu belirtilmiştir (Kaya ve Gökarp 2005).



Şekil 4.5 Sucuk üretimi sırasında *Enterobacteriaceae* sayısındaki değişim

Enterobacteriaceae familyasının üyeleri olan bakteriler, fermente et ürünlerinde istenmeyen histamin, kadaverin ve putresin gibi biyojenik aminlerin oluşumunda rol oynamaktadırlar ve bu nedenle bu tip ürünlerinde sayılarının azalması önemli olmaktadır (Genççelep vd. 2007, Ma vd. 2015).

4.1.6 *Escherichia coli* Sayısı

Fermente sucuklarda farklı starter/koruyucu kültür ve üretim süresinin *E. coli* sayısı üzerine etkisini gösteren Duncan sonuçları çizelge 4.6'da verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonucu uygulama x süre etkileşiminin önemli ($P < 0.05$) olduğunu göstermiştir. Sucuk hamurunda, *E.coli* sayısı 2.24-2.75 $\log_{10}$ kob/g aralığında değişmiş ve starter/koruyucu kültür inokülasyonunun etkisi ilk günden etkisini göstermiştir. Kültür inoküle edilmeyen K örnekler 0. gün ve diğer günlerde inoküle edilen örneklerden önemli düzeyde ($P < 0.05$) yüksek *E. coli* yüküne sahip olmuşlardır. *L. sakei* ve *P. acidilactici* koruyucu kültür inoküle edilen örnekler 6. günden itibaren benzer düzeylerde düşük *E.coli* sayıları içermişler ve diğer gruplarla aralarındaki fark önemli düzeylerde ($P < 0.05$) bulunmuştur. Ticari starter kültür ile karşılaştırıldığında (S1), *E.coli* inhibisyonunu koruyucu kültür ilavesi daha fazla azaltmıştır (Şekil 4.6).

Çizelge 4.6 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta *E.coli* sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	2.75±0.15 ^{Ab}	3.69±0.27 ^{Aa}	3.73±0.21 ^{Aa}	2.80±0.10 ^{Ab}	2.21±0.11 ^{Ac}
S1	2.57±0.03 ^{Ba}	2.45±0.07 ^{Ba}	2.07±0.17 ^{Bb}	1.53±0.35 ^{Bc}	1.18±0.14 ^{Bd}
S2	2.46±0.16 ^{BCa}	2.50±0.14 ^{Ba}	1.42±0.12 ^{Cb}	0.96±0.16 ^{Cc}	0.79±0.22 ^{Cc}
S3	2.24±0.04 ^{Ca}	2.18±0.13 ^{Ca}	1.58±0.07 ^{Cb}	1.07±0.12 ^{Cc}	0.70±0.01 ^{Cd}

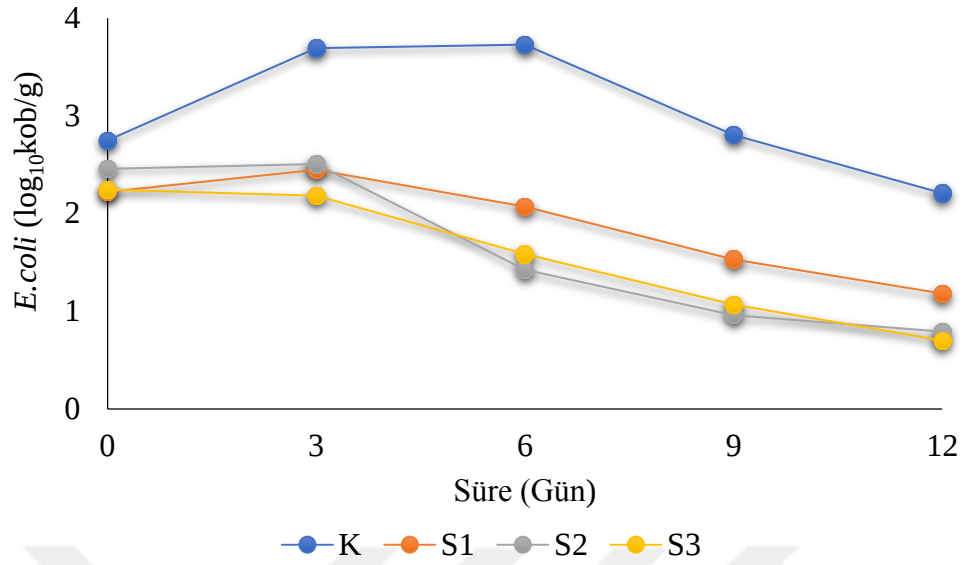
*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

E. coli, aside karşı direnç mekanizması sayesinde düşük pH değerine sahip ortamlara uyum sağlayarak canlılığını koruyabilmektedir. *S. carnosus*, *S. xylosus*, ve *L. curvatus* kültürleri kullanılarak hazırlanan sucuklarda aside karşı dirençli olduğu bilinen *E. coli* türleri varlıklarını sürdürebilmişlerdir (Öztürk ve Halkman 2015).

Gi-Seong vd. (2002), *Pediococcus acidilactici* K10'un in vitro şartlarda *E.coli* O157:H7 inhibisyonu için tek başına yeterli olmadığını ancak; laktik, süksinik ve asetik asit gibi organik asitlerin varlığında önemli düzeyde inhibisyon etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde in vivo ortamlarda yapılan araştırmalarda ise kıyma ete inoküle edilen *E.coli* O157:H7'nin *P.acidilactici* ve laktik asit ile beraber uygulaması sonucu 2.8 log birim azalma



Şekil 4.6 Sucuk üretimi sırasında *E. coli* sayısındaki değişim

gözlemlenmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda kullandığımız *P. acidilactici* koruyucu kültürün oluşturduğu laktik asit ortamında *E.coli* inhibisyonu gözlenmiştir.

Lopez vd. (2004), 6 farklı fermente sosiste üretimin başında *Enterobacteriaceae* sayısını ortalama 3.31 log₁₀kob/g olduğunu, 7 gün olgunlaştırma sonrası sayının yaklaşık 1 log düzeyine düştüğünü, 15 gün sonra ise 1 log₁₀kob/g'un altına düştüğünü bildirmişlerdir. Koliform ve *E.coli* sayıları üretimin başında sırasıyla 3.09 ve 1.80 log₁₀kob/g bulunmuştur. Üretimin 7. gününde birçok üründe sayıları süratle azalmış ve 1 log₁₀kob/g nin altına düşmüştür. Üretimin sonunda sadece iki sosiste koliform sayısı 1 log₁₀kob/g düzeyinde saptanırken, hiçbir üründe *E.coli* saptanmamıştır.

Araştırmacılar, koliform ve *E.coli*'yi de kapsayan *Enterobacteriaceae* popülasyonunda en fazla düşüşün olgunlaşma sürecinde gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Bu düşüşün en önemli nedeni, özellikle fermentasyon sürecinde meydana gelen pH düşüşüdür (Bello ve Sánchez-Fuertes 1995). Papamanoli vd. (2003), fermente et ürünlerinde düşük *Enterobacteriaceae* sayısının düşük pH ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Laktik asit konsantrasyonundaki artış, pH düşüşünün nedenidir.

Enterobacteriaceae ve *E.coli* hijyenik kalite ile ilişkilendirilen organizmalardır. Sucukta pH düşüşü ve kuruma ile birlikte rekabet edememekte ve sayıları azalmaktadır (Castano vd. 2002). Ancak spontane fermantasyonla yapılan üretimlerde (K örneği gibi), sayılarındaki azalma daha yavaş olmaktadır. Kaban ve Kaya (2009), geleneksel sucuklarda ortama laktik asit bakterilerinin hakim olmasıyla ($\sim 8 \log_{10}$ kob/g LAB) *Enterobacteriaceae* sayısının önemli düzeylerde azaldığını bildirmişlerdir. Wang vd. (2013, 2015) çalışmamızdaki bulgulara benzer şekilde fermente sosislerde starter kültür ve *L.sakei* biyokoruyucu kültür ilavesinin *Enterobacteriaceae* ve *E.coli* sayısında önemli azalmalara neden olduklarını belirtmişlerdir. Arslan ve Soyer (2018) de benzer şekilde, fermente sucuklarda başlangıçta yüksek olan *Enterobacteriaceae* sayısının üretim sonunda önemli düzeyde azaldığını bildirmiştir.

4.1.7 *Staphylococcus aureus*

Sucuklara farklı starter/koruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin *S. aureus* sayısı üzerine etkisi çizelge 4.7’de görülmektedir. Üretimin başında *S.aureus* sayısı en düşük *P.acidilactici* inoküle edilen örnekte, en yüksek starter içermeyen kontrol örnekte olmak üzere $2.86-3.60 \log_{10}$ kob/g arasında değişmiş ve S3 grubu ile K grubu arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Starter içeren S1 örneğinde ve biyokoruyucu kültür içeren S2 ve S3 örneklerinde fermantasyon sırasında *S.aureus* sayısında önemli düşüşler gözlenmiş, buna karşın kültür içermeyen K örneklerde sayı (3.60 ’dan $4.10 \log_{10}$ kob/g’ye) artmıştır. Üretimin her aşamasında K örneklerin *S. aureus* sayısı diğer örneklerden önemli düzeyde ($P<0.05$) daha yüksek bulunmuştur. *L.sakei* koruyucu kültürü inoküle edilen örneklerde *S.aureus* inhibisyonu daha fazla olmuştur. Üretimin sonunda en düşük sayılar sırasıyla S2 ($1.02 \log_{10}$ kob/g), S3 ($1.21 \log_{10}$ kob/g) ve S1 ($1.92 \log_{10}$ kob/g) örneklerinde belirlenmiştir. Diğer yandan starter kültür içermeyen kontrol örneklerde *S.aureus* sayısı üretim boyunca diğer örneklerden önemli düzeyde yüksek ($P<0.05$) bulunmuştur. Son gün sayımlarında, K grubundaki *S. aureus* sayısı, biyoaktif starter kültür kullanılan sucuk gruplarının 2 katı kadar fazla bulunmuştur. Bunun anlamı LAB sayısının yeterli düzeyde olmaması ve yüksek pH ortamının *S.aureus* gelişimini teşvik etmesidir. Nitekim Kaban ve Kaya (2006), starter kültür içermeyen örneklerde pH değerinin yavaş düşmesinin, *S.aureus* çoğalması için uygun

ortam oluşturduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, *S.aureus* inhibisyonunun *L.sakei* ve *P.acidilactici* inokülasyonu ile daha iyi sağlandığını, ticari starter kültürlerin (S1) tek başına yeterli bir inhibisyon sağlamadığını göstermiştir. Fermente sucukta süreye bağlı olarak tüm grupların *S.aureus* sayısında önemli düzeyde azalmalar ($P<0.05$) gözlenmiştir. Özellikle S1 ve S2 gruplarında meydana gelen azalma her bir analiz döneminde önemli ($P<0.05$) bulunmuştur (Şekil 4.7).

Çizelge 4.7 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta *S.aureus* sayısına ($\log_{10}$ kob/g) etkisi

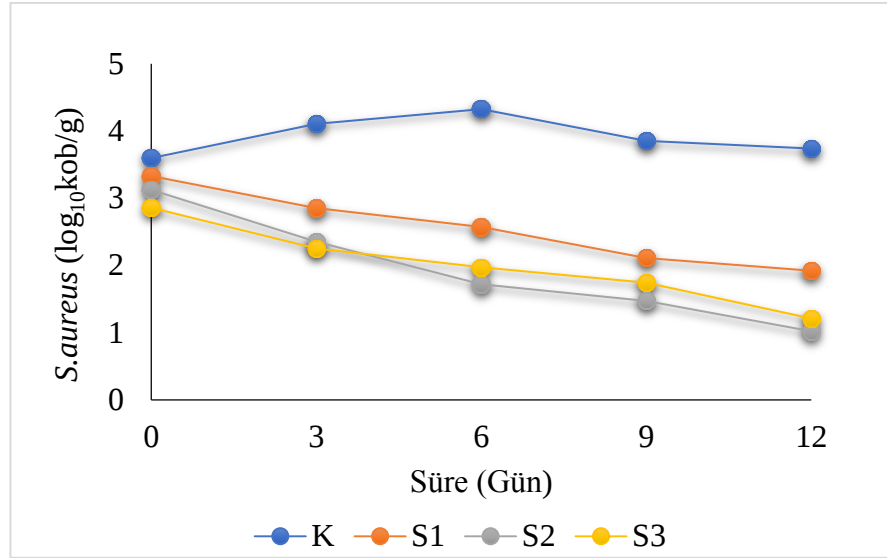
Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	3.60±0.31 ^{Ac}	4.10±0.40 ^{Aab}	4.33±0.44 ^{Aa}	3.85±0.25 ^{Abc}	3.74±0.15 ^{Ac}
S1	3.33±0.40 ^{ABa}	2.85±0.45 ^{Bb}	2.35±0.18 ^{Bc}	2.11±0.11 ^{Bd}	1.92±0.13 ^{Be}
S2	3.12±0.30 ^{ABa}	2.35±0.09 ^{Cb}	1.72±0.45 ^{Cc}	1.47±0.18 ^{Dd}	1.02±0.18 ^{De}
S3	2.86±0.09 ^{Ba}	2.25±0.09 ^{Cb}	1.97±0.42 ^{Cbc}	1.74±0.23 ^{Cc}	1.21±0.10 ^{Cd}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-D: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

a-e: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

S. aureus fermente et ürünlerinde de varlığını gösterebilen, gıda kaynaklı bir patojendir. Perakende ürün araştırmaları, sucuklarda *S. aureus* ile sıklıkla karşılaşıldığını göstermektedir. Fermentasyon sıcaklığı 30-40°C olan kuru ya da yarı kuru fermente et ürünleri, *S. aureus* gelişimi için oldukça elverişlidir. Fermentasyon sürecinin ilk günleri pH, su aktivitesi ve değişen mikrobiyal flora nedeniyle önemlidir (Kaban ve Kaya 2006).



Şekil 4.7 Sucuk üretimi sırasında *S. aureus* sayısındaki değişim

Koagulaz pozitif stafilokok bakterisi *S. aureus*, yüksek tuz konsantrasyonlarını tolere edebilir ve 0.86 a_w değerlerine kadar gelişebilir. Çoğalma için gerek duyduğu sıcaklık aralığı 7-48 °C olup, optimum gelişme sıcaklığı 37 °C'dir. pH isteği 4-10 aralığı, optimum 6-7 pH aralığıdır. *S. aureus* fermente sosislerde sıklıkla bulunur. Fakat sayısı, hastalık etmeni enterotoksin üretemeyecek kadar düşüktür. *S. aureus*, tuz ve nitriti tolere edebilirken, düşük pH, düşük sıcaklık ve anaerobik koşullarda rekabetçi değildir (Holck vd. 2017). Laktik asit bakterileri koagulaz pozitif stafilokoklar için rekabetçi florayı oluştururlar. Bu nedenle ortamda yüksek sayıda laktik asit bakterilerinin bulunması bu mikroorganizmaların inhibisyonu için önemlidir (Pullen ve Genigeorgis 1977).

Stafilokokkal enterotoksinlerin oluşması için gerekli ortamlar; (i) başlangıç hamurda yüksek *Staphylococcus aureus* sayısı, (ii) düşük LAB sayısı, (iii) yüksek pH, (iv) yüksek su aktivitesi ve (v) düşük tuz konsantrasyonudur. Et ürünlerine *S. aureus* kontaminasyonu; çevre, ekipman, çiğ materyal ve personelden kaynaklanmaktadır (Pullen ve Genigeorgis 1977, Smith ve Palumbo 1978). Çalışmamızda starter içermeyen kontrol örneklerde yüksek sayıda bulunması ürün için risktir. *L. sakei* ve *P. acidilactici* koruyucu kültürlerin oluşturduğu düşük pH ortamı, hızlı kuruma ve bakteriosin

oluşturma özellikleri düşük *S.aureus* sayısına ve daha güvenilir ürüne neden olmaktadır.

Kaban ve Kaya (2006), *P. acidilactici*, *L. curvatus*, *S. xylosus* karışımı ve *L. sakei*, *S. carnosus* karışımı içeren iki farklı grubun sucukta *S. aureus* üzerine etkisini araştırmışlardır. Starter kültür gruplarının kontrol grubundan istatistik açıdan önemli derece farklılık gösterdiği ve *S. aureus* gelişimini azalttıkları, buna karşın kontrol örneklerde *S. aureus* sayısının arttığı bildirilmiştir. Bulgular incelendiğinde ilk 6 gün hem pH değeri hem de *S. aureus* sayısı artmış ve 6. günden sonra her ikisinde de düşüş gözlemlenmiştir. Çalışmamızdaki bulgular, Kaban ve Kaya'nın (2006) bulgularıyla desteklemektedir.

4.1.8 Maya-Küf Sayısı

Farklı starter/koruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukların maya-küf sayılarındaki değişime etkileri çizelge 4.8'de verilmiştir. Maya-küf sayım sonuçları için yapılan varyans analizine göre süre ve kültür inokülasyonunun birlikte etkisi önemlidir ($P<0.05$). İlk gün sucuk gruplarından yapılan sayımlarda maya-küf sayıları $4.68 \log_{10}\text{kob/g}$ (K grubu) ile $4.01 \log_{10}\text{kob/g}$ (S2 grubu) arasında değişim göstermektedir. K grubu incelendiğinde ilk 9 günde artış ve 12. gün sayımlarında azalma gözlemlenmiştir. K grubundaki maya-küf sayısındaki farklılık istatistik olarak önemli değildir ($P>0.05$). Kültür inoküle edilmeyen K örnekleri starterli ve koruyucu kültür inoküle edilen örneklerden daha fazla maya-küf sayısına sahip olmuşlardır. Diğer taraftan biyoaktif kültür (*L.sakei* ve *P.acidilactici*) kullanılarak üretilen sucuklarda maya-küf sayılarında aşamalı olarak azalma meydana gelmiştir. S1, S2 ve S3 gruplarında meydana gelen farklılıklar istatistik olarak önem taşımaktadır ($P<0.05$). 12. gün sonunda en az sayıda maya-küf sayısı S3 grubunda $2.29 \log_{10}\text{kob/g}$ olarak hesaplanmıştır. Bu değeri $2.42 \log_{10}\text{kob/g}$ ile S2; $3.27 \log_{10}\text{kob/g}$ ile S3 ve $4.67 \log_{10}\text{kob/g}$ ile K grubu takip etmektedir.

Çizelge 4.8 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta maya-küf sayısına ($\log_{10}\text{kob/g}$) etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	4.68±0.40 ^{Aa}	4.94±0.26 ^{Aa}	5.01±0.09 ^{Aa}	5.18±0.13 ^{Aa}	4.67±0.04 ^{Aa}
S1	4.57±0.04 ^{ABa}	4.41±0.08 ^{ABa}	3.93±0.39 ^{Bb}	3.63±0.28 ^{Bbc}	3.21±0.17 ^{Bc}
S2	4.01±0.52 ^{Ba}	3.78±0.53 ^{Ca}	3.78±0.37 ^{Ba}	3.27±0.58 ^{Bb}	2.42±0.24 ^{Cc}
S3	4.50±0.60 ^{ABa}	3.90±0.38 ^{BCb}	3.41±0.44 ^{Bc}	3.07±0.40 ^{Bc}	2.29±0.22 ^{Cd}

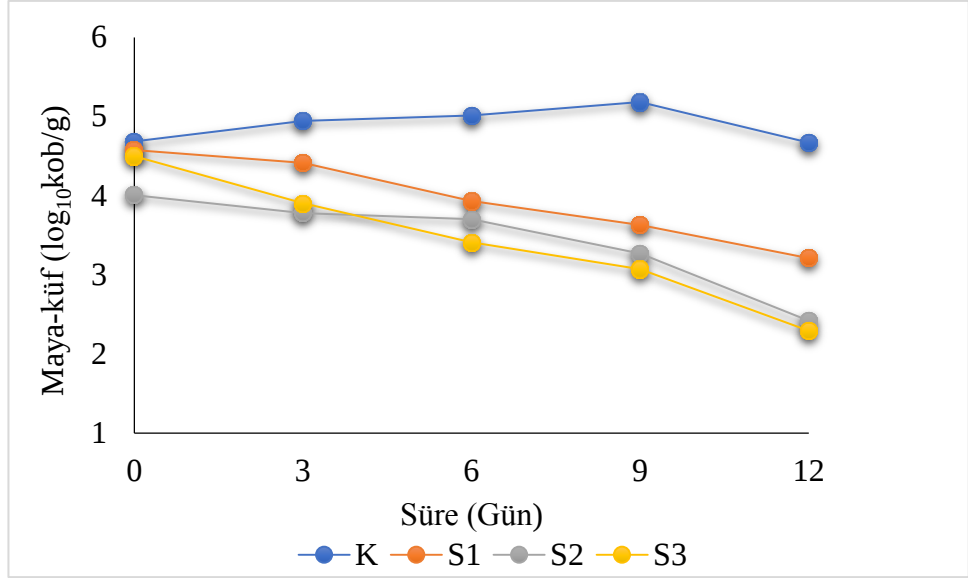
*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

Fermente et ürünlerinde ortama LAB hakim olsa bile belirli düzeyde maya-küf gelişimi görülmektedir (Toldrá ve Hui 2015). Maya-küf genellikle 2.0 ile 4.5 $\log_{10}\text{kob/g}$ arasında hamur halindeki üründe bulunabilmektedir. Bazı çalışmalarda fermentasyon boyunca gelişme gözlenirse de sayıları genel olarak 5 $\log_{10}\text{kob/g}$ 'ı aşmaz (Talon vd. 2007).

L.sakei ilavesi Çin fermente sosislerinde daha düşük maya-küf sayısına neden olmuş, fakat 30 gün üretim sırasında arttığı belirlenmiştir (Wang vd. 2013). Zdolec vd. (2008) ise, *L.sakei* ve bakteriyosin mesenterosin Y ilavesinin fermente sosislerin 28 gün üretimi sırasında maya sayısını 1.2-1.4 log düzeyinde azalttığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, başlangıç maya sayısının, 5.0-5.5 $\log_{10}\text{kob/g}$ arasında olduğunu, üretim sonunda 4.0-4.5 $\log_{10}\text{kob/g}$ düzeylerine azaldığını belirlemişlerdir.



Şekil 4.8 Sucuk üretimi sırasında maya-küf sayısındaki değişim

Erkmen ve Bozkurt (2004), starter kültür kullanılarak fabrikalarda ve kasaplarda üretilmiş olan sucukları kıyaslamışlardır. Bu çalışmada maya-küf sayısı starter kültür kullanılan (fabrikasyon) sucuklarda 3.48 ile 5.80 $\log_{10}\text{kob/g}$ arasında ve kasaplardan alınan sucuklarda ise 3.15 ile 5.53 $\log_{10}\text{kob/g}$ arasında değişiklik göstermektedir. Maya-küf sayılarındaki bu benzerliğin sanitasyon ve hijyen koşullarındaki eksiklikten, hammaddenin kalitesiz oluşundan ya da üretim tekniklerindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Erkmen ve Bozkurt 2004).

4.2 Sucuk Bileşimi, Fizikokimyasal ve Kimyasal Analiz Sonuçları

Çizelge 4.9’da farklı biyokoruyucu/starter kültür kullanılarak ve kullanılmadan üretilen sucuklara ait nem, yağ, protein ve kül miktarları verilmiştir. Sucuklarda kurumaya bağlı su kaybından dolayı genel olarak nem miktarında azalma; yağ, kül ve protein miktarlarında ise artış gözlemlenmiştir. Sucuklarda ilk gün nem miktarı en az %60.95 iken en fazla %62.28 olmuştur. Üretimin sonunda (12. gün), kurumaya bağlı olarak nem miktarları azalmış ve %30.07-33.06 aralığında değişmiştir. En az nem kaybı kontrol grubunda kaydedilmiştir. Sucuk örneklerinin nem miktarlarındaki değişime uygulamanın ve üretim süresinin etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 4.10).

Üretimin başında sucuk gruplarının nem miktarları arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$), üretim sonunda ise starter/koruyucu kültür grupları arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$), fakat bu gruplarla K grubu arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Bunun nedeni, kurumanın hızlı pH düşüşüne neden olan starter/koruyucu kültür içeren örneklerde daha hızlı meydana gelmesidir. Üretim süresinin etkisi ise tüm gruplarda önemli ($P<0.05$) bulunmuş, yani süreye bağlı olarak nem miktarı önemli düzeylerde azalmıştır. Farklı biyoaktif kültürler kullanılarak hazırlanan sucuklarda analiz sonucu bulunan nem miktarı diğer çalışmalar ile uyum göstermektedir (Lorenzo vd. 2014). Benzer şekilde, Dalmış ve Soyer (2008), farklı starter kültürler kullanılarak hazırladıkları sucukların starter içermeyen kontrol grubundan daha düşük nem oranına sahip olduğunu saptamışlardır. Sucuklarda başlangıç yağ, protein ve kül miktarları sırasıyla %17.83-18.80, %16.70-17.88 ve %2.55-2.64 aralığında değişmiş, kurumaya bağlı olarak artmış ve üretim sonunda %30.72-33.79, %29.23-30.54 ve %4.24-5.00 aralığında saptanmıştır. *P. acidilactici* kullanılarak üretilen ısıl işlem görmüş sucuklarda da, starter kültürün nem oranı üzerine önemli bir etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (Öz vd. 2018).

Çizelge 4.9 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta nem, yağ, protein ve kül miktarlarına etkisi

Bileşim (%)				
	Nem	Yağ	Protein	Kül
0. Gün				
K	60.95±0.71	17.83±0.39	17.46±0.36	2.61±0.08
S1	62.28±0.15	18.80±0.21	16.70±0.44	2.55±0.05
S2	61.85±1.13	18.03±1.16	17.85±0.41	2.64±0.05
S3	61.84±0.81	17.90±0.98	17.88±0.53	2.58±0.03
12. gün				
K	33.06±0.12	30.72±0.66	29.97±1.15	4.24±0.51
S1	30.07±1.27	33.79±1.28	29.23±0.22	4.64±0.16
S2	30.53±2.08	33.03±1.64	30.54±0.74	5.00±0.19
S3	31.09±1.42	33.21±0.72	30.43±0.58	4.70±0.30

Çizelge 4.10 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta nem miktarına etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)	
	0	12
K	60.95 ± 0.71 ^{Aa}	33.06 ± 0.12 ^{Ab}
S1	62.28 ± 0.15 ^{Aa}	30.07 ± 1.27 ^{Bb}
S2	61.85 ± 1.13 ^{Aa}	30.53 ± 2.08 ^{Bb}
S3	61.84 ± 0.81 ^{Aa}	31.09 ± 1.42 ^{Bb}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

Sucuklarda yağ miktarlarındaki değişim ile ilgili Duncan sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Yağ bileşimlerinde 0. günde değerler %17.83 ile %18.80 arasında değişim gösterirken 12. gün yağ miktarları kurumanın etkisiyle %30.72 ile %33.79 arasındadır. Her iki günde de en düşük yağ oranı K grubunda; en yüksek yağ oranı ise S1 grubunda görülmektedir. Yapılan varyans analizi sonucu, uygulama ve sürenin birlikte etkisi önemli bulunmuştur (P<0.05). Üretimin başında grupların yağ miktarları arasındaki fark önemsiz (P>0.05), üretim sonunda ise K grubu ile diğer gruplar arasındaki fark önemli (P<0.05) bulunmuştur.

Çizelge 4.11 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta yağ miktarına etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)	
	0	12
K	17.83 ± 0.39 ^{Aa}	30.72 ± 0.66 ^{Bb}
S1	18.80 ± 0.21 ^{Aa}	33.79 ± 1.26 ^{Ab}
S2	18.03 ± 1.16 ^{Aa}	33.03 ± 1.64 ^{Ab}
S3	17.90 ± 0.98 ^{Aa}	33.21 ± 0.72 ^{Ab}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

Sucukların protein miktarlarına uygulamanın ve sürenin ayrı ayrı etkisi önemli (P<0.05) bulunmuştur (Çizelge 4.12). 0. günde protein miktarları %16.70 ile %17.88 arasında

değişim göstermektedir. Üretimin sonunda protein miktarları ise %29.23 ile %30.54 arasında değişim göstermektedir. S1 grup ortalamalarının farkı istatistik açıdan diğer gruplara kıyasla önemlidir ($P<0.05$). Bununla beraber grupların protein miktarı ortalamaları 0. günde %17.47 ve 12. günde %30.04 olarak hesaplanmış ve aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 4.12 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta protein miktarına etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)		
	0	12	Ortalama
K	17.46 ± 0.36	29.97 ± 1.15	23.72 ± 2.81 ^A
S1	16.70 ± 0.44	29.23 ± 0.22	22.96 ± 2.80 ^B
S2	17.85 ± 0.41	30.54 ± 0.74	24.19 ± 6.97 ^A
S3	17.88 ± 0.53	30.43 ± 0.58	24.15 ± 2.81 ^A
Ortalama	17.47 ± 0.18 ^a	30.04 ± 0.24 ^b	

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

Üretimin ilk ve son günlerinde yapılan kül analizlerinde ortalama kül miktarları sırasıyla %2.60 ve %4.65 olarak saptanmış ve sürenin etkisi önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Uygulamanın etkisi ise önemli bulunmamıştır ($P>0.05$) (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta kül miktarına etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)		
	0	12	Ortalama
K	2.61 ± 0.07	4.24 ± 0.51	3.42 ± 0.95
S1	2.55 ± 0.06	4.64 ± 0.16	3.60 ± 1.15
S2	2.64 ± 0.05	5.00 ± 0.19	3.82 ± 1.30
S3	2.58 ± 0.03	4.70 ± 0.30	3.64 ± 1.18
Ortalama	2.60 ± 0.06 ^a	4.65 ± 0.39 ^b	

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

a-b: İlgili satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

Sucuk bileşimi başlıca yağ miktarı, etin parçalanma boyutu, sıcaklık, hava hızı ve bağıl nem gibi üretim koşullarından etkilemektedir (Soyer 2002). Kullanılan farklı starter kültürler, sucuk hamurunun bileşimini önemli düzeyde etkilememiştir ($p>0.05$).

4.3 pH Değeri

Sucuk üretiminde oluşturulan ortam, LAB'nin ortama hakim olmasına ve fermentasyon sonucu laktik asit üretimine neden olmaktadır ve buna bağlı olarak ürünün pH değeri düşmektedir. Genellikle en fazla pH düşüşü, fermentasyonun en hızlı olduğu ilk üç günde gözlenmektedir. Sucuklarda pH değerinde meydana gelen değişim, starter/koruyucu kültür inokülasyonunun ve üretim süresinin etkisini gösteren Duncan sonuçları Çizelge 4.14'de görülmektedir. pH değerindeki değişime uygulama ve sürenin birlikte etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Uygulamanın etkisi 0. günde kendini göstermiş ve koruyucu kültür inoküle edilen örnekler (S2 ve S3 (pH değerleri sırasıyla 5.79 ve 5.76), K (pH 5.95) ve S1 (pH 5.86) örneklerinden daha düşük pH'ya sahip olmuşlardır ($P<0.05$). Starter ilavesi üretimin başında pH değerinde 0.09-0.19 birim azalmaya neden olmuştur. Bu durum starter kültürlerin ortama kısa sürede adaptasyonunun bir göstergesidir. En fazla pH düşüşü beklendiği gibi fermentasyon aşamasında yani 3. günde ve en fazla starter ve koruyucu kültür içeren örneklerde saptanmıştır (1.00-1.13 birim azalma) ve pH değerinde azalma tüm örneklerde 6. güne kadar devam etmiş, 9. ve 12. günlerde tüm gruplarda pH değerlerinde az da olsa bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.9). Üretimin sonunda, sucuk pH değerleri K, S1, S2 ve S3 gruplarında sırasıyla 5.20, 4.85, 4.82 ve 4.88 olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında en düşük pH değeri *L. sakei* içeren S2 grubunda gözlemlenmiştir. 12. gün sonunda pH değeri 5.20 olan K grubu diğer gruplardan istatistik olarak farklı bulunmuştur ($P<0.05$). S1, S2 ve S3 grupları arasındaki fark ise istatistik olarak önemli değildir ($P>0.05$).

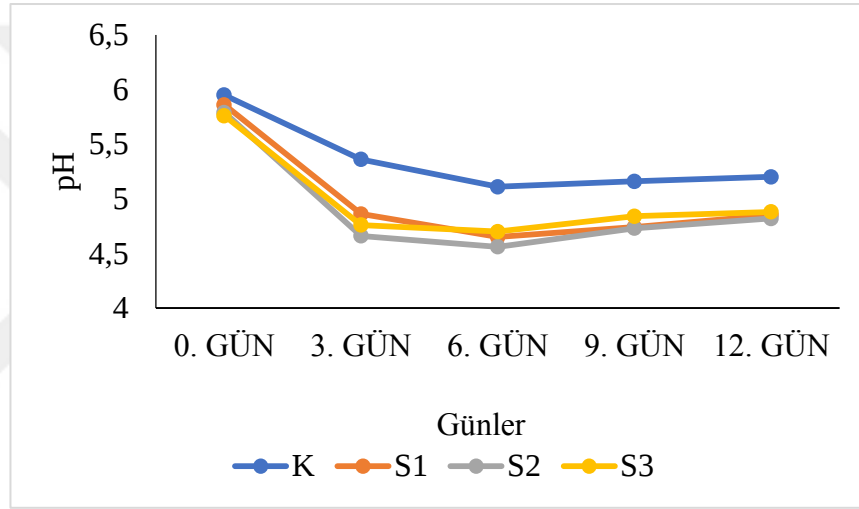
Çizelge 4.14 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta pH değişimine etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	5.95 ± 0.03 ^{Cc}	5.36 ± 0.07 ^{Cb}	5.11 ± 0.22 ^{Ca}	5.16 ± 0.08 ^{Ba}	5.20 ± 0.09 ^{Ba}
S1	5.86 ± 0.06 ^{Bc}	4.86 ± 0.09 ^{Bb}	4.65 ± 0.09 ^{ABa}	4.74 ± 0.24 ^{Aa}	4.85 ± 0.17 ^{Aa}
S2	5.79 ± 0.06 ^{Ac}	4.66 ± 0.05 ^{Ab}	4.56 ± 0.04 ^{Aa}	4.73 ± 0.12 ^{Ab}	4.82 ± 0.14 ^{Ab}
S3	5.76 ± 0.07 ^{Ac}	4.76 ± 0.02 ^{Aa}	4.70 ± 0.10 ^{Ba}	4.84 ± 0.35 ^{Ab}	4.88 ± 0.30 ^{Ab}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)



Şekil 4.9 Sucuk üretimi sırasında pH değerindeki değişim

Fermente et ürünlerinde asit oluşumunun sadece ürün güvenirliliği için değil, aynı zamanda kuruma için de önemli olduğu bilinmektedir. Fermantasyon sırasında pH değeri düştükçe, miyofibrillar proteinler izoelektrik noktaya yaklaşır ve su tutma kapasitesi düşer. Bu şekilde fermente et ürünlerinde pH düşüşü ile daha kolay kuruma meydana gelir (Soyer vd. 2005).

Fermente et ürünlerinde ticari kültürlerin kullanımı, üretimin ilk haftası boyunca kuvvetli asidik ortam oluşturmaktadır. Asitliğin artışı, fermantasyonda karbonhidratın kullanılmasıyla oluşan organik asitlerin (başlıca laktik asidin) birikmesi ile sağlanmaktadır. Oluşan asidik ortam istenmeyen mikroorganizma inhibisyonu ile gıda

güvenliğini sağlamaya yardımcı olmaktadır. Ayrıca fermente et ürünlerinde fermentasyon boyunca düşen pH değeri istenilen kırmızı renge katkı sağlamakta, tadı etkilemekte ve proteinlerin su tutma kapasitesini azaltarak kuruma sürecine katkı sağlamaktadır (Lücke 2000, Lorenzo vd. 2014).

K grubundaki pH düşüşü, starter ve biyoaktif kültür eklenmiş gruplara kıyasla daha azdır. Bulgular, Lorenzo vd. (2014)'nin çalışmaları ile uyum göstermektedir. Başka bir çalışmada, biyokoruyucu kültür olan *L. plantarum*'un sucuk pH'sını 11 gün sonunda önemli ölçüde düşürdüğü (4.79) belirlenmiştir (Kamiloğlu vd. 2019).

Öz vd. (2018), *P.acidilactici* kullanılan ve ısıtıl işlem uygulanarak üretilen sucuklarda, pH değerinin kontrol grubundan daha düşük olduğunu ancak sucuk üretim prosesinin de pH değeri üzerine etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Fermentasyon boyunca pH değeri azalırken, fermentasyon sonrası uygulanan ısıtıl işlem protein denatürasyonu nedeni ile pH değerini arttırmaktadır (Öz vd. 2018). Ayrıca olgunlaşma evresi de pH düzeyini etkileyen önemli bir faktördür.

4.4 Renk Değeri

Starter/koruyucu kültürler kullanılarak üretilen sucuklarda üretim süresince belirli günlerde yapılan CIE L^* (aydınlık), a^* (kırmızılık) ve b^* (sarılık) renk değerleri çizelge 4.15'de ve şekil 4.10'da gösterilmektedir. İlk gün ölçümlerinde L^* değerleri 40.78-41.49 arasında değişmiştir. Üretimin 3. gününden itibaren tüm sucuk gruplarının L^* değerlerinde azalma gözlenmiş, 12. gün L^* değerleri K, S1, S2 ve S3 örneklerinde sırasıyla 34.78, 39.49, 39.18 ve 39.41 olarak belirlenmiştir. Sucukların L^* değerindeki değişime, kültür inokülasyonu ve sürenin birlikte etkisi önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Uygulamanın etkisi 0. gün önemli bulunmazken ($P>0.05$), diğer günlerde starter ve koruyucu kültür içeren örneklerin L^* değerleri ile K grubunun L^* değerleri arasındaki fark önemli olmuştur ($P<0.05$). Kültür içeren sucuklarda L^* değerleri K sucuklardan daha yüksek saptanmıştır. Nitekim üretimin sonunda K örneklerin L^* değeri ortalaması 34.78 iken, kültür inoküle edilen örneklerde 39.18-39.49 arasında değişmiştir. Wang vd. (2013), *L.sakei* inoküle edilerek ve inokülasyonsuz üretilen Çin fermente sosislerinde

L^* değerini sırasıyla 33.24 ve 31.23 olarak saptamışlar ve bulgularımızla uyumlu sonuçlar elde etmişlerdir.

Çizelge 4.15 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta L^* (aydınlık) değerindeki değişime etkisi

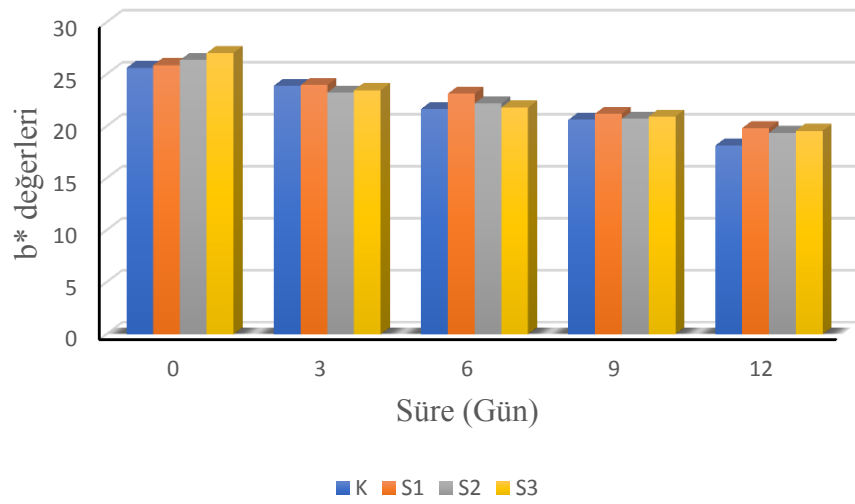
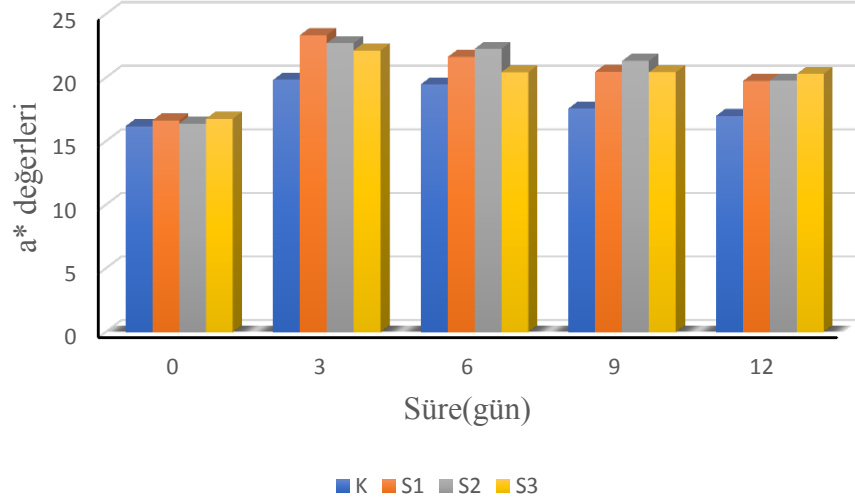
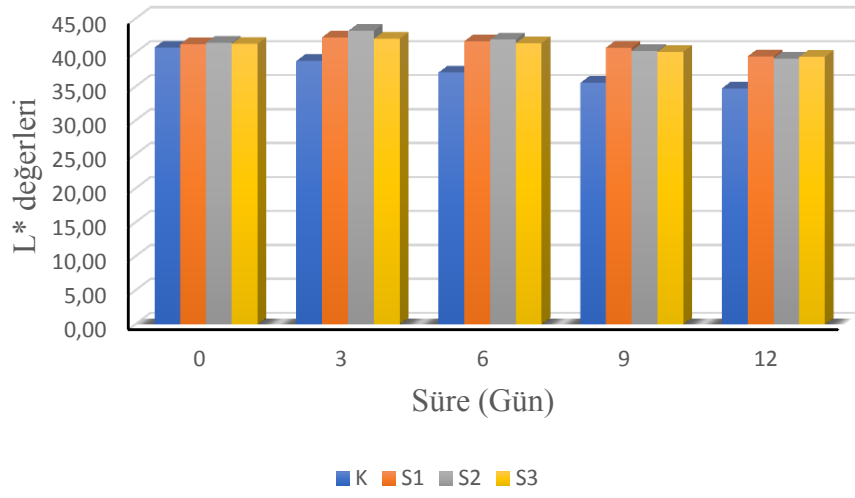
Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	40.78±1.29 ^{Ac}	38.81±0.35 ^{Ab}	37.10±1.92 ^{Ab}	35.57±1.31 ^{Aa}	34.78±1.02 ^{Aa}
S1	41.35±0.81 ^{Aa}	42.31±1.41 ^{Ba}	41.71±0.54 ^{Ba}	40.77±0.56 ^{Ba}	39.49±0.91 ^{Ba}
S2	41.49±0.92 ^{Abc}	43.23±2.28 ^{Bc}	41.93±0.06 ^{Bbc}	40.29±1.28 ^{Bb}	39.18±1.04 ^{Ba}
S3	41.35±0.58 ^{Aa}	42.07±1.25 ^{Ba}	41.42±2.66 ^{Ba}	40.15±0.54 ^{Ba}	39.41±0.56 ^{Ba}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

Sucuklarda a^* (kırmızılık) değerleri çizelge 4.16'da ve şekil 4.10'da verilmiştir. a^* değerleri üzerine süre ve starter kültür interaksiyonu önemli olarak bulunmuştur ($P<0.05$). Üretimin başında a^* değerleri 16.21-16.80 arasında değişirken, fermantasyondan sonra tüm grupların a^* değerlerinde artış gözlenmiştir. Sucukların a^* değerleri fermantasyon sürecinde S1 örneklerinde 16.66'dan 23.38'e, S2 örneklerinde 16.42'den 22.74'e ve S3 örneklerinde 16.80'den 22.17'ye artmıştır. Üretimin sonunda tüm grupların a^* değerleri başlangıç değerinden daha yüksek belirlenmiştir. Yapılan varyans analizi sonucu, sucukların a^* değerine kültür inokülasyonu ve sürenin birlikte etkisinin önemli olduğunu göstermiştir ($P<0.05$). Buna göre, a^* değerine inokülasyonun etkisi 0. günde gözlenmezken, 3., 6., 9. ve 12. günlerde gözlenmiş ve K ile inokülasyonlu gruplar arasındaki fark önemli ($P<0.05$), starter ve biyokoruyucu kültür inoküle edilen gruplar arasındaki fark ise önemsiz ($P>0.05$) bulunmuştur. Bu sonuç, starter ya da koruyucu kültürlerin küre rengi oluşumunu hızlandırdığının bir göstergesidir. Yüksek kırmızılık değerinde kültürlerin nitrat redüktaz aktivitelerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Sonuçlarımızla benzer şekilde fermente et ürünlerinde a^* değerinde fermantasyon sürecinde artış, daha sonra azalış olduğu diğer çalışmalarda da belirlenmiştir (Bozkurt ve Bayram 2006). Kırmızılık değerinde ilk günde gözlenen artış ve daha sonra gözlenen azalış, nitrozopigmentin oksidasyonu ile ilişkilendirilmektedir (Papadima ve Bloukas 1999).



Şekil 4.10 Sucuk üretimi sırasında L^* , a^* ve b^* değerlerindeki değişim

Çizelge 4.16 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta a^* (kırmızılık) değerindeki değişime etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	16.21±0.53 ^{Aa}	19.85±1.23 ^{Ab}	19.51±0.63 ^{Ab}	17.61±1.02 ^{Aa}	17.03±0.95 ^{Aa}
S1	16.66±0.02 ^{Aa}	23.38±1.10 ^{Bc}	21.65±0.86 ^{Bb}	20.51±0.62 ^{Bb}	19.77±0.37 ^{Bb}
S2	16.42±0.46 ^{Aa}	22.74±0.33 ^{Bc}	22.29±0.73 ^{Bc}	21.35±0.84 ^{Bc}	19.80±0.90 ^{Bb}
S3	16.80±1.61 ^{Aa}	22.17±1.34 ^{Bc}	20.45±0.99 ^{Bb}	20.45±0.41 ^{Bb}	20.32±1.09 ^{Bb}

*Soniclar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-B: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

Sucukların sarılık değerleri (b^*) üretim boyunca tüm örneklerde azalma göstermiştir (Şekil 4.10). Üretimin başında sucukların b^* değerleri 25.62-27.07 aralığında, üretim sonunda ise 18.18-19.84 aralığında değişmiştir (Çizelge 4.17). Yapılan varyans analizi sonucu, sucukların b^* değerine üretim süresinin etkisinin önemli (P<0.05), uygulamanın etkisinin ise önemsiz (P>0.05) olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.17 Starter/biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta b^* (sarılık) değerindeki değişime etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	25.62±1.39	23.91±0.97	21.68±0.66	20.63±2.99	18.18±1.12
S1	25.89±1.68	23.97±0.24	23.14±1.38	21.22±1.32	19.84±2.95
S2	26.37±1.90	23.24±1.57	22.19±0.97	20.73±0.32	19.39±1.38
S3	27.07±0.81	23.48±1.02	21.81±1.14	20.95±3.53	19.58±1.36
Ortalama	26.24±0.41a	23.65±0.28b	22.21±0.31c	20.88±0.60d	19.25±0.50e

*Soniclar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

a-e: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir (P>0.05).

Bozkurt ve Bayram (2006), L^* parlaklık değerinin sucukta olgunlaşma boyunca giderek düştüğünü bildirmişlerdir. Bu azalmanın sebebi, sucukta gerçekleşen enzimatik reaksiyonlar sonucu kahverengi rengin oluşumudur. a^* kırmızılık değeri ilk 5 gün ette bulunan azotlu bileşikler ile miyoglobinin birleşmesi sonucu istenen renk pigmentini üretilmesi ile artmaktadır. Bu pigmentlerin denatürasyonu, sonraki günlerde a^* değerinin düşmesine sebep olmaktadır. a^* değerindeki azalmanın nedeni laktik asit üretimi nedeniyle nitrosomiyoglobinin kısmi veya toplam denatürasyonu olabilir. Bununla beraber b^* sarılık değeri olgunlaşma evresi boyunca azalmaktadır. b^* değerindeki azalma, sucuğun sarı yerine maviye (negatif b -değerine yaklaşırken) döndüğünü göstermiştir. Bunun nedeni esmerleşme reaksiyonları ile oluşan melaninler olabilir. Ayrıca b^* değerindeki azalma, mikroorganizmalar tarafından oksijen tüketimi olduğunu ve dolayısıyla sarı renge katkıda bulunan oksimiyoglobinin azaldığını göstermektedir (Bozkurt ve Bayram 2006).

Perez-Alvarez vd. (1999), L^* değerinde ilk 3 gündeki azalmanın sebebinin su kaybına bağlı olabileceğini; 3 günden sonraki artışın ise laktik asit ve pH derecesindeki değişimlere bağlı olarak proteinlerin izoelektrik noktalarına ulaşmasının olabileceğini bildirmişlerdir. Fermantasyon ve olgunlaşma evreleri a^* değerini etkilemektedir. Fermantasyon boyunca artan a^* değeri, olgunlaşma süresince azalma göstermektedir. Fermantasyon boyunca artan kırmızı rengin sebebi kür rengi nitrozomiyoglobin oluşumudur ve ete karakteristik rengini vermektedir. Tuz konsantrasyonu kuru fermente et ürünlerindeki bu değişimde rol oynamaktadır. Su kaybı tuz konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır. Olgunlaşma sürecindeki azalma ise laktik asitten kaynaklanmaktadır. b^* değeri, mikroorganizmaların oksijen tüketimine bağlı olarak fermantasyon süresince azalmaktadır. Tuz konsantrasyonu da etteki oksijen çözünürlüğüne etki ettiği için b^* değerinin azalmasına neden olmaktadır (Wang vd. 2013, Fadda vd. 2001, Papamanoli vd. 2003).

4.4 Proteoliz İndeksi

Biyokoruyucu/starter kültürler kullanılarak hazırlanan sucuklar ve kontrol grubu için proteoliz indeksi değerleri Çizelge 4.18’de verilmiştir. Yapılan istatistik analizi sonucu

süre ve farklı starter/biyoaktif kültür kullanımının proteoliz indeksi değeri üzerine etkisinin önemli olduğunu ($P<0.05$) göstermiştir. Üretimin başında K, S1, S2 ve S3 gruplarında proteoliz indeksi değerleri sırasıyla %10.14, %13.51, %12.84 ve %13.44 olarak bulunmuş olup ortalama değer %12.48 olarak hesaplanmıştır. Üretimin 0. gününden sonraki her bir analiz döneminde, K grubu diğer gruplardan istatistik olarak önemli farklılık ($P<0.05$) göstermiştir. Bununla birlikte sürenin etkisi K örneklerde ilk dokuz gün önemli olmazken ($P>0.05$), 12. günde önemli bir artış ($P<0.05$) gözlenmiştir. Starter ve koruyucu kültür içeren S1, S2 ve S3 gruplarında ise proteoliz indeksi değerleri 3. günden itibaren önemli ölçüde ($P<0.05$) artmıştır. 12. günde en yüksek değer *P.pentosaceus* + *S.carnosus* karışımı inoküle edilen S1 grubunda gözlemlenmiştir. Koruyucu kültür *L. sakei*, 6. günden itibaren *P. acidilactici*'den daha fazla proteolitik aktivite göstermiştir. *L.sakei* kültürünün sucuk ortamına daha kısa sürede adapte olmasının proteolitik aktiviteye etkisi olabilir. Üretim sonunda en fazla proteolitik aktivite sırasıyla S1, S2, S3 ve K örneklerinde %19.31, %17.35, %16.24 ve %12.30 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.18 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta proteolitik değişime (proteoliz indeksi, %) etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	10.14±0.35 ^{Aa}	9.83±0.63 ^{Aa}	10.37±0.77 ^{Aa}	10.86±0.67 ^{Aa}	12.30±0.30 ^{Ab}
S1	13.51±2.08 ^{Ba}	13.26±0.94 ^{Ba}	14.81±1.57 ^{Bb}	17.14±1.29 ^{Cc}	19.31±1.15 ^{Cd}
S2	12.84±0.93 ^{Ba}	13.05±0.90 ^{Ba}	14.93±0.46 ^{Bb}	16.12±0.73 ^{Cc}	17.35±1.24 ^{Bc}
S3	13.44±2.06 ^{Ba}	13.49±0.71 ^{Ba}	13.11±0.71 ^{Ba}	14.63±0.26 ^{Ba}	16.24±1.32 ^{Bb}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

A-C: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

a-c: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

Proteoliz indeksi (PI), triklorasetik asitte çöktürmeden sonra kalan protein olmayan peptitleri ve amino asitleri içeren azot fraksiyonunun göstergesidir. Toplam protein azotunda, protein olmayan azot oranı dikkate alınarak % olarak belirlenmiştir (Careri vd. 1993, Verplaetse 1994). Fermente sosislerde proteoliz reaksiyonları ile peptit oluşumu ve serbest amino asit miktarının artması, endojen et enzimlerinin (katapsinler

gibi) ve mikrobiyal kaynaklı proteazların proteinleri parçalaması ile olmaktadır (Rico vd. 1991, Toldrá vd. 1993, Diaz vd. 1997).

Proteoliz, et ürünlerinde tekstür ve lezzet üzerine etkilidir. Yarı olgunlaşmış jambon örneklerinde ideal tekstür ve lezzet (PI=22 g/100g protein) oluşumunda rol oynamaktadır. PI'nin 30'dan yüksek olduğu jambon örneklerinde, kabul edilemeyecek derecede yumuşak bir tekstür gözlemlenmiştir. Et ürünlerinde olgunlaşma ile birlikte nemde azalma ve protein, yağ ve tuz konsantrasyonunda artma gibi kompozisyon değişiklikleri meydana gelmektedir. Bu değişim tada da etki etmektedir. Serbest amino asitlerin çok fazla artması ve proteoliz indeksinin yükselmesi istenmeyen aromanın (bitter ya da umami) oluşumuna neden olmaktadır (Careri vd. 1993).

Latorre-Moratalla vd. (2007), İspanyol usulü fermente et ürünleri olan fuet ve chorizo üretiminde starter kültür ve HHP (High Hydrostatik Pressure)'nin etkisini araştırmıştır. *Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus xylosus* starter kültür olarak tercih edilmiştir. PI'nin, üretim sırasında önemli derecede artmadığı ve kullanılan kültürlerin etkisinin çok az olduğu gözlemlenmiştir. Bununla beraber HHP uygulanmış chorizolarda PI değerinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Starter kültürlerin sahip oldukları proteolitik aktiviteleri ile proteinlerde daha hızlı ve daha fazla parçalanmaya neden olduğu diğer çalışmalarla da kanıtlanmıştır (Candoğan ve Acton 2004, Dalmış ve Soyer 2008, Castellano vd. 2012). Aro Aro vd. (2010), farklı starter kültürler ilave ederek ürettikleri fermente sosislerde proteolitik değişimlerin etkisini incelemişlerdir. *L.sakei* + *S.carnosus*, *P.pentosaceus* + *S.xylosus* ile üretilen sosislerin daha yüksek proteolitik aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir. Bu etkinin kullanılan starter kültürlerin proteolitik aktivitelerinden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Dalmış ve Soyer (2008), *P.pentosaceus* + *S.xylosus* starter kültür karışımı ile ürettikleri sucuklarda, bu kültürlerin proteolitik değişimleri kontrol örneklerden daha fazla artırdığını belirlemişlerdir.

Çalışmamızda en yüksek proteolitik aktivite olgunlaşma sonunda ticari starter kültür karışımı inoküle edilen sucuklarda ($P<0.05$), daha sonra *L.sakei* ve *P.acidilactici*

inoküle edilen sucuklarda belirlenmiştir. *P.pentosaceus*+*S.carnosus* kültür karışımının daha iyi proteolitik aktivite göstermesi, her iki kültürün de proteolitik aktiviteye sahip olması ile açıklanabilir (Aro Aro vd. 2010). *P.acidilactici*, üretimin 6. ve 9. günlerinde diğer kültürlerden daha az proteolitik aktivite gösterirken, 12. günde *L.sakei* ile aynı düzeyde proteolitik aktiviteye sahip olmuştur ($P>0.05$).

4.6 Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddesi

Sucuklarda üretim boyunca belirlenen tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARM) değerleri çizelge 4.19'da yer almaktadır. Yapılan varyans analizi sonucu, sucukların TBARM değerine kültür x sürenin birlikte etkisini göstermiştir. Duncan sonuçlarına göre (çizelge 4.19), üretimin başında grupların TBARM değerleri arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$), diğer analiz dönemlerinde ise K ile diğer grupların TBARM değerleri arasındaki fark önemli ($P<0.05$), fakat kültür/starter grupları arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$) bulunmuştur. Bu sonuçlar, sucuklara starter ya da koruyucu kültür inokülasyonunun lipit oksidasyonunu önemli düzeyde geciktirdiğini göstermektedir. Starter ve koruyucu kültürlerin TBARM değerleri ise üretimin sonunda birbirlerine yakın olmuş ve aralarında önemli bir istatistik fark saptanmamıştır ($P>0.01$).

Çizelge 4.19 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucukta TBARM değişimine etkisi

Uygulama	Üretim süresi (gün)				
	0	3	6	9	12
K	0.51±0.04 ^{Aa}	0.66±0.02 ^{Bb}	0.75±0.02 ^{Bc}	0.84±0.04 ^{Bd}	0.98±0.10 ^{Be}
S1	0.50±0.04 ^{Aa}	0.54±0.04 ^{Aa}	0.59±0.04 ^{Ab}	0.67±0.03 ^{Ac}	0.62±0.04 ^{Ab}
S2	0.51±0.04 ^{Aa}	0.56±0.02 ^{Ab}	0.61±0.03 ^{Abc}	0.59±0.04 ^{Ab}	0.56±0.02 ^{Ab}
S3	0.52±0.02 ^{Aa}	0.56±0.02 ^{Ab}	0.58±0.03 ^{Ab}	0.64±0.02 ^{Ac}	0.58±0.03 ^{Ab}

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir.

A-B: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

a-e: Her bir satırda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

Kaban ve Kaya (2009), *L. plantarum* ve *S. xylosus*'un sucukta lipit oksidasyonuna etkisini inceledikleri çalışmalarında 9 gün boyunca TBARM değerinin hem kontrol hem

starterli grupta arttığını, starter içermeyen kontrol örneklerin 9. günde daha yüksek TBARM değerine sahip olduklarını belirlemişlerdir. Fakat kontrol örneklerde 14. günde TBARM değeri düşerken, starterli örneklerde arttığını ifade etmişlerdir. Starterli örneklerde 14. günde gözlenen artış, *S. xylosus* GM92 suşunun lipolitik aktivitesine bağlanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar, starter kültür ve koruyucu kültür ilavesinin lipit oksidasyonunu azalttığını göstermiştir. Starter kültür ilavesinin fermente et ürünlerinde lipit oksidasyonunu yavaşlattığı diğer çalışmalarda da ifade edilmiştir (Ansorena ve Astiasaran 2004, Šojić vd. 2016). Bu etkinin koagulaz negatif stafilocokların (CNS) antioksidan etkisinden kaynaklandığı belirtilmiştir. CNS bakterilerin katalaz ve süperoksit dismutaz aktiviteleri peroksitlerin parçalanmasına neden olarak, bu şekilde lipit oksidasyonu önlenmektedir (Barriere vd. 2001, Leroy vd. 2010).

TBARM değerleri, piyasadaki fabrikada üretilmiş olan sucuk örneklerinde 0.51 ile 2.11 mg/kg arasında değişiklik göstermektedir. Ürün tipi TBARM değeri açısından önem taşımaktadır. Nitrit, askorbik asit gibi eklenen antioksidanlar, üretim koşulları ve teknikleri, ürünün pH değeri, kullanılan starter kültür ve hammadde TBARM değeri üzerine etki etmektedir (Bozkurt ve Erkmen 2004). Bozkurt ve Erkmen'in (2002) bir diğer çalışmasında ise starter kültür içermeyen sucuk grubunun TBARM değeri starter kültür içeren sucuk gruplarından daha fazla olarak bulunmuştur. Bulgularımız, bu çalışmanın sonuçlarını destekler niteliktedir.

TBARM, et ve et ürünlerinde meydana gelen ikincil oksidasyon ürünlerinin, dolayısıyla lipit oksidasyonunun değerlendirilmesi için kullanılır. 1.0 mg/kg dan fazla TBA değerine sahip olan fermente et ürünlerinde kötü koku oluşumu görüldüğü ve sebebinin ise lipit oksidasyonu olabileceği vurgulanmaktadır (Bozkurt ve Erkmen 2004).

4.7 Duyusal Değerlendirme

Farklı biyokoruyucu/starter kültürler kullanılarak üretilen sucukların duyusal nitelikleri (koku, renk, tat ve genel beğeni) çiğ ve pişmiş sucuk örneklerinde belirlenmiş ve sonuçlar çiğ örnekler için çizelge 4.20'de, pişmiş örnekler için çizelge 4.21'de verilmiştir.

Çiğ sucuklarda koku değerlendirmesi puan ortalaması 7.38'dir. Dört grup içerisinde K grubu 6.89 ile en düşük puanı alan grup olarak bulunmuştur. S3 grubu ise 7.63 puan ile en yüksek puanı alan grup olmuştur. Çiğ örneklerde K grubu ile diğer grupların koku puanları arasındaki fark istatistik açıdan önemli ($P<0.05$) bulunmuşken, biyokoruyucu kültür ve ticari kültür kullanılan gruplar arasındaki fark önemli olarak bulunmamıştır ($P>0.05$).

Çiğ ürünlerin renk değerlendirmesinde ise kullanılan biyokoruyucu kültürün etkisi önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Ortalama renk puanı 10 üzerinden 7.77 olarak hesaplanmıştır. 8.44 puan alan S1 renk bakımından en beğenilen grupken K grubu en düşük puana sahip olan gruptur. S2 ve S3 gruplarının aldığı puanlar arasındaki fark istatistik açıdan önemli değildir ($P>0.05$).

Çiğ sucuk örneklerinin tat puanlaması 6.98 ile 7.93 arasında değişim göstermektedir. İstatistik analizi sonucunda grupların tada etkisinin önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. Tat puanları incelendiğinde S1 (7.76), S2 (7.52) ve S3 (7.93) gruplarının arasındaki farkın önemli olmadığı ($P>0.05$) belirlenmiştir. Son olarak alınan puanlar sıraya konulduğunda en az beğenilen grubun K ve en beğenilen grubun S3 olduğu gözlemlenmektedir.

Duyusal analizlerin sonunda panelistler genel beğeni puanlaması da yapmaktadırlar. Genel beğeni puanları en düşük K grubuna (6.83) verilmiştir. Genel beğeni puanları incelendiğinde S3 grubunun en çok beğenildiği, fakat S1 ve S2 gruplarının puanları ile aralarında önemli bir fark olmadığı ($P>0.05$) gözlenmiştir. Starter ve koruyucu kültür içeren sucuklar kontrolden daha fazla beğenilmiştir. Bu durum, koruyucu kültürlerin ve starter kültürlerin daha hızlı ortama hakim olarak asidik tat ve proteolitik olaylar sonucu tadı etkileyen bileşikler daha çok oluşturmasıyla ilişkilidir.

Çizelge 4.20 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin çiğ sucuğun duysal özelliklerine etkisi

Uygulama	Koku	Renk	Tat	Genel beğeni
K	6.89±0.78 ^a	6.98±0.47 ^a	6.91±0.42 ^a	6.83±0.63 ^a
S1	7.52±0.90 ^b	8.44±0.85 ^c	7.76±0.45 ^b	7.76±0.50 ^b
S2	7.48±0.74 ^b	7.85±0.68 ^b	7.52±0.06 ^b	7.44±0.40 ^b
S3	7.63±0.51 ^b	7.82±0.34 ^b	7.93±0.36 ^b	7.89±0.28 ^b

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

a-b: Her bir sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark önemli değildir (P>0.05)

Farklı biyokültür içeren sucuk dilimleri ızgarada pişirilip duysal analizleri yapıldığında elde edilen veriler çizelge 25'te belirtilmiştir. Pişmiş sucuklara verilen puanlar çiğ sucuklara verilenlerden biraz daha yüksek olmuştur. Bu durum tamamen tüketicinin sucuğu pişmiş olarak tüketme tercihi ile ilişkilidir.

Bütün sucuk gruplarının koku değerlendirmesi için ortalama puan 7.90 olarak hesaplanmıştır. *P.pentosaceus* + *S.carnosus* karışımını içeren S1 grubu 8.47 ile en yüksek puanı alırken S3, K ve S2 sırasıyla takip etmektedir. S1 grubu ile diğer üç grup arasındaki fark istatistik açıdan önemli olarak bulunmuştur (P<0.05). K, S2 ve S3 grupları arasındaki fark önemli olarak bulunmamıştır (P>0.05).

Piştirilmiş sucuk dilimlerinde renk puanları 8.44 ile 7.64 arasında değişim göstermektedir ve ortalama renk puanı 8.12 olarak bulunmuştur. En düşük puanı kontrol grubu alırken en yüksek puanı starter kültür içeren S1 grubu almıştır. Yapılan Tukey istatistik analizi sonucuna göre K grubunun diğer gruplardan farklı olduğu (P>0.05) ve birbirine yakın puan alan S1, S2 ve S3 gruplarının arasındaki farkın önemsiz (P>0.05) olduğu bulunmuştur.

Piştirilmiş sucuk dilimlerinin tadım puanlamasından elde edilen verilere K grubu 6.96 ile en düşük puanı alırken, S2 grubu 7.67 ve S3 grubu 8.00 ile K grubunu takip etmiştir. 8.30 puan ile en yüksek puanı S1 grubunun aldığı gözlemlenmiştir. K grubu ile starter

ve biyokoruyucu kültür içeren gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Bununla beraber diğer üç grup arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$).

Piştirilmiş sucukların ortalama genel beğeni puanı 7.69 olarak hesaplanmıştır. Genel beğeni puanı en yüksek olan grup S3 grubu olarak gözlemlenmiştir. S1 grubu (7.84 puan) ve S2 grubu (7.87 puan), S3 grubunu ikinci olarak takip etmektedir. S1, S2 ve S3 grupları arasındaki fark önemsiz olarak bulunmuştur ($P>0.05$). Son olarak K grubu ise 6.95 ile en düşük genel beğeni puanını almıştır ve diğer gruplardan önemli derecede farklı bulunmuştur ($P<0.05$).

Çizelge 4.21 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin pişmiş sucuğun duyuşal özelliklerine etkisi

Gruplar	Koku	Renk	Tat	Genel Beğeni
K	7.74±0.39 ^a	7.64±0.16 ^a	6.96±0.61 ^a	6.95±0.51 ^a
S1	8.47±0.36 ^b	8.44±0.59 ^b	8.30±0.34 ^b	7.84±0.51 ^b
S2	7.56±0.33 ^a	8.37±0.34 ^b	7.67±0.11 ^b	7.87±0.14 ^b
S3	7.85±0.13 ^a	8.04±0.39 ^b	8.00±0.40 ^b	8.11±0.39 ^b

*Sonuçlar 3 tekerrür ortalaması±standart sapması olarak verilmiştir

a-b: Her bir sütunda aynı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemli değildir ($P>0.05$)

Piştirilmiş örneklerde starter ve biyokoruyucu kültür içeren örneklere, en düşük puanlar kontrol örneklerine verilmiştir. Panelistler gerek çiğ gerek piştirilmiş örneklerde proteolitik değişimlerin daha fazla olduğu kimyasal analizle ortaya konulan S1 grubunu tat, renk ve genel beğeni yönlerinden diğer gruplardan ayırt edememişlerdir.

Sucuk üretiminde starter kültür ve biyokoruyucu kültür inoküle edilerek üretilen sucuklarda ürün kalitesi ile ilişkili unsurların daha kısa sürede oluşması ürüne özgü duyuşal özelliklerin de daha iyi gelişmesine neden olmuştur. Hızlı pH düşüşü, kür renginin oluşması ve stabilitesini koruması, asidik tadın oluşması ve düşük pH ortamında proteolitik enzimlerin aktif hale gelmesi ile proteinlerin küçük molekülü bileşiklere parçalanması sucuk tadında ve aromasındaki değişim çiğ ve piştirilmiş sucukların duyuşal özelliklerini etkilemiştir. Benzer şekilde Dalmış ve Soyer (2008),

farklı starter kültürlerin kullanıldığı sucuk örneklerinde, kontrol grubunun diğer gruplara kıyasla daha düşük puanlar aldığını bildirmişlerdir.

Laktik asit bakterileri tarafından karbonhidrat fermantasyon ürünleri (başlıca laktik asit ve az miktarda asetik asit), et ürünlerine, yaklaşık iki haftadan az olgunlaşmadan sonra " asit " tadı verir. Et ürünlerinde asidik tadın yoğunluğu pH değerine bağlıdır. Yüksek oranda asetik asit daha az "saf" ancak daha fazla "ekşi" tat vermektedir (Lücke 2000).

Kullanılan farklı starter kültürlerin (*L. sakei*, *S. carnosus*, *S. xylosus*, *P. pentosaceus* ve *Debaryomyces hansenii*) görünüş ve tekstür üzerine önemli etkileri olmadığı Lorenzo ve arkadaşları tarafından ortaya konulmuştur (Lorenzo vd. 2014). Eklenme amacı patojen ve bozulma yapan mikroorganizmaları inhibe etmek olan "koruyucu kültürler", ürünün duyu özelliklerini olabildiğince az ölçüde değiştirmektedirler (Lücke 2000).

Etteki laktobasillerin ekzopeptidazları, kas aminopeptidazları ile aroma oluşumunu sağlayan serbest amino asitlerin birleşmelerine yardımcı olarak ürün tadını etkilemektedirler; ama laktobasiller ve pediokoklar, düşük katabolik aktivite göstermeleri nedeniyle fermente et ürünlerinde 3-metil butanol gibi tipik aroma bileşenlerinin oluşumunda önemli role sahip değildirler (Başyigit vd. 2007).

L. sakei (Fadda vd. 2001, Ammor vd. 2005) ve *P. acidilactici* (Gandhi vd. 2016) koruyucu kültürlerinin peptidazlar üzerine aktivitelerinin olduğu bildirilmiştir. Örneğin lösin ve valin aminopeptidazları sarkoplazmik proteinleri hidrolize ederek serbest amino asitler oluştururlar. Bu amino asitlerin kürlenmiş et ürünlerinde flavor oluşumundan sorumlu bileşiklerin öncüleri olduğu bildirilmiştir (Ammor vd. 2005, Fadda vd. 2001, Wang vd. 2013). Çalışmamızda da, *L.sakei* ve *P. acidilactici* inoküle edilen sucuklar kontrolden daha yüksek tat ve genel beğeni puanları almışlardır.

5. SONUÇ

Sucuk gibi fermente et ürünleri mikrobiyolojik olarak güvenilir mikroorganizmalar içermelerine karşın, patojen mikroorganizmaların gelişebildiği ortamlardır. Starter kültür kullanılmadan üretilen ürünler daha fazla risk taşımakla birlikte, starter kültür ilave edilerek üretilen sucuklarda da patojen gelişme riski bulunmaktadır. Bu riski ortadan kaldırmanın en iyi yolu olarak biyokoruyucu kültürlerin kullanılması önerilmektedir. Bu çalışmada bakteriyosin üretme kabiliyeti olan iki biyokoruyucu kültür *L.sakei* ve *P.acidilactici* sucuk üretiminde kullanılmış ve ürün kalitesine etkileri, ticari starter kültür (*P. pentosaceus* ve *S. carnosus*) ilave edilerek üretilen ve biyokoruyucu/starter kültür ilavesiz üretilen sucuklarla karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Starter ve koruyucu kültür inokülasyonu tartışmasız, kültür ilave edilmemiş sucuklardan daha iyi mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal kaliteye neden olmuştur.
- *L.sakei* inokülasyonu, LAB'nin ortama kısa sürede hakim olmasına ve hızlı pH düşüşüne neden olarak, gıda kaynaklı patojenler *E.coli*, *S.aureus* ve Enterobacteriaceae sayısında önemli düşüşlere neden olmuştur. Diğer yandan enterokoklar ve maya-küf sayısında da üretim boyunca azalmaya neden olmuştur.
- *P. acidilactici*, *L.sakei*'den farklı olarak üretim sırasında enterokokların sayısında artışa neden olmuştur. Bununla birlikte *S.aureus*, *E.coli*, Enterobacteriaceae ve maya-küf sayılarını önemli düzeylerde azaltmıştır.
- Ticari starter kültür karışımı, çabuk pH düşüşü ile istenmeyen mikroorganizmaların sayısında *fermantasyon ve kuruma sırasında azalmalara neden olmuştur. Fakat L.sakei ve P.acidilactici* inoküle edilen sucuklarla karşılaştırıldığında özellikle *S.aureus* ve *E.coli* inhibisyonunda daha yetersiz kalmış ve maya-küf sayısı da startersiz sucuklardan daha düşük, ancak biyokoruyucu içeren sucuklardan daha yüksek olmuştur.

- *L.sakei*, entrokoklar, *S.aureus*, *E.coli* ve Enterobacteriaceae, gibi gıda güvenliği için tehlikeli kabul edilen mikroorganizmaları inhibe etmesi, daha iyi ürün kalitesine neden olması yönleriyle sucuk üretimi için önerilmektedir.
- *P.acidilactici* inokülasyonu, mikrobiyal kalite için önerilebilir, ancak enterokok sayısında neden olduğu artış nedeniyle, starter kültürler ile birlikte kullanılması önerilmektedir.
- Sucuklarda koruyucu kültür kullanımı, hızlı renk gelişimine ve bu rengin daha uzun süre stabil kalmasına neden olmuştur. *P. acidilactici* ve *L. sakei* koruyucu kültürleri, karışık kültürlerle benzer etki göstermektedir. Ancak patojen mikroorganizmaları inhibe etme etkilerinin daha iyi olması nedeniyle tercih edilmeleri önerilmektedir.
- Sucuklara starter kültür ve biyokoruyucu kültür inokülasyonu, lipid oksidasyonunu geciktirmiş ve proteolitik faaliyeti artırmıştır. Bu etkiler hem çiğ hem pişmiş sucukların daha iyi duyuşal özelliklere sahip olmasına neden olmuştur.
- Sucuk üreticilerinin kısa üretim sürelerini tercih ettikleri düşünüldüğünde, ürün güvenilirliğini sağlamada ticari starter kültürler yerine, fonksiyonel ve bakteriyosin üretme kabiliyetinde olan kültürleri tercih etmeleri ya da starter kültürlerin biyokoruyucu kültür ile birlikte kullanılması ile ürün güvenilirliği ve yeterli duyuşal özelliklerin gelişmesi hedeflerine ulaşmaları mümkün olacaktır. Biyokoruyucu kültürlerin sucuk bileşiminde, duyuşal özelliklerinde istenmeyen değişikliklere neden olmaması, hatta duyuşal özellikleri iyileştirmesi, diğer yandan istenmeyen mikroorganizma gelişimini engellemesi sucuk üretiminde starter kültürlerle birlikte kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Ahn, D.U., Olson, D.G., Jo, C., Chen, X., Wu, C., Lee, J.I. 1998. Effect of muscle type, packaging, and irradiation on lipid oxidation, volatile production, and color in raw pork patties. *Meat Science*, 47(1), 27-39.
- Akkoç, N., Şanlıbaba, P. ve Akçelik, M. 2009. Bakteriyosinler: alternatif gıda koruyucuları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 1(25), 59-70.
- Aksu, M. I. ve Kaya, M. 2004. Effect of usage *Urtica dioica* L. on microbiological properties of sucuk, a Turkish dry-fermented sausage. *Food Control*, 15 (8), 591–595.
- Albano, H., Pinho, C., Leite, D., Barbosa, J., Silva, J., Carneiro, L., Magalhaes, R., Hogg, T. ve Tixeira, P. 2009. Evaluation of a bacteriocin-producing strain of *Pediococcus acidilactici* as a biopreservative for “Alheira”, a fermented meat sausage. *Food Control*, 20(8), 764-770.
- Amanatidou, A., Smid, E.J., Bennik, M.H.J. and Gorris, L.G.M. 2001. Antioxidative properties of *Lactobacillus sake* upon exposure to elevated oxygen concentrations. *FEMS Microbiology Letter*, 203, 87–94.
- Ammor, S., Dufour, E., Zagorec, M., Chaillou, S. ve Chevallier, I. 2005. Characterization and selection of *Lactobacillus sakei* strains isolated from traditional dry sausage for their potential use as starter cultures. *Food Microbiology*, 22(6), 529-538.
- Anonim, 1991. Protein quality evaluation, FAO/WHO Raporu, Rome, Italy.
- Anonim, 2000. Türk Gıda Kodeksi Taze Et, Hazırlanmış Et ve Hazırlanmış Et Karışımları Tebliği (Tebliğ no: 2000/4). Ankara: Resmi Gazete.
- Anonim, 2019. Türk Gıda Kodeksi Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği (TEBLİĞ NO: 2018/52). Ankara: Resmi Gazete.
- Anonim, 2002. Türk Sucuğu. Türk Standartları Enstitüsü. TS 1070, ICS 67.120.10, Ankara.

- Ansorena, D. ve Astisaran, I. 2004. Effect of storage and packaging on fatty acids composition and oxidation in dry fermented sausages made with added olive oil and antioxidants. *Meat Science*, 67, 237-244.
- AOAC.1998. *Bacteriological Analytical Manual*, 8th ed, A.O.A.C. International, Gaithersburg, MD.
- AOAC.2010. *Official Methods of Analysis* (17th edition). Sec #928.08. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Aquilanti, L., Garofalo, C., Osimani, A. ve Clementi, F. 2016. Ecology of lactic acid bacteria and coagulase negative cocci in fermented dry sausages manufactured in Italy and other Mediterranean countries: an overview. *International Food Research Journal*, 23(2), 429-445.
- Aro Aro, J.M., Nyam-Osor, P., Tsuji, K., Shimada, K-I., Fukushima, M. ve Sekikawa, M. 2010. The effect of starter cultures on proteolytic changes and amino acid content in fermented sausages. *Food Chemistry*, 119 (1), 279-285.
- Arslan, B. ve Soyer, A. 2018. Effects of chitosan as a surface fungus inhibitor on microbiological, physicochemical, oxidative and sensory characteristics of dry fermented sausages. *Meat Science*, 145, 107-113.
- Barriere, C., Centeno, D., Lebert, A., Leroy-Setrin, S., Berdague, J.L., Talon, R. 2001. Roles of superoxide dismutase and catalase of *Staphylococcus xylosus* in the inhibition of linoleic acid oxidation. *FEMS Microbiol. Lett.*, 201, 181-185.
- Başığit, G., Karahan, A. G. ve Kılıç, B. 2007. Fermente et ürünlerinde fonksiyonel starter kültürler ve probiyotikler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 2(64), 60-69.
- Bello, J., ve M. A. Sa'nchez-Fuertes. 1995. Application of mathematical model for the inhibition of *Enterobacteriaceae* and clostridia during a sausage curing process. *Journal of Food Protection*, 58(12), 1345-1350.
- Bharti, V., Mehta, A., Singh, S., Jain, N., Ahirwal, L. ve Mehta, S. 2015. Bacteriocin: A novel approach for preservation of food. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 17(9), 20-9.
- Biesalski, H.K. 2005. Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat Science*, 70(3) , 509-524.

- Biscola, V., Todorov, S. D., Capuano, V. S., Abriouel, H., Gálvez, A. ve Franco, B. D. 2013. Isolation and characterization of a nisin-like bacteriocin produced by a *Lactococcus lactis* strain isolated from charqui, a Brazilian fermented, salted and dried meat product. *Meat science*, 93(3), 607-613.
- Bozkurt, H. ve Bayram, M. 2006. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. *Meat Science*, 73(2), 344–350.
- Bozkurt, H. ve Erkmen, O. 2004. Effect of nitrate/nitrite on the quality of sausage (sucuk) during ripening and storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(3), 279-286.
- Bozkurt, H. ve Erkmen, O. 2002. Effects of starter cultures and additives on the quality of Turkish style sausage (sucuk). *Meat Science*, 61(2), 149–156.
- Bruno, M. E. ve Montville, T. J. 1993. Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiology*, 59(9), 3003-3010.
- Candogan, K. ve Acton, J.C. 2004. Proteolytic activity of bacterial starter cultures for meat fermentation. *Journal of Muscle Foods*, 15(1), 23–34.
- Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bouoni, L., Virgili, R., ve Parolari, G. 1993. Sensory property relationships to chemical data of Italian- type dry- cured ham. *Journal of Food Science*, 58(5), 968-972.
- Castano, A., Fontán, M. G., Fresno, J., Tornadijo, M. ve Carballo, J. 2002. Survival of *Enterobacteriaceae* during processing of chorizo de cebolla, a Spanish fermented sausage. *Food Control*, 13(2), 107–115.
- Castellano, P. ve Vignolo, G. 2006. Inhibition of *Listeria innocua* and *Brochothrix thermosphacta* in vacuum-packaged meat by addition of bacteriocinogenic *Lactobacillus curvatus* CRL705 and its bacteriocins. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2), 194–199.
- Castellano, P., Belfiore, C. ve Vignolo, G. 2012. Combination of bioprotective cultures with EDTA to reduce *Escherichia coli* O157: H7 in frozen ground-beef patties. *Food Control*, 22(8), 1461-1465.
- Chen, H. ve Hoover, D. G. 2003. Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 82–100.

- Cocconcelli, P. S. ve Fontana, C. 2015. Bacteria. In: Handbook of Fermented Meat and Poultry. F. Toldrá (eds), Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), 117-128, Paterna, Valencia, Spain
- Çon, A. H. ve Gökalp, H. Y. 2000. Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. Meat Science, 55(1), 89-96.
- Çon, A. H., Gökalp, H. Y. ve Kaya, M. 2001. Antagonistic effect on *Listeria monocytogenes* and *L. innocua* of a bacteriocin-like metabolite produced by lactic acid bacteria isolated from sucuk. Meat Science, 59(4), 437-441.
- Coppola, R., E. Marconi, F. Rossi ve F. Dellaglio. 1995. Artisanal production of Naples-type salami: chemical and microbiological aspects. Italian Journal of Food Science, 7(1),57–62.
- Dalmış, Ü. ve Soyer, A. 2008. Effect of processing methods and starter culture (*Staphylococcus xylosus* and *Pediococcus pentosaceus*) on proteolytic changes in Turkish sausages (sucuk) during ripening and storage. Meat Science, 80(2), 345-354.
- De Martinis, E. C. P., Alves, V. F. ve Franco, B. D. G. M. 2002. Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products. Food Reviews International, 18(2-3), 191-208.
- De Martinis, E.C.P., Franco, B.D.G.M. 1998. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in a pork product by a *Lactobacillus sake* strain. International Journal of Food Microbiology, 42, 119– 126.
- Diaz, O., Fernandez, M., De Fernando, G. D. G., de la Hoz, L. ve Ordoñez, J. A. 1997. Proteolysis in dry fermented sausages: the effect of selected exogenous proteases. Meat Science, 46(1), 115-128.
- Dinçer, E., Kıvanç, M. ve Karaca, H. 2009. Biyokoruyucu olarak laktik asit bakterileri ve bakteriyosinler. Gıda Dergisi, 35(1),55-62.
- Ercoşkun, H. ve Özkal, S. G. 2010. Kinetics of traditional Turkish sausage quality aspects during fermentation. Food Control, 22, 156-172.
- Erkkilä, S., 2001. Bioprotective and Probiotic Meat Starter Cultures For The Fermentation Of Dry Sausages. Akademik Tez, University of Helsinki Department of Food Technology, 64, Helsinki.

- Erkmen, O. ve Bozkurt, H., 2004. Quality characteristics of retailed sucuk. Food Technol. Biotechnol, 42(1), 63–69.
- Fadda, S., Lopez, C. ve Vignolo, G. 2010. Role of lactic acid bacteria during meat conditioning and fermentation: peptides generated as sensorial and hygienic biomarkers. Meat Science, 86, 66-79.
- Fadda, S., Sanz, Y., Vignolo, G., Aristoy, M.-C., Oliver, G., Toldrá, F. 1999. Hydrolysis of pork muscle sarcoplasmic proteins by *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*. Applied and Environmental Microbiology, 65, 578–584.
- Fadda, S., Vignolo, G. ve Oliver, G. 2001. Tyramine degradation and tyramine/histamine production by lactic acid bacteria and *Korucia* strains. Biotechnology Letters, 23, 2015-2019.
- Ferreira, V., Barbosa, J., Vendeiro, S., Mota, A., Silva, F., Monteiro, M.J., Hogg, T., Gibbs, P. ve Teixeira, P. 2006. Chemical and microbiological characterization of alheiras: a typical Portuguese fermented sausage with particular reference to factors relating to food safety. Meat Science, 73, 570–575.
- Gaggia, F., Gioia, D., Baffoni, L. ve Biavati, B., 2011. The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety. Trends in Food Science and Technology, 22, 58-66.
- Galvez, A., Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R. 2010. Microbial antagonists to food-borne pathogens and biocontrol. Current Opinion in Biotechnology, 21, 142-148.
- Gandhi, D., Chanalía, P., Attri, P., Dhanda, S. 2016. Dipeptidyl peptidase-II from probiotic *Pediococcus acidilactici*: Purification and functional characterization. Int. J Biol Macromol., 93, 919-932.
- Garcia, P., Rodriguez, L., Rodriguez, A., Martinez, B. 2010. Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. Trends in Food Science and Technology, 21, 373-382.
- Gençcelep, H., Kaban, G. ve Kaya, M., 2007. Effects of starter cultures and nitrite levels on formation of biogenic amines in sucuk. Meat Science, 77(3), 424–430.
- Giraffa, G. 2002. *Enterococci* from foods. FEMS Microbiology Reviews, 744, 1-9.

- Gi-Seong, M., Kim, W. J. ve Kim, M. 2002. Synergistic effects of bacteriocin-producing *Pediococcus acidilactici* K10 and organic acids on inhibiting *Escherichia coli* O157:H7 and applications in ground beef. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12(6), 936-942.
- Gökalp, H. Y., Kaya, M. ve Zorba, Ö. 1994. Et ürünleri işleme mühendisliği. A.Ü. Yayın No:786. Erzurum.
- Gökalp, H. Y., Kaya, M., Tülek, Y. ve Zorba, Ö. 1993. Et ve Et Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu. Atatürk Üniv., Ziraat Fak., Yayın no. 318, Erzurum.
- Gounadaki, A., Skandamis, P.N., Drosinos, E.H. ve Nychas, G.J.E. 2008. Microbial ecology of food contact surfaces and products of small-scale facilities producing traditional sausages. *Food Microbiology*, 25, 313–323.
- Gülgör, G. ve Özçelik, F. 2014. Bakteriyosin Üreten Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Amaçlı Kullanımı. *Akademik Gıda*, 12(1), 63-68.
- Gürsel, A. 1999. Laktik ve propiyonik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler ve süt teknolojisi alanındaki uygulamaları. *Gıda*, 24(6), 399-410.
- Hammes, W.P., Bantleon, A., Min, S. 1990. Lactic acid bacteria in meat fermentation. *FEMS Microbiology Letters*, 87, 165-173.
- Hansen, E. B. 2002. Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1-2), 119-131.
- Héquet, A., Laffitte, V., Simon, L., De Sousa-Caetano, D., Thomas, C., Fremaux, C. ve Berjeaud, J. M. 2007. Characterization of new bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated using a medium designed to simulate inhibition of *Listeria* by *Lactobacillus sakei* 2512 on meat. *International Journal of Food Microbiology*, 113(1), 67-74.
- Holck, A., Axelsson, L., McLeod, A., Rode, T. M. ve Heir, E. 2017. Health and safety considerations of fermented sausages. *Journal of Food Quality*, 2017, Article ID 9753894, 25 pages
- Hugas, M., Garriga, M. ve Aymerich, M. T. 2003. Functionality of enterococci in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3), 223-233.

- Iacumin, L., Comi, G., Cantoni, C. ve Cocolin, L. 2006. Ecology and dynamics of coagulase– negative cocci isolated from naturally fermented Italian sausages. *Systematic and Applied Microbiology*, 29(6),480-486.
- ICMSF. 1982. International commission on microbiological specifications for foods. Microorganism in Foods 1. Their Significance and Methods of Enumeration, Univ. to Toronto Press., London.
- Kaban, G. ve Kaya, M. 2006. Effect of starter culture on growth of *Staphylococcus aureus* in sucuk. *Food Control*, 17(10), 797-801.
- Kaban, G. ve 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(8), 385-388.
- Kaban, G. ve Kaya, M. 2009. Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* on the quality characteristics of dry fermented sausage “Sucuk”. *Journal of Food Science*, 74(1), 58-63.
- Kamiloğlu, A., Kaban, G. ve Kaya, M. 2016. Contribution of catalase positive cocci on flavour formation in fermented sausages. *British Journal of Applied Science and Technology*, 17(1), 1-8.
- Kamiloğlu, A., Kaban, G. ve Kaya, M. 2019. Effects of autochthonous *Lactobacillus plantarum* strains on *Listeria monocytogenes* in sucuk during ripening. *Journal of Food Safety*, 39(3), e12618.
- Katikou, P., Ambrosiadis, I., Georgantelis, D., Koidis, P., Georgakis, S.A. 2005. Effect of *Lactobacillus* -protective cultures with bacteriocin- like inhibitory substances’ producing ability on microbiological, chemical and sensory changes during storage of refrigerated vacuum-packed sliced beef. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 1303-1313.
- Kaya, M. ve Gökalp, H. Y. 2005. The behavior of *Listeria monocytogenes* in sucuks produced with different lactic starter cultures. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(6),1113-1120.
- Kim, J.E., Kim J.Y., Lee K.W., Lee H.J. 2007. Cancer chemopreventive effects of lactic acid bacteria. *Journal of Microbiology and Biotechnology*,17,1227–35.

- Kim, Y., Whang, J.Y., Whang, K.Y., Oh, S., Kim, S.H. 2008. Characterization of the cholesterol-reducing activity in a cell-free supernatant of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 72(6),1483–1490.
- Kışla, D. ve Ünlütürk, A. 2003. Nisinin antimikrobiyal etkisi, taze ve işlenmiş balıklarda kullanımı. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 20(3-4), 543 – 550.
- Konuray, G., Erginkaya, Z. ve Koç, G. 2017. *Bacillus* spp.'nin et ürünlerinde probiyotik olarak kullanımları. Çukurova Tarım Gıda Bil. Der., 32(2), 47-60.
- Kröckel, L. 2013. The role of lactic acid bacteria in safety and flavour development of meat and meat products. In: Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purposes (Ed. M. Kongo). Intech, 670 p.
- Kuleasan, H. ve Çakmakçı, M. L. 2003. Bakteriyosinlerin özellikleri, gıda mikrobiyolojisinde kullanım alanları ve ileri dönemlerdeki kullanım potansiyelleri. Gıda, 28(2), 123-129.
- Kumar, P., Chatli, M. K., Verma, A. K., Mehta, N., Malav, O. P., Kumar, D. ve Sharma, N. 2017. Quality, functionality, and shelf life of fermented meat and meat products: A review. Critical reviews in food science and nutrition, 57(13), 2844-2856.
- Kurt, Ş. ve Zorba, Ö., 2005. Bakteriyosinler ve gıdalarda kullanım olanakları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16(1),77-83.
- Laranjo, M., Elias, M. ve Fraqueza, M. J. 2017. The use of starter cultures in traditional meat products. Journal of Food Quality, 2017, Article ID 9546026, 18 pages
- Latorre-Moratalla, M. L., Bover-Cid, S., Aymerich, T., Marcos, B., Vidal-Carou, M. C. ve Garriga, M. 2007. Aminogenesis control in fermented sausages manufactured with pressurized meat batter and starter culture. Meat Science, 75(3), 460-469.
- Leistner, L. 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. International Journal of Food Microbiology, 55,181-186.
- Leroi, F., Fall, P. A., Pilet, M. F., Chevalier, F. ve Baron, R. 2012. Influence of temperature, pH and NaCl concentration on the maximal growth rate of *Brochothrix thermosphacta* and a bioprotective bacteria *Lactococcus piscium* CNCM I-4031. Food Microbiology, 31(2), 222-228.

- Leroy, F., Verluyten, J. ve De Vuyst, L. 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106(3), 270-285.
- Leroy, S., Giammarinaro, P., Chacornac, J., Lebert, L., Talon, R. 2010. Biodiversity of indigenous staphylococci of naturally fermented dry sausages and manufacturing environments of small-scale processing units. *Food Microbiology*, 27, 294-301.
- Liserre, A. M., Landgraf, M., Destro, M. T. ve Franco, B. D. 2002. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* strain in modified atmosphere-packaged Brazilian sausage. *Meat science*, 61(4), 449-455.
- Lopez, C., Medina, L.M. ve Jordano, R. 2004. Occurrence and behavior of *Enterobacteriaceae* and enterococci in Mediterranean dry sausages during ripening in a pilot-scale chamber. *Journal of Food Protection*, 67(12), 2812-2814.
- Lorenzo, J. M., Gómez, M. ve Fonseca, S. 2014. Effect of commercial starter cultures on physicochemical characteristics, microbial counts and free fatty acid composition of dry-cured foal sausage. *Food Control*, 46, 382-389.
- Lu, S. L., Xu, X. L., Zhou, G. H., Zhu, Z. Y., Meng, Y. ve Sun, Y. M. 2010. Effect of starter cultures on microbial ecosystem and biogenic amines in fermented sausage. *Food Control*, 21(4), 444-449.
- Lücke, F. K. 2000. Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 56, 105-115.
- Lücke, F. K. 1994. Fermented meat products. *Food Research International*, 27(3), 299-307.
- Ma, D., Zhao, L. H., Jin, Y., Niu, X. Y., Yang, F. ve Xiao, Y. 2015. Effect of different starter cultures on the physico-chemical and microbial characteristics of fermented mutton sausages. *The Food Industry*, 8(36), 13-16.
- Mainar, M. S., Xhaferi, R., Samapundo, S., Devlieghere, F. ve Leroy, F. 2016. Opportunities and limitations for the production of safe fermented meats without nitrate and nitrite using an antibacterial *Staphylococcus sciuri* starter culture. *Food Control*, 69, 267-274.
- McAuliffe, O., Ross, R.P. ve Hill, C. 2001. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiology Review*, 25(3), 285-308.

- Melero, B., Vinuesa, R., Diez, A. M., Jaime, I. ve Rovira, J. 2013. Application of protective cultures against *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter jejuni* in chicken products packaged under modified atmosphere. *Poultry Science*, 92(4), 1108-1116.
- Montel, M. C. 2000. Fermented meat products, p. 744–753. In R. K. Robinson, C. A. Batt, and P. D. Patel (ed.), *Encyclopedia of food microbiology*, vol. 2. Academic Press, London.
- Ockerman, H. W. ve Basu, L. 2015. Production and Consumption of Fermented Meat Products, In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, Wiley Blackwell, 7-10, Valencia, Spain.
- Ockerman, W. H., Basu, L. 2007. Fermented meat products: Production and consumption. In F. Toldra (Ed.), *Handbook of Fermented Meat and Poultry* (pp. 9–16). Blackwell Publishing Iowa, 50014, USA.
- Öz, E., Kabil, E., Kaban, G. ve Kaya, M. 2018. Effect of autochthonous *Pediococcus acidilactici* on volatile profile and some properties of heat-treated sucuk. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(9), e13752
- Öz, F., Kaya, M. ve Aksu, M. İ. 2002. sucuk üretiminde farklı nitrit dozlarının ve starter kültür kullanımının *Escherichia coli* O157:H7'nin gelişimi üzerine etkisi. *The Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26, 651-657.
- Özdemir, H. 1999. Türk fermente sucuğunun mikroflorasındaki dominant laktobasil türlerinin sucuğun organoleptik nitelikleri ile ilişkisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 46(2-3), 189-198.
- Öztürk, F. ve Halkman, A. 2015. Determination of the survival levels of acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7 in sucuk (Turkish-type fermented sausage). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39, 485-492.
- Özvural, E. B. ve Vural, H. 2015. Fermented Sausages from Other Meats, In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, Fidel Toldrá(eds), John Wiley&Sons, 339-343, Valencia, Spain.
- Papadima, S. N., Bloukas, J. G. 1999. Effect of fat level and storage conditions on quality characteristics of traditional Greek sausages. *Meat Science*, 51, 103–113.

- Papamanoli, E., N. Tzanetakis, E. Litopoulou-Tzanetaki ve P. Kotzekidou. 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65,859–867.
- Pereira, P. M. D. C. C. ve Vicente, A. F. D. R. B. 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat science*, 93(3), 586-592.
- Pérez-Alvarez, J. A., Sayas-Barberá, M. E., Fernández-López, J. ve Aranda-Catalá, V. 1999. Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Research International*, 32(9), 599-607.
- Pilet, M. F. ve Leroi, F. 2011. Applications of protective cultures, bacteriocins and bacteriophages in fresh seafood and seafood products, In:Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation, Lacroix C. (eds), Woodhead Publishing, 324-347, Cambridge, UK.
- Pilevar, Z. ve Hosseini, H. 2017. Effects of starter cultures on the properties of meat products: A review. *Annual Research and Review in Biology*, 17(6), 1-17.
- Pullen, M.M. ve Genigeorgis, C.A. 1977. A Study of coagulase-positive staphylococci in salami before fermentation. *Journal of Food Protection*, 40, 704-708.
- Rantsiou, K., Urso, R., Comi, G., Cocolin, L. 2005. Use of a bacteriocin-producer *Lactobacillus sakei* for fermented sausages prodcuton. 6th International Symposium: Safe Pork. 6-9 September, 2005, California, U.S.A., 135-138.
- Rauta, P.R., Dhupal, M., Nayak, B. 2013. Screening and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from vegetable waste and fish intestine. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(8), 234-244.
- Rebecchi, A., Crivori, S., Sarra, P. G. ve Cocconcelli, P. S. 1998. Physiological and molecular techniques for the study of bacterial community development in sausage fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 84(6), 1043-1049.
- Ren C, Zhang Q, Wang G, Ai C, Hu M, Liu X, et al. 2014. Modulation of peanut-induced allergic immune responses by orallactic acid bacteria-based vaccines in mice. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(14),6353-6364.

- Rico, E. ve Toldrá, F., Flores, J. 1991. Effect of dry-curing process parameters on pork muscle cathepsin B: H and L activity. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*. 193, 541–544.
- Ross, R.P., Morgan, S. ve Hill, C. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1-2), 3–16.
- Savic, I., 1985. Website: <http://www.fao.org/3/x6556e/x6556e00.htm#chCOS> Erişim tarihi: 7.11.2019
- Schillinger, U., Geisen, R., Holzapfel, W.H. 1996. Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 71, 58-64.
- Şengün, İ. Y. 2011. Lactic acid bacteria used in the production of fermented foods. *Biological Diversity and Conservation*, 4, 1-42.
- Serdaroğlu, M. ve Özsümer, M. S. 2000. Et ve et ürünlerinde bakteriosinlerin önemi. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 2-3(6), 211-217.
- Şimşek, B., Sağdıç, O. ve Karahan, A. G. 2002. Süt starter kültürleri tarafından üretilen bakteriosinlerin süt teknolojisindeki önemleri. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3(8), 335-341.
- Smith, J.L. ve Palumbo, S.A. 1978. Injury to *Staphylococcus aureus* during sausage Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 36, 857-860.
- Šojić, B.V., Džinić, N.R., Tomović, V.M., Ikonić, P.M., Jokanović, M.R., Kravić, S.Z., Tasić, T.A., Škaljac, S.B. 2016. Effect of starter culture addition on fatty acid profile, oxidative and sensory stability of traditional fermented sausage (petrovská klobása). *APTEFF*, 47, 1-265.
- Soyer, A. 2002. Fermente Et Ürünlerinde Kaliteyi Etkileyen İç Faktörler. *Gıda*, 27(1), 15-19.
- Soyer, A. 2005. Effect of fat level and ripening temperature on biochemical and sensory characteristics of naturally fermented Turkish sausages (sucuk). *European Food Research and Technology*, 221, 412-415.

- Soyer, A., Ertas, A. H. ve Üzümcüoğlu, U. 2005. Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucuks). *Meat Science*, 69(1), 135–141.
- Talon, R. ve Leroy, S. 2006. Latest developments in meat bacterial starters ,In: *Advanced technologies for meat processing*, L. M. L. Nollet & F. Toldra (Eds.), 401–418, New York: CRC Press/Taylor and Francis Group.
- Talon, R., Leroy, S. ve Lebert, I. 2007. Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. *Meat Science*, 77(1), 55–62.
- Talon, R., Leroy-Setrin, S., Fadda, S. 2004. Dry fermented sausages –Chapter 23. In Y. Hui, L., Meunier-Goddik, A. S. Hansen, J. Josephsen, W.-K. Nip, & P. S. Stanfield, et al. (Eds.), *Handbook of food and beverage fermentation technology* (pp. 397–416). New York: Marcel Dekker Inc.
- Toldrá, F. ve Hui, Y. 2015. Dry-Fermented Sausages and Ripened Meats: An Overview. In: *Handbook of fermented meat and poultry*, F. Toldrá(ed), Wiley Blackwell, 3-6, Valencia, Spain.
- Toldrá, F., Cerveró, C., Rico, E. ve Part,C. 1993. Porcine aminopeptidase activity as affected by curing agents. *Journal of Food Science*, 58,724–726.
- Twomey, D., Ross, R. P., Ryan, M., Meaney, B. ve Hill, C. 2002. Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 82(1-4), 165-185.
- Üstündağ, H. Ç. ve Yalçın, H. 2017. Bakteriyosinler ve gıdalarda kullanımı. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(5), 53-65.
- Uzman, E. E. 2000. *Türkiye Kalkınma Bankası A.Ş. Sektörel araştırmalar Et ve Et ürünleri SA-00-03-06*, Ankara: TKB Matbaası.
- Verplaetse, A. 1994. Influence of raw meat properties and processing technology on aroma quality of raw fermented meat products. *Proceedings of the 40th International Congress of meat Science and technology*, The Hague, The netherlands, 45-65.
- Vignolo, G., Castellano, P. ve Fadda, S.2015. Bioprotective Cultures, In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, . John Wiley and Sons , F. Toldrá (eds),Chapter 15, Valencia, Spain.

- Vinnikova, L. G., Kishenya, A., Strashnova, I. ve Gusarenko, A. 2016. Study of lactic acid bacteria as a bio-protective culture for meat. Харчова наука і технологія, 2(10), 3-7.
- Wang, D., Zhao, L., Su, R. ve Jin, Y. 2019. Effects of different starter culture combinations on microbial counts and physico- chemical properties in dry fermented mutton sausages. Food Science and Nutrition, 7, 1957-1968.
- Wang, X., Ren, H., Wang, W., Zhang, Y., Bai, T., Li, J. ve Zhu, W. 2015. Effects of inoculation of commercial starter cultures on the quality and histamine accumulation in fermented sausages. Journal of Food Science, 80(2), 377-383.
- Wang, X.H., Ren., H.Y., Liu, D.Y., Zhu, W.Y. ve Wang, W. 2013. Effects of inoculating *Lactobacillus sakei* starter cultures on the microbiological quality and nitrite depletion of Chinese fermented sausages. Food Control, 32, 591-596.
- Yuksekdag, Z. N. ve Aslim, B. 2010. Assessment of potential probiotic-and starter properties of *Pediococcus* spp. isolated from Turkish-type fermented sausages (sucuk). Journal of Microbiol Biotechnol, 20(1), 161-168.
- Zdolec, N., Hadziosmanovic, M., Kozacinski, L., Cvrtila, Z., Filipovic, I., Skrivanko, M. ve Leskovic, K. 2008. Microbial and physicochemical succession in fermented sausages produced with bacteriocinogenic culture of *Lactobacillus sakei* and semi-purified bacteriocin mesenterocin Y. Meat Science, 80, 480-487.

EKLER

EK 1 Sucuk Duyusal Değerlendirme Formu

EK 2 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri

EK 3 Sucuklarda Üretimi ve Mikrobiyolojik Analizlerle İlgili Fotoğraflar

EK 1 SUCUK DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

ÇİĞ SUCUK DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Panelistin Adı Soyadı :

Tarih:

Duyusal değerlendirme kriterleri;

İlgili kutucuklara beğenme durumunuza göre, 1-10 arasında puan veriniz (10 puan: en beğenilen, 1 puan: hiç beğenilmeyen)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Koku: Dilimler halinde plastik kaplarda bulunan sucuklar, panelistlerce kapakları açılır açılmaz koklanarak asidik koku, baharat kokusu ve yabancı koku yönlerinden değerlendirilir.

*Örnekler arasında, bir önceki örneğin etkisini gidermek için su ya da kahve koklayınız.

Renk: Kapakları açarak renk yönünden değerlendiriniz. Tipik doğal fermente sucuk rengi (koyu kırmızı-mor) dikkate alınarak değerlendirme yapılır.

Tat: Arka dişlerle iyice çiğnenen küçük bir parça sucuk dilimi yutulduktan (veya yutulmadan ağızdan çıkarıldıktan) sonra algılanan asidik tat veya yabancı tat değerlendirilecektir.

* Örnekler arasında, ağızdaki bir önceki tadın etkisini gidermek için tuzsuz galeta ve su tüketiniz.

Genel beğeni: Yukarıda değeriendirilen özellikler yönünden en beğenilenden en az beğenilene doğru puanlama yapılır.

Örnek Kodu	Koku	Renk	Tat	Genel beğeni
125				
105				
109				
121				
103				
111				
123				
101				

PİŞMİŞ SUCUK DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Panelistin Adı Soyadı :

Tarih:

Duyusal değerlendirme kriterleri;

İlgili kutucuklara beğenme durumunuza göre, 1-10 arasında puan veriniz (10 puan: en beğenilen, 1 puan: hiç beğenilmeyen)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Koku: Dilimler halinde plastik kaplarda bulunan sucuklar, panelistlerce kapakları açılır açılmaz koklanarak asidik koku, baharat kokusu ve yabancı koku yönlerinden değerlendirilir.

*Örnekler arasında, bir önceki örneğin etkisini gidermek için su ya da kahve koklayınız.

Renk: Kapaklar açılarak renk, tipik pişmiş sucuk renginde olup olmadığına göre puanlanır.

Tat: Arka dişlerle iyice çiğnenen küçük bir parça pişmiş sucuk dilimi yutulduktan (veya yutulmadan ağızdan çıkarıldıktan) sonra algılanan asidik tat veya yabancı tat değerlendirilir.

* Örnekler arasında, ağızdaki bir önceki tadın etkisini gidermek için tuzsuz galeta ve su tüketiniz.

Genel beğeni: Yukarıda değeriendirilen özellikler yönünden en beğenilenden en az beğenilene doğru puanlama yapılır.

Örnek Kodu	Koku	Renk	Tat	Genel beğeni
125				
105				
109				
121				
103				
111				
123				
101				

EK 2 Araştırma Verilerinin Varyans Analizi Sonuçlarına İlişkin p Değerleri

Çizelge EK 2.1 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuktaki fizokimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimlere uygulamanın ve sürenin etkisini gösteren varyans analizi sonuçlarına ilişkin p değerleri

Fizikokimyasal özellikler	Üretim		
	Grup x Gün interaksiyonu	Grup	Gün
Nem	0.003	0.739	0.000
Yağ	0.024	0.121	0.000
Protein	0.070	0.141	0.000
Kül	0.138	0.078	0.000
pH	0.077	0.004	0.000
L* değeri	0.111	0.000	0.000
a* değeri	0.045	0.000	0.000
b* değeri	0.978	0.779	0.000
Proteoliz indeksi	0.115	0.000	0.000
TBARM	0.000	0.000	0.000

Çizelge EK 2.2 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuktaki mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimlere uygulamanın ve sürenin etkisini gösteren varyans analizi sonuçlarına ilişkin p değerleri

Mikrobiyolojik özellikler	Üretim		
	Grup x Gün interaksiyonu	Grup	Gün
TAMB	0.001	0.000	0.000
LAB	0.000	0.000	0.000
Kuagulaz Negatif Kok	0.000	0.000	0.000
Enterococcus	0.000	0.000	0.010
Enterobacteriaceae	0.040	0.020	0.000
E. coli	0.000	0.000	0.000
Maya-küf	0.000	0.000	0.000
Staphylococcus aureus	0.000	0.000	0.000

Çizelge EK 2.3 Starter ve biyokoruyucu kültür ilavesinin ve üretim süresinin sucuktaki duyuşal özelliklerinde meydana gelen değişimlere uygulamanın ve sürenin etkisini gösteren varyans analizi sonuçlarına ilişkin p değerleri

Uygulama	Koku	Renk	Tat	Genel Beğeni
Çiğ	0.633	0.038	0.065	0.094
Pişmiş	0.040	0.129	0.020	0.039

EK 3 Sucuklarda Üretim ve Mikrobiyolojik Analizlerle İlgili Fotoğraflar



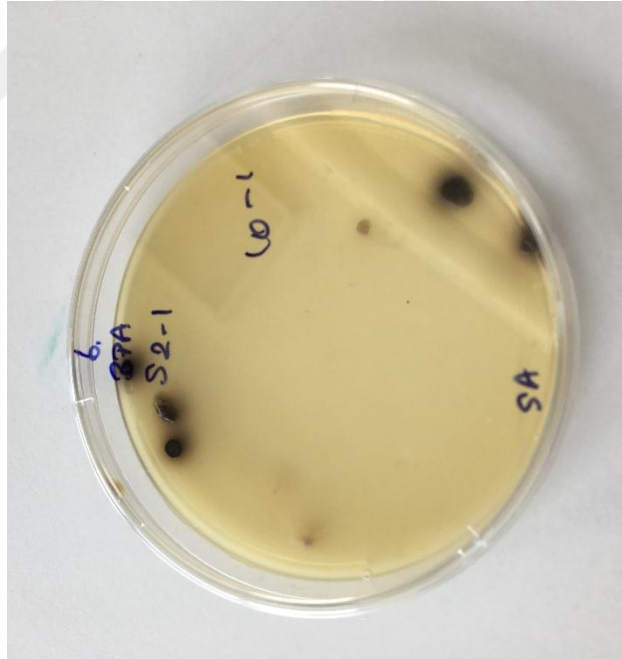
Dilimlenmiş ve bütün çiğ sucuk örnekleri



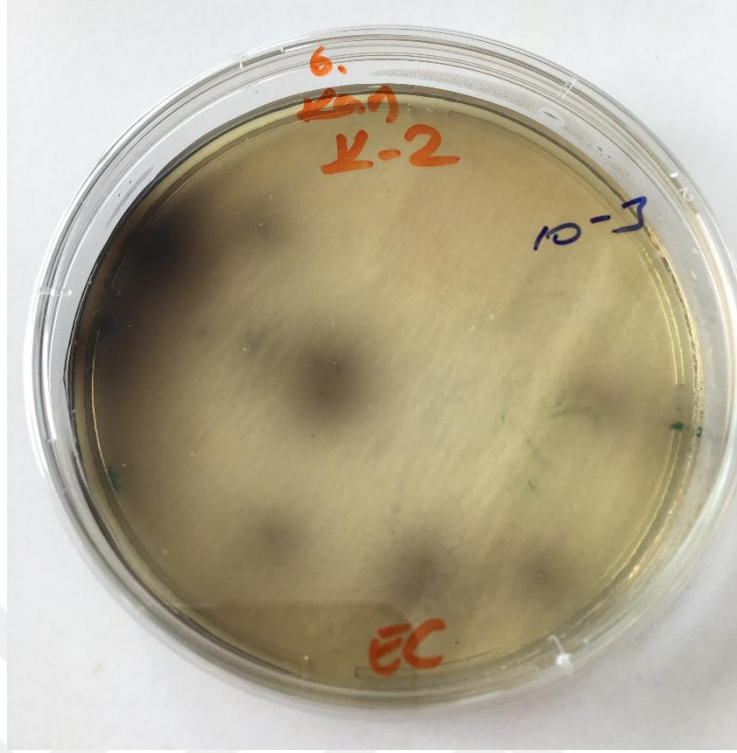
Pişmiş ve çiğ duyusal analiz örnekleri



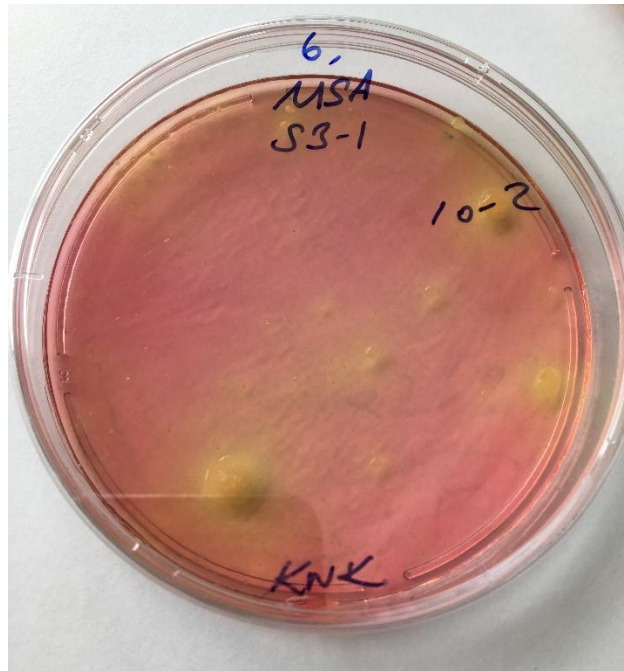
Duyusal analiz panel görüntüsü



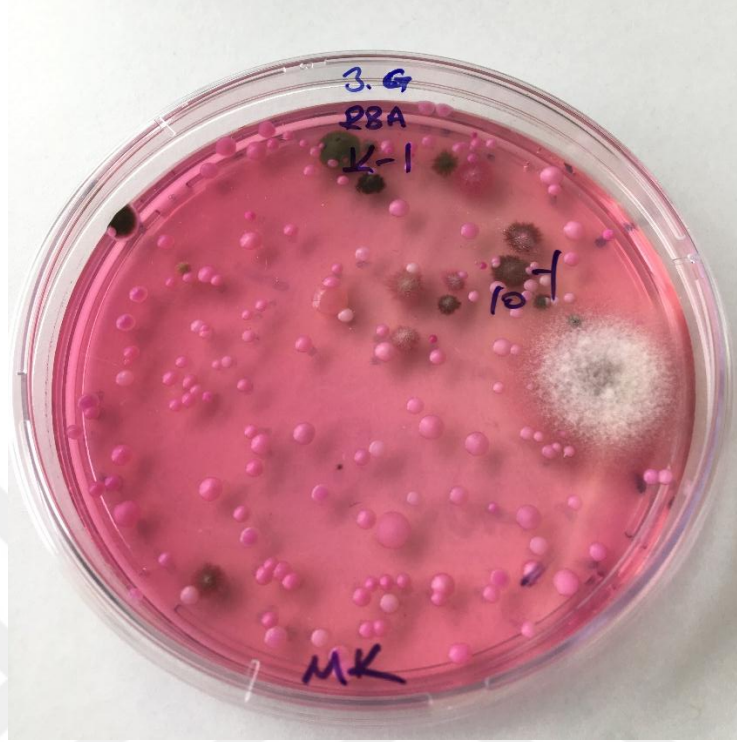
Baird Parker Agar'da *S. aureus* sayımı



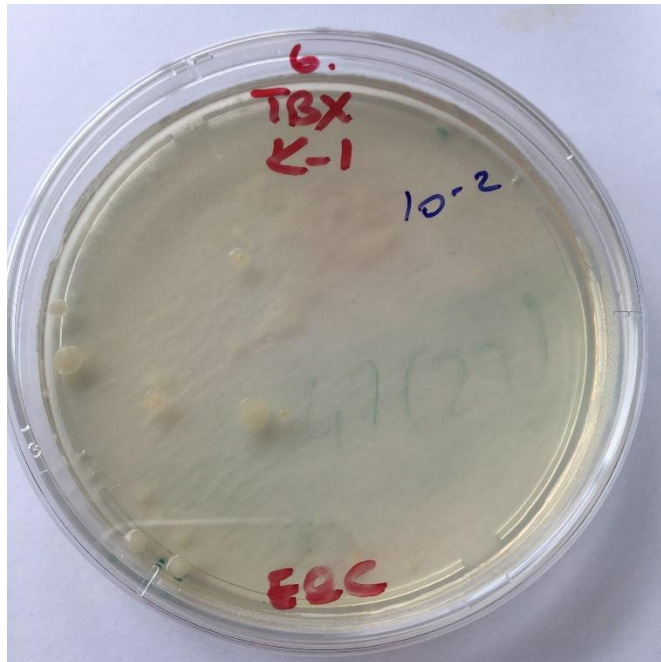
Kanamisin Aesculin Agar'da *Enterococcus* sayımı



Mannitol Salt Phenol Red Agar'da Koagukaz negatif kok sayımı



Rose Bengal Chloramphenicol Agar'da maya-küf sayımı



Chromocult TBX Agar'da *Enterobacteria-E.coli* sayımı sayımı



Plate Count Agar'da TMAB sayımı

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mahide Müge YILMAZ

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 05.12.1993

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Çankaya Kılıçarslan Lisesi (2011)

Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği (2016)

Lisansüstü: University of Reading Food and Nutrition Science (2019)

Lisansüstü: Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği (2019)