ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Emel ÜNAL

PROBİYOTİK LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNDEN *L. rhamnosus*'un FERMENTE SUCUKLARIN BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2014

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTÜTİSÜ

PROBİYOTİK LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNDEN *L. rhamnosus*'un FERMENTE SUCUKLARIN BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Emel ÜNAL

DOKTORA TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez .../.../2014 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği /Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

……..	…….	……..
Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA	Prof. Dr. Aydın ÖZTAN	Prof. Dr. Nuray GÜZELER
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

……..	…….
Doç. Dr. Mutlu Buket AKIN	Doç. Dr. Serkan SELLİ
ÜYE	ÜYE

Bu tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No :

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No : ZF2010D17

Not : Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirilerin, çizelge şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

PROBİYOTİK LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNDEN *L. rhamnosus*'un FERMENTE SUCUKLARIN BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Emel ÜNAL

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
Yıl: 2014, Sayfa: 171
Jüri : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
: Prof. Dr. Aydın ÖZTAN
: Prof. Dr. Nuray GÜZELER
: Doç. Dr. Mutlu Buket AKIN
: Doç. Dr. Serkan SELLİ

Bu çalışmada, probiyotik sucuk üretiminde serbest ve/veya mikroenkapsüle probiyotik ve serbest starter kültürlerin kullanımının sucuğun bazı özellikleri üzerine etkisini ve mikroenkaspülasyon işleminin, kullanılan bakteri kültürlerinin hem, yapay mide ve safra koşullarındaki hem de, üründeki canlılıklarının korunması üzerine olan etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmada *L. rhamnosus* cevap yüzey tekniğiyle belirlenen ideal kaplama materyali kombinasyonuyla (%1.89 sodyum aljinat, 0.96 gellan gam, 0.15 jelatin, 1 peptit, 1.45 fruktooligosakkarit), ekstrüzyon tekniğine göre mikroenkapsüle edilerek, sucuk üretiminde kullanılmıştır. 6 aylık depolama sürecinin sonunda, serbest *L. rhamnosus* içeren sucukta canlı hücre sayısında 1 log kob/g'a (0.76 log kob/g) yakın düzeyde bir düşüş meydana gelirken ME *L. rhamnosus* içeren sucukta 0.20 log kob/g düzeyinde bir düşüş meydana gelmiştir.

Sucuk örneklerinde başlangıçta 1.03-260.57 mg/kg aralığında olan biyojen amin miktarının, 6. ayın sonunda 4.99-535.13 mg/kg arasındaki seviyelere çıktığı belirlenmiştir. Ayrıca, mikroenkapsüle ve serbest probiyotik kültür içeren sucuklardaki biyojen amin miktarının, diğerlerine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Sucuk örneklerindeki toplam aroma bileşiklerinin miktarı incelendiğinde, 6.ay hariç aroma miktarlarının genelde çoktan aza doğru sırasıyla, ME probiyotik kültür içeren sucuk, serbest probiyotik kültür içeren sucuk ve kontrol grubu sucuk örneklerinde olduğu saptanmıştır. Sucuk örneklerinin tümünün tekstürel özellikleri üzerine, depolama sürecinin ve kullanılan kültürlerin istatistiksel olarak etkili olmadığı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Sucuk, mikroenkapsülasyon, probiyotik, *L. rhamnosus*

ABSTRACT

PhD THESIS

THE EFFECT OF *L. rhamnosus* FROM PROBIOTIC LACTIC ACID BACTERIA ON SOME CHARACTERISTICS OF FERMENTED SUCUK

Emel ÜNAL

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Supervisor : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
Year: 2014, Pages: 171
Jury : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
: Prof. Dr. Aydın ÖZTAN
: Prof. Dr. Nuray GÜZELER
: Assoc. Prof. Dr. Mutlu Buket AKIN
: Assoc. Prof. Dr. Serkan SELLİ

In this study, it was aimed to search effect of use of free or microencapsulated probiotic and free starter culture on characteristics of sucuk and effect of microencapsulation on protection of survival of cells against gastric conditions.

L. rhamnosus was microencapsulated with optimum coating material combination (%1.89 sodium alginate, 0.96 gellan gum, 0.15 gelatine, 1 peptide, 1.45 fructooligosaccharides) from response surface technique by extrusion method and it was used in sucuk production. At the end of 6th month of storage while reduction of viability in sucuk that contain free *L. rhamnosus* was approximately 1 log cfu/g, reduction of viability in sucuk with microencapsulated *L. rhamnosus* was approximately 0.20 log cfu/g.

It was determined that in the beginning of storage, amount of biogenic amine in sucuk was 1.03-260.57 mg/kg, whereas at the end of the storage it was increased to 4.99-535.13 mg/kg. Also, it was found that amount of biogenic amine in sucuk with microencapsulated and free probiotic were less than others. As regards to amounts of total aroma compounds, except 6th month, amounts of aromatic compounds to minimum from maximum were respectively in sucuk with microencapsulated probiotic, free probiotic and control. It was found that storage duration and culture type were not important on textural properties of all sucuk samples.

Keywords: Sucuk, microencapsulation, probiotic, *L. Rhamnosus*

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince çalışmalarımın her aşamasında bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tezi jüri üyelerinden Sayın Prof. Dr. Aydın ÖZTAN'a ve Sayın Prof. Dr. Nuray GÜZELER'e tez izleme komitesinde yer alarak, çalışmamın tüm aşamalarında yönlendirici ve olumlu katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Sayın Doç. Dr. Mutlu Buket AKIN'a ve Sayın Doç. Dr. Serkan SELLİ'ye tez jüri üyesi olarak katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tezim sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Tuba KAYA ve Selin KALKAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca gerek tezim gerek diğer çalışmalarım sırasında bana her konuda yardımcı olan ve laboratuar imkanlarını sonuna kadar açan değerli meslektaşlarım ve arkadaşlarım Süleyman POLAT'a, İbrahim Başar SAYDAM'a ve Erdal AĞÇAM'a teşekkürlerimi sunarım.

Akademik hayata adımımı attığım süre boyunca her türlü desteklerini veren, öğütlerini, bilgilerini ve birikimlerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım, Yrd. Doç. Dr. Adnan BOZDOĞAN ve Yrd. Doç. Dr. Emir Ayşe ÖZER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Gerek tezim sırasında gerekse tüm yaşamım süresince maddi ve manevi her türlü desteğini gördüğüm ve göreceğim, tüm zor zamanlarımın ve mutluluklarımın ortağı sevgili eşim Evren TURHAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın gerçekleşmesinde maddi desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi'ne (Proje No:ZF2010D17) ve Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TUBİTAK)'na (Proje no: TOVAG 112O481) teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında sonsuz desteklerini gördüğüm, varlıklarını bize adayan canım annem Nazife ÜNAL ve canım babam Ertuğrul ÜNAL'a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca kardeşlerim Asena ÜNAL SUCU, Meryem ÜNAL ve Mete SUCU'ya teşekkürlerimi sunarım ve tabiki en özel teşekkürlerimi bana yaşama sevinci aşılayan, varlığıyla hayata daha da çok tutunmamı sağlayan biricik yeğenim Ertuğrul SUCU'ya sunmaktan mutluluk duyarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ……. I
ABSTRACT…. II
TEŞEKKÜR…. III
İÇİNDEKİLER. IV
ÇİZELGELER DİZİNİ VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ..... X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....XII
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR..... 5
2.1.Probiyotikler..... 5
2.2. Mikroenkapsülasyon Tekniği..... 6
2.2.1. Mikroenkapsülasyon yöntemleri..... 10
2.2.1.1. Ekstrüzyon ve emülsiyon yöntemleriyle mikroenkapsülasyon.... 10
2.2.2. Mikroenkapsülasyonda kullanılan kaplama materyalleri..... 11
2.2.2.1. Aljinat..... 12
2.2.2.2. Gellan Gum ve Ksantan Gum 13
2.2.2.3. Kappa karragenan 13
2.2.2.4. Selüloz asetat fitalat 13
2.2.2.5. Kitosan 14
2.2.2.7. Nişasta 14
2.2.2.8. Jelatin 14
2.2.2.9. Süt Proteinleri 15
2.2.3. Probiyotik mikroorganizmaların mikrokapsülasyonunda kullanılan tekniklerle ilgili yapılan bazı çalışmalar..... 15
2.3. Sucuk ve diğer fermente sosisler 17
2.3.1. Sucuk ve fermente sosis üretiminde probiyotik kültür kullanımı 19
2.2.2.3. Sucuk ve fermente sosis üretiminde probiyotik kültür kullanımı ile ilgili yapılan bazı çalışmalar..... 22
2.3.2. Sucuk ve fermente sosislerde aroma oluşumu 25

2.3.3. Fermente et ürünlerinde biyojen aminler ve önemi 30
2.2.2.5. Sucuk ve Fermente sosislerde biyojen amin aranması ile ilgili yapılan bazı araştırmalar 35
2.3.4. Sucukların tekstür özellikleri 37
2.2.2.5. Sucuk ve fermente sosislerin tekstür özellikleri ile ilgili yapılan bazı çalışmalar 38
3. MATERYAL VE METOT 41
3.1. Mikroorganizma Kültürleri 41
3.2. Kaplama Materyalleri ve Prebiyotik Katkılar 41
3.3. Sucuk Üretiminde Kullanılan Hammaddeler 41
3.4. Araştırma Planı 41
3.4.1. *L. rhamnosus*'un ekstrüzyon tekniği ile mikroenkapsülasyonu 42
3.4.2. İdeal kaplama materyali kombinasyonunun seçimi 43
3.4.3. Probiyotik sucuk üretimi 45
3.4.4. Mikroenkapsüle kültürlere ait bazı özelliklerin belirlenmesi 46
3.4.4.1. Probiyotik kültür içeren mikroenkapsüllerdeki canlı hücre sayısının belirlenmesi 47
3.4.4.2. Safra tuzuna dayanım 47
3.4.4.3. Yapay mide koşullarına dayanım 47
3.4.4.4. Depolama dayanımları 48
3.4.5. Probiyotik sucuk örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler 48
3.4.5.1. Laktik asit bakterileri sayımı 48
3.4.5.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı 50
3.4.5.3. Maya ve küf sayımı 50
3.4.5.4. *Staphylococcus* spp. sayımı 50
3.4.5.5. Safra tuzuna ve yapay mide koşullarına dayanım 51
3.4.6. Probiyotik sucuk örneklerinde yapılan fiziksel ve kimyasal analizler .. 51
3.4.6.1. pH tayini 51
3.4.6.2. Nem miktarının belirlenmesi 51
3.4.6.3. Ağırlık kaybı tayini 52
3.4.6.4. Su aktivitesi tayini (Sa) 52

3.4.6.5. Biyojen amin tayini 52
3.4.6.6. Aroma maddeleri analizi 55
3.4.6.6.(1). Aroma maddelerinin ekstraksiyonu 55
3.4.6.6.(2). GC-FID, GC-MS ve GC-O koşulları 56
3.4.6.6.(3). Aroma maddelerinin miktarlarının hesaplanması 57
3.4.6.7. Tekstür analizi 57
3.4.6.8. Duyusal analiz 58
3.4.9. İstatistiksel değerlendirme 58
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 59
4.1. Probiyotik Kültür İçeren Mikroenkapsüllerin Yapay Safra ve Mide Koşularındaki Dayanımları 59
4.2. Mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un Depolama Dayanımı 62
4.2. Probiyotik Sucuk Örneklerinde Yapılan Mikrobiyolojik Analizler 63
4.2.1. Laktik Asit bakterileri sayım sonuçları 64
4.2.1.1. Toplam laktik asit bakterileri sayım sonuçları 64
4.2.1.2. *L. plantarum* sayım sonuçları 67
4.2.1.3. *L. rhamnosus* sayım sonuçları 69
4.2.2. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri sayım sonuçları 71
4.2.3. Maya ve Küf sayım sonuçları 74
4.2.4. *Staphylococcus* spp. sayım sonuçları 76
4.2.5. Sucuk Örneklerindeki *L. rhamnosus*'un Safra Tuzuna ve Yapay Mide Koşullarına Dayanımı 78
4.3. Probiyotik Sucuk Örneklerinde Yapılan Fiziksel ve Kimyasal Analizler 80
4.3.1. pH Değerleri 80
4.3.2. Nem içerikleri 84
4.3.3. Ağırlık Kaybı değerleri 89
4.3.4. Su Aktivitesi (Sa) değerleri 92
4.3.5. Sucuk Örneklerindeki Biyojen Aminler 95
4.3.7. Sucuk Örneklerindeki Aroma Maddeleri 100
4.3.7.1. Aldehitler 102
4.3.7.2. Terpenler 105

4.3.7.3. Asitler ve alkoller 108
4.3.7.4. Esterler 111
4.3.7.5. Kükürtlü Bileşikler 113
4.3.8. Sucuk Örneklerinin Tekstür Özellikleri 115
4.3.8.1. Sertlik değeri 118
4.3.8.2. Dış yapışkanlık değeri 121
4.3.8.3. Elastikiyet değeri 122
4.3.8.4. İç yapışkanlık değeri 124
4.3.8.5. Sakızımsılık değeri 126
4.3.8.6. Çiğnenebilirlik değeri 128
4.3.8.7. Dirençlilik değeri 130
4.3.9. Sucuk Örneklerinin Duyusal Özellikleri 131
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 141
KAYNAKLAR 147
ÖZGEÇMİŞ 171

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 2.1. Probiyotik mikroenkapsülasyonunun yararlı etkileri 8
Çizelge 3.1. Kaplama Materyali Kombinasyonları 43
Çizelge 3.2. Probiyotik Sucuk Üretimi Deneme Planı 45
Çizelge 3.3. Duyusal değerlendirme formu 58
Çizelge 4.1. *L. rhamnosus* için farklı kaplama materyalleri kombinasyonlarında alınan cevaplar 60
Çizelge 4.2. Mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un depolama dayanımı 62
Çizelge 4.3. Sucuk örneklerindeki toplam laktik asit bakteri sayıları 64
Çizelge 4.4. Sucuk örneklerindeki *L. plantarum* sayıları 67
Çizelge 4.5. Sucuk örneklerindeki *L. rhamnosus* sayıları 69
Çizelge 4.6. Sucuk örneklerindeki toplam aerobik mezofil bakteri sayım sonuçları 71
Çizelge 4.7. Sucuk örneklerindeki maya sayım sonuçları 77
Çizelge 4.8. Sucuk örneklerindeki *Staphylococcus* spp. sayım sonuçları 75
Çizelge 4.9. Sucuk örneklerindeki *L. rhamnosus*'un safra tuzuna ve yapay mide koşullarına dayanımı 79
Çizelge 4.10. Olgunlaşma sürecinde sucuklardaki pH değerleri 80
Çizelge 4.11. Depolama sürecinde sucuklardaki pH değerleri 82
Çizelge 4.12. Olgunlaşma sürecindeki sucuklarda % nem değişimi 85
Çizelge 4.13. Depolama sürecindeki sucuklarda % nem değişimi 86
Çizelge 4.14. Olgunlaşma sürecinde sucuklardaki % ağırlık kayıpları 89
Çizelge 4.15. Depolama sürecinde sucuklardaki % ağırlık kayıpları 90
Çizelge 4.16. Olgunlaşma sürecinde sucuklardaki Sa değerleri 92
Çizelge 4.17. Depolama sürecinde sucuklardaki Sa değerleri 94
Çizelge 4.18. Depolama periyodundaki sucuklardaki biyojen amin miktarları 96
Çizelge 4.19. Depolama periyodundaki sucuklarda aroma maddeleri miktarı 101
Çizelge 4.20. Depolama periyodundaki sucuklardaki aldehit miktarı (µg/kg) 103
Çizelge 4.21. Depolama periyodundaki sucuklardaki terpen miktarı (µg/kg) 106
Çizelge 4.22. Depolama periyodundaki sucuklardaki asit ve alkol miktarı (µg/kg) 109

Çizelge 4.23. Depolama periyodundaki sucuklardaki ester miktarı (µg/kg) 112
Çizelge 4.24. Depolama periyodundaki sucuklardaki kükürtlü bileşik miktarı (µg/kg) 114
Çizelge 4.25. Sucuk örneklerinin depolama sürecindeki tekstür özellikleri 117
Çizelge 4.26. Sucuk örneklerinin depolama sürecindeki duyusal özellikleri 132

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 3.1. *L. rhamnosus*'un mikroenkapsülasyonu 43
Şekil 3.2. Sucuk üretimi ve ambalajlanması 46
Şekil 3.3. *L. plantarum*'un selektif besiyerindeki görünümü 49
Şekil 3.4. *L. rhamnosus*'un selektif besiyerindeki görünümü 50
Şekil 3.5. Likens-Nickerson buharlı distilasyon-ekstraksiyon düzeneği 56
Şekil 4.1. Mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un depolama dayanımı 63
Şekil 4.2. Sucuk örneklerindeki toplam laktik asit bakteri sayıları 65
Şekil 4.3. Sucuk örneklerindeki *L. plantarum* sayısı 68
Şekil 4.4. Sucuk örneklerindeki *L. rhamnosus* sayıları 70
Şekil 4.5. Sucuk örneklerindeki toplam aerobik mezofil bakteri sayım sonuçları. 72
Şekil 4.6. Sucuk örneklerindeki maya sayım sonuçları 75
Şekil 4.7. Sucuk örneklerindeki *Staphylococcus* spp. sayım sonuçları 77
Şekil 4.8 Sucuk örneklerindeki L. rhamnosus'un safra tuzunda ve yapay mide koşullarında canlı hücre sayısındaki azalış 79
Şekil 4.9. Olgunlaşma süresince sucuklardaki pH değerleri 80
Şekil 4.10. Depolama sürecinde sucuklardaki pH değerleri 83
Şekil 4.11. Olgunlaşma süresince sucuklardaki % nem değişimi 85
Şekil 4.12. Depolama süresinde sucuklarda % nem değişimi 87
Şekil 4.13. Olgunlaşma süresince sucuklardaki % ağırlık kayıpları 89
Şekil 4.14. Depolama sırasında sucuklardaki % ağırlık kayıpları 90
Şekil 4.15. Olgunlaşma sırasında sucuklardaki Sa değerleri 93
Şekil 4.16. Depolama sırasında sucuklardaki Sa değerleri 94
Şekil 4.17. Tekstür profil analizi ile ölçülen parametreler 116
Şekil 4.18. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki sertlik değerinin değişimi .. 119
Şekil 4.19. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki dış yapışkanlık değerinin Değişimi 121
Şekil 4.20. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki elastikiyet değerinin Değişimi 123

Şekil 4.21. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki iç yapışkanlık değerinin Değişimi 125
Şekil 4.22. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki sakızımsılık değerinin değişimi 127
Şekil 4.23. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki çiğnenebilirlik değerinin değişimi 129
Şekil 4.24. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki dirençlilik değerinin değişimi 131
Şekil 4.25. Sucuk örneklerinin depolama sürecindeki duyusal özellikleri..... 133

SİMGELER VE KISALTMALAR

A : Serbest *L. plantarum* ile üretilen sucuk (kontrol)

B : Serbest *L. plantarum* ve *L. rhamnosus* ile üretilen sucuk

C : Serbest *L. plantarum* ve mikroenkapsüle *L. rhamnosus* ile üretilen sucuk

ME : Mikroenkapsüle

kob : Koloni oluşturma birimi

N **:** Newton

N.s : Newton saniye

Sa : Su aktivitesi

R : *L. rhamnosus* içeren kapsüllerin 1g'ındaki canlı hücre sayısı

R-M : Mide suyunda bekletilmiş *L. rhamnosus* içeren kapsüllerin 1g'ındaki canlı hücre sayısı

R-S : Safra suyunda bekletilmiş *L. rhamnosus* içeren kapsüllerin 1g'ındaki canlı hücre sayısı

TAMB : Toplam aerob mezofil bakteri

FOS : Fruktooligosakkarit

1. GİRİŞ

Fermente bir ürün olan sucuk, çok eski bir et ürünü olup, günlük alınan yiyecekler arasında önemli bir yer tutmaktadır. Kalite özelliklerini arttırmak, daha güvenli ve sağlıklı bir ürün elde etmek için, sucuk üretiminde, starter ve koruyucu kültürler uzun süreden beri kullanılmaktadır. Söz konusu kültürler, proteolitik, lipolitik ve fermentatif özellikler göstererek, üründeki biyojen amin üretimi, aroma maddesi miktarı, duyusal ve mikrobiyolojik özellikler üzerinde etkili olmaktadır. Son yıllarda ise, starter kültürlere ilaveten sucukta, probiyotik kültür kullanım olanaklarına yönelik araştırmalara başlanmıştır. Sucuk üretiminde kullanılan probiyotik ve starter kültürler koruyucu etki gösterip, mikrobiyel kaliteyi arttırmalarının yanı sıra, ürünün aroma profili, biyojen amin oluşumu ve duyusal kalitesi üzerinde de olumlu etkiye sahiptirler. Starter ve probiyotik kültürlerin, belirtilen bu özellikleri, ürünün fermentasyonu ve depolama süresince gösterebilmeleri için, canlılıklarını ve aktivitelerini korumaları gerekmektedir. Sucuğun kendine özgü aroması; fermentasyon ve kurutma işlemi süresince, mikroorganizmaların enzimatik aktivitesi, biyokimyasal değişiklikler sonucu oluşan bileşikler ve kullanılan katkı maddelerinden kaynaklanmaktadır (Kaban, 2007; Ergönül, 2009).

Biyojen aminler, sağlığa zararlı toksik etkide bulunmalarından ve gıda zehirlenmelerine neden olmalarından dolayı, çoğu zaman, gıdalarda kalite indikatörü olarak görülmektedir. Fermente et ürünlerinde bulunan biyojen amin miktarları, değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenlik; kullanılan ham madde, fermentasyon koşulları ve mikrobiyel flora ile ilişkilidir. Starter olarak kullanılan laktik asit bakterileri, olgunlaşmanın son basamakları sırasında, starter olmayan bakteriler ile yarışarak, ürünün depolama periyodu süresince yüksek miktarlarda biyojen amin oluşumunu engelleyebilmektedir. Yapılan bazı çalışmalar, doğal flora fermantasyonu ile oluşan biyojen amin miktarlarının, starter kültür fermentasyonunda oluşan miktarlardan çok daha fazla olduğunu göstermiştir. Starter kültürlerin veya probiyotik kültürlerin sucuk üretiminde kullanılmasının biyojen amin üretimini azalttığı, yine çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Kurt, 2006; Gençcelep, 2006;

Ergönül, 2009).

L. rhamnosus probiyotik kültürünün, sucukta ve fermente sosiste kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalarda ürünün duyusal özellikleri ve teknolojik özellikleri üzerinde bu kültürlerin olumlu etkilerinin olduğu saptanmıştır (De Vuyst ve ark., 2008; Ergönül, 2009). Yeni gıda ürünlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalarda, probiyotik özellik taşıyan kültürlerin kullanımının, ürün geliştirmenin yanı sıra, gıda güvenliğine de katkıda bulunduğu bildirilmiştir. Örneğin, *L. rhamnosus* ve *L. paracase*i'nin fonksiyonel fermente sosiste kullanımı ile bu üründeki *S. aureus*'tan kaynaklanan entrerotoksin üretiminin ve gelişiminin engellendiği bildirilmiştir (Leroy ve ark., 2006). *L. rhamnosus*'un fermente sosiste kullanımının, aroma üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmalarda, kullanılan bu fonksiyonel kültürün ticari kültürlerle karşılaştırıldığında, aroma üzerinde benzer etkiler gösterdiği saptanmıştır (Erkkila ve ark., 2001a ve 2001b).

Ürün kalitesi ve insan sağlığı üzerindeki tüm bu olumlu etkilerinden (mikrobiyolojik, aromatik ve duyusal kaliteyi arttırma, biyojen amin üretimini engelleme) dolayı starter kültür ve probiyotik kültürlerin, gıda ürünlerinde kullanımları her geçen gün daha da artmaktadır. Tüketici talepleri doğrultusunda, özellikle de probiyotik ürünlerin çeşitliliği artmakta ve pazardaki payı büyümektedir (Gouin, 2004). Ancak, probiyotik mikroorganizma içeren fonksiyonel gıdaların geliştirilmesini ve üretimini kısıtlayan bir takım engeller vardır. Probiyotik gıda üretimini kısıtlayan en önemli etken, kullanılan mikroorganizmaların stabilitesi, yani canlılığının korunmasını sağlamaktır. Yapılan bazı araştırmalarda, mikroenkapsülasyon tekniğinin, probiyotiklerin teknolojik özelliklerinin arttırılmasında kullanılan yeni yöntemlerden biri olduğu bildirilmiştir (Kailasapathy, 2002; Argin, 2007; Champagne ve Fustier, 2007; Lacroix ve Yıldırım, 2007).

Mikroenkapsülasyon işlemi, gıda, tarım, ilaç, enerji ve savunma gibi alanlarda kullanılmaktadır (Dubey ve ark., 2009). Gıda ürünlerinde uygulanan mikroenkapsülasyonda temel amaç; gıda bileşenlerini kötü çevre koşullarından korumak, stabilitesini sağlamak ve kontrollü olarak salınımını gerçekleştirmektir. Mikroenkapsülasyon, starter kültür ve probiyotik kültür gibi canlı organizmalarda da denenmiştir. Ancak, konu ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda, mikroenkapsülasyon

işlemi, bazı ürünlerde kullanılan starter kültürler için önerilmemektedir. Neden olarak da, mikroenkapsülasyon uygulamasının, strater kültürlerin, rekabetçi mikroflora ile yarışarak pH'yı hızlı bir şekilde düşürerek, hızlı bir fermentasyon yapmasını zorlaştırması gösterilmektedir (Kailasapathy, 2002; Krasaekoopt ve ark., 2006; Pianoa ve ark., 2006, Muthukumarasamy ve Holley, 2007) Bu nedenle, mikroenkapsülasyon işlemi, daha çok canlılığın korunmasına yönelik olarak probiyotik kültürler için önerilmektedir. Mikroenkapsülasyon işlemi, daha önce de belirtildiği üzere, organizmanın canlılığını koruyarak gastrointestinal sistemde yararlı etkiler yapmasının yanı sıra, organizmanın üründe meydana getirdiği biyokimyasal değişiklikler ve sentezlediği maddeler açısından da oldukça önemlidir (Kailasapathy, 2002; Krasaekoopt ve ark., 2006; Pianoa ve ark., 2006; Champagne ve Fustier, 2007).

Fermente et ürünlerinde probiyotik kültürlerin kullanımı, konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler yapmasının yanı sıra, patojen mikroorganizmaları inaktive etmesi ve yararlı metabolik aktiviteler göstermesi bakımından da oldukça önemlidir. Probiyotiklerin, et ürünlerinde kullanımıyla ilgili çalışma sayısı oldukça azdır. Ancak, son zamanlarda sağlıklı ürünlere duyulan ilginin artması üreticileri ve araştırmacıları yeni ürünler üretmeye yöneltmiştir. Probiyotik et ürünlerinin de bunlardan biri olacağı düşünülmektedir. Ancak, fermente sosis veya sucuk gibi ürünler düşük su aktivitesi, pH, kürleme tuzları ve diğer rekabetçi flora içeriklerinden dolayı probiyotiklerin aktivitelerini korumaları için mücadele gerektiren zor ortamlardır. Sucukta veya fermente sosiste fermentasyon sırasında kullanılan kültürleri korumada, mikroenkapsülasyon tekniğinin uygun bir yöntem olduğunu bildiren birkaç çalışma vardır (Muthukumarasamy ve Holley, 2006; De Vuyst ve ark., 2008; Espinoza ve Navarro; 2010).

Son zamanlarda, ülkemizde sıkça tüketilen ve mikrobiyolojik kalitesi iyi olduğu için çiğ olarak da tüketilebilen sucuklarda, probiyotik kullanımı ile ilgili birkaç çalışma yapılmış, ancak gastrointestinal sistemde, dayanımları bakımından mikroenkapsüle probiyotiklerin kullanılarak üretildiği sucuk ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Buna karşın, yurtdışı kaynaklarda, fermente sosislerde mikroenkapsüle probiyotik kullanımı ile ilgili bir çalışmaya rastlanmış ve çeşitli

derlemelerde, fermente sosislere fonksiyonel özellikler kazandırılması bakımından probiyotik kullanımı önerilmiştir. (Muthukumarasamy ve Holley, 2006, De Vuyst ve ark., 2008, Zhang ve ark., 2010, Espinazzo ve Navarro, 2010).

Bu çalışmada, probiyotik sucuk üretiminde serbest ve/veya mikroenkapsüle probiyotik ve serbest starter kültürlerin kullanımının sucuğun bazı özellikleri (mikrobiyolojik, biyojen amin üretimi, aroma profili, duyusal) üzerine etkisinin yanı sıra, mikroenkaspülasyon işleminin, kullanılan bakteri kültürlerinin hem, yapay mide ve safra koşullarındaki hem de, üründeki canlılıklarının korunması üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Probiyotikler

Probiyotik kelimesi, ilk kez 1965 yılında Liley ve Stillwell tarafından ‘’bir mikroorganizmanın bir diğerinin gelişimine katkıda bulunmak için salgıladığı madde-antibiyotiğin karşıtı’’ olarak açıklanmıştır. 1974 yılında Parker, probiyotiği ‘’bağırsakların mikrobiyel dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler’’olarak tanımlamıştır (Bozkurt ve Aslım, 2004; Parvez ve ark., 2006). Daha sonraları ise, probiyotiklerin uygun miktarlarda alındığında konakçıya yararlı organizmalar olduğu belirtilmiştir (Makinen ve ark., 2012; Sanchez ve ark. 2012).

Probiyotik mikroorganizmalar denildiğinde, daha çok laktik asit bakterileri akla gelmektedir. Ancak, konu ile ilgili yapılan birçok araştırmada, az olmakla birlikte, probiyotik etki gösteren başka mikroorganizma gruplarının (örneğin maya ve küfler) da olduğu belirlenmiştir (Timmerman ve ark. 2004; Leroy ve De vuyst 2004).

Probiyotik mikroorganizmaların, sağlık üzerine birçok yararlı etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu etkilerin başında; akut rotavirüs ve antibiyotiğe bağlı ishali önleme, serum kolestrolünü önleme, bağırsak mikroflorasının modülasyonu, ülserli kalınbağırsak iltihabını düzeltme, alerji tedavisi, bağışıklık sistemini etkinleştirme, tümör hücrelerini inhibe etme ve laktoz intoleransını düzeltme gelmektedir (Niedzielin ve ark., 2001; Çakır, 2003; Wullt ve ark., 2003, Zhang ve ark., 2010; Burgain ve ark., 2011; Dwivedia ve ark., 2012; Saad ve ark., 2012).

Probiyotik laktik asit bakterileri, Gram pozitif, sporsuz, basil şeklinde olup, üreme sıcaklığı, 35–38^{0}C ‘dir. Probiyotik bakteriler, mide asitliğine diğer bakterilere göre daha dayanıklı olup, safra tuzuna ve lizozim enzimine daha dirençlidirler. ***Lactobacillus*** türleri, ince bağırsakta bulunurken, ***Bifidobacterium***’lar kalın bağırsaktadırlar. Bu bakteriler, laktik asit, asetik asit, bakteriyosin gibi antimikrobiyel maddeler üreterek, bağırsaklarda istenmeyen mikroorganizmaların çoğalma hızını kontrol ederler ve doğal floranın denge içinde bulunmasını sağlarlar. (Burgain ve ark., 2011).

Probiyotik bakterilerin önemli özelliklerinden biri de, bağırsak çeperine tutunabilme yeteneğine sahip olmalarıdır. Probiyotik bakteriler, bağırsak çeperine tutunarak, patojen mikroorganizmaların tutunmasını engellerler (Santo ve ark., 2011). Bir araştırmada, probiyotik kültür olarak kullanılan *L.rhamnosus,* ilk olarak 1983 yılında Barry Goldin ve Sherwood Gorbach tarafından sağlıklı bir insan bağırsağından izole edilmiştir. Diğer probiyotikler gibi, *L. rhamnosus*'un da bağırsak için yararlı özelliklerinin olmasının yanında, bağırsak ve idrar yolları patojenleri ile mücadelede ve bağışıklık sistemine önemli ölçüde yardımcı olduğu belirlenmiştir (Giovanna ve Dellaglio, 2005; Nivolieza ve ark., 2012). Ayrıca, süt ürünlerinin sindirimini kolaylaştırma, ishal süresini azaltma ve böbrek enfeksiyonlarında bakteriyel enfeksiyonları bastırma gibi, sağlık üzerine olumlu etkileri de, yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Pelto ve ark., 1998). *L. rhamnosus* da, diğer laktik asit bakterileri ürünleri gibi yoğurt, fermente süt ve fermente sosis gibi gıda ürünlerinde kullanılmaktadır (Parvez ve ark. 2006).

2.2. Mikroenkapsülasyon tekniği

Tüketici talepleri doğrultusunda, probiyotik ürünlerin çeşitliliği artmakta ve pazardaki payı büyümektedir (Gouin, 2004). Ancak, probiyotik mikroorganizma içeren fonksiyonel gıdaların geliştirilmesini ve üretimini kısıtlayan bir takım engeller vardır (Qi ve ark., 2006; Anal ve Singh; 2007, Hsieh ve Ofori, 2007). Bunlar; gıdanın işlenmesinden kaynaklanan engeller (yüksek sıcaklık, kurutma, dondurma, yüksek basınç, asidik veya alkali ortam), tüketiminden sonra metabolizmadan kaynaklanan engeller (sindirim sistemi enzimleri, yüksek asidik ortam ve safra tuzları) ve mikroorganizmanın kendisinden kaynaklanan engellerdir (anaerobik gelişme koşulları ve zengin besin maddeleri gereksinimi, oksijen, sıcaklık, pH, inhibitörler ve rekabetçi mikroorganizmalardan kaynaklanan stres koşulları).

Probiyotik gıda üretimini kısıtlayan en önemli etken, kullanılan mikroorganizmaların stabilitesi, yani canlılığını korumasıdır. Yapılan bazı araştırmalarda, mikroenkapsülasyon tekniğinin, probiyotiklerin teknolojik özelliklerinin arttırılmasında kullanılan yeni yöntemlerden biri olduğu bildirilmiştir

(Kailasapathy, 2002; Argin, 2007; Champagne ve Fustier, 2007; Lacroix ve Yıldırım, 2007).

Mikroenkapsülasyon, katı, sıvı veya gaz halindeki gıda bileşenlerinin, enzimlerin, hücre ve diğer maddelerin, protein veya karbonhidrat esaslı minyatür kapsüller içerisinde tutulması olarak tanımlanmaktadır. Bazı kaynaklarda, immobilizasyon ve mikroenkapsülasyon terimleri birbirinin yerine geçecek şekilde kullanılmaktadır. Ancak, immobilizasyon genel bir terim olup, mikroenkapsülasyon da dahil olmak üzere, faklı bir çok immobilizasyon yöntemini içermektedir. Mikroenkapsülasyon, tutuklama yöntemi ile yapılan immobilizasyon işlemidir (Park ve Chang, 2000; Öztürk, 2006; Hsieh ve ark., 2009; Dubey ve ark., 2009).

Mikroenkapsülasyon yönteminde, hücreler kapsül veya kaplama maddesi olarak da adlandırılan yarı geçirgen membran içerisinde tutuklanırlar. Bu yöntemde hücreler 0.45 µm'den daha küçük gözenekleri olan 5-300 µm çapındaki kaplama maddesinin içerisinde tutulur. Mikroenkapsülasyon işlemindeki ilk basamak, uygun kaplama maddesinin seçilmesidir. Kaplama maddeleri, film oluşturabilen şekerler, gamlar, proteinler, doğal ve modifiye polisakkaritler, yağlar veya sentetik polimerlerdir (Kabaharnup, 2004; Dubey ve ark., 2009).

Mikroenkapsülasyon işlemi, gıda, tarım, ilaç, enerji ve savunma gibi alanlarda kullanılmaktadır (Dubey ve ark.2009). Mikroenkapsülasyondaki temel amaç; gıda bileşenlerini, kötü çevre koşullarından korumak, stabilitesini sağlamak ve kontrollü olarak kullanımını gerçekleştirmektir. Mikroenkapsülasyonun temel nedenleri şöyle özetlenebilir: 1. Uyumsuz bileşikleri ayırmak, 2. Sıvıların katı hale getirilmesi 3. Stabiliteyi arttırma (çevreden gelen oksidasyon ve deaktivasyona karşı mikroenkapsüle materyali korumak) 4. Mikroenkapsüle edilen materyalin tadını kokusunu ve aktivitesini maskelemek 5. Mevcut çevrenin korunması 6. Aktif bileşiklerin, kontrollü olarak açığa çıkarılması 7. Mikroenkapsüle materyallerin hedeflendiği şekilde açığa çıkarılması (Uyan Ersus, 2004).

Yararlı birçok özelliğinden dolayı gıdalarda mikroenkapsüle probiyotiklerin kullanımı, her geçen gün daha da çok önem kazanmaya başlamıştır. Çizelge 2.1'de, çeşitli probiyotik gıdalarda mikroenkapsülasyon işleminin sağladığı yararlar özetlenmiştir.

Çizelge 2.1. Probiyotik mikroenkapsülasyonunun yararlı etkileri (Champagne ve Fustier, 2007; Lacroix ve Yıldırım, 2007; Cruz ve ark., 2009)

Ürün	Yarar
Kurutulmuş probiyotik kültür	-Oksijene duyarlı kültürlerin üretimini sağlama, -Santrifüje duyarlı kültürlerin düzeltilmesini sağlama, -Yüksek ekzopolisakkarit üreten kültürlerin iyileştirilmesini sağlama, -Daha düşük kontaminasyon tehlikesi, -Kültürler havada kurutulabilme özelliği.
Nütrosetikler	-Gastrik çözeltilerde dayanımın arttırılması, -Safra çözeltilerinde dayanımın arttırılması, -Kurutulmuş formda depolama sırasında dayanıklılığın arttırılması.
Kuru sosisler	-Asidifikasyon oranını iyileştirme.
Bisküviler, tozlar	-Isıtmayla canlılığın iyileştirilmesi.
Dondurma, süt bazlı ortam, kızılcık suyu	-Dondurma işlemi üzerine canlılığın korunması.
Peynir	Son üründe bulunan miktarın korunması.
Fermente sütler	Bakteriyofajlara ve maya bulaşılarına karşı koruma.
Yoğurt, mayonez, süt	Depolama sırasında canlılığın korunması.

Probiyotiklerin gelişimi ve canlılığının korunması bakımından uygun olmadığı düşünülen birçok gıda maddesi, probiyotiklere koruyucu görev yapan mikroenkapsülasyon yönteminin kullanımıyla uygun hale gelmiştir. Mikroenkapsülasyon işlemi, organizmanın canlılığını koruyarak gastrointestinal sistemde yararlı etkiler yapmasının yanı sıra, organizmanın üründe meydana getirdiği biyokimyasal değişiklikler ve sentezlediği maddeler açısından da oldukça önemlidir (Kailasapathy, 2002; Krasaekoopt ve ark., 2006; Pianoa ve ark., 2006; Champagne ve Fustier, 2007). Ancak, probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda aşılması gereken bazı faktörler vardır. Bunlardan ilki, boyutları büyük olan mikrobiyel hücreleri (1-4µm) küçük kapsüllere sığdırmanın zor olması veya büyük kapsüllere konulduğunda da gıdanın duyusal veya tekstürel özelliği üzerinde negatif etki yapmasıdır. Aşılması gereken bir diğer faktör de, özellikle gıda işleme sırasında probiyotiklerin, yüksek sıcaklığa maruz kalmaları sırasında, canlılıklarının korunması konusunda olmuştur. Ticari probiyotik kültürlerin, yüksek sıcaklıklara uygun olmadıkları görülmektedir. Bu nedenle de, söz konusu ısıl işlem görmüş gıdalarda, geliştirilmiş mikroenkapsülasyon uygulamaları gibi sistemlere gereksinim duyulmuştur (Capela ve ark., 2006; Anal ve Singh, 2007; Homayouni ve ark., 2008; Kim ve ark., 2008;

Nazzaro ve ark., 2009; Heidebach ve ark., 2009a ve b).

Fermente sosisler, düşük su aktivitesi, pH, kürleme tuzları ve diğer rekabetçi flora içeriklerinden dolayı probiyotiklerin aktivitelerini korumaları için mücadele gerektiren zor ortamlardır. Fermente sosislerde, et fermentasyonu sırasında kullanılan kültürleri korumada mikroenkapsülasyon tekniğinin uygun bir yöntem olduğunu bildiren birçok çalışma vardır (Ohashi ve ark., 2004; Hsieh ve Ofori, 2007; Chen ve ark., 2007). Mikroenkapsülasyon tekniğinin mikroorganizmanın canlılığını koruduğuna dair birçok çalışma yapılmıştır, ancak bakterinin metabolik aktivitesinde ne gibi değişimler yaptığı ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma kapsamında, probiyotik kültürlere mikroenkapsülasyon işlemi uygulanarak, canlılıkları korunmaya ve mikroorganizmaların metabolik aktivitelerindeki olumlu ve/veya olumsuz değişimler saptanmaya çalışılmıştır.

Fermente et ürünlerinde, probiyotik kültürlerin kullanımı konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler yapmasının yanı sıra, patojen mikroorganizmaları inaktive etmesi ve yararlı metabolik aktiviteler göstermesi bakımından da oldukça önemlidir. Probiyotik kültürlerin, intestinal sistemde vücut için sağlıklı etkileri olması yanında biyoaktif bileşikler (folat, konjuge linoleik asit vb.) üreterek, ürüne fonksiyonel özellikler kazandırmaktadır. Probiyotik ürünler, sağlığı olumlu etkileyen ürünler üretmelerinin yanında, patojenler üzerinde etkili olan bakteriyosin gibi antimikrobiyel maddeler de üretmektedirler (Muthukumarasamy ve Holley, 2006).

Probiyotiklerin, et ürünlerinde kullanımıyla ilgili çalışma sayısı oldukça azdır. Ancak, son zamanlarda sağlıklı ürünlere duyulan ilginin artması üreticileri ve araştırmacıları yeni ürünler üretmeye yöneltmiştir. Probiyotik et ürünlerinin de bunlardan biri olacağı düşünülmektedir. Her hangibir ısıl işlem görmeden, fermente edilerek işlenen çeşitli et ürünlerinin, probiyotiklerin kullanılacağı ürünler arasında olduğu bildirilmiştir (Andersen, 1998; Erkkila ve ark., 2001a-2001b; Pidcock ve ark., 2002; Klingberg ve ark., 2005; Leroy ve ark., 2006; Ammor ve Mayo, 2007; Başyiğit ve ark., 2007; De vuyst ve ark., 2008; Ergönül, 2009; Espinoza ve Navarro, 2010; Zhang ve ark., 2010; Ergönül ve Kundakçı, 2011; Khan ve ark., 2011; Radulovic ve ark., 2011; Kolozyn-Krajewskaa ve ark., 2012; Rubio ve ark., 2013, Trzaskowska ve ark., 2014). Probiyotiklerin, ortam koşullarına dayanımıyla ilgili

daha önce çeşitli çalışmalar yapılmış ve bu çalışmalarda mikroenkapsülasyon yönteminin uygun olacağı önerilmiştir (Ohashi ve ark., 2004; Hsieh ve Ofori, 2007; Chen ve ark., 2007).

2.2.1. Mikroenkapsülasyon yöntemleri

Mikroenkapsülasyon işleminde kapsüllerin oluşturulması için çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bunlar; sprey kurutma, sprey soğutma ve dondurma, ekstrüzyon kaplama, lipozom ile kaplama, koazervasyon, rotasyonal süspansiyonlu ayırma, emülsiyon polimerizasyonu, yüzeyler arası polikondensasyon, çapraz bağlama süspansiyonu, solvent evoporasyonu/solvent ekstraksiyonu olarak sıralanabilir. Bu yöntemlerden probiyotik gıdalarda en çok, sprey kurutma, emülsiyon ve ekstrüzyon yöntemleri kullanılmaktadır (Gouin, 2004; Kailasapathy, 2006; Kotikalapudi, 2009; Dubey ve ark., 2009).

2.2.1.1. Ekstrüzyon ve emülsiyon yöntemleriyle mikroenkapsülasyon

Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda, daha çok emülsiyon teknolojisinin kullanıldığı bildirilmiştir. Kapsüller, yayılım ve katılaşmayı içeren iki aşamadan meydana gelen işlemlerle oluşturulmaktadır. Yayılım, ya emülsiyon, ya da ekstrüzyon tekniği ile gerçekleştirilir. Ekstrüzyon yönteminde, bakteriyel hücreler ve polimer süspansiyonu, iğne veya şırıngadan katılaştırıcı çözelti (genellikle $CaCl_2$ çözeltisi) içine, sferik damlacıklar halinde verilir. Emülsiyon tekniğinde ise, mikroorganizma, genellikle sodyum aljinat çözeltisine ilave edildikten sonra, aljinatın jel içerisinde küresel boncuk oluşturmasını sağlayan kalsiyum klorür çözeltisine belli bir akış hızında damlatılır. Jel oluşumu sırasında sodyum iyonları kalsiyum iyonları ile yer değiştirir ve suda çözünmeyen ve hücreleri tutuklayan Ca-aljinat boncukları oluşur. Her iki yöntemde de en son bütün işlemler tamamlandığında elde edilen katı taneciklere boncuk veya kapsül denilmektedir. Emülsiyon tekniğinde, daha küçük çaplarda boncuklar elde edildiği için, çok aşamalı uygulamalara daha yatkındır (Park ve Chang, 2000; Vos ve ark. 2010; Burgain ve

ark., 2011).

Yapılan bazı çalışmalarda, emülsiyon ve ekstrüzyon tekniği ile elde edilen mikroenkapsüle probiyotiklerin canlılıkları ve üründe meydana getirdikleri duyusal özellikleri bakımından önemli bir fark olmadığı saptanmıştır. Bu nedenle, her iki yöntem de isteğe bağlı olarak rahatlıkla uygulanabilmektedir (Özer ve ark., 2009; Papagianni ve Anastasiadou, 2009).

Ancak emülsiyon ve ekstrüzyon tekniklerinde, üzerinde durulması ve dikkat edilmesi gereken en önemli aşama, karıştırma veya bir diğer ifadeyle de homojenizasyon işlemidir. Homojenizasyon işlemi, mikroenkapsüle edilecek bakterinin canlılığı ve kapsül boyutu üzerinde direkt etkili olmaktadır. Kullanılan homojenizatörün özelliğine göre, bakteri canlılığı ve kapsül boyutu değişmektedir. Bu nedenle, mikroenkapsülasyon işlemi sırasında amacımıza en uygun homojenizatörün seçimi de oldukça önemlidir (Capela ve ark., 2007; Dingh ve Shah, 2009a).

2.2.2. Mikroenkapsülasyonda kullanılan kaplama materyalleri

Mikroenkapsülasyon daha önce de bahsedildiği gibi, çeşitli maddelerin 5-300µm çapındaki kapsüller içerisinde tutulması ile gerçekleşir. Kaplamanın yani kapsülün boyutu ve şekli, stabilite ve geçirgenlik özelliklerine göre değişiklik göstermektedir. Tekli, çok duvarlı, düzensiz, çok çekirdekli ve matriks olmak üzere farklı şekillerde mikrokapsüller bulunmaktadır. Mikroenkapsülasyon işlemindeki ilk basamak, uygun kaplama materyalinin (kapsül) seçilmesidir. Kaplama materyalleri olarak, film oluşturabilen şekerler, gamlar, proteinler, doğal ve modifiye polisakkaritler, aljinatlar, yağlar veya sentetik polimerler, jelâtin, pektin, nişasta, kappa-karreganan, agar, peyniraltı suyu, gellan-gum gibi maddeler kullanılabilir. İdeal bir kaplama materyali; toksik olmamalı, kolay uygulanabilmeli, tam koruma sağlamalı ve ekonomik olmalıdır (Sultana ve ark., 2000; Uyan Ersus, 2004; Qi ve ark., 2006; Dubey ve ark., 2009). Sıralanan bütün özellikleri taşıyan bir kapsül olmadığı için, kapsüller pratikte diğer kaplama materyalleri ile ve/veya oksijen tüketiciler, antioksidanlar, prebiyotikler, şelat ajanları ve biyosürfektanlar gibi

tamamlayıcılar ile birlikte kullanılmaktadır (Kailasapathy, 2002; Kailasapathy, 2006).

Şimdiye kadar Mikroenkapsülasyonda en yaygın olarak kullanılan kapsül biyogam aljinattır. Mikroenkapsüle edici destek olarak aljinat kullanımının, toksik olmaması, kolay olması, mekanik stabilitesi iyi ince jeller oluşturması, alkali tampon çözeltide süspansiye olduğunda kolaylıkla açığa çıkması ve kalsiyum klorit ile probiyotik bakteriler gibi duyarlı materyalleri kaplamada hafif matrisler oluşturması gibi avantajları vardır (Chandramoulia ve ark., 2004). Ancak aljinat bazen tek başına yeterli olmamaktadır. Yapılan birçok çalışmada, aljinatı başka bir destek materyaliyle daha kaplamanın probiyotikleri korumada daha etkili bir yol olduğu bildirilmiştir (Krasaekoopt ve ark., 2004; Annan ve ark., 2008; Ding ve Shah, 2009b; Mokarram ve ark., 2009; Thantsha ve ark., 2009; Pimentel-Gonzalez ve ark., 2009; Gbassi ve ark., 2009).

2.2.2.1.Aljinat

Aljinat, çok çeşitli alg türlerinden doğal olarak ekstrakte edilen b-D-mannuronik ve a-L-guluronik asit polisakkaritidir. Polimer zincirlerinin bileşim miktarları ve ardışık dilimleri alijinatın kaynağına göre değişir ve bu aljinatın yardımcı materyal olarak özelliklerini etkiler. Aljinat hidrojeller yaygın olarak hücre kapsüllemede kullanılır (Çakır, 2010). Genel olarak probiyotiklerin enkapsülasyonunda kalsiyum aljinat kullanılır. Bunun nedeni, kalsiyum aljinatın basit yapıda olması, toksik etkisinin olmaması, biyouyumunun yüksek olması ve düşük maliyetli olmasıdır. Fakat aljinat kullanımının bazı dezavantajları vardır. Örneğin aljinat boncukları asidik ortama duyarlıdırlar yani mikropartiküller, mide koşullarına dirençli değildir. Diğer bir dezavantaj proseste geliştirilmeleri çok zordur. Bunlara ek olarak, mikropartiküllerin gözenekli yapıda olmasının dezavantajı ortamdaki hücrelerin korunamamasıdır. Yine de, aljinatın bu kusurları diğer polimer bileşiklerle karıştırmakla, diğer kaplama maddelerinin kullanımıyla veya aljinatın yapısal özelliklerini değiştirecek katkı maddeleri kullanımı ile telafi edilebilir. Örneğin, aljinat–nişasta karışımı yaygın olarak kullanılan yöntemdir ve bunun

kullanımı sonucu enkapsüle edilmiş probiyotik hücrelerin etkinliğinin arttığı görülmüştür (Burgain ve ark., 2011).

2.2.2.2. Gellan gam ve ksantan gam

Gellan gam *Pseudomonas elodea'*dan elde edilen mikrobiyal kökenli bir polisakkarittir ve glukoz, glukuronik asit ve ramnozun polimerleşmesiyle oluşur. Ksantam gum-gellan gum karışımı probiyotik hücrelerin enkapsülasyonunda kullanılır ve bu karışım aljinatın aksine asidik koşullara yüksek derece dirençlidir (Pranteda ve ark., 2012).

2.2.2.3. Kappa karragenan

Kappa karragenan gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan doğal bir polisakkarittir. Bu teknoloji sıcaklık 40-50ºC'yi gerektirir ve hücreler polimer solüsyon içine ilave edilir. Oda sıcaklığında bu karışım soğutulur, jelleşme oluşur ve sonra mikropartiküller potasyum iyonu ilavesiyle stabil hale getirilir. Kappa karragenan boncuklarıyla enkapsüle edilmiş probiyotik bakteriler canlı durumdadırlar, fakat kapsüller kırılgandır ve zorlamalara karşı dirençli değillerdir (Tsen ve ark., 2004).

2.2.2.4. Selüloz asetat fitalat

Doğal yapıda oldukları için bağırsaklarda etken maddelerin salınımını kontrol eder. Bu bileşenin avantajı, asidik pH'larda (5'den az) çözünmez, pH 6'dan yüksek ortamda ise çözünebilir özellikte olmasıdır. Probiyotik hücrelerin selüloz asetat fitalat ile enkapsülasyonu sonucunda, gastrointestinal koşullarda, mikroorganizmalar için koruma sağlanmış olunur (Fávaro-Trindade ve Grosso, 2002).

2.2.2.5. Kitosan

Kitosan, anyon ve polianyonların varlığında çapraz bağlar oluşturarak polimerize olabilen glukozaminin oluşturduğu linear bir polisakkarittir. Bu bileşenin enkapsülasyon tekniği ile kullanılmasıyla hücreler canlılıklarını koruyamamıştır ve genellikle kapsül olarak değil kaplama maddesi olarak tercih edilir. Aslında, aljinat ile kitosanın kapsülasyonu sonucu gastrointestinal ortamda hücrelerin dayanımları artmıştır bu nedenle canlı bakterileri kolona yerleştirmek için kullanılabilir. Fakat kitosanın dezavantajı, laktik asit bakterileri üzerinde inhibisyon özelliği olmasıdırn(Groboillot ve ark., 1993).

2.2.2.7. Dirençli Nişasta

Nişasta, çok sayıda glikoz ünitelerinin birbirlerine glikozidik bağlarla bağlanması sonucu oluşmuş bir polisakkarittir. Dirençli nişasta, ince bağırsakta pankreaz enzimleriyle (amilaz) sindirilemez. Dirençli nişasta parçalanacağı yer olan kolonlara kadar ulaşabilir. Bu özelliği ile hücreler kalın bağırsaklarda serbest hale gelirler. Ayrıca dirençli nişasta, kalın bağırsaklarda probiyotik aktivite için gerekli hücrelerin bulunması için kullanılabilir. Son olarak, dirençli nişasta probiyotik hücrelerin nişasta granüllerine bağlanması için ideal bir yüzeye sahiptir ve nişasta probiyotiklerin bağırsaklarda gelişmelerini ve metabolik aktivitelerini korumalarını sağlayabilir (Sajilata ve ark., 2006).

2.2.2.8. Jelatin

Jelatin, probiyotik enkapsülasyonunda tek başına ya da diğer bileşikler kombinasyonu yapılarak kullanılan bir protein gum'dır. Amfoterik özellikte olması nedeniyle gellan gum gibi anyonik polisakkaritlerle mükemmel uyum içindendir. Bu hidrokolloidler pH 6'nın üstünde karıştırılabilirler, çünkü her ikiside negatif yük taşırlar ve birbirlerini iterler. Ancak, jelatinin net yükü pH izoelektrik noktanın altınada olunca pozitif olur ve bu negatif yüklü gellan gum ile güçlü bir şekilde

etkileşime girmesine neden olur (Krasaekoopt ve ark., 2003; Anal and Singh, 2007).

2.2.2.9. Süt proteinleri

Süt proteinleri, probiyotik hücreler için doğal bir taşıyıcıdır. Yapısal ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle taşıyıcı sistemde kullanılabilirler. Örneğin bu proteinlerin mükemmel jelleşme özellkleri vardır ve bu özellikleri nedeniyle son zamanlarda probiyotiklerin enkapsülasyonunda kullanılmaktadırlar. Bu sonuçlar gelecek için umut vericidir ve süt proteinleri biyouyumlulukları nedeniyle ilgi çekicidirler (Chavarri ve ark., 2010, Madureria ve ark., 2011).

2.2.3. Probiyotik mikroorganizmaların mikrokapsülasyonunda kullanılan tekniklerle ilgili yapılan bazı çalışmalar

Chen ve ark. (2006), fruktooligosakkarit (FOS), peptit ve aljinat'tan oluşan kaplama materyalleri ile mikroenkapsülasyon işleminin, 4 farklı probiyotik kültürün dayananımını, cevap yüzey tekniğini kullanarak karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, yapay gastrik koşullarda en yüksek probiyotik canlılığını veren kombinasyonun %1 aljinat, %3 FOS ve %1 peptit olduğunu bildirmişlerdir.

Mandal ve ark. (2006), mikroenkapsüle edilmiş *Lactobacillus casei* NCDC-298 türünün canlılığı üzerine farklı aljinat konsantrasyonlarının (%2, %3 ve %4) etkisini incelemişlerdir. Aljinat konsantrasyonu arttıkça bakterinin gastrointestinal koşullara dayanımının arttığı ve canlılık üzerinde olumlu etkisi olduğu saptanmıştır.

Chen ve ark. (2007), tarafından *Bifidobacterium bifidum*'un canlılığının koruması amacıyla uygulanacak mikroenkapsülasyon işleminde, 75°C'de, 1 dakika ısıl işleme dayanımında, en ideal kaplama materyali (aljinat, gellan gam) ve prebiyotik katkı (peptit ve fruktooligosakkarit) kombinasyon oranı cevap yüzey tekniği ile tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, en ideal kombinasyonun %2 aljinat, % 1 gellan gam, %0.86 peptit ve %0.2 fruktooligosakkarit olan kombinasyon olduğu bildirilmiştir.

Allan-Wojtas ve ark. (2008), bakteri yüklü kapsül ile bakteri içermeyen

kapsülü gastrik koşullara benzeyen bir ortama bırakmışlar ve aljinat-kapsüldeki fiziksel aşınmaları, elektron mikroskobunu kullanarak ayrıntılı bir şekilde incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, bakteri yüklü kapsülde, daha çok aşınmanın meydana geldiği saptanmıştır. Bu çalışmadan alınan sonuçlarla, mikroenkapsülasyon yapılacak organizmalarda, öncelikle en az aşınma gösterecek kapsülün seçiminin yapılması gerektiği ve bunun için de, en etkili yolun elektron mikroskobunu kullanmaktan geçtiği bildirilmiştir.

Ding ve Shah (2008), asidik ve safra koşullarında stabilitenin sağlanmasına yönelik olarak, probiyotik kültürlere (*Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium longum, L. salivarius, L. plantarum, L. acidophilus, L. paracasei, B. lactis* type Bl-O4, and *B. lactis* type Bi-07) aljinat, palm yağı ve lisin kombinasyonu ile mikroenkapsülasyon tekniğini uygulamışlardır. Çalışma sonucunda, lisinin probiyotik kültürlerin asidik koşullardaki dayanımını arttırdığı bildirilmiştir.

Li ve ark. (2008), *L. casei*'nin, aljinat-jelatin kombinasyonu ile mikroenkapsülasyonunun, yapay gastrik ve mide koşullarına karşı hücre canlılığını koruduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca probiyotik kültürlerin yapay safra koşullarına kıyasla, yapay mide koşullarından daha çok etkilendikleri bildirilmiştir.

Ding ve Shah (2009b), probiyotik kültürlerin *(Lactobacillus rhamnosus, L. salivarius, L. plantarum, L. acidophilus, L. paracasei, Bifidobacterium longum, B. lactis* Bi-04, and *B. lactis* Bi-07) canlılığı üzerine, mikroenkapsülasyonda uygulanan homojenizasyon tekniğinin etkisini incelemişlerdir. 1300 rpm'de 5 dakikalık homojenizasyonun, probiyotik canlılığı üzerindeki en büyük kayba neden olduğu bildirilmiştir.

Li ve ark., (2009), *L. casei* probiyotik kültürünü, jelatin ve aljinat kullanarak ekstrüzyon tekniği ile kaplamışlar ve sonuçta, fonksiyonel gıdalarda kullanılmak üzere, bu probiyotik kültürün canlılığının korunmasında iyi bir yöntem olduğunu bildirmiştir.

Mokarram ve ark. (2009), probiyotik kültürlerin, (*L. rhamnosus* ve *L. acidophilus*) çok katlı aljinat ile kaplanmasının probiyotik canlılığı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çift katlı aljinat ile kaplamanın, gastrik koşullara karşı hücre canlılığını daha iyi koruduğu saptanmıştır.

Pimentel-Gonzalez ve ark. (2009), benzer olarak, çift katlı emülsiyon ile kaplamanın *L. rhamnosus*'un gastrik koşullara karşı dayanımı arttırdığını bildirmiştir.

Nazzaro ve ark. (2009), aljinat, inülin ve ksantan gam ile kaplı *L. acidophilus*'un 8 hafta 4°C'de havuç suyunda canlı kalma düzeyini incelemişlerdir. Mikroenkapsülasyonun, hücre canlılığı üzerinde önemli düzeyde olumlu etkisinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, gastrik koşullara dayanım bakımında serbest hücrelerle karşılaştırıldıklarında dayanımlarının daha iyi olduğu görülmüştür.

Chavarri ve ark. (2010), aljinat ve kitosan gibi kaplama materyalleri ile prebiyotik kuarsetini içeren mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik kültürlerin (*L. gasseri* ve *B. bifidum*) gastroinstestinal koşullara dayanım bakımından aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, bu uygulamanın probiyotik kültürlerin dayanımını arttırdığını saptamışlardır.

Pranteda ve ark. (2012), *L. rhamnosus* ve *L. plantarum*'un gastrik ve düşük pH koşullarına karşı stabilitesinin sağlanmasında, çeşitli mikrobiyal polimerleri test etmişlerdir. Çalışma sonunda, %1 ksantan ve %0.75 gellan gam içeren kapsüllerin en dayanıklı kapsüller olduğu bulunmuş ve kontrol örneği ile karşılaştırıldığında, 1-2 log kob/g daha fazla canlı hücre içermesine neden olduğu tespit edilmiştir.

2.3. Sucuk ve diğer fermente sosisler

Fermentasyon, gıdaların muhafazası ve uzun süreli depolanması amacıyla uygulanan en eski yöntemlerden biridir. Et teknolojisinde, uygun bir fermentasyon işlemi sonunda, etin muhafazasının sağlanması yanında, yüksek kaliteli ürün üretimi de gerçekleşir. Sucuk, ülkemizde en çok üretilen ve bu nedenle en önemli işlenmiş et ürünüdür. Geleneksel Türk sucuğu, ısıl işlem uygulanmayan yarı kuru fermente bir et ürünüdür (Aşkar, 1996; Aksan, 2005).

Sucuk; sığır eti, manda eti, sığır et yağı kuruk yağı, tuz şeker, baharat nitrit veya nitrat kullanılarak üretilen bir üründür. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliğine (2012/74) göre sucuk, büyükbaş ve küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay

kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve kurutma işlemleri uygulanarak nem oranı %40 ve altına düşürülmüş kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıl işlem uygulanmamış fermente et ürünü olarak tanımlanmaktadır. Sucuk için, pH en yüksek 5.4 ve *Salmonella*, *E. coli* O157 ve *L. monocytogenes* içermemelidir (Anon, 2011 ve 2012). Sucuk üretiminde kullanılan formülasyonlar, üretici firmaya göre değişmekle birlikte, çoğunlukla %80 et, %10-20 yağ, %2-3 tuz, %0,05 nitrat veya %0.01-0.015 nitrit ve %0.1-3.0 baharatlar şeklindedir (Öztan, 2008).

Sucuk üretimindeki fermentasyon aşaması, ürüne kendine özgü lezzeti kazandıran ve dayanıklılığı sağlayan aşamadır. Sucuk fermentasyonu; doğal fermentasyon, doğal aşılamayla fermentasyon ve saf kültür ile fermentasyon olmak üzere 3 şekilde yapılabilmektedir. Doğal fermentasyonda, etin yapısında doğal olarak bulunan laktik asit bakterileri ve işletme içindeki mikroflora doğal olarak ete bulaşır ve doğal fermentasyon oluşur. Doğal aşılamayla fermentasyon; işletmenin başarılı bir ürünü maya olarak kullanılır. İnce kıyım aşamasında formülasyona bu ürün konularak fermente edilir. Saf kültür ile fermentasyon; *Lactobacillus plantarum* esas olarak kullanılmakla birlikte, bunların yanında en çok *Pediococcus cerevisia* ve *Kocuria* spp. ve/veya koagülaz negatif *Staphylococcus* spp. fermentasyonda kullanılır. Karışımın ince kıyım aşamasında, ürüne 10^7 kob/g miktarda starter kültür eklenir. Starter kültürler, 10-38^oC arasında optimum özellik gösterirler. 38^oC'nin üzerinde fermentasyon hızlanmakta ve 10-38^oC'de 12-48 saatte fermentasyon tamamlanmaktadır (Ulusoy, 2007).

Ülkemizde sucuk üreten kuruluşların pek çoğu, yapım teknolojisinin gelişmemesi, standart metot noksanlığı ve ekonomik nedenlerle çok ilkel koşullar altında ve bilimsel gerçeklerden uzak bir şekilde üretim yapmaktadır. Teknolojik yetersizlik, sucuğun olgunlaşmasını olumsuz yönde etkileyerek, üründe istenilen yapı ve görünüşün, arzu edilen renk, tat ve aromanın oluşumunu engellemekte ve ekonomik açıdan da sorun yaratmaktadır. Türkiye'de sucuk üretim teknolojisi, işletmeden işletmeye büyük farklılık göstermektedir. Sucuk üretim teknolojisi, standardize edilerek uygulamaya aktarılmadığından sucuk üretiminde birçok hile olmakta ve halk sağlığını tehdit edici boyutlarda sonuçlarla karşılaşılmaktadır. Bununla birlikte, geleneksel sucuk üretimi süresince en önemli işlem basamağı olan

fermentasyon, zaman, enerji ve işgücü gerektirmektedir. Bu durum, sucuk üreticilerini daha kısa sürede üretilen, hijyenik ve en önemlisi besleyici değeri yüksek olan sağlıklı sucuk üretim metodu geliştirmeye yönlendirmiş ve sonuç olarak sucuk üretiminde starter kültür kullanımı yaygınlaşmıştır. Ayrıca, sucuk üretimi sırasında çeşitli probiyotik kültürler kullanılarak ürüne fonksiyonel özellikler kazandırılma çalışmaları da birçok araştırıcı tarafından gerçekleşmiştir (Ertaş, 2006; Kaban, 2007).

Fermente et ürünleri arasında, yurtdışında da en çok üretilen ürün olan fermente sosisler, üretim esnasında fermentasyon işlemi uygulanması ve buna bağlı olarak da son ürünün farklı bir tekstür ve lezzet kazanması gibi nedenlerden dolayı, diğer sosis tiplerinden farklılık gösterirler (De Vuyst ve ark., 2008; Espinoza ve ark., 2010). Ülkemizde yaygın olarak üretilen ve tüketilen bir et ürünü olan sucuk da bir fermente sosis çeşididir. Geleneksel sucuk üretiminde, kıyma çekilen koyun ve/veya sığır eti, kuyruk yağı, tuz, şeker, sarmısak ve baharat ile karıştırılarak kılıflara dolum yapılmaktadır (Bozkurt, 2002).

2.3.1. Sucuk ve fermente sosis üretiminde probiyotik kültür kullanımı

Fermente sosis ve sucuk hamurunun ana bileşeni olan et, kesim aşamasından itibaren çeşitli mikroorganizmalarla kontamine olur. Kontamine olan mikroflora, fermente edici ve fermente edici olmayan mikroorganizmaları bir arada içermektedir. Et yüksek besleyici özelliği, su aktivitesi değeri ve yaklaşık olarak 7.0 olan pH değeri nedeniyle, mikrobiyel gelişmeye uygun bir hammaddedir. Fermente sosis üretiminde spontan fermentasyon sonucu ete kontamine olan mikroorganizmalar, gelişme göstererek, arzu edilmeyen tat, yapı ve renk gelişimine de neden olurlar. Starter kültürler ise fermentasyon sırasında gelişen ve istenen metabolik aktivite gösteren canlı mikroorganizmalardır (Gençcelep, 2006; Kurt, 2006).

Fermente sosis üretiminde starter kültürler; gıda güvenliğini ve ürün stabilitesini arttırmak, bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişmesini ve diğer değişimleri engellemek, arzu edilen yapı ve renge sahip, çeşitli özellikte ve sağlıklı ürün üretimini sağlamak amacıyla kullanılır (Çolak, 2000).

Starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar, gıdaların duyusal özelliklerini arttırdıkları gibi, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* gibi arzu edilmeyen ve patojen mikroorganizmaların gelişmesini engelleyerek, koruyucu özellik de gösterirler. Fermente et ürünü üretiminde, yaygın olarak kullanılan başlıca starter kültürler, laktik asit bakterileri, *Micrococcaceae* familyasına ait bakteriler, maya ve küflerdir (Kolsarıcı, 2005).

Son zamanlarda, sucuk ve fermente sosis üretiminde starter kültür kullanımının yanı sıra probiyotik kültürler de kullanılmaya başlanmıştır. Probiyotikler, yeterli sayıda alındıklarında konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösteren canlı mikroorganizmalardır (Krasaekoopt ve ark., 2006; Cruz ve ark., 2009; Ranadheera ve ark., 2009; Ergönül, 2009). Probiyotik mikroorganizmaların beklenen faydalı etkiyi sağlayabilmeleri için, 10^6-10^7 kob/mL veya daha fazla sayıda vücuda alınmaları ve içinde bulundukları gıdanın üretimi ve raf ömrü süresince canlı kalabilmeleri gerekmektedir (Vasiljevic ve Shah, 2008). Probiyotiklerin belirli sayıda ve düzenli olarak tüketilmelerine ilaveten, alınan bakterilerin sindirim sisteminde mide asitliği, safra tuzları, çeşitli enzimler vb. gibi zor koşullarda da canlılığını koruyabilmesi, uygun miktarlarda barsaklara ulaşarak, kolonize olması gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların canlılığının ve stabilitesinin korunması, birçok üründe, gerek işleme sırasında, gerekse depolama ve satış aşamalarında önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Probiyotik gıdalarda kullanılan mikroorganizmalarda, ürüne özgü türler olma özelliklerinin yanı sıra, ürünün raf ömrü boyunca canlılıklarını koruyabilme özellikleri de aranmaktadır. Ayrıca, probiyotik türlerin seçiminde, ilgili yeni üretim teknolojileri ve formülasyonları dikkate alınarak, fonksiyonel özellikleri olanlar öncelikli olarak seçilmektedir (Knorr, 1998; Ouwehand ve Isolauri, 2002; Mattila-Sandholm, 2002; Shah, 2007). Diğer yandan, probiyotik ürünlerin, ticari olarak üretilmeden önce, pilot üretimleri gerçekleştirilerek, üretiminde uygulanan işlemler sırasında ve sonrasında canlı kalma oranları belirlenmektedir (Mosilhey, 2003; Argin, 2007).

Sucuk ve fermente sosis üretiminde, gerek starter olarak kullanılan ve gerekse probiyotik kültür olarak ilave edilen laktik asit bakterilerinin görevi, sucuk hamuruna katılmış olan şekerlerden hızla ve güvenli bir şekilde laktik asit üretmektir. Laktik

asit, üründe pH değerini düşürürken, ekşi tat oluşumuna da neden olmaktadır. Fermente sosislerin ve sucuğun kendine özgü aroması; fermentasyon ve kurutma işlemi süresince mikroorganizmaların enzimatik aktivitesi, biyokimyasal değişiklikler (karbonhidrat, protein ve lipidlerin bakteriyel ve kas endojen enzim metabolizmasıyla parçalanması) sonucu oluşan bileşiklerden ve kullanılan katkı maddelerinden kaynaklanmaktadır. Metabolizma ürünleri ve kullanılan baharat karışımı, fermente sosis ve sucuğun aroma profilini oluşturmaktadır (Bozkurt ve Erkmen, 2002; Kaban, 2007; De Vuyst ve ark., 2008; Espinoza ve ark., 2010).

Sucuk ve fermente sosislerin, endüstriyel boyutta üretiminde, laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanılmaları büyük önem taşımaktadır. Bu bakterilerin kullanımları ile sağlık üzerinde yararlı etkileri sağlanarak, ürüne yeni duyusal özellikler kazandırılır, etin mikrobiyolojik güvenliği ve raf ömrü geliştirilir. Starter kültürlerin seçiminde, üründe doğal olarak bulunan ve fermentasyonu gerçekleştirilen mikroorganizmaların belirlenmesi esas alınmaktadır. Sucuklarda ve fermente sosislerde sıklıkla izole edilen ve probiyotik özellikleri de olduğu bildirilen baskın laktik asit bakterilerinin, *L. sakei*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. casei* ve *L. brevis* olduğu belirlenmiştir (Çon ve Gökalp, 2000; Papanamoli ve ark., 2003; Ammor ve Mayo, 2007; Moyano ve ark., 2009; 2011a ve b). Çon ve Gökalp (2000) Türkiye'de yapmış oldukları bir çalışma'da 51 adet sucuk numunesinin doğal mikroflorasını *L. plantarum, L. curvatus, L. pentosus, L. rhamnosus, L. delbrucki P. acidilactici, P. pentosaceus* olarak belirlemişlerdir. Özdemir (1999) sucuk mikroflorası üzerine yapmış olduğu bir çalışmada, % 82.1 oranında *L. sake*, % 7.9 oranında *L. curvatus*, % 2.8 oranında *L. plantarum*, % 2.8 oranında *L. viridences*, % 3.5 oranında *L. agilis*, % 0.4 oranında *L. casei supsp. rhamnosus* ve yine % 0.4 oranında *L. carnis* adlı laktobasillerin varlığını bildirmiştir.

Probiyotik özellikte olan laktik asit bakterilerinin, fermente et ürünleri mikroflorasında ortama adapte olup, baskın florayı oluşturmaları için, geleneksel yöntemlerle üretilmiş olan ürünlerden izole edilmeleri önemlidir. Fermente et ürünlerinde, yeni probiyotik kültür geliştirebilmek için seçilen laktik asit bakterilerinin, nitrite, fermantasyon ve olgunlaşma sırasında aktivite gösterebilmesi ve hızlı çoğalabilmesi, asit şartlara, sofra tuzuna dayanabilmesi, insan bağırsak

sisteminde kolanize olabilme yeteneğine sahip olması gerekmektedir. Sucuklarda gerek teknolojik ve duyusal özellikler bakımından gerekse sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı probiyotik kültürlerin starter kültür olarak başarıyla kullanılabilecekleri belirtilmiştir (Başyiğit ve ark., 2007).

Probiyotiklerin (*L. acidophilus* ve *B. lactis*), vakum veya modifiye atmosfer paketleme (%50 N_2 + %50 CO_2) uygulanmış sucuklarda kullanımının lipit oksidasyonu, toplam aerobik bakteri ve *Micrococcus/Staphylococcus* miktarını azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca, *B. lactis* ve *L. acidophilus*'un, sucukta probiyotik kaynağı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Ayrıca, bazı çalışmalarda, *L. plantarum* MF1291 ve MF1298 ve *L. pentosus* MF1300'nin, probiyotik starter kültürü olarak, kullanılabileceği ifade edilmiştir. Yapılan başka bir çalısmada ise, probiyotik özellikte olan *L.rhamnosus* GG, LC-705 ve E-97800 suşları kullanılarak *Listeria monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 riski düşürülmüş kaliteli fermente sosis elde edilebileceği belirtilmiştir (Klingberg ve ark., 2005; Kaynakcı ve Kılıç, 2009).

2.3.1.1. Sucuk ve fermente sosis üretiminde probiyotik kültür kullanımı ile ilgili yapılan bazı çalışmalar

Andersen (1998), *L. casei* ve *Bifidobacterium lactic* kombinasyonunun; fermente sosislerde başarılı olduğunu saptamışlardır.

Sameshima ve ark. (1998)'nın yaptıkları çalışmada, *L. gasseri*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*'nin, *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin oluşmunu önlediği bildirilmiştir.

Agerholm ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada; probiyotik kültürlerin sağlık üzerine etkilerinin olduğunu ve daha çok fermente süt ürünleriyle ilgili yapılan çalışmalarda, probiyotik kültürlerin serum kolestrol düzeyini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Erkkila (2001a), probiyotik kültürlerden *L. rhamnosus* ve *L. plantarum*'un fonksiyonel starter olarak, Kuzey Avrupa tipi fermente et ürünlerinde kullanımını test etmişler ve bu türlerin teknolojik ve duyusal özellikleri olumsuz yönde

etkilemediğini ve bu bakterilerin fermente et ürünlerinin üretiminde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Erkkila ve ark. (2001b), *L. rhamnosus* probiyotik ve *Pediococcus pentasaceus*'u starter kültür olarak kullanarak sosis üretmişlerdir. Sonuçta, gerek duyusal özellikler gerekse de biyokimyasal özellikler bakımından *L. rhamnosus'*un, fermente sosislerde fonksiyonel kültür olarak kullanılmasını uygun bulmuşlardır .

Pidcock ve ark., (2002), *L. paracasei* ve *B. lactis*'in, klasik et starter kültürleri ile birlikte kullanıldığında, ürünün duyusal özelliklerinde değişim olmadığını belirlemişlerdir.

Jahreis ve ark., (2002) fermente et ürünlerinde probiyotik kültür kullanımının serum kolestrol düzeyine etkisi incelenmiştir. Sağlıklı bireylerin *L. paracasei* içeren 50g/gün fermente et ürünleri tüketmeleri sonucunda, 1 kaç haftalık dönemde, konakçı bağışıklık sistemi üzerinde çeşitli değişiklikler meydana gelmiş, fakat farklı kolestrol fraksiyonları ve trigliseritlerin serum konsantrasyonlarında önemli bir etki görülmemiştir. Ancak bu sonuç denemede kullanılan probiyotik türünün özelliğinden kaynaklanabilmektedir. Bu nedenle de farklı türler üzerinde daha çok ve ayrıntılı çalışmalar yapılmalıdır.

Mahoney ve Henrikson (2003), *Listeria* ve probiyotik kültür ilave ederek ürettikleri salamlar ile sadece *Listeria* ilave ederek ürettikleri kontrol salamlarını, farklı fare gruplarına yedirmişler ve dışkıdaki patojen düzeyi ile kilo kaybını karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda, probiyotik kültür içeren salamla beslenen farelerde, kilo kaybı olmadığı ve dışkıda saptanan patojen miktarının da kontrol salamla beslenen farelerinkinden daha düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Kaya ve Aksu (2005)'nun yaptıkları çalışmada ise *B. lactis* ve *L. acidophilus*'un probiyotik özelliklerinin yanı sıra starter kültür olarak sucuk üretiminde kullanılabileceği bildirilmiştir. Bu bakterilerin sucuk üretiminde kullanılmasının mikrobiyolojik kaliteyi olumlu yönde etkilediği ve lipit oksidasyonunu önlediği bildirilmiştir.

Klingberg ve ark. (2005), İskandinav tipi fermente sosislerden potansiyel probiyotik kültürleri tanımlamışlardır. Tanımlanan kültürlerden, *L. plantarum* MF1291 ve MF1298, yanı sıra *L. pentosus* MF1300'un gastrointestinal sistemde

canlılıklarını koruma ve patojen bakterileri inhibe etme gibi pozitif özelliklerinden dolayı, et ürünlerinde, starter ve probiyotik kültür kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Muthukumarasamy ve Holley (2006), aljinat ile mikroenkapsüle edilen *Lactobacillus reuteri*'yi içeren fermente kuru sosisin duyusal ve mikrobiyolojik kalitesini değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda, kurutma işlemi ile birlikte mikrokapsüle edilmemiş *L. reuteri* içeren kuru sosiste, yani kontrol örneğinde 2.6 birimlik logaritmik azalış meydana gelirken, mikroenkapsüle edilen kuru sosiste 0.5 birimlik logaritmik azalış meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca, duyusal özellikler bakımından kontrol örneği ile mikroenkapsülasyon işlemi yapılmış sosis arasında önemli farklılıkların olmadığı bildirilmiştir. Muthukumarasamy ve Holley (2007), fermente sosislerde mikroenkapsüle probiyotik kültür kullanarak, bu kültürlerin canlılığını ve *E.coli*'nin inhibisyonu üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonunda, mikroenkapsülasyon işleminin, probiyotik kültürlerin canlılığını koruduğu, ancak *E. coli*'nin inhibisyonu üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Rebucci ve ark. (2007), fermente et ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin fonksiyonel kültür olarak kullanılabilirliklerini inceledikleri çalışmada; *L. casei (38%), L. paracasei subsp. paracasei* (32%), *Lactobacillus rhamnosus* (21%) ve *Lactobacillus sakei subsp. sakei* (9%) gibi suşları izole etmişlerdir. Bu kültürlerden laktik asit üretimi açısından *L. casei, L. paracasei subsp. paracasei* ve *L. rhamnosus'*un, gastrik koşullara dayanıma açısından *L. casei* ve *L. sakei*'nin, *E.coli* ve *Salmonella*'ya karşı antibakteriyel etki bakımından ise, *L.* casei ve *L. rhamnosus*'nin en dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Moyano ve ark. (2009), fermente sosislerde potansiyel olarak kullanılabilecek probiyotik kültürlerin seçimi ile ilgili yaptıkları çalışmada, *L. casei, L. fermentum* ve *L. reuteri*'nin, *L. monocytogenes*'in inhibisyonunu sağlamaları, biyojen amin üretimini önlemeleri ve yüksek laktik asit üretimleri gibi olumlu özelliklerinden dolayı, probiyotik kültür olarak kullanımlarını önermişlerdir.

Radulovic ve ark. (2011), fermente sosislerde, probiyotik kültür *(Lactobacillus helveticus* veya *Bifidobacterium longum)* kullanımının kimyasal bileşim ve duyusal kalite üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda,

probiyotik sosislerin pH ve kimyasal bileşimlerinin, kontrol sosislerine benzer olduğu ve duyusal kalitelerinin de kabul edilebilir bulunduğu bildirilmiştir.

Khan ve ark. (2011), probiyotik sosislerin fonksiyonel gıda olarak kullanılabileceğini bildirmiştir. Probiyotik sosislerin yararlı etkilerinin, immün sistem üzerine ve *Listeria*'nın virülansı üzerine olduğu bildirilmiştir.

Krajewska ve Dolatowski (2012), probiyotik et ürünlerinin, sağlık üzerindeki olumlu etkileri, gıdaların kalitesi, güvenliği ve teknolojik özelliklerinin geliştirilmesi gibi yararlı özellikleri ile tüketilmesi gereken ürün grupları arasında olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, probiyotik kültürlerin ürünün mikrobiyolojik kalitesini arttırdığı ve biyojen amin oluşumunu önlediği bildirilmiştir.

Barbera ve ark. (2012), geleneksel 'Longaniza de Pascua' sosisi üretiminde turunçgil lifi ve probiyotik kültür kullanmışlardır. Sosis üretimi; kontrol, 1% lif içeren sosis, *L. casei* içeren sosis ve %1 lif ve *L. casei* içeren sosis olmak üzere 4 farklı kombinasyonla yapılmıştır. Araştırma sonucunda, turunçgil lifi ve *L. casei* probiyotik kültürünü içeren sosislerin duyusal beğenisinin daha fazla olduğu ve pH düşüşünün daha hızlı olduğu saptanmıştır.

Rubio ve ark. (2013), *L. casei* CTC1677, *L. casei* CTC1678 ve *L. rhamnosus* TC1679 probiyotik kültürlerini kullanarak, fermente sosis üretimini gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonunda, kullanılan probiyotik kültürlerin duyusal özellikler üzerinde olumsuz etkilerinin olmadığı saptanmış ve kullanılan probiyotik kültürler arasında *L. rhamnosus*'un, fermente sosis üretiminde kullanılabilecek en uygun probiyoik kültür olduğu tavsiye edilmiştir.

Trzaskowska ve ark., (2014), *Lactobacillus casei*'nin mikrobiyolojik stabilite, duyusal kabul edilebilirlik ve sağlık güvencesi gibi özelliklerinden dolayı, fermente sosis üretiminde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

2.3.2. Sucuk ve fermente sosislerde aroma oluşumu

Sucuk ve benzeri fermente et ürünlerinde, aroma önemli bir kalite kriteridir. Fermente et ürünlerinin aroması, baharatların miktarı ve içeriği ile karakterize edilmesine karşın, aroma oluşumunda, proteolizis, lipolizis, lipit otooksidasyonu ve

karbonhidrat metabolizması önemli rol oynamaktadır. Diğer taraftan, uçucu bileşiklerin miktar ve çeşidi, kullanılan hammadde ve katkı maddelerinin yanı sıra, üretim şartlarına (geleneksel veya endüstriyel) da bağlıdır. Olgunlaşma süresince (fermentasyon + kurutma) , glikolizis sonucu asit oluşumu ile pH düşmekte ve asit tat gelişmektedir (Gençcelep, 2006; Kaban, 2007).

Sucuk ve fermente sosislerin aromasında, üretim sırasında da çok çeşitli faktörler etkili olabilmektedir. Bunlar; hammaddenin kalitesi ve tipi, dumanlama, fermantasyon süresi ve kurutma uzunluğu, kullanılan kürleme tuzları ve nitrit. Daha önce de belirtildiği üzere, kullanılan baharatlar yine son ürünün aroması üzerinde doğrudan etkili olmaktadır. Ayrıca, bazı aroma maddeleri; etteki endogenaz enzimlerden ve mikroorganizmaların meydana getirdiği glikoliz, lipoliz, proteoliz ve lipit oksidasyonundan da kaynaklanabilmektedir. Son üründe oluşan metabolitler ise, kullanılan mikroorganizma türü ve cinsine göre değişmektedir. Sucuk ve fermente sosis fermantasyonu ve olgunlaştırması sırasında meydana gelene kimyasal ve enzimatik reaksiyonlarla, proteinler peptitlere, dipeptitlere ve amino asitlere indirgenirler ve lipitler ise yağ asitlerine indirgenirler. Aminoasitler, daha ileri bir dekarboksilasyon ile biyojen aminlere veya aroma bileşiklerine dönüşebilir, ayrıca yağ asitleri okside olarak aldehitlere, alkanlara, alkollere ve ketonlara da dönüşebilmektedir (Ansorena ve ark., 1998; Erkkila 2001a, b; Çakır 2010; Janssens ve ark., 2012). Tümünü özetleyecek olursak, sucuk ve fermente sosislerdeki aroma oluşumunda meydana gelen 3 temel olay vardır, bunlar; glikolizis, lipolizis ve proteolizis şeklindedir. Fermente et ürünlerinin, karakteristik tat, aroma, tekstür ve renk gelişimleri temelde ürün içindeki çeşitli mikroorganizmaların gelişmeleri ve biyokimyasal faaliyetleri sonucunda oluşmaktadır.

Mikroorganizmaların gelişimi ve metabolik aktiviteleri sonucunda olgunlaşan fermente et ürünleri için, ülkemizde en tipik örnek sucuktur. Fermente et ürünlerinde arzu edilen tipik yakıcı ekşimsi tadın temel nedeni olan laktik asit; fermentasyon ve olgunlaşma sırasında, dominant hale gelen homofermentatif laktik asit bakterileri tarafından üretilir. Sucuk ve benzeri ürünlerin fermentasyonunda, laktik asitin dışında, asetik asit, etanol, asetoin, karbondioksit, prüvik asit vb. gibi diğer fermentasyon ürünleri de, kullanılan starter kültüre ve fermentasyon şartlarına bağlı

olarak çeşitli miktarlarda oluşabilmektedir. Bu asitlerin aroma oluşumunda ayrı bir önemi vardır. Bu nedenle, son ürünün aromasının oluşumunda; ilave edilen starter kültürün kompozisyonu ve miktarı, karbonhidratın tipi ve miktarı, glukono-δ-lakton, baharat, tuz, nitrat ve nitrit gibi çeşitli katkı maddelerinin miktarı önemli rol oynamaktadır. Fermente sosislerde, lipaz aktivitesi genellikle mikrokoklara *veya Kocuria* atfedilse de, laktobasillerin de lipolitik aktivite gösterebildikleri çeşitli kaynaklarda belirtilmiştir. Genel olarak; propionik, butirik, valerik ve izovalerik asitler, fermente et ürünlerinin olgunlaşması olgunlaşma sırasında miktar olarak azalırlar (Gökalp ve ark., 1998).

Proteinler, sucuk ve benzeri fermente sosislerin olgunlaşması esnasında kısmen hidrolize edilebilmektedir. Serbest amino asitler, peptidler, nükleotidler ve nükleositler gibi bir çok grubun konsantrasyonu ve kompozisyonu fermente sosisin aroması üzerine etkili olmaktadır. Ancak, bazı araştırıcılar tarafından; proteolizis sonucu gerçekleşen amino asit degradasyonunun düşük pH, su aktivitesi ve yüksek tuz konsantrasyonu ile sınırlı gerçekleşmesi sonucu, ürünün uçucu bileşen içeriğini çok fazla etkilemediği ve bu reaksiyon ürünlerinin daha ziyade lezzet üzerine etkili olduğu da belirtilmektedir (Serteser ve Gök, 2006; Çakır, 2010)

Proteoliz, fermente sosislerde olgunlaşma süresince, aroma gelişimini de içeren önemli proseslerden biri olarak bilinmektedir. Proteolizis sonucu, uçucu bileşiklerin ön maddeleri ve ayrıca tat üzerinde etkili olan serbest amino asitler ile düşük molekül ağırlıklı peptitler gibi protein tabiatında olmayan azotlu bileşiklerin miktarı artmaktadır. Protein hidrolizi, genellikle katepsinler ve trypsin gibi endojen peptidazlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Ancak, bu reaksiyon, olgunlaşma prosesinde mikroorganizma kaynaklı proteazlar tarafından da katalizlenmektedir. Bu tip ürünlerde önem arz eden mikroorganizmalardan katalaz pozitif koklar (*Staphylococcus* ve *Kocuria*) laktik asit bakterilerine göre daha etkindirler. Proteolizde ürün formülasyonu, starter kültür ve üretim şartları gibi üründen ürüne değişiklik gösteren faktörlerin etkili olduğu araştırmalarla belirlenmiştir (Kurt, 2006).

Lipidler genellikle, kuru fermente sosislerin ana bileşenlerinden biridir. Bu ürünlerin lipid içeriği, % 25-55 aralığında değişir. Fermente sosislerde mevcut olan

lipidler, ürünün duyusal karakteristiklerini etkiler. Bu ürünlerdeki lipidler, lipoliz ve oksidasyon gibi reaksiyonlar sonucu farklı aromatik bileşiklere parçalanır. Kuru fermente sosislerin lipid fraksiyonunun kısmi degradasyonu olan "lipoliz" son ürün kalitesini, direkt veya dolaylı olarak etkileyen sekonder biyokimyasal bir reaksiyondur. Lipidlerin lipolizi, gliserol ester hidrolaz enziminin aktivitesi sonucu gelişir. Enzim aktivitesi sonucunda, tri-, di- ve monogliseritlerin ester bağları kırılarak, serbest yağ asitleri açığa çıkar. Fermente sosislerde, endojen enzim (lipaz ve fosfolipaz gibi) ve eksojen enzim aktivitesi ile gerçekleşen lipoliz sonucunda serbest yağ asidi miktarında hızlı bir artış gözlenir. Lipaz enzimleri, spesifik olan ve spesifik olmayan olmak üzere iki grup altında toplanmaktadır. Spesifik olan lipazlar, bazı serbest yağ asitlerini hidrolize ederler. Fermente sosislerdeki lipolizin çoğunlukla, endojen enzim aktivitesi sonucunda gerçekleştiği bildirilmiştir. *Lactobacillus* türleri, genellikle zayıf lipolitik aktiviteye sahipken, *Staphylococcus* türlerinin lipolitik aktiviteleri daha fazladır. Bu bakterilerin lipaz enzimleri, pH 7.5 civarında yüksek aktivite gösterir. Bununla beraber, laktik floranın sağladığı 5.3 civarındaki pH değeri, *Staphylococcus* türlerinin lipolitik aktivitesini inhibe etmektedir (Ertaş, 2006; Kaban, 2007).

Protein degradasyonu, fermente sosislerin olgunlaştırılması süresince gerçekleşen en önemli biyokimyasal değişikliklerden biridir. Proteoliz sonucu oluşan çeşitli düşük molekül ağırlıklı bileşikler (peptitler, amino asitler, aldehitler, organik asitler ve aminler gibi) tekstür ve lezzet gelişimi üzerine etkilidirler. Fermente sosislerde meydana gelen proteoliz, endojen ve mikroorganizma enzimleri tarafından gerçekleştirilmekte olup, ürün formülasyonu, starter kültür ve işleme koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Fermente sosislerde 20-30 kDa aralığında molekül ağırlığına sahip olan sarkoplazmik proteinlerin, fermentasyon sonunda hemen hemen parçalandığı belirtilmiştir. Molekül ağırlıkları daha düşük olan peptitler, hücreye transfer edilerek, sitoplazmada mevcut hücre içi peptidazların aktivitesi sonucu serbest amino asitlere parçalanırlar. Başka bir ifade ile fermentasyon süresince proteoliz, çoğunlukla endojen proteinazlarca, özellikle katapsin D tarafından gerçekleşirken, olgunlaşma döneminin sonlarındaki proteoliz ise çoğunlukla, bakteriyel enzimlerce gerçekleştirilir. Endojen enzimler, düşük pH

değeri ve yüksek tuz konsantrasyonlarından olumsuz yönde etkilenmektedir. Bununla beraber, endojen enzimlerden katapsin L, fermente sosis üretiminin kurutma aşamasında da aktif durumdadır. Mikrobiyel kaynaklı proteoliz, *Micrococcaceae* familyası bakterileri ve laktik asit bakterileri gibi proteolitik aktiviteye sahip starter kültürlerce gerçekleştirilmektedir. Fermentasyon ve olgunlaştırma aşamalarında, endojen enzimlerin aktivitesine ve sucuk üretiminde kullanılan mikroorganizmaların proteolitik aktivitesine bağlı olarak gerçekleşen proteoliz sonucu, küçük molekül ağırlıklı proteinler, peptitler ve serbest amino asitler ortaya çıkar. Proteoliz sonucunda oluşan bu peptitlerin ise tat üzerine önemli etkileri vardır. Düşük asitlik değerine sahip sucuklar, düşük proteolitik aktivite sonucu elde edilen sucuklardır ve bunların asıl et proteinleri parçalanmamıştır. Aynı zamanda, protein olmayan azotlu bileşik fraksiyonu sucuk pH'sını etkiler. Ürün pH'sı, çiğneme sırasında asit bileşiklerden kaynaklanan tat ve aromanın ortaya çıkısını etkilemektedir (Çolak, 2000; Gençcelep, 2006) .

Sonuç olarak, fermente sucuk üretiminde amaç, iyi olgunlaşmış yani iyi bir tekstür, renk, lezzet, aromaya sahip ve uzun süre muhafaza edilebilen bir ürün elde etmektir. Fermente sucuklar, mikrobiyolojik olarak olgunlaştırılan ve kendilerine özgü tat-koku, aroma, renk, besleyici değer ve yapı gibi özellikleri taşıyan et ürünleridir. Sucuk hammaddelerinde doğal olarak bulunan ve sucuk mikroflorasının salgıladığı enzimler, olgunlaşma anında yağları, karbonhidratları, azotlu maddeleri ve diğer küçük moleküllü bileşikleri parçalayarak sucuğun renk, tat ve kokusunun değişmesine neden olur (Aşkar, 1996).

Konu ile ilgili yapılan birçok çalışmada, fermente sosislerdeki aroma maddelerinin başlıcasının lipit oksidasyonundan gelen aldehitler olduğu bulunmuştur (Marco ve ark., 2004; Lammers ve ark., 2011; Janssens ve ark. 2012).

Olivares ve ark. (2009), fermente sosislerdeki aroma maddelerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalarında, fermente sosisteki koku aktif bileşiklerinin, prosesin başlangıcında 3-metil bütanal, 2-metil bütanal, oktanal, diasetil ve etil 2-metil bütanoat olduğunu, prosesin sonunda ise propanal, pentanal, hekzanal, etil 3-metil bütanoat, 1-okten-3-ol, 3-metil bütanoik asit, 2-metil propanoik asit, etil hekzanoat ve nonanal olduğunu saptamışlardır.

Ansorena ve ark. (2001), fermente sosisteki aroma maddelerini araştırmışlar ve sonuçta, 93 farklı bileşik izole etmişler ve bunların % 14'ünün lipit oksidasyon ürünlerinden geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, asitlerin ve aldehitlerin en düşük farklılığı gösterdiği ve farklı ticari markalar arasında kimyasal yakınlıklarının olduğunu saptamışlardır.

Çakır (2010), bazı ticari markaların sucuklarında aroma bileşiklerini analiz etmiş ve üründe, 92 adet aroma maddesi tanımlanıştır. Araştırmada, bunlardan 5'i asit, 7'si ester, 10'u alifatif hidrokarbon, 7 alkol, 5 aldehit, 11 sülfürlü bileşik, 2 keton, 7 aromatik hidrokarbon, 27 terpen, 2 azot bileşiği, 3 fenol ve 6 BCH'dir. Uçucu bileşiklerden baharatlardan gelen terpenlerin %56-76'lık oranla en yüksek düzeyde saptanan bileşik olduğu bildirilmiştir.

2.3.3. Fermente et ürünlerinde biyojen aminler ve önemi

Biyojen aminler, aminoasitlerin dekarboksilasyonu ya da aldehit ve ketonların aminasyon ve transaminasyonu ile oluşan alifatik, aromatik veya heterosiklik yapıda düşük molekül ağırlığına sahip organik bazlı azotlu bileşiklerdir (Karahan 2003; Suzzi ve Gardini, 2003; Özdestan ve Üren, 2006).

Biyojen aminler, temelde gıdalardaki aminoasitlerin, belirli bazı mikroorganizmaların dekarboksilaz enzimleriyle, dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Biyojen amin oluşumu, ortamın pH'sını yükseltmekte bu da, mikroorganizmayı asidik ortam etkisinden korumaktadır. Bir çok araştırmayla, farklı bakteri suşlarının biyojen amin ya da amin dekarboksilasyon enzimi ürettiği ortaya konmuştur (Alper ve Temiz, 2001). Enzimler ve bakteriler, sadece proteini parçalamayıp, aynı zamanda oligopetitleri de parçalamaktadır. Üründeki biyojen amin miktarı, gıdaya ve mikroorganizmaya göre değişmektedir. Hemen hemen bütün gıdalarda, serbest amino asit ve protein bulunur ve mikrobiyal gelişme şartlarına bağlı olarak, biyokimyasal aktif biyojen aminlerin oluşması beklenir. Biyojen aminler, büyük ölçüde proteince zengin gıdalar ve fermente gıdalarda oluşmaktadır. Aminler, özellikle yüksek protein içerikli fermente et ürünlerinde, yüksek konsantrasyonlarda oluşabilirler. Fermente ürünlerin olgunlaşması sırasında, biyojen

aminlerin yüksek miktarlarda oluşmalarını engellemek için, oluşum kaynaklarını iyi belirlemek gerekir. Fermentasyon sırasında, mikrobiyal gelişme, asitlik ve proteoliz biyojen amin üretimi için ideal ortam sağlamaktadır. Kısaca özetleyecek olursak, biyojen amin oluşumu, mikroorganizma gelişimi sıcaklık, pH, su aktivitesi, fermente olabilir karbonhidrat ve redoks potansiyeli gibi faktörlerden de etkilenmektedir. Ayrıca, fermente ürünlerde amin oluşumunu etkileyen en önemli faktörün çiğ materyalin mikrobiyolojik kalitesi olduğu bildirilmiştir (Çolak ve Uğur, 2002; Suzzi ve Gardini, 2003; Bozkurt ve Erkmen, 2004; Roseiro ve ark., 2006; Gençcelep ve ark., 2008; Moratalla ve ark., 2010).

Ayrıca biyojen aminlerin tipi ve miktarı, mikroorganizmaların çeşidine, özellikle de gıdanın doğal yapısına da bağlıdır. Fermentasyon sırasında, biyojen amin oluşumu, starter kültür olarak amin negatif laktik asit bakterilerinin kullanılmasıyla engellenebilmektedir. Hızlı ve ani pH düşmesinin, özellikle *Enterobacteriaceae* ve amin pozitif mikroorganizmaların gelişmesini azalttığı ve sonuçta daha az amin oluştuğu belirtilmiştir. Ayrıca, starter laktik asit bakterileri, olgunlaşmanın son basamakları sırasında starter olmayan bakteriler ile yarışabilir ve ürünün muhafazası boyunca aşırı biyojen amin oluşumunu da engelleyebilir. Amin pozitif bakterileri inhibe etmek için, starter olarak kullanılan kültürlerin antimikrobiyal madde üretme yeteneği iyi olmalıdır. Ayrıca, kullanılan starter kültürün amin negaitif özellikleri olmalıdır. Örneğin, üretimde kullanılan mikroorganizma kültürlerinin amino oksidaz aktivitesi oldukça önemlidir. Çünkü, biyojen aminler amino oksidazlar tarafından fiziksel olarak inaktive edilebilmektedirler. Amin negatif starter kültürlerin veya probiyotik kültürlerin sucuk üretiminde kullanılması amin üretimini azaltır (Bover-Cid ve ark., 2000a-b, 2001; Kurt, 2006; Gençcelep, 2006).

Biyojen aminler, nitrit ile reaksiyona girerek kanserojen etkiye sahip olan nitrozoaminleri meydana getirebileceğinden, sucukta bulunan biyojen aminlerin niceliği oldukça önemlidir. Biyojen aminlerin artmasının engellenmesinin temel yolu, sucuğun mikrobiyal florasının kontrol altında tutulmasıdır (Ergönül, 2009).

Biyojen aminlerin vücuttaki toksik etkileri, vücuda alınan seviyelerine, aminler arası etkileşime, kişinin bagırsak fizyolojisine ve aminoksidazların aktivitelerine bağlıdır. Biyojen aminlerin toksisiteleri için sınır değerler ve vücuda

alındıklarında oluşturdukları etkiler ile ilgili çeşitli araştırmalar mevcuttur. Biyojen aminler, sağlık açısından irdelendiğinde, en çok gıda zehirlenmelerine yol açan ve en toksik olan biyojen aminin histamin olduğu görülmektedir. Spermin, spermidin, tiramin ve triptaminin ise histaminin biyolojik aktivitesini arttırıcı sinerjstik bir etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Kurt, 2006). Tiramin için sınır değer 100-800 ppm olarak belirtilmektedir. 30 ppm feniletilamin alınmasının zehirlenmelere neden olabilecegi, 10-25 ppm triptaminin ise, şiddetli bas ağrısına yol açtığı bildirilmektedir. Histamin için toksik değerler ise, sırasıyla hafif (8-40 ppm) orta (40-100 ppm) ve siddetli (>100 ppm) zehirlenmeler yapabilecegi belirtilmistir. 100 ppm üzerindeki tiramin miktarının da migrene neden olabilecegi belirtilmistir (Kurt, 2006; Komprda ve ark., 2004; Ergönül, 2009; Gençcelep, 2006). Diğer aminler, spermin ve spermidin ise gıda alerjilerinin oluşması ile iliskilidir. Triptamin, kan basıncını artırmaktadır. Feniletilamin ise sempatik sinir sisteminden noradrenalinin serbest kalmasına, kan basıncının artmasına ve migrene neden olmaktadır. Putresin ve kadaverinin insanlarda toksik olduğu düşünülmemesine rağmen histamin ve tiraminin etkisini arttırabilirler (Gençcelep 2006).

Putresin, spermin ve spermidin için oral toksisite düzeyleri sirasiyla 2000, 600 ve 600 ppm olarak belirlenmistir. Tiramin ve kadaverin için akut toksisite düzeyi 2000 ppm'in üzerindedir. NOAEL degeri tiramin, putresin ve kadaverin için 2000 ppm; spermidin için 1000 ppm ve spermin için 200 ppm'dir. Tiramin, tek başına ve yüksek konsantrasyonlarda, peynir reaksiyonu olarak bilinen intoksikasyona neden olmaktadır. Bu da, histamin zehirlenmesine benzer semptomlar göstermektedir. Gıdalarda biyojen aminlerle ilgili düzenlemelere bakıldıgında, histamin için sınır değeri olarak 100 ppm belirtilmiştir (Özdestan ve Üren, 2012).

Gıdalardaki varlığı açısından öneme sahip olan biyojen aminler sırasıyla; histamin, tiramin, triptamin, serotonin, putressin, kadaverin, oktopamin, dopamin, agmatin, spermin, spermidin, diaminobutan ve feniletilamindir. Histaminin bir yandan, gıdalardaki yıkım olaylarının indikatörü olarak, diğer yandan da gıda zehirlenmelerinden sorumlu bir madde olarak önemi vardır. Bu biyojen amin, gıdalardaki histidin dekarboksilaz enzimine sahip mikroorganizmaların serbest

histidini histamine çevirmesi sonucunda oluşmaktadır (Karahan, 2003; Alper ve Temiz, 2001).

Tiramin, kan basıncını artırdığı bilinen bir biyojen amindir. Fermente veya olgunlaştırılmış gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Monoamin oksidaz inhibitörleri alan insanlarda peynir, dumanlanmış veya salamura et ve balık, şarap, bira, turşu ve maya ekstraktlarının tüketilmesine bağlı ciddi tiramin zehirlenmesi ve hatta ölümler görüldüğü bildirilmektedir.

Putresin, kadaverin, spermin ve spermidin gibi biyojen aminlerin nükleik asitlerin regülasyonu ve protein sentezi ve bir olasılıkla da membranların stabilizasyonunda önemli olduğuna değinilmektedir. Tiramin, histamin ve feniletilamin gibi bazı aminler, vasoaktif özelliklere sahiptir ve bunlar histamin zehirlenmesi ve migrene neden olmaktadırlar. Putresinin temel kaynakları meyve, peynir ve yeşil olmayan sebzelerdir. Etlerin, spermin yönünden en zengin kaynak olduğu ortaya konmuştur (Alper ve Temiz, 2001).

Et ve et ürünlerinin, önemli miktarlarda biyojen amin içerebildiği belirtilmektedir. Taze etlerde, yaygın olarak büyük miktarlarda spermin ve spermidine rastlanmaktadır. Buna karşılık, et bozulmalarından sorumlu maddeler olarak tiramin, kadaverin, putresin ve histamin gibi biyojen aminlerin de sıklıkla adı geçmektedir. Bu biyojen aminlerin bazı pişirilmiş et ürünlerinde yüksek miktarlarda olduğu saptanmış ve bu durum hijyenik kalitesi düşük et kullanımının bir sonucu olarak değerlendirilmiştir (Alper ve Temiz, 2001). Et ürünlerinin üretimi ve depolanması sırasında, biyojen amin oluşumunu etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Et ürünlerinin üretiminde, doğal mikrobiyel flora, biyojen amin oluşumunda önemli rol oynadığından, hammaddenin kalitesi en önemli özelliklerden biridir. Fermantasyon sırasında, mikrobiyel gruplar çeşitli ürünler oluşturmaktadır. Bu nedenle, biyojen amin içeriğindeki çeşitlilik mikrofloradaki çeşitlilikten kaynaklanır. *Proteus morganii, P. vulgaris, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas, Lactobacillus, Achromobacter, Salmonella, Shigella, Clostridium, Escherichia* ve *Vibrio* grubu bakteriler, amino asitleri aminlere dekarboksile etmektedir. Hijyenik , hammaddenin kullanımına ilave olarak, uygun starter kültürlerin kullanılması, biyojen amin oluşumunu engellemek açısından etkili olabilmektedir. Fermente et

ürünleri, son ürün kalitesini geliştirmek ve stabilize etmek amacıyla çoğunlukla starter kültür ilavesi ile üretilmektedir (Karahan, 2003).

Sucukta aminoasitlerin parçalanması sonucu, putresin, kadavarin, spermin, spermidin, histamin, triptamin, tiramin ve beta feniletilamin gibi biyojen aminler oluşmaktadır. Sucuklar üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada; izole edilen *E. faecalis* suşlarının tümünün, tiramin üretme yeteneğinde olduğunu, bazı koliform bakteriler ile bu grupla ilgili diğer bazı bakteri izolatlarının (*Serratia liquefacieus, K.oxytoca, Enterobacter agglomerans ve H.alvei*) ise tiramin, putressin ve kadaverin ürettiğini belirtmişlerdir. Sözü edilen araştırmada, laktik asit bakteri izolatlarının hiçbirisinin histamin ve tiramin üretemediği bildirilmektedir. Sucuklardaki pH düşüşlerinin bakteri gelişimini ve biyojen amin üretimini azalttığı belirlenmiştir. Bütün bunlara karşılık, fermente sucuklardaki histamin oluşumunun büyük çoğunlukla, olgunlaşmanın ilk 2-4 haftalarında gerçekleştiği ve oluşumun büyük ölçüde laktik asit bakteri sayısıyla ilişkili olduğuna değinilmiştir (Alper ve Temiz, 2001).

Sucukların olgunlaşma prosesindeki en önemli laktik asit bakterilerinden olan *Lactobacillus sake* ve *Lactobacillus curvatus*, doğal fermentasyon uygulanan sucuklardan, yaygın olarak izole edilebilmektedir. Bu bakterilerden, ayrıca sucuk üretiminde starter kültür olarak da yararlanılmaktadır. Ancak, fermente sucuklardan izole edilen bazı *L. curvatus* suşlarının histamin ve tiramin oluşturduğu belirlenmiştir (Alper ve Temiz, 2001). Laktik asit bakterilerinin, et ürünlerinde amin oluşumundan sorumlu olduğu belirtilmekle birlikte, yapılan bir çok çalışmada fermantasyon sırasında biyojen amin oluşumu, starter kültür olarak laktik asit bakterilerinin kullanılmasıyla engellenebildiği bildirilmiştir (Bover-Cid ve ark., 2001; Parente ve ark., 2001; Ansorena ve ark., 2001; Gençcelep, 2006). Fermente sosislerde *L. sakei*'nin biyojen amin oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (Komprda ve ark., 2001; Gonzalez-Fernandez ve ark, 2003; Ammor ve Mayo, 2007; Moratalla ve ark., 2010).

2.3.3.1. Sucuk ve Fermente sosislerde biyojen amin aranması ile ilgili yapılan bazı araştırmalar

Ayhan ve ark. (1999), araştırdıkları sucuk öneklerinin hiçbirinde histamin bulunmadığını, var olan en önemli biyojen aminlerin ise, putresin (ortalama 400 mg/kg) ve tiramin (ortalama 250 mg/kg) olduğunu ortaya koymuşlardır.

Şenöz ve ark. (2000), histamin, triptamin ve tiramin seviyelerini belirledikleri çalısmalarında, 20 adet sucuk örneğinin tamamında, histamin ve tiramin bulunduğunu ve histaminin 6.72-362.22 ppm arasında, tiraminin ise 208.66-1173.28 ppm arasında olduğunu belirlemişlerdir. Triptaminin ise, 20 örnekten 15'inde 25.01-619.11 ppm arasında bulunduğunu tespit etmişlerdir. Yine aynı örneklerde, biyojen aminlerle starter kültür ilişkisini tespit etmek için yaptıkları analizlerde, starter kültür ilave edilmeden üretilen 8 örnekte histaminin 9.1-118.0 ppm, tiraminin 400-617 ppm ve triptaminin 25.0-619 ppm düzeyinde bulunduğunu belirlemişlerdir. Starter kültür kullanılan ürünlerde ise histaminin 6.72-362.0 ppm, tiraminin 125- 1173 ppm, triptaminin ise 0.0-46.8 ppm arasında değistiğini bulmuşlardır.

Gonzalez-Fernandez ve ark. (2003), fermente sosis hamuruna %0.5-1 düzeyinde glikoz ilavesinin pH'yı hızlı şekilde düşürüp biyojen amin oluşumunu azalttığını bildirmiştir.

Erkkila (2001b), probiyotik kültürlerden *L. rhamnosus*'un, fermente sosis üretiminde kullanımının, biyojen amin oluşumunu önlediğini bildirmişlerdir.

Komprda ve ark., (2004), fermente sosislerin oda sıcaklığında saklanmasının, biyojen amin oluşumunu önemli düzeyde arttırdığını saptamış ve bu sebepten fermente sosislerin oda sıcaklığında saklanmaması gerektiğini tavsiye etmişlerdir.

Gençcelep ve ark. (2007), sucuk üretiminde kullanılan starter kültür çeşidi ile kullanılan nitrit miktarının, biyojen amin oluşumu açısından oldukça önemli olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, sucuklara starter kültür ile birlikte, 75 ppm nitrit ilavesinin, putresin, tiramin ve kadaverin gibi biyojen aminlerin oluşumunu önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir.

Bozkurt ve Erkmen (2007), inceledikleri sucuk örneklerindeki tiramin miktarının, 56.8-419 ppm aralığında olduğunu saptamışlardır.

Capillas ve ark. (2007), fermente kuru sosislerde, yüksek basınç uygulamasının bazı biyojen aminlerin miktarını azaltmada etkili olduğunu saptamışlardır. Yüksek basınç uygulaması ile putresin, tiramin ve kadaverin gibi biyojen aminlerin miktarında azalış gözlenirken, spermidinde artış olduğu gözlenmiştir.

Gençcelep ve ark., (2008), çeşitli marketlerden topladıkları sucuklardaki biyojen amin miktarlarını tespit etmişlerdir. Çalışmaları sonucunda, saptanan en önemli biyojen aminlerin tiramin (2.6-676 ppm) ve putresin (0-363 ppm) olduğunu belirtmişlerdir. Ayırca, bazı sucuk örneklerinde 50-100 ppm histamin ve 1.2-82.3 triptamin belirlemişlerdir.

Kurt ve Zorba (2009), sucuklarda olgunlaşma süresi, ısıl işlem ve nitrit miktarının biyojen amin oluşumuna etkisini incelemişlerdir. Sonuçta, olgunlaşma sürecinin biyojen amin miktarını arttırdığı, özellikle de putresin ve kadeverin gibi biyojen aminlerin miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Nitrit miktarı ise kadaverin ve tiramin miktarını düşürmede etkili olduğu, buna karşın, ısıl işlemin biyojen amin miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Gücükoğlu ve Küpülü (2010), sucuk üretiminde stater kültür (Starter A:*L. sake, S. xylosus*, veya Starter B: *L. plantarum, S. carnosus*, veya Starter C: *L. curvatus, S. carnosus, S. xylosus*) kullanımının, biyojen amin oluşumu üzerindeki etkisini incelemeşlerdir. Çalışma sonucunda, starter kültür ilave etmeden üretilen sucuklardaki biyojen amin miktarının daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Lu ve ark. (2010), fermente sosis üretiminde starter kültürlerin (A grubu: *Pediococcus pentosaceus* + *Staphylococcus xylosus*; B grubu: *Lactobacillus farciminis* + *Staphylococcus saprophyticus*) biyojen amin oluşumu üzerinde etkili olduğunu saptamışlardır. B grubu starterlerin kullanıldığı sucuklarda histamin, putresin, kadaverin ve tiramin düzeylerinin, A grubundakilerden daha düşük olduğu saptanmıştır.

Moratalla ve ark. (2010), Avrupa'daki çeşitli marketlerden topladıkları fermente sosislerdeki, biyojen amin miktarını inceledikleri çalışmada, topladıkları örneklerde 5.25-473 ppm tiramin, 0.43-448.85 ppm putresin, 0.55-610.96 ppm

kadaverin, 0.01-133.39 ppm histamin, 0.01-53.98 ppm fenil etil amin, 0.01-48.21 ppm triptamin tespit etmişlerdir.

Ergönül ve Kundakçı (2011), probiyotik kültür kullanarak ürettikleri sucuklarda, depolama sürecinde biyojen amin miktarının arttığını ve farklı kültürlerin biyojen amin üretimi üzerinde farklı etkilerinin olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada kullanılan *L. casei*, *L. acidophilus* ve ikisinin karışımı ile üretilen sucuklardan, *L. casei* içeren sucukların putresin, histamin, kadaverin ve tiramin miktarları daha düşük bulunmuştur.

Tosukhowong ve ark. (2011), fermente sosis üretiminde, ticari starter kültür *L. plantarum*'un kullanımının, biyojen amin üretimini azalttığını bildirmişlerdir.

2.3.4. Sucuk ve fermente sosislerin tekstür özellikleri

Tekstür, gıdanın görünüm, dokunma duyusu (kinestetik ve ağız hissi) ve sesle algılanabilen fiziksel özelliklerinin toplamı olarak tanımlanır. Gıdalarda tekstür, gıdanın kalitesi ile ilgili olup, direk muşteri beğenilirliğinde etkili olan onemli bir parametredir. Tekstürel karakterler, gıdanın su ve yağ içeriği ile yakından ilişkilidir. Gıdaların tekstürel özellikleri, ürün tipi ve depo şartlarına bağlı olarak çeşitli ve değişkendir (Ünlüsayın ve Erdilal, 2008; Kurt 2012).

Gıdaların tekstürel özellikleri, birbirinden farklılık gösterdiği için tekstürel değerlendirmelerde, her gıda için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Etin tekstürü değerlendirilirken, etin sertliği ve sululuğu önem taşımaktadır. Etin tekstürü, özellikle yumuşaklık ve sululuğu onun müşteriler tarafından kabul edilebilirliğini belirlemektedir. Etlerde yumuşaklık ve sertlik özelliği, etteki yağ oranı ile ilişkilidir. Dolayısıyla, kasın içindeki yağın dağılımı da etin tekstürünü etkilemektedir. Örneğin, sosisin yağ içeriğinin artması ile sertlik, elastikiyet ve çiğnenebilirlik özelliklerinin azaldığı, yumuşaklık özelliğininse arttığı belirtilmektedir (Bozkurt ve Bayram, 2006; Kurt, 2012)

Tekstürel özellikler, et içeriğinde bulunan yağ, tuz ve pH değerleriyle bağlantılıdır. Sucuğun olgunlaşma sırasındaki kıvamı sürekli bir artış göstermekte, pH'nın 5.4'un altına düşmesi ile ürünün kıvamı, tekstürü önemli ölçüde

oluşmaktadır. Kıvamdaki artış ve tekstür oluşumu, su kaybına ve proteinlerin jel noktasına erişmesine bağlıdır. Proteinler, jel haline geçmekte ürün kuruyarak tekstür oluşmaktadır. Üründe yağ oranının fazla olması ise olgunlaşma sırasında az bir pH düşüşü göstermekte, arzu edilen tekstür oluşamamaktadır (Gökalp ve ark., 2004).

Gıdaların tekstürünü belirlemede, en yaygın kullanılan yöntem tekstür profil analizidir (TPA). TPA'inde ürüne uygulanan basınç süresince, çeşitli değerler okunmaktadır. Bu değerler; kırılganlık (fracturabilty), sertlik (hardness), elastiklik (springiness), sakızımsılık (gumminess), iç yapışkanlık (cohesiveness), dış yapışkanlık (adhesiveness) ve çiğnenebilirliktir (chewiness) (Toptancı, 2007; Herrero ve ark., 2007).

Sertlik, besin maddesinin uygulanan herhangi bir etkiye karşı koyma gücüdür. Başka bir ifadeyle katı besin partiküllerin molar (öğütücü) dişler arasında ve yarı katı besinlerin damak ve dil arasındaki basınca karşı koyması için gerekli güçtür. Elastikiyet, besin maddesinde herhangi bir etkiden sonra oluşan şekil bozukluğunun etki kaldırıldığında kaybolmasıdır. Çiğnenebilirlik, besinin yutmaya hazır duruma gelmesine kadar harcanan enerji, çiğneme süresi ve çiğneme sayısı ile ilgili bir özelliktir (Ertaş ve Doğruer, 2010).

2.3.4.1. Sucuk ve fermente sosislerin tekstür özellikleri ile ilgili yapılan bazı çalışmalar

Gimeno ve ark. (2001), fermente sosislerin tekstürel özellikleri üzerinde, tuz konsantrasyonun da etkili olduğunu ve tuz konsantrasyonu arttıkça sertliğin arttığını bildirmişlerdir.

Bozkurt ve Bayram (2006), depolama süresinin, sucuklarda yapışkanlık (adhesiveness) değerini önemli ölçüde düşürdüğünü tespit etmiş ve bunu da sucuğun kolayca dilimlenmesi ve dilimleme sırasında, sucuğun bıçağa yapışmaması olarak, ifade etmiştir. Yüksek kalitede üretilen sucuklarda, nem miktarının azalmasına paralel olarak yapışkanlık değeri de düşmektedir.

Herrero ve ark. (2007), fermente sosislerin tekstürel özellikleri üzerine pH, su aktivitesi, kuru madde ve yağ içeriğinin oldukça önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Rubio ve ark., (2007), fermente sosislerde mono ve poli doymamış yağ asitleri ile depolama süresinin ürün özellikleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, depolama süresi arttıkça sertlik, çiğnenebilirlik, eleastikiyet ve iç yapışkanlık gibi tekstürel özelliklerinin arttığını saptamışlardır. Doymamış yağ asidi ilavesinin ise sertlik ve çiğnenebilirlik değerlerini düşürüp daha yumuşak bir fermente sosis oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir.

Toptancı (2007), sucuk üretiminde ısıl işlem uygulamasının, sucukların sertlik, sakızımsılık ve çiğnenebilirlik gibi tekstürel özelliklerinin artmasına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Ilıkan ve ark. (2009), sucuk üretiminde sucuk hamuruna fındık yağı ilavesinin, tekstürel özellikler üzerindeki etksini incelemiş ve çalışma sonucunda yapılan bu işlemin tekstür özelliklerini etkilediğini bulmuşlardır. Fındık yağı ilavesi yapılmış sucuklar, kontrol örneğine göre daha yüksek sertlik, sakızımsılık, çiğnenebilirlik, elastikiyet ve dış yapışkanlık değerlerine sahip olmuştur.

Casquete ve ark. (2011), geleneksel “iberian” fermente sosisinde kullanılan starter kültürlerin, ürünün tekstürel özellikleri üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Kullandıkları starter kültürler (*P. acidilactici* (MS200) ve *S. vitulus* (RS34) , protein hidrolizi ile birlikte sertlik değerinde düşüşe neden oduğunu bulmuşlardır.

Kurt (2012), kuru incir kullanarak ürettikleri sucukta sertlik değerinin 30 N, iç yapışkanlık değerinin 18-30 N ve sakızımsılık değerinin 56-71 N civarında olduğunu ve bu değerlerin literatürdekilerden oldukça farklı olmasının kuru incir ilavesinden kaynaklandığını bildirmiştir.

Menegas ve ark. (2013), mısır yağı ve inülin ile üretilen fermente sosislerde tekstürel özellikleri değerlendirmişler. Ürünlerin bileşimlerindeki farklılıkların, farklı protein/su/yağ oranına neden olup tekstürel özellikleri etkileyeceğini bildirmişlerdir. Yağ içeriğinin azaltılması sertlik ve çiğnenebilirliğin artışı olarak ifade edilmiştir. İnülin ilavesi daha iyi bir çiğnenebilirlik ve sertliğe neden olmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Mikroorganizma kültürleri

Sucuk üretimi sırasında kullanılan *L. plantarum*, Blessing-Biotech GmbH-Stuttgart/Almanya'dan, *L. rhamnosus* ise, Danisco USA INC.'den temin edilmişir.

3.2. Kaplama materyalleri ve prebiyotik katkılar

Mikroenkapsülasyon materyali olarak, sodyum aljinat (Merck KGaA-Germany), gellan gam (Merck), jelatin (Merck KGaA-Germany) gibi kaplama materyalleri ile peptit (Merck KGaA-Germany) ve fruktooligosakkarit (FOS) gibi prebiyotik katkılar kullanılmıştır.

3. 3. Sucuk üretiminde kullanılan hammaddeler

Sucuk üretiminde kullanılan sığır eti ve koyun kuyruk yağı, Et Balık Kurumu Adana Et Kombinasından, çeşitli baharatlar, nitrit ve dolumda kullanılan kılıf ise, Adana'da faaliyet gösteren bir et ürünleri firmasından temin edilmiştir.

3.4. Araştırma planı

Araştırma, üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Sucuk üretimi, üç tekerrürlü olarak yapılmış ve tüm analizler iki paralelli olarak yürütülmüştür.

1. Aşama: Probiyotik kültürlerin ekstrüzyon tekniği ile mikroenkapsülasyonu,
2. Aşama: Sucuk üretiminde kullanılacak probiyotik için ideal kaplama materyali kombinasyonunun cevap yüzey tekniği ile seçimi ve
3. Aşama: Probiyotik sucuk üretimi.

3.4.1. *L. rhamnosus*'un ekstrüzyon tekniği ile mikroenkapsülasyonu

Kullanılan kaplama materyallerinin ve prebiyotik katkıların belli oranlardaki (Çizelge 3.1.) çözeltileri, destile su kullanılarak hazırlanmıştır. Mikroenkapsülasyon işlemi sırasında, jelatin çözeltisi hariç olmak üzere, tüm çözeltiler ve malzemeler 121 °C'de 15 dakika süreyle sterilize edildikten sonra kullanılmıştır. Jelatin çözeltisi ise, 140 °C'de 5 saniye süreyle sterilize edilmiştir (Chen ve ark., 2006, Krasaekoopt ve ark., 2006, Chen ve ark., 2007). 10^{10} kob/mL düzeyinde probiyotik kültürü içeren süspansiyon (%0.1 pepton ve 0.1mM gliserol) steril kaplama materyali çözeltisine, 10^{9} kob/g düzeyinde mikrokapsüller elde edilebilmesi için 1/5 oranında ilave edilmiştir. Elde edilen karışım, 11 mm'lik iğnesi olan steril şırınga ile 0.05 M'lık steril $CaCl_2$ (Merck) çözeltisi içerisine enjekte edilmiştir. Oluşan kapsüller, yeterli sertliği kazanmaları amacıyla, 30 dakika süre ile çözelti içerisinde bekletilmiş, sonra "whatman≠ 4" filtre kağıdı ile süzülmüş ve %0.1'lik steril peptonlu su içinde 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Sonuç olarak, analizlerde ve sucuk üretiminde kullanılan mikrokapsüller, "whatman≠ 4 filtre kağıdı" ile süzüldükten sonra herhangi bir kurutma işlemine tabi tutulmadan doğrudan kullanılmıştır (Chen ve ark., 2007). Çalışmamızda gerçekleştirilen mikronkapsülasyon işlemi ve elde edilen mikrokapsüller Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. *L. rhamnosus*'un mikroenkapsülasyonu

3.4.2. İdeal kaplama materyali kombinasyonunun seçimi

Sucuk üretiminde, probiyotiklerin mikroenkapsüle edilmesinde kullanılan kaplama materyalleri, bir deneysel tasarım yöntemi olan cevap yüzey (response surface) tekniğine göre tasarlanmıştır. Bu yöntemdeki ilk adım, bağımlı değişken üzerinde etkisi olduğu düşünülen bağımsız değişkenler ve bunların düzeyini belirlemektir. Sodyum aljinat (%0.5-2), Gellan gam (%0-1), Jelatin (%0-1), Peptit (%0-1) ve FOS (%0-2) olmak üzere beş bağımsız değişken seçildiğinde 25 tam faktöriyel yöntemi uygulanmış ve değişkenler arasındaki ilişkiyi gösteren regrasyon denklemi belirlenmiştir. Deneysel tasarımın kurulması ve değerlendirilmesinde, Design Expert 6.02 paket programı kullanılmıştır. Optimizasyon işlemi, Design Expert yazılımının numerik optimizasyon yöntemi ile yapılmıştır. Bu yöntem, arzu edilebilirlik fonksiyonu esasına dayanmaktadır (Myers ve Montgomery, 2002). Cevap yüzey tekniğinde yapay mide koşullarına dayanım ve safra tuzuna dayanım

yönünden alınan cevaplara göre, en yüksek canlılığı veren kaplama materyali kombinasyonu sucuk üretiminde kullanılmıştır. Böylece, probiyotiklerin canlılığını korumak yönünden en ideal kaplama materyali seçimi yapılmış ve deneme planında yer alan probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda bu kaplama materyali kombinasyonu kullanılmıştır. Çizelge 3.1'de Design Expert yazılımında belirlenmiş olan kaplama materyalleri kombinasyonları gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Kaplama Materyali Kombinasyonları

Kombinasyon	Sodyum aljinat (%)	Gellan Gum (%)	Jelatin (%)	Peptit (%)	FOS (%)
1	2.00	1.00	0.00	1.00	0.00
2	2.00	0.00	0.00	1.00	2.00
3	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.50	0.00	1.00	1.00	2.00
5	0.50	1.00	1.00	0.00	2.00
6	1.25	0.50	0.50	0.50	1.00
7	1.25	0.50	0.50	0.50	2.00
8	0.50	1.00	0.00	1.00	2.00
9	1.25	0.50	0.50	1.00	1.00
10	1.25	1.00	0.50	0.50	1.00
11	2.00	1.00	1.00	0.00	0.00
12	1.25	0.50	0.00	0.50	1.00
13	1.25	0.50	0.50	0.50	1.00
14	2.00	0.00	1.00	1.00	0.00
15	1.25	0.50	0.50	0.00	1.00
16	0.50	1.00	1.00	1.00	0.00
17	1.25	0.00	0.50	0.50	1.00
18	1.25	0.50	0.50	0.50	0.00
19	2.00	0.00	1.00	0.00	2.00
20	1.25	0.50	1.00	0.50	1.00
21	2.00	1.00	0.00	0.00	2.00
22	0.50	0.50	0.50	0.50	1.00
23	2.00	0.50	0.50	0.50	1.00
24	1.25	0.50	0.50	0.50	1.00
25	1.25	0.50	0.50	0.50	1.00
26	1.25	0.50	0.50	0.50	1.00

3.4.3. Probiyotik sucuk üretimi

Sucuk üretimi, Gökalp (1982), Öztan (2008), Kaban (2007) ve Muthukumarasamy ve Holley (2006)'de verilen yöntemlerin kendi denememize uyarlanması ile üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Sucuk hamuru, %80 yağsız sığır eti ve %20 sığır et yağı kullanılarak hazırlanmıştır. Her 1 kg et–yağ karışımı için, 25 g tuz, 10 g sarımsak, 4 g sakkaroz, 7 g kırmızı biber, 5 g karabiber, 9 g kimyon ve 2.5 g yenibahar, 150 ppm sodyum nitrit ($NaNO_2$) kullanılmıştır.

Sucuk üretiminde kullanılan her bir suş (starter ve probiyotik), sucuk hamurunda 10^7 kob/g seviyesinde olacak şekilde inoküle edilmiştir. Denemelerde, serbest *L. plantarum* içeren sucuk üretimi (A), serbest *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* içeren sucuk üretimi (B), ME *L. rhamnosus* ve serbest *L. plantarum* içeren sucuk üretimi (C) olmak üzere üç farklı üretim yapılmıştır. Çizelge 3.2'de deneme planı ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

Çizelge 3.2. Probiyotik Sucuk Üretimi Deneme Planı

Deneme Grupları	1kg sucuk hamuruna ilave edilen probiyotik kültür ve starter kültürler		
	L. plantarum (10^9 kob/mL)	*L. rhamnosus* (10^9 kob/mL)	ME* *L. rhamnosus* (10^9 kob/g)
A (Kontrol)	x		
B	x	x	
C	x		x

* ME: Mikroenkapsüle

Sucuk üretiminde kullanılan et ve yağ, öncelikle kuşbaşı büyüklüğünde parçalanmıştır. Kuşbaşı büyüklüğünde parçalanan sığır eti, kıyma makinasındaki 12 mm'lik aynadan, yağ ise, 13 mm'lik aynadan çekildikten sonra, starter kültür ve/veya probiyotik kültür, baharat ve katkı maddeleri ilave edilerek iyice karıştırılmış ve ardından 4 °C'de 12 saat ön olgunlaştırma işlemine tabi tutulmuştur. Olgunlaştırma işleminden sonra, her bir gruba ait sucuk hamuru, suni bağırsaklara (38 mm, Naturin Darm) 200±10 g civarında, kollu sucuk dolum makinası ile doldurulup bağlanmıştır. Hazırlanan sucuklar, kondensasyonu önlemek için, 4 saatlik dengeleme işlemine tabii tutulduktan sonra, sıcaklığı ve bağıl nemi otomatik olarak ayarlanabilen

fermentasyon kabinine alınmıştır. Sucukların olgunlaştırılması sırasında sıcaklık 24-260 °C'de hava akış hızı 1-1,5 m/sn'de tutulmuş ve bağıl nem 1-2. gün %95, 3-4. gün %90, 5-6. gün %85 ve 7-10.gün %75-80 olarak ayarlanmıştır (Kaban, 2007). Üretim, Ç.Ü.Z.F. Gıda Mühendisliği Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir. Üretimi tamamlanmış olan sucuklar, 10-15°C'de 6 ay boyunca depolanmıştır.



Şekil 3.2. Sucuk üretimi ve ambalajlanması

3.4.4. Mikroenkapsüle kültürlere ait bazı özelliklerin belirlenmesi

Cevap yüzey tekniği ile ideal kaplama materyalinin seçimini gerçekleştirmek için, farklı kombinasyonlarda ME kültürlere, safra tuzuna karşı dayanım ve yapay mide koşullarına karşı dayanımla ilgili analizler 2 paralelli yapılarak, canlı hücre sayıları belirlenmiştir. Daha sonra, en ideal olduğu belirlenen kaplama materyali ile kaplanmış probiyotik kültürlerin, depolama dayanımına yönelik olarak, belli sürelerde yine canlı kalma oranları saptanmıştır.

3.4.4.1 Probiyotik kültür içeren mikroenkapsüllerdeki canlı hücre sayısının belirlenmesi

Mikrokapsüle edilmiş probiyotik kültürden 1 g ("whatman≠4 filtre kağıdı" ile süzüldükten sonraki yaş kapsül ağırlığı), 9 ml fosfat tamponunda (0.1 M, pH 7) stomacher kullanılarak 15 dakika homojenize edilmek suretiyle süspansiye edilmiştir. Gerekli seyreltmeler (% 0.1 peptonlu su ile) yapıldıktan sonra, MRS besiyerine ekilip inkübasyona bırakılmıştır. *L. rhamnosus* için, 43 °C'de 72 saat anaerobik inkübasyon, *L. plantarum* için 37 °C'de 48 saat anaerobik inkübasyon uygulanmıştır (Chen ve ark., 2007).

3.4.4.2 Safra tuzuna dayanım

% 2 safra tuzu (ox gall powder-Merck KGaA-Germany) içeren steril MRS (de Man, Rogosa ve Sharpe-Merck KGaA-Germany) sıvı besiyerine, 1 g mikrokapsüle edilmiş bakteri (10^9 kob/g), ilave edilmiş ve 37 °C'de 2 saat 100 rpm'de karıştırmalı çalkalayıcıda tutulmuştur. Bakteri süspansiyonundan, yayma ekim yöntemi ile MRS agar besiyerine ekim yapılarak, 37 °Cde, anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonraki sayım işlemleri, 3.4.4.1'de anlatıldığı gibi yapılmıştır (Chen ve ark., 2007; Eren, 2009).

3.4.4.3. Yapay mide koşullarına dayanım

% 0.3 pepsin ve % 0.5 NaCl (Sigma Aldrich GmbH-USA) içeren 10 mL yapay gastrik çözeltiye (1N HCl ile pH 2'ye ayarlanmıştır) (Sigma Aldrich GmbH-USA) 1 g mikrokapsüle edilmiş bakteri (10^9 kob/g), ilave edilmiş ve 37 ^oC'de 2 saat 100 rpm'de karıştırmalı çalkalayıcıda tutulmuştur. Bakteri süspansiyonundan, MRS agar besiyerine yayma ekim yapılarak 37 °C'de, anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonraki sayım işlemleri, 3.4.4.1'de anlatıldığı gibi yapılmıştır (Chen ve ark., 2007; Eren 2009).

3.4.4.4. Depolama dayanımları

Uygun kaplama materyali ile kaplanmış probiyotik kültür, sucuğa ilave edildikten sonra, 6 ay boyunca 2'şer ay aralıklarla üründeki canlılık oranları takip edilmiştir. Diğer yandan, mikrokapsüle kültürün saf olarak dayanımı ile ilgili genel bir bilgi alınması açısından, uygun kaplama materyali ile kaplanmış probiyotik kültürün canlılığı, 2'şer ay aralıklarla 6 ay boyunca 3.4.4.1.'de belirtilen yönteme göre tespit edilmiştir. Bu şekilde, hem üründe hem de saf olarak bu kültürün canlılığı tespit edilmiştir. 1 g mikroenkapsüle edilmiş probiyotik kültür (10^9 kob/g), 4°C'de 6 ay boyunca steril suda bekletilmiş ve ayda bir 1 g örnek alınarak sayım yapılmıştır. Depolama dayanımlarında her bir probiyotik kültür için 1. ay, 2. ay, 3. ay, 4. ay, 5. ay ve 6. ay olmak üzere 6 kez sayım yapılmıştır. 1, 2, 3, 4, 5 ve 6. ay sayımları için, içinde belli miktarda steril su olan 6 farklı kavanoza 1'er g mikrokapsül ilave edilerek bekletilmiş ve her kavanozdaki probiyotik kültürün zamanı dolduğunda sayımı yapılmıştır. Canlı hücre sayısı, 3.4.4.1'e göre belirlenmiştir (Chen ve ark., 2007).

3.4.5. Probiyotik sucuk örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler

Sucuk örneklerinde, mikrobiyolojik analiz olarak ürüne ilave edilen laktik asit bakterilerinin sayımlarının yanı sıra, toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı, maya-küf sayımı, *Staphylococcus* spp. sayımları 2 paralelli olarak yapılmıştır.

Projede, mikrobiyolojik analizlerde, 25 g sucuk örneği 225 ml steril dilüsyon sıvısı içerisine alınıp, seyreltme işlemi yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler fermentasyondan sonra, 2. ay, 4. ay ve 6. ay'lık depolama periyodu sonunda olmak üzere 5 farklı aşamada ve 2 parelelli olarak yapılmıştır.

3.4.5.1. Laktik asit bakterileri sayımı

Sucuk örneklerinde, toplam laktik asit bakteri sayımı için MRS Agar besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan, MRS Agar plaklarına yüzeye yayma

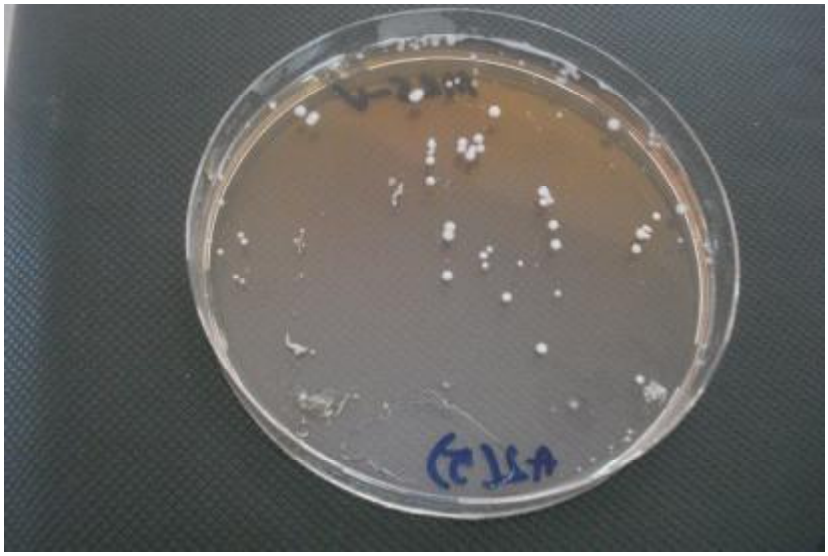
yöntemiyle ekim yapılmıştır. 30 °C'de 2 günlük anaerobik inkübasyondan sonra, katalaz (-) koloniler dikkate alınarak, toplam laktik asit bakteri sayımı yapılmıştır (Harrigan, 1998).

L. plantarum sayımı için ise, gerekli seyreltmeleri yapılan örneklerden, *L. plantarum* selektif besiyerine (LPSM) (*L. plantarum* selective medium-Merck) yayma ekim yöntemiyle ekilmiş, 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Bujalance ve ark., 2006). İnkübasyon sonunda gelişen sarı renkli koloniler *L. plantarum* olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *L. plantarum*'un selektif besiyerindeki görünümü

L. rhamnosus sayımı için, gerekli seyreltmeleri yapılan örnekler, yayma ekim yöntemiyle, MRS-vankomisin agara (Merck-Germany) ekilmiş ve 43 °C'de anaerobik koşullarda 72 saat inkübasyona bırakılmıştır (Tharmaraj ve Shah, 2003). İnkübasyon sonunda, gelişen beyaz parlak renkli koloniler, *L. rhamnosus* olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. *L. rhamnosus*'un selektif besiyerindeki görünümü

3.4.5.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı

Sucuk örneklerinde, toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA-Merck Germany) besiyeri kullanılmış, petriler 30 ºC'de 48 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda koloni sayımı yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir (Harrigan, 1998).

3.4.5.3. Maya ve küf sayımı

Maya ve küf sayımı için, % 10'luk laktik asit ilave edilen Potato Dextrose Agar (PDA-Merck Germany) kullanılmış, inkübasyon 25 ºC'de 5 gün olarak gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda, küf ve maya kolonilerinin sayımları yapılarak ve değerlendirilmiştir (Harrigan, 1998).

3.4.5.4. *Staphylococcus* spp. sayımı

Staphylococcus spp. sayımı için, potasyum tellurit-yumurta sarısı emülsiyonu ilaveli Baird Parker Agar (Oxoid) besiyerine ekim yapılmıştır. 37 °C'de inkübe edilerek, 30 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda İnkübasyon sonunda tipik

koloniler (0.5-1 mm çaplı siyah) sayılmış ve katalaz testi ve Gram boyama testi ile doğrulanmıştır (Kurt, 2006; Ercoşkun, 2006).

3.4.5.5. Safra tuzuna ve yapay mide koşullarına dayanım

%2 safra tuzu (ox gall powder) içeren steril MRS sıvı besiyerine, 10 g sucuk ilave edilmiş ve 37 °C'de 4 saat 100 rpm'de karıştırmalı çalkalayıcıda tutulmuştur. Yayma ekim yöntemi ile MRS agar besiyerine ekim yapılarak, 37°C'de, anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonraki sayım işlemleri ise, 3.4.4.1'de anlatıldığı gibi yapılmıştır (Chen ve ark., 2007).

%0.3 pepsin ve %0.5 NaCl içeren 10 mL yapay gastrik çözeltiye (1N HCl ile pH 2'ye ayarlanmıştır) 10 g sucuk, ilave edilmişve 37 °C'de 4 saat 100 rpm'de karıştırmalı çalkalayıcıda tutulmuştur. MRS agar besiyerine yayma ekim yapılarak, 37 °C'de, anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonraki sayım işlemleri 3.4.4.1'de anlatıldığı gibi yapılmıştır (Chen ve ark., 2007).

3.4.6. Probiyotik sucuk örneklerinde yapılan fiziksel ve kimyasal analizler

Sucuk örneklerinde, fermentasyonun başlangıcında (0.ay) ve fermantasyondan sonraki depolama sürecinin 2. ay, 4.ay ve 6. ay'ının sonunda pH, nem, ağırlık kaybı, su aktivitesi, tekstür analizi, duyusal analiz, biyojen amin tayini ve aroma maddeleri analizi gibi bazı analizler, iki paralelli olarak yapılmıştır.

3.4.6.1. pH tayini

10 g örnek 90 mL suda parçalarak, homojen hale getirildikten sonra pH ölçümleri yapılmıştır (Anon, 1978).

3.4.6.2. Nem miktarının belirlenmesi

10 g örnek, 105 ºC'de petride değişmez ağırlığa ulaşana kadar bekletilip

tartılmıştır (Anon, 2001).

3.4.6.3. Ağırlık kaybı tayini

Sucuklar, üretildiği günden itibaren, 2 ayrı grupta 2 ayrı sucuk örneği belirlenmiş ve bu sucuklar fermentasyon ve olgunlaştırma sonuna kadar her gün tartılmıştır, Depolama aşamasında ise, seçilen örnekler her analiz döneminde tartılarak, sucuk ağırlık kayıpları gram cinsinden belirlenmiştir (Gençcelep, 2006).

3.4.6.4. Su aktivitesi tayini (Sa)

Örneklerin Sa degeri, Sa cihazı (Novasina, Labmaster) kullanılarak belirlenmiştir. Cihaz öncelikle farklı tuz çözeltileri ile kalibre edilmiştir. Örneklerin bulunduğu özel plastik kapların kapakları açılarak cihazın ölçme kabinine yerleştirilmiş ve Sa değeri belirlenmiştir (Gençcelep, 2006).

3.4.6.5. Biyojen amin tayini

Sucuk örnekleri, biyojen amin analizleri (0.ay, 2. ay, 4. ay ve 6. ay) yapılmılmıştır. Sucuk örnekleri, küçük parçalara ayrıldıktan sonra, -18^0C'de saklanmıştır. Analiz için, 2 g örnek bir tüp içerisine tartılmış ve üzerine 0.1 mL iç standart (1.7 diaminoheptan, 1mg baz/mL) ilave edilmiştir. Homojenizasyon işleminden sonra, 10 mL 0.4 M perklorik asit ile homojenizatör kullanılarak parçalanmıştır. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra, kaba filtre kağıdından, 25 mL balon joje'ye süzülmüştür. Kalıntıya tekrar, 0.4 M perklorik asit ilave edilerek işlem tekrarlanmıştır. Balon 25 mL'ye 0.4 M perklorik asit ile tamamlanmıştır. Örnek türevlendirmesinde ise, 1 mL ekstrakt, 200 μL 2 N NaOH ile alkali hale getirilmiş ve 300 μL doymuş $NaHCO_3$ eklenmiştir. Üzerine, 2 mL dansil klorit ilave edildikten sonra 40 ^{o}C'de 45 dakika bekletilmiş ve üzerine 100 μL (%25'lik) amonyak eklenmiştir. Toplam hacim 5 mL'ye asetonitril ile tamamlandıktan sonra, örnekler 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve 0.45 μm

filtreden süzülmüştür. Standart eğri çizmek amacıyla analiz edilen biyojen amin standartlarından belirli miktarlarda alınmış ve 1 mL'ye perklorik asit ile tamamlanarak, örnek türevlendirmesinde olduğu gibi türevlendirilmiştir. Mobil faz olarak, amonyum asetat (0.1 M) ve asetonitril kullanılmıştır. Mobil faz akıs hızı, 1 mL/dak. olarak ayarlanmış ve ölçümler 254 nm de yapılmıştır. Biyojenik aminlerden putresin, tiramin, histamin, kadaverin, tryptamin, spermidin, spermin ve feniletilamin belirlenmiştir. Sonuçlar, aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Eerola ve ark., 1993; Gençcelep, 2006). Biyojen aminlerin geri alma oranlarında, belirlenen katsayılarla çarpılarak sonuçlar verilmiştir.

Cu=125 x (HU x RFU x CISTD) / (H ISTD x RFISTD x WS)
Cu = mg/kg
HU = Bilinmeyen maddenin pik alanı
RFU = Bilinmeyen maddenin cevap faktörü
CISTD = İç standart konsantrasyonu
H ISTD =İç standardın pik alanı
RFISTD = İç standardın cevap faktörü
WS = Örnek ağırlığı
125 = İ.S. miktarı, (125 µL konsantrasyonu 1 µg/mL)

Kullanılan **Kimyasal Maddeler ve Çözeltileri;**

1. Amin stok solüsyonları: Elde edilen standart solüsyon konsantrasyonları serbest baz/ml (1mg/mL) olarak hesaplanmış ve analiz edilen tüm biyojen aminler için ayrı ayrı stok solüsyonları hazırlanmıştır. Bu amaçla, 25 mg 1,7 Diamino Heptan (İç Standart), 42 mg histamin dihidroklorit, 43 mg kadaverin dihidroklorit, 31 mg triptamin hidroklorit, 33 mg Feniletilamin hidroklorit, 46 mg putresin dihidroklorit, 32 mg tramin hidroklorit, 43 mg spermin tetrahidroklorit ve 44 mg spermidin trihidroklorit 25 mL saf suda çözünerek hazırlanmıştır. Elde edilen bu solüsyonların konsantrasyonu, 1 mg serbest baz/mL olarak hesaplanmıştır.

2. Standart çalışma solüsyonları: Çalışma solüsyonları, stok solüsyonların belli oranda seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. Bu amaçla Stok solüsyonlardan 1 mL alınıp

10 mL'ye tamamlanmış ve böylece 1/10 oranında seyreltilmişve konsantrasyonu 100 μg/ mL olmuştur.

3. Türevlendirme maddesi: Taze hazırlanması gerektiğinden analizden hemen önce 10 mg dansil klorit/1 mL olacak şekilde asetonda çözülmüş ve ışıktan korunarak kahverengi şişede saklanmıştır.

4. Mobil faz

A: Amonyum asetat (0.1M): 7.7 g Amonyum Asetat 1000 mL saf suda çözülmüs ve milipore filtreden (0.45 μm) süzülmüştür.

B: Asetonitril: HPLC saflıkta asetonitril kullanılmıştır.

5. Saf su: Çalışmada kullanılan saf suların tümü destile su olup, milipore filtreden (0,45 μm) süzülerek hazırlanmıştır.

HPLC Cihazı Koşulları:

HPLC (Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi) (Shimadzu LC-20AT, Japonya), Diode Array Dedektör (DAD, SPD-M20A), ve gradient akış kullanılmıştır. Kolon olarak Nukleodur 100-5-C18 (12.5X4 mm) kolon kullanılmıştır.

Kromatografik Ayrım

1. Mobil faz programı

Başlangıç (0.dakika): %50 Mobil Faz B, %50 mobil faz A

25. dakika: %90 Mobil Faz B, %10 Mobil Faz A

30. dakika: %90 Mobil Faz B, %10 Mobil Faz A

35. dakika: %50 Mobil Faz B, %50 mobil faz A

2. Enjeksiyon

Cihazın sabit enjeksiyon Lopu'na (20 μL) olarak tüm standartlar ve örnekler enjekte edilmiştir.

3. Teşhis ve tayin

Teshis ve tayinde spektrum analizi yapabilen bir Diode Array Dedektör (DAD) kullanılmış ve ölçümler 254 nm dalga boyunda yapılmıştır.

3.4.6.6. Aroma maddeleri analizi

3.4.6.6.(1). Aroma maddelerinin ekstraksiyonu

Sucuk örneklerinden, başlangıç (0.ay), 2. ay, 4. ay ve 6. ay'larında, yapılan aroma maddeleri ekstraksiyonunda, Likens-Nickerson buharlı distilasyon-ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır (Şekil 3.5). Bu ekstraksiyon tekniği, et, sosis ve su ürünlerinden aroma maddelerinin ekstraksiyonu amacıyla bir çok araştırmada kullanılmıştır (Ansorena ve ark., 1998; 2001).

Aroma ekstraksiyonu için, 25 g sucuk örneği ufak parçalar halinde dilimlenmiş ve daha sonra, 100 mL saf su ve 25 mL % 30'luk NaCl Şekil 1'de görüldüğü gibi 1000 mL'lik damıtma balonu içerisine alınmış ve diğer 500 ml'lik damıtma balonuna ise, 60 mL çözgen ve iç standart olarak 5 µL 4-nonanol ilave edilmiştir. Her iki balon, ısıtıcıya yerleştirilmiş ve daha sonra yaklaşık 4 saat süren ekstraksiyon işlemi başlatılmıştır. Bu işlem sonucu, aroma maddelerini içeren çözgen fazı alınarak "Vigreux" damıtma kolonunda 45 °C' de 1 mL kalıncaya kadar konsantre edilmiştir. Konsantre halde elde edilen sıvı, doğrudan GC-FID ve GC-MS-O sistemlerine enjekte edilerek, aroma maddeleri ve aroma aktif bileşikler belirlenmiştir. Ekstraksiyonlar üç tekerrürlü yapılmıştır.



Şekil 3.5. Likens-Nickerson buharlı distilasyon-ekstraksiyon düzeneği

3.4.6.6.(2). GC-FID, GC-MS ve GC-O koşulları

Aroma maddelerinin miktarı ve tanımlanması “Agilent 6890N” marka gaz kromatografisi, buna bağlı “Agilent 5975B VL MSD” kütle spektrometresinde gerçekleştirilmiştir.

Aroma maddelerinin miktar tayininde, “Agilent 6890N” marka alev iyonlaşma dedektörlü (FID) gaz kromatografisi kullanılmıştır. Aroma maddelerinin ayrımı DB-WAX kapiler kolon (60mx0.25mmx0.4µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjektör sıcaklığı 220 °C, dedektör sıcaklığı 250 °C, kolon sıcaklığı, 60 °C’ de 3 dakika beklemeden sonra, dakikada 2°C artarak 220 °C’ ye ve daha sonra dakikada 3 °C artarak 245 °C’ ye çıkmış ve bu sıcaklıkta 20 dakika sabit kalacak şekilde programlanmıştır. Cihaza enjekte edilen miktar, 3 µL’dir. Taşıyıcı gaz olarak, He kullanılmıştır. Helyumun akış hızı, 1.5 mL/dakika olarak belirlenmiştir. Dedektör ve enjektör sıcaklıkları 250 °C’de tutulmuştur.

Aroma maddelerinin tanısında, gaz kromatografisine bağlı “Agilent 5975B VL MSD” marka kütle spektrometresi kullanılmıştır. Enjektör tipi ve sıcaklık

programı gaz kromatografisi ile aynı koşulları taşımaktadır. Taşıyıcı gaz olarak, kullanılan helyumun hızı 1.5 mL/d'dır. Kütle spektrometresinin iyonlaşma enerjisi 70 eV, iyon kaynağı sıcaklığı 250 °C, kuadrupol sıcaklığı 120 °C tutularak, 1 saniye aralıklarla 29-350 kütle/yük (m/e) arasında tarama yapılmıştır. Piklerin tanısı, standardı bulunan bileşikler için standart çözelti enjekte edilerek, standardı olmayan bileşikler için kütle spektrumunun bilgisayar hafızasındaki aroma maddeleri kütüphanelerindeki (Wiley 7.0, NIST-98, ve Flavor.2L) kütle spektrumlarıyla karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. Piklerin tanısından sonra, aroma maddelerinin konsantrasyonları, iç standart yöntemiyle hesaplanmıştır. Her bir analiz 3'er tekerrürlü olarak yapılmıştır.

3.4.6.6.(3). Aroma maddelerinin miktarlarının hesaplanması

Piklerin tanısından sonra, aroma maddelerinin miktarlarını hesaplamak için, standart bileşiklerden kalibrasyon eğrileri elde edilmiş ve iç standart yöntemiyle aşağıdaki formül kullanılarak miktarlar hesaplanmıştır. Hesaplamada, her bir bileşiğin cevap faktörü dikkate alınmıştır.

Ci = (Ai/Ast) x Cst x RF x HF

Ci : Bileşiğin konsantrasyonu

Ai : Bileşiğin pik alanı

Ast : İç standartın pik alanı

Cst : İç standartın konsantrasyonu (5 µL/l00 mL)

RF : Cevap faktörü

HF : Hesaplama faktörü (örnek miktarının kg'a çevrilmesi için faktör: 40).

3.4.6.7. Tekstür analizi

Sucuk örneklerinin tekstür ölçümleri, oda sıcaklığında, tekstür analiz cihazı (TA.XT plus, Stable Micro Systems, UK) kullanılarak gerçekleştirilmiş, konik prob kullanılmıştır. Prob, oda sıcaklığındaki 40 mm kalınlığındaki, kılıfları soyulmuş

sucuk örneklerine 0.01 N değerinde kuvvet ve 1 mm/saniye hız ile uygulmıştır. Son olarak, probun örnekleri delebilmek için göstermiş olduğu maksimum yük ölçülmüştür (Ercoşkun ve Demirci-Ercoşkun, 2009).

3.4.6.8. Duyusal analiz

Denemelerden elde edilen sucukların, fermentasyondan hemen sonra (0.ay) ve depolamanın 2.ay, 4.ay ve 6. aylarında duyusal analizleri gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizler, 5 kişiden oluşan panelistler tarafından yapılmıştır. Üretilen örnekler için, dış yüzey rengi, kesit rengi, kesit yüzey görünüşü, doku, yapışkanlaşma, sucuğa özgü hoşa giden tat koku, yabancı tat koku ve genel kabul edilebilirlik gibi parametrelerin 9 puanlık skala üzerinden (Çizelge 3.3.) değerlendirilmesi istenmiştir (Watts ve ark., 1989, Gökalp, 1982).

Çizelge 3.3. Duyusal değerlendirme formu

Örnek Adı:	**Tarih:**
Duyusal Özellikler	Puan (0-9)
Dış yüzey rengi Kesit rengi Kesit yüzey görünüşü Doku Yapışkanlaşma Sucuğa özgü hoşa giden tat koku Yabancı tat koku Genel kabul edilebilirlik	

3.4.9. İstatistiksel değerlendirme

İstatiksel analizler “Windows SPPS 15.0 software” istatistik paket programı (SPSS Inc., Chiago, IL, USA) kullanılarak yapılmıştır. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) denemeler arasında önem farklılıklarının karşılaştırılmasında, Duncan çoklu karşılaştırma testi gruplar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında kullanılmıştır ($p<0.05$) (Bek ve Efe, 1988).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Araştırmada kontrol sucuk örneği, serbest probiyotik kültür içeren sucuk örneği ve mikroenkapsüle probiyotik kültür içeren sucuk örneği olmak üzere toplam üç adet örnek üzerinde çalışılmıştır. Araştırmanın başlangıcında ME probiyotik kültürlerin gastrik koşullara dayanımı bakımından ideal kaplama materyali kombinasyonu belirlenmiş ve sucuk üretimlerinde bu kombinasyon kullanılmıştır. A (*L. plantarum* içeren sucuk), B (*L. plantarum* + *L. rhamnosus* içeren sucuk) ve C (*L. plantarum* + ME *L. rhamnosus* içeren sucuk) olarak adlandırılan sucuk örneklerinde mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyusal analizler yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre örnekler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve probiyotik sucuk üretiminin uygulanabilirliği tespit edilmiştir.

4.1. Probiyotik kültür içeren mikroenkapsüllerin yapay safra ve mide koşularındaki dayanımları

L. rhamnosus için farklı kaplama materyalleri, cevap yüzey tekniği kullanılarak araştırılmış ve daha önce bölüm 3.1'de belirtilen 26 farklı kombinasyonla (farklı oranlarda kaplama materyali ve prebiyotik katkı içeren kapsüller) kaplanmış *L. rhamnosus*'un canlılık bakımından verdiği cevaplar, Çizelge 4.1'de özetlenmiştir. Çizelge 4.1'de herhangi bir işleme maruz bırakılmayan ME *L. rhamnosus* sayısı (R) ile yapay mide (R-M) ve safra koşullarına (R-S) bırakıldıktan sonraki canlı hücre sayıları verilmiştir. Sonuçlardan da görüldüğü üzere başlangıçta 10^9 kob/g düzeyinde olan ME *L. rhamnosus* sayısı, yapay mide ve safra koşullarında bekletmenin ardından yaklaşık 10^6-10^8 kob/g düzeylerine inmiştir. Farklı kaplama materyali kombinasyonları ile kaplanmış olan 26 adet kapsül'ün safra koşullarındaki dayanımı daha iyi bulunmuştur.

Çizelge 4.1. *L. rhamnosus* için farklı kaplama materyalleri kombinasyonlarında alınan cevaplar

Kombinasyon	R (kob/g)	R-M (kob/g)	R-S (kob/g)
1	$9.4x10^9$	$8.2x10^7$	$1.7x10^8$
2	$7.0x10^9$	$1.2x10^8$	$4.0x10^8$
3	$1.0x10^9$	$1.0x10^5$	$5.0x10^6$
4	$9.2x10^9$	$5.4x10^7$	$1.6x10^7$
5	$6.3x10^9$	$4.0x10^6$	$4.0x10^8$
6	$1.5x10^9$	$5.0x10^7$	$1.7x10^8$
7	$7.1x10^9$	$4.0x10^6$	$1.6x10^8$
8	$9.2x10^9$	$1.4x10^8$	$1.5x10^8$
9	$2.3x10^9$	$1.1x10^8$	$2.1x10^8$
10	$4.5x10^9$	$1.7x10^8$	$1.4x10^8$
11	$1.1x10^9$	$6.0x10^7$	$1.0x10^8$
12	$9.5x10^9$	$8.0x10^7$	$2.7x10^8$
13	$7.7x10^9$	$1.2x10^8$	$7.2x10^7$
14	$3.1x10^9$	$4.0x10^7$	$4.0x10^7$
15	$2.0x10^9$	$2.3x10^8$	$4.0x10^7$
16	$1.7x10^9$	$3.0x10^6$	$5.0x10^7$
17	$1.3x10^9$	$1.0x10^7$	$2.2x10^8$
18	$1.2x10^9$	$3.0x10^6$	$6.0x10^7$
19	$4.7x10^9$	$1.3x10^7$	$1.1x10^8$
20	$9.2x10^9$	$1.2x10^7$	$2.2x10^8$
21	$1.1x10^9$	$3.5x10^7$	$3.4x10^7$
22	$1.0x10^9$	$7.0x10^6$	$7.4x10^7$
23	$8.0x10^9$	$1.2x10^8$	$6.4x10^7$
24	$7.7x10^9$	$1.1x10^8$	$7.1x10^7$
25	$7.6x10^9$	$1.0x10^8$	$6.8x10^7$
26	$7.6x10^9$	$1.1x10^8$	$6.9x10^7$

R: *L. rhamnosus* içeren kapsüllerin 1g'ındaki canlı hücre sayısı(kob/g); R-M: Mide suyunda bekletilmiş *L. rhamnosus* içeren kapsüllerin 1g'ındaki canlı hücre sayısı (kob/g); R-S: Safra suyunda bekletilmiş *L. rhamnosus* içeren kapsüllerin 1g'ındaki canlı hücre sayısı(kob/g)

Çalışmamızda cevap yüzey tekniğinin kullanılması sonucu, bulunan *L. rhamnosus* için ideal kaplama materyali kombinasyonunun, %1.89 sodyum aljinat, 0.96 gellan gam, %0.15 jelatin, %1 peptit ve %1.45 FOS olduğu saptanmıştır. Bazı literatür bilgilerine göre, probiyotik kültürlerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan kaplama materyali çeşidinin, bileşiminin ve sayısının, probiyotik kültürlerin dayanımı üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Kailasapathy, 2002; Argin, 2007; Champagne ve Fustier, 2007; Lacroix ve Yıldırım, 2007). Çalışmamızda kullanılan kaplama materyali kombinasyonuna göre, canlı hücre sayısında değişimler olduğu görülmüş ve çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar literatür bilgilerini desteklemiştir. Kaplama materyali kombinasyonlarının, kullanılan mikroorganizma çeşidine göre farklı dayanımlar gösterdiği de bilinmektedir. Bu nedenle, çalışmamızda kullandığımız *L. rhamnosus'*a özgü kaplama materyali kombinasyonu için, yayınlarda belirlenen bileşimleri uygulamak yerine, doğrudan kendi kullandığımız *L. rhamnosus* türüne özgü en iyi canlılığı veren kombinasyon ile ilgili veriler kullanılması daha doğru bulunmuştur.

Probiyotik bakteri suşlarının seçiminde, en önemli kriter safra tuzlarına dayanımlarıdır. Bakterilerin mikrenkapsülasyonunun, safra koşullarına olan dayanımını önemli düzeyde arttırdığı bildirilmiştir (Eren, 2009). Çalışmamızdaki sonuçlar, literatür bilgilerini destekler nitelikte olup, mikroenkapsülasyon işlemi ile birlikte hücrelerin gastrik koşullara olan dayanımı artmış ve bir gıda ürününün probiyotik olabilmesi için zorunlu miktar olan 10^{6-7} kob/g düzeyini veren kapsüller elde edilmiştir.

Şu ana kadar yapılmış olan çalışmaların bir çoğunda kaplama materyali çeşidinin ve miktarının, yanı sıra mikroenkapsülasyon tekniğinin probiyotik mikroorganizmaların gastrik koşullardaki (yapay safra, mide, asit koşulları) canlılığı üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2006; Chen ve ark., 2007; Ding ve Shah, 2008; Li ve ark., 2008; Li ve ark., 2009; Mokarram ve ark., 2009; Pimentel-Gonzalez ve ark., 2009; Nazzaro ve ark., 2009; Nag ve ark., 2011). Literatür çalışmalarına benzer olarak çalışmamızda kullanılan farklı kaplama materyali kombinasyonları hücre canlılığı üzerinde farklı etkiler göstermiştir. Bu durum,

probiyotiklerin gastrik koşullarda dayanımları ile ilgili olarak, kaplama materyali kombinasyonlarının önemini birkez daha vurgulamıştır.

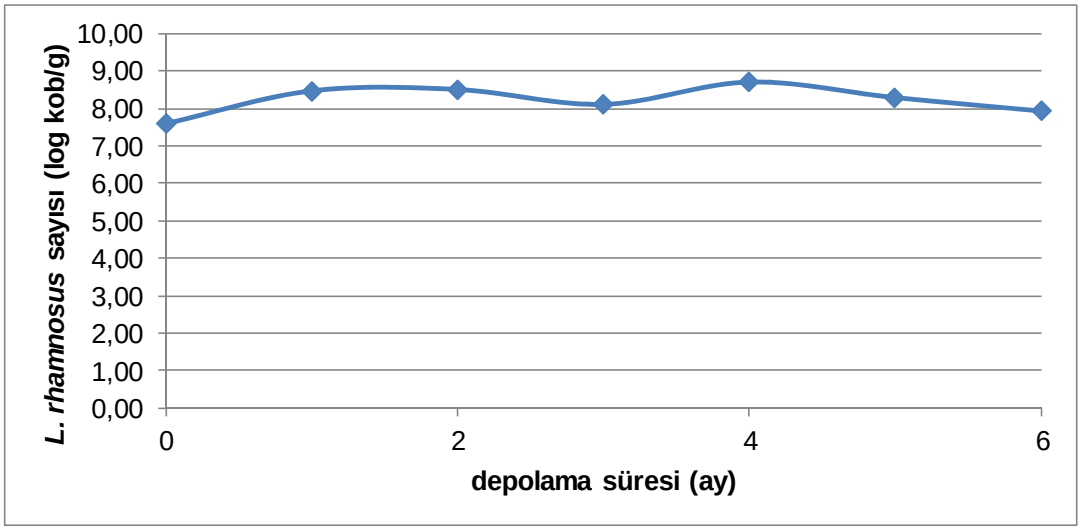
4.2. Mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un depolama dayanımı

L. rhamnosus içeren mikrokapsüllerin 6 aylık depolama periyodu süresince canlı hücre sayısındaki değişim ile ilgili sonuçlar, Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir. *L. rhamnosus* sayısı ile depolama zamanı arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli, grupların varyansları ise homojen bulunmuştur. Depolamanın 4. Ayında, *L. rhamnosus* sayısı en yüksek değerine sahip iken, depolamanın başlangıcında (veya ilk gününde), en düşük sayısal değere sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Başlangıçta, 7.60 log kob/g düzeyinde olan canlı hücre sayısı, 6 aylık depolama sonunda 7.93 log kob/g'a yükselmiştir. Çalışmamızda, depolama periyodu süresince canlı hücre sayısında azalma olmamasının ve değişmeden kalmasının hatta bir miktar artış görülmesinin nedeninin ise literatür bilgilerinin ışığında, kaplama materyalinin bileşiminde bulunan prebiyotik katkılardan kaynaklandığı düşünülmüştür (Chen ve ark., 2005 ve 2007; Nazzaro ve ark., 2009).

Çizelge 4.2. Mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un depolama dayanımı

Ay	log kob/g
0	$7.60^{gE} \pm 0.06$
1	$8.47^{cAB} \pm 0.12$
2	$8.51^{bAB} \pm 0.11$
3	$8.11^{eCD} \pm 0.13$
4	$8.71^{aA} \pm 0.09$
5	$8.29^{dBC} \pm 0.03$
6	$7.93^{fD} \pm 0.08$

a-g: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama A-E: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)



Şekil 4.1. Mikroenkapsüle *L. rhamnosus*'un depolama dayanımı

Çakır (2010), tarafında yapılan benzer çalışmada, *L. rhamnosus* içeren aljinatla kaplanmış olan mikrokapsüllerde, buzdolabı koşullarında 1 aylık depolama sonunda, serbest kültürlerin canlılığını yitirdiğini, buna karşın, ME *L. rhamnosus*'un ise canlılığını koruduğunu, ancak canlı hücre sayısında 2-3 log kob/g düzeyinde azalış olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda ise, kaplama materyalleri içinde aljinatın yanı sıra jelatin gibi kaplama materyali ve pepton ve FOS gibi prebiyotik katkıların da olması, *L. rhamnosus*'un dayanımını arttırmasına bağlı olarak, 1. ayın sonunda, yaklaşık 1 log kob/g düzeyinde artış gözlenmiş ve bu canlılık 6 aylık depolama periyodu süresince korunmuştur. Çalışmamızdaki kapsüllere prebiyotik katkı ilavesinin, probiyotik kültürlerin dayanımını arttırdığı, bakteri sayım sonuçları ile görülmektedir.

4.2. Probiyotik sucuk örneklerinde mikrobiyolojik sayım sonuçları

Sucuk örneklerinde mikrobiyolojik sayım olarak toplam laktik asit bakterisi sayımı, *L. plantarum* sayımı, *L. rhamnosus* sayımı, toplam aerob mezofil bakteri sayımı, maya ve küf sayımı, *Staphylococcus* spp. sayımı yapılmıştır.

4.2.1. Laktik asit bakterileri sayım sonuçları

Sucuk örneklerinde toplam laktik asit bakterisi sayımı, *L. plantarum* sayımı ve *L. rhamnosus* sayımı olmak üzere üç farklı grupta laktik asit bakterisi sayımı yapılmıştır.

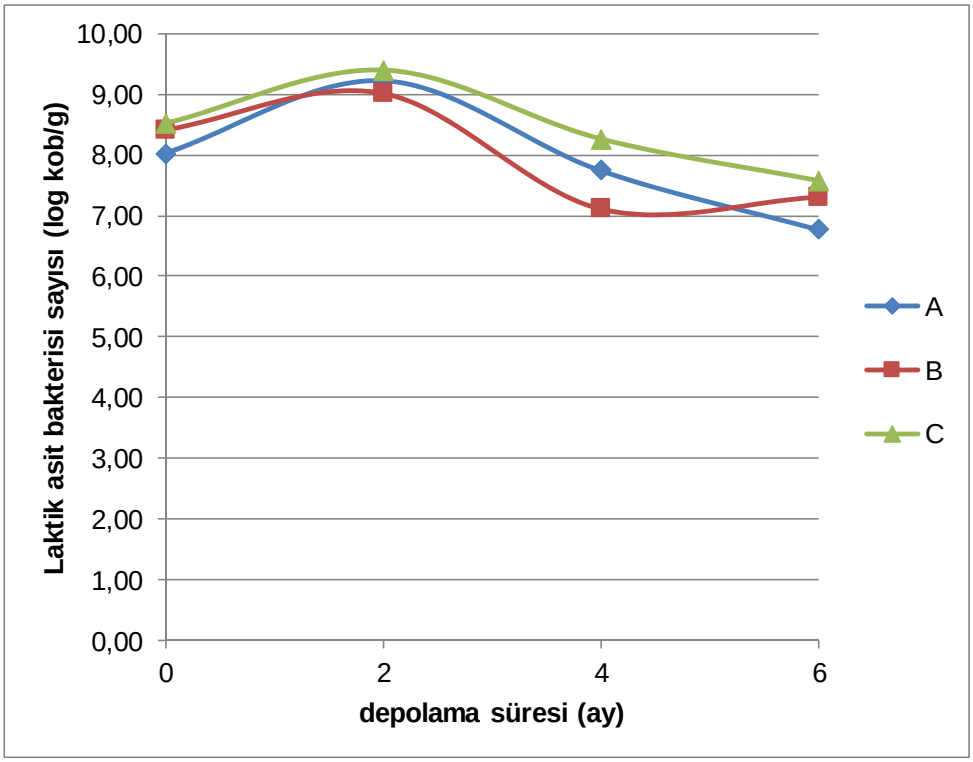
4.2.1.1. Toplam laktik asit bakterileri sayım sonuçları

Kontrol grubu (*L. plantarum*) (A) ve probiyotik sucukların (*L. plantarum* + *L. rhamnosus*) (B ve C) depolama süresince belirlenen laktik asit bakterisi sayıları, Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Depolamanın başlangıcında, toplam laktik asit bakterisi sayısı, kontrol grubu sucuk örneklerinde 8.03 log kob/g, serbest *L. rhamnosus* içeren sucuklarda 8.41 log kob/g ve ME *L. rhamnosus* içeren sucuklarda 8.52 log kob/g düzeyinde bulunmuştur. Depolamanın 2. Ayında, her 3 grup sucuk örneğinde de laktik asit bakterisi sayısında artış gözlenmesine karşın, 2. aydan itibaren, depolamanın sonuna kadarki periyotta, her 3 gruptaki sucuklarda, laktik asit bakterisi sayısında düşüş gözlenmiş ve en büyük düşüş, kontrol grubu örneğinde görülmüştür. Depolama süresi boyunca, sucuklardaki toplam laktik asit bakteri sayısı, 6.77-9.40 log kob/g aralığında değişmiştir.

Çizelge 4.3. Sucuk örneklerindeki toplam laktik asit bakteri sayıları

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	$8.03^{bAB} \pm 1.11$	$9.22^{aA} \pm 0.26$	$7.74^{cAB} \pm 1.04$	$6.77^{dB} \pm 0.36$
B	$8.41^{bAB} \pm 0.96$	$9.01^{aA} \pm 0.14$	$7.11^{dB} \pm 0.07$	$7.30^{cB} \pm 0.55$
C	$8.52^{bAB} \pm 0.94$	$9.40^{aA} \pm 0.07$	$8.27^{cAB} \pm 0.16$	$7.58^{dB} \pm 0.24$

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.2. Sucuk örneklerindeki toplam laktik asit bakteri sayıları

A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile laktik asit bakterisi sayısı arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli ve grupların varyansları homojen bulunmuştur. A örneği için; 2. ve 6. aydaki laktik asit bakterisi sayım sonuçları ortalamalarındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($p<0.05$). B örneği için; 2. ay ile 4. ve 6. aylardaki laktik asit bakterisi sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($p<0.05$). C örneği için; 2. ve 6. aydaki laktik asit bakterisi sayım sonuçları ortalamalarındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunurken, diğer gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır ($p<0.05$).

Tüm sucuk örnekleri için, laktik asit bakterisi sayısı üzerine, sucuk türü ve depolama zamanı*sucuk türü interaksiyon etkisi %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu, tek başına depolama zamanının ise önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Daha ayrıntılı açıklamak gerekir ise, laktik asit bakterisi sayısı üzerine, sucuk türü önemli değil iken (A=B=C), depolama zamanının 2. ayında, diğer aylara oranla

istatistiksel olarak farklılık önemli bulunmuştur. Önem düzeyi açısından bu durumu 0. ay'ın takip ettiği, buna karşın 4. ay ve 6. ayın verilerinin ise önem düzeylerinin en düşük olduğu bulunmuştur (4=6).

Sucuk ile ilgili yapılmış olan bazı çalışmalarda, fermetasyondan sonra, sucuktaki toplam laktik asit bakterisi sayısının 7-9 log kob/g arasında değiştiği bildirilmiştir (Dönderici, 2005; Gençcelep, 2006; Serteser ve Gök, 2006; Kaban, 2007; Çakır, 2010). Çalışmamızda sucuk örneklerinde bulunan yaklaşık 8-8.5 log kob/g düzeyindeki yüksek laktik asit bakterisi içeriği, starter ve probiyotik kültür ilavesinin doğal sonucu olarak görülmüş ve yukarıda belirtilen çalışmalarda elde edilen verilerle benzerlik göstermiştir.

Sucuklarda depolama periyodunun, sucuktaki laktik asit miktarı üzerindeki etkisiyle ilgili çalışmalar incelendiğinde, depolama periyodunun sonuna doğru, genel olarak laktik asit bakterisi sayısında düşüş meydana geldiği ya da değişmeden stabil kaldığı bildirilmiştir (Serteser ve Gök, 2006; Ulusoy, 2007; Ergönül, 2009).

Moyano ve ark. (2011a ve b), probiyotik kültür ilave ederek ürettikleri fermente sosislerde, toplam laktik asit bakterisi sayısının ve aerob mezofil bakteri sayısının probiyotik ilavesinden dolayı depolamanın başlangıcında, kontrol örneğinden daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda bulunan sonuçlarda da bu bulgulara benzer olarak, gerek depolama başlangıcında, gerekse de depolama süresince, çoğunlukla probiyotik kültür ilaveli sucuklarda, toplam laktik asit bakterisi sayısının, probiyotik kültürlerin varlığından dolayı daha yüksek olduğu görülmüştür.

Yine, Ergönül (2009) probiyotik kültür kullanarak ürettiği sucuklarda, başlangıçta 8.31-8.87 log kob/g olan laktik asit bakterisi sayısının 6 aylık depolama süresince azalış göstererek 7.08-7.81'e düştüğünü ve depolama süresi ile kullanılan kültürlerin toplam laktik asit bakterisi sayısı üzerinde etkili olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda da, 6. ayın sonunda laktik asit bakterisi sayısının düşmesi bu bulguları desteklemiştir.

4.2.1.2. *L. plantarum* sayım sonuçları

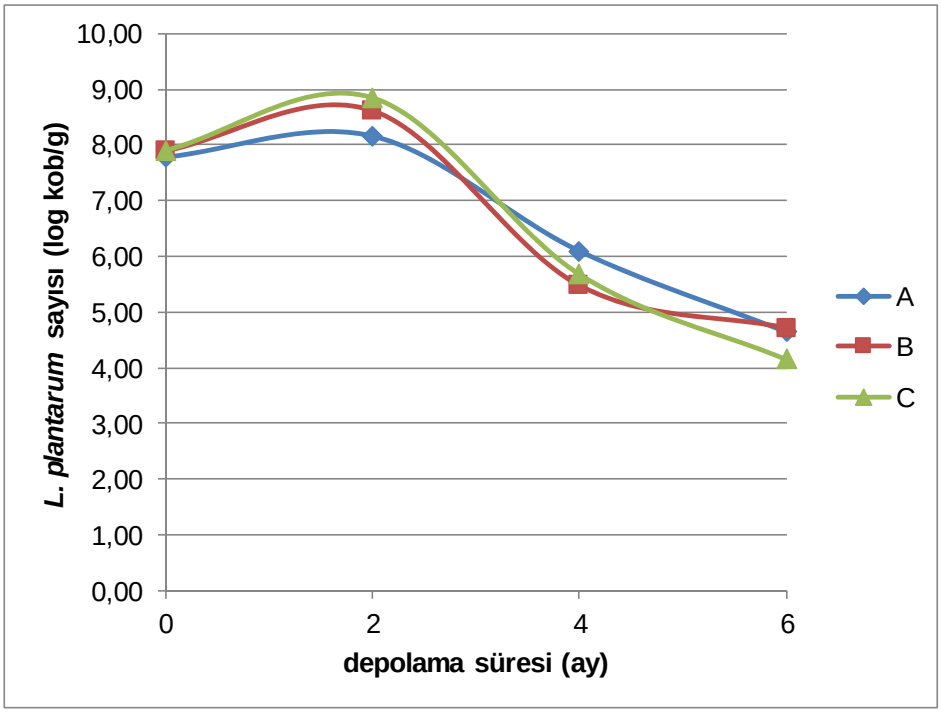
Deneme planına göre A, B ve C sucuk örneğine *L. plantarum* starter kültürü ilave edilmiştir. Sucuk hamurunda, olgunlaştırma ve kurutma süreci sonunda (0. ay) ve depolama süresince 3 grup örnekteki *L. plantarum* sayısı izlenerek, probiyotik kültür sayısı karşılaştırılmıştır.

Kontrol grubu (*L. plantarum*) ve probiyotik sucukların (*L. plantarum* + *L. rhamnosus*) depolama süresince belirlenen *L. plantarum* sayıları, Çizelge 4.4'de ve Şekil 4.3'de verilmiştir. Her üç grup sucuk örneğinde de, başlangıçta ortalalama 8 log kob/g düzeyinde olan *L. plantarum* sayısı, depolamanın ikinci ayında, artış göstermiş ve yaklaşık 9 log kob/g'a yükselmiştir. Buna karşın, depolamanın sonunda azalış göstererek, 4 log kob/g'a düşmüştür. Depolama süresi boyunca, sucuklardaki *L. plantarum* sayıs,ı 4.15-8.85 log kob/g aralığında değişmiştir.

Çizelge 4.4. Sucuk örneklerindeki *L. plantarum* sayıları

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	$7.78^{bA} \pm 1.00$	$8.16^{aA} \pm 0.14$	$6.10^{cB} \pm 0.07$	$4.65^{dB} \pm 0.71$
B	$7.89^{bA} \pm 1.30$	$8.62^{aA} \pm 0.18$	$5.48^{cB} \pm 0.59$	$4.72^{dB} \pm 0.57$
C	$7.90^{bA} \pm 1.13$	$8.85^{aA} \pm 0.12$	$5.68^{cB} \pm 0.28$	$4.15^{dB} \pm 0.20$

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.3. Sucuk örneklerindeki *L. plantarum* sayısı

A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile *L. plantarum* sayısı arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Grupların varyansları homojendir. A örneği için; 0. ve 2. aylardaki *L. plantarum* sayım sonuçları ortalamaları ile 4. ve 6. aylardaki *L. plantarum* sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olarak belirlenmiştir ($p<0.05$). B örneği için; 0. ve 2. aylardaki *L. plantarum* sayım sonuçları ortalamaları ile 4. ve 6. aylardaki *L. plantarum* sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0. ve 2. aylardaki *L. plantarum* sayım sonuçları ortalamaları ile 4. ve 6. aylardaki *L. plantarum* sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark da istatistiksel olarak önemli bulunmuştur($p<0.05$).

Tüm sucuk örnekleri için, *L. plantarum* sayısı üzerinde, sucuk türü ve depolama zamanı*sucuk türü interaksiyon etkisi %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu, tek başına depolama zamanının ise önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Daha ayrıntılı açıklamak gerekirse, *L. plantarum* sayısı üzerinde sucuk türü önemli değilken (A=B=C), depolama zamanında ise 2. aydaki farklılık diğer aylara oranla istatiksel olarak en önemli veriyi oluşturmuş, bunu 0. ay, 4. ay ve 6. ay takip etmiştir

(2>0>4>6).

Sonuçlardan da görüldüğü üzere, depolama sürecinin 4. ve 6. aylarında doğal fermantasyonun bir sonucu olarak, starter kültür olan *L. plantarum* dışındaki mikroorganizmaların ortama hakim olmasından dolayı, starter kültür sayımızda azalış gözlenmiştir. 4 ve 6 ayda starter kültür sayısındaki azalmanın, literatür bilgilerinin ışığında, örneklerimizdeki aroma, biyojen amin ve duyusal özellikleri de etkileyeceğini düşündürmüştür (Kaban, 2007; Ergönül, 2009).

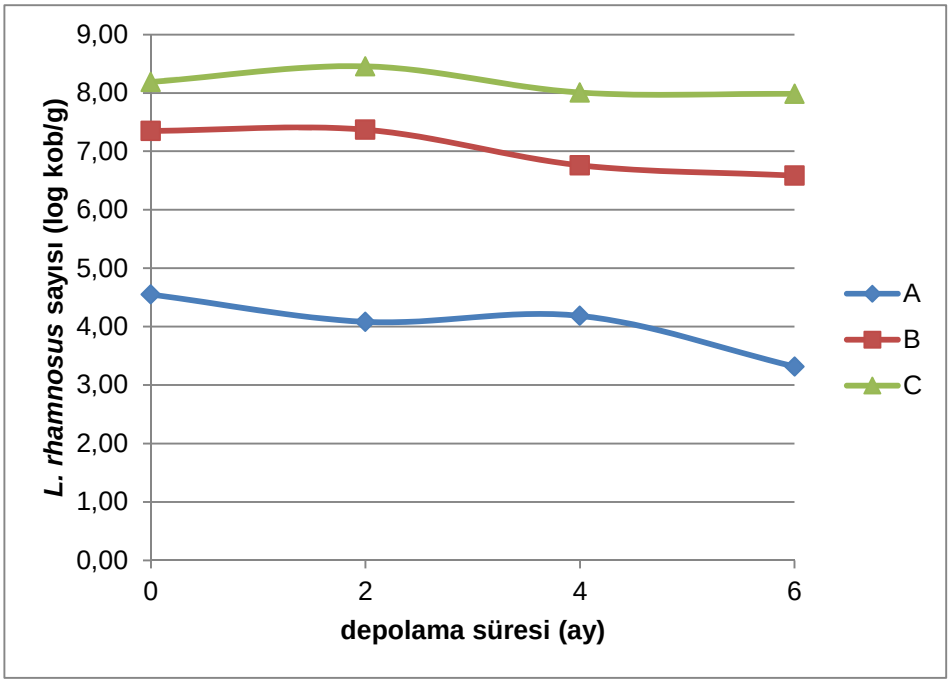
4.2.1.3. *L. rhamnosus* sayım sonuçları

Kontrol grubu (*L. plantarum*) ve probiyotik sucukların (*L. plantarum* + *L. rhamnosus*) depolama süresince belirlenen *L. rhamnosus* sayıları, Çizelge 4.5 ve Şekil 4.4'de verilmiştir. Sucuk örneklerimizin probiyotik özelliklerini gösterebilmeleri için, *Lactobacillus rhamnosus* sayısının, belli bir düzeyin altına düşmemesi esastır. Depolamanın başlangıcında, *L. rhamnosus* sayısı, kontrol grubu sucuk örneklerinde 4.55 log kob/g, serbest *L. rhamnosus* içeren sucuklarda 7.35 log kob/g ve mikroenkapsüle *L. rhamnosus* içeren sucuklarda, 8.19 log kob/g olarak bulunmuştur. Depolamanın başlangıcında, kontrol grubu sucuklara *L. rhamnosus* ilave edilmemesine rağmen, bulunmasının nedeni, fermantasyon esnasında spontan florada bulunma olasılığıdır. Nitekim, daha önce yapılmış olan çalışmalarda fermente sucuklardan *L. rhamnosus* izole edildiği bildirilmiştir (Özdemir, 1999; Çon ve Gökalp, 2000). Depolamanın 2. ayından sonra ise probiyotik sucuklarda, (B ve C) *L. rhamnosus* sayısı azalış göstermeye başlamış ve 6. ayın sonunda serbest *L. rhamnosus* içeren sucukta 6.59 log kob/g ve ME *L. rhamnosus* içeren sucukta 7.99 log kob/g, olarak belirlenmiştir. Serbest *L. rhamnosus* sayılarında, depolamanın sonunda 1 log kob/g'a (0.76 log kob/g) yakın bir azalma meydana gelirken, ME *L. rhamnosus* içeren sucukta, 0.20 log kob/g, bir azalış meydana gelmiştir. Sonuçlardan da görüldüğü üzere, mikroenkapsülasyon işlemi, sucuk gibi kuru ve yoğun baharat içeren bir üründe, probiyotik kültürlerin dayanımını sağlamış ve üründeki probiyotik kültürlerin sayısının sabit kalmasına katkıda bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Sucuk örneklerindeki *L. rhamnosus* sayıları

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	4.55 ^{aA} ±0.48	4.08 ^{cA} ±0.66	4.19 ^{bA} ±0.63	3.32 ^{dA} ±0.28
B	7.35 ^{bA} ±0.87	7.37 ^{aA} ±0.28	6.76 ^{cA} ±0.45	6.59 ^{dA} ±0.53
C	8.19 ^{bA} ±0.25	8.46 ^{aA} ±0.18	8.01 ^{cA} ±0.27	7.99 ^{dA} ±0.23

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.4. Sucuk örneklerindeki *L. rhamnosus* sayıları

A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile *L. rhamnosus* sayısı arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli olmadığı ve grupların varyanslarının homojen olduğu bulunmuştur. Tüm sucuk örnekleri için, *L. rhamnosus* sayısı üzerinde, sucuk türü ve depolama zamanı etkisinin önemli olduğu ($p>0.05$), depolama zamanı*sucuk türü interaksiyon etkisinin ise %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu ($p>0.05$) bulunmuştur. *L. rhamnosus* sayısı üzerinde sucuk türü istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve en önemli etkinin C örneğinde ve daha sonra sırasıyla B ve A örneğinde olduğu bulunmuştur (C>B>A). Depolama zamanında ise, en önemli farklılık 0., 2. ve 4. aylarda görülürken, 6. aydaki farklılığın en düşük öneme sahip olduğu bulunmuştur (0=2=4>6).

Sucuk örneklerinde laktik asit bakterilerinin tanımlanması ile ilgili bir çalışmada, *L. carnis*, *L. curvatus*, *L. sakei* ve *L. rhmanosus* türleri saptanmıştır (Dinçer ve ark., 1995). Daha önce de belirtildiği gibi, *L. rhamnosus* türü, sucuğun kendi doğal florasında da bulunabilmektedir. Nitekim çalışmamızdaki kontrol örneğinde (A), herhangi bir şekilde probiyotik kültür ilave edilmemesine rağmen, *L. rhamnosus* bulunmuştur.

Çalışmamızda 4. ay itibariyle serbest *L. rhamnosus* içeren sucuklardaki *L. rhamnosus* sayısında bir azalış görülmektedir. Benzer bir sonuç, Rubio ve ark. (2013)'nın yaptıkları çalışmada da bulunmuş olup, probiyotik kültür ilaveli fermente sosiste başlangıçta 6.49-6.68 log kob/g olan *L. rhamnosus* sayısının 74 günlük depolama süreci içinde 6. ve 14. günlerde yaklaşık 8 log kob/g seviyelerine çıktığı, ancak 74. günde azalarak 7 log kob/g civarına düştüğünü saptamışlardır.

Diğer yandan, Ergönül (2009), probiyotik kültür kullanarak ürettikleri sucuklarda, 6 aylık depolama sürecinin sonunda probiyotik hücre sayısında 1-2.5 log kob/g civarında düşüş gözlendiğini bildirmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde, canlı hücre sayısında düşüş gözlendiği ve bu düşüşün daha çok serbest kültür içeren probiyotik sucukta olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, probiyotik özelliğe sahip sucuk üretiminde, ME kültürlerin depolama boyunca canlı kalabilme özelliği nedeniyle üretimde kullanılabileceğini göstermektedir.

Yapılan birçok çalışmalarla, kaplama materyallerinde bulunan prebiyotik katkıların, probiyotiklerin dayanımını arttırdığı bilinmektedir (Chen ve ark., 2006 ve 2007; Chavarri ve ark., 2010). Nitekim, kendi çalışmamızda da, 6. ayın sonunda ME probiyotik kültür içeren sucuk örneğindeki (C) prebiyotik katkı varlığı bu sucuktaki *L. rhamnosus* kültürünün serbest probiyotik kültür içeren sucuk (B) örneğinden daha yüksek çıkması, bu bilgileri desteklemiştir.

4.2.2. Toplam aerobik mezofil bakteri sayım sonuçları

Sucuk fermente bir ürün olduğundan, toplam aerobik mezofil bakteri (TAMB) sayısının yüksek olması beklenen bir durumdur. Fermente ürünlerde, TAMB sayısı mikrobiyolojik kalite kriteri veya hijyen indikatörü olarak ele alınmaz.

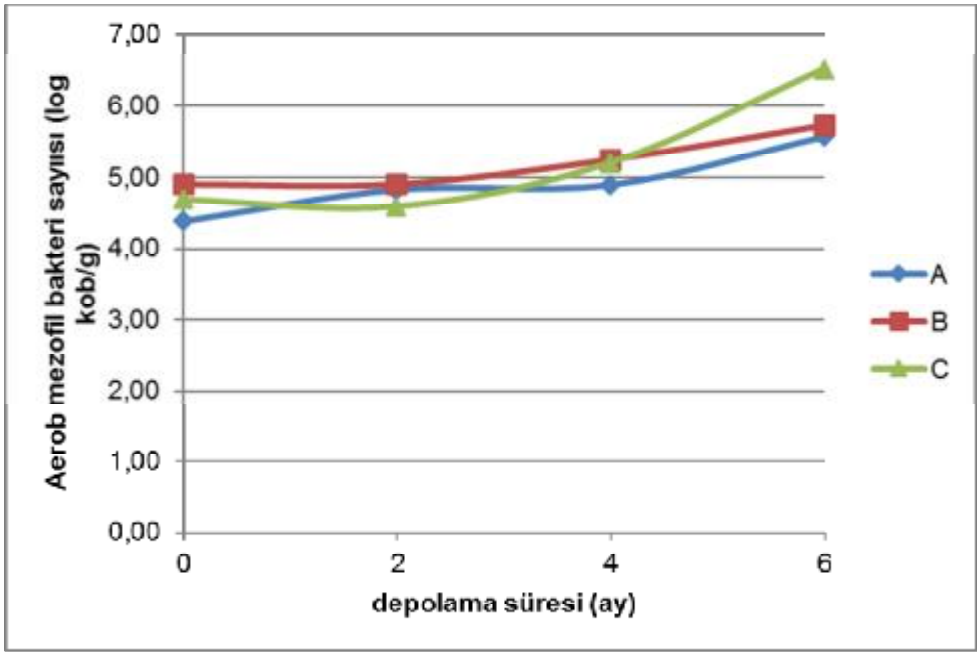
Et Ürünleri Tebliği'nde sucuğun mikrobiyolojik kalitesine ilişkin olarak TAMB miktarı ile ilgili herhangi bir sınırlama getirilmemiştir. Ancak, araştırmada toplam mikroorganizma yükünün ve diğer sayımı yapılan mikroorganizmaların miktarı ile olan ilişkisini takip etmek amacıyla, TAMB sayımı gerçekleştirilmiştir.

Kontrol grubu (*L. plantarum*) ve probiyotik sucukların (*L. plantarum* + *L. rhamnosus*) depolama süresince belirlenen TAMB sayısı, Çizelge 4.6 ve Şekil 4.5'de verilmiştir. Depolamanın başlangıcında TAMB sayısı, kontrol grubu sucuk örneklerinde 4.38 log kob/g, serbest *L. rhamnosus* içeren sucuklarda 4.90 log kob/g ve ME *L. rhamnosus* içeren sucuklarda 4.69 log kob/g olarak bulunmuştur. Depolama sonunda, her üç grup sucuk örneğinde de TAMB yükünde artış görülmüş ve A, B ve C örnekleri için sırasıyla, 5.57, 5.73 ve 6.51 log kob/g olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Sucuk örneklerindeki toplam aerobik mezofil bakteri sayım sonuçları

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	$4.38^{dA} \pm 0.13$	$4.83^{cA} \pm 0.30$	$4.89^{bA} \pm 0.27$	$5.57^{aB} \pm 0.27$
B	$4.90^{dA} \pm 0.14$	$4.91^{cA} \pm 0.35$	$5.25^{bA} \pm 1.44$	$5.73^{aA} \pm 0.30$
C	$4.69^{dA} \pm 0.12$	$4.59^{cA} \pm 0.08$	$5.20^{bA} \pm 0.62$	$6.51^{aB} \pm 0.23$

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.5. Sucuk örneklerindeki toplam aerobik mezofil bakteri sayım sonuçları

A ve C ürünleri için depolama zamanı ile TAMB sayısı arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunurken, B ürünü için depolama zamanı ile TAMB sayısı arasındaki ilişki istatiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Grupların varyansları homojendir. A örneği için; 0., 2 ve 4. aylardaki TAMB sayım sonuçları ortalamaları ile 6. aydaki sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; gruplar arasında, depolama zamanı ve sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0., 2. ve 4. aylardaki TAMB sayım sonuçları ortalamaları ile 6. aydaki sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Tüm sucuk örnekleri için, TAMB sayısı üzerinde, sucuk türü ve depolama zamanı*sucuk türü interaksiyon etkisi %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu, tek başına depolama zamanının ise önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Daha ayrıntılı açıklamak gerekirse, TAMB bakteri sayısı üzerinde sucuk türünün etkisi önemli bulunmazken (A=B=C), depolama süresinini etkisi önemli bulunmuştur. Depolama süreci içinde de en önemli farklılığı 6. ay'ın gösterdiği tespit edilmiştir.

Sucuklarla ilgili yapılan birçok çalışmada, sucuktaki aerobik mezofil bakteri sayısının yaklaşık olarak 5 ile 9 log kob/g arasında değiştiği bildirilmiştir (Bozkurt, 2002; Serteser ve Gök, 2006; Ulusoy, 2007). Çalışmamızda elde edilen veriler de bu aralığa girmektedir.

Diğer yandan, yapılan bazı araştırmalarda, buzdolabı koşullarındaki depolama periyodu süresince, sucuklardaki toplam aerobik mezofil bakteri sayısında, çoğunlukla düşüş gözlendiği bulunmuştur (Bozkurt, 2002; Serteser ve Gök, 2006; Ulusoy, 2007). Buna karşın, Kara (2007), geleneksel yöntemle doğal fermantasyon sonucu ürettiği sucuklarda, toplam aerobik mezofil bakteri sayısının, depolama sonunda 0.5 log kob/g düzeyinde arttığını saptamıştır. Çalışmamızda da bahsedilen çalışmaya benzer olarak depolama periyodu sonunda aerob mezofil bakteri sayısı, artış göstermiştir.

4.2.3. Maya ve küf sayım sonuçları

Sucuklarda küf ve maya sayıları, ürünün hijyenik kalitesinin değerlendirilmesinde, önemli bir ölçüt olarak ele alınmaktadır. Sucuğun temel bileşenlerinden birisi baharattır. Bilindiği üzere baharat, oldukça düşük su aktivitesine sahiptir ve kuru gıdalar sınıfında yer almaktadır ve su aktivitesi, bakterilerin gelişimine izin vermeyecek ölçüde düşüktür. Depolama sırasında, bağıl nemindeki en küçük bir artışa karşılık nem çekme özelliği (higroskobik) nedeniyle, baharatın nem miktarı artar. Bu artışa bağlı olarak da baharatta küflenme riski olmaktadır.

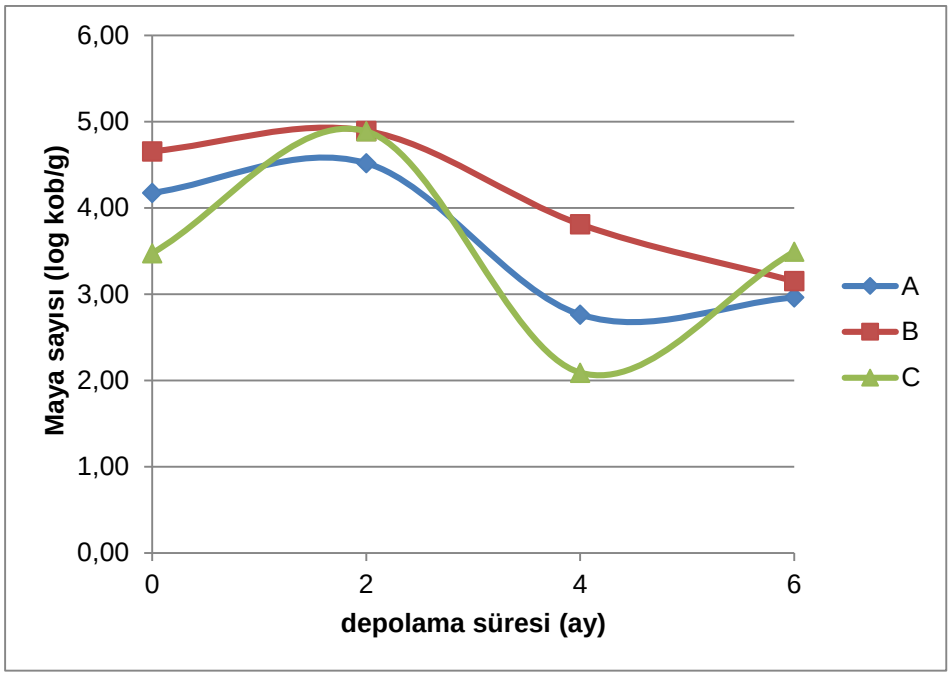
6 ay boyunca, sucuklardaki küflenme durumları takip edilmiş, ancak 6 ay boyunca hiç bir örnekte küflü bir görüntüye rastlanmamıştır. Nitekim, mikrobiyojik analizlerde bulunan sonuçlar bu hipotezi doğrulamıştır. Örneklerde küf varlığına rastlanmamasının nedeninin, hijyenik koşullarda üretim yapılmasından ve de vakum ambalajlamadan kaynaklandığı düşünülmüştür.

Kontrol grubu (*L. plantarum*) ve probiyotik sucuklarda (*L. plantarum* + *L. rhamnosus*) daha önce de belirtildiği gibi depolama süresince küf gelişimine rastlanmazken, belirlenen maya sayısı sayısı, Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6'da verilmiştir. Depolamanın başlangıcında, maya sayısı kontrol grubu sucuk örneklerinde 4.17 log kob/g, serbest *L. rhamnosus* içeren sucuklarda 4.65 log kob/g ve ME *L. rhamnosus* içeren sucuklarda 3.47 log kob/g düzeyinde bulunmuştur. Her 3 grup sucuk örneğinde de, 2 ayda maya sayısında artış gözlemlenmiştir. Depolamanın 2. ayından itibaren 4. aya kadar, her 3 grup örnekteki maya sayısında azalış gözlenirken, 4. aydan sonra C örneğinde, bir artış gözlenmiş ve maya sayısı depolamanın başlangıcındaki değere ulaşmıştır. Depolama sonunda, A, B ve C örnekleri için maya sayısı sırasıyla, 2.96, 3.15 ve 3.49 log kob/g düzeyinde bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Sucuk örneklerindeki maya sayım sonuçları

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	4.17 ^{bA} ±0.62	4.52 ^{aA} ±0.09	2.76 ^{dB} ±0.95	2.96 ^{cB} ±0.16
B	4.65 ^{bA} ±0.19	4.89 ^{aA} ±0.19	3.81 ^{cB} ±0.24	3.15 ^{dB} ±0.40
C	3.47 ^{cA} ±0.77	4.89 ^{aB} ±0.19	2.09 ^{dC} ±0.05	3.49 ^{bA} ±0.24

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.6. Sucuk örneklerindeki maya sayım sonuçları

A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile maya sayısı arasındaki ilişki, $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli ve grupların varyansları homojen bulunmuştur. A örneği için; 0. ve 2. aylardaki maya sayısı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değil iken, 2. ay ile 4. ve 6. aylardaki sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. B örneği için; 0. ve 2. aylardaki maya sayısı ortalamaları arasındaki fark ile 4.ve 6. aylarda elde edilen sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0. ve 6. aylardaki maya sayısı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değil iken ($p>0.05$), diğer grup sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

Maya sayısı üzerine, sucuk türü, depolama zamanı ve depolama zamanı*sucuk türü interaksiyon etkisi %5 yanılma düzeyinde önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Maya sayısı üzerinde en etkili olan sucuk türü B iken, A ve C örneklerinin eşit düzeyde etki gösterdikleri saptanmıştır.

Yüksek miktarda küf içeren baharatın sucuk üretiminde kullanılması, özellikle kurutma ve olgunlaştırma sürecinde sucuğun mikrobiyolojik güvenliği açısından önemlidir. Bu nedenle, mikrobiyolojik açıdan yüksek kaliteye sahip baharatın sucuk üretiminde kullanılması esastır. Küfler sekonder metabolitleri olan küf toksinlerini (mikotoksinler) sentezleyerek, gıdalarda önemli bir tehlikedir. Sucukta maya ve küf niceliği üzerine etki eden bir diğer faktör ise, dolumda kullanılan bağırsağın mikrobiyolojik kalitesidir. Her ne kadar doğal kılıf kullanımında daha fazla karşılaşılsa da, kılıf materyali kaynaklı küf ve maya bulaşması, yadsınamayacak düzeyde önemlidir. Bu nedenle kılıf, dolum öncesinde %1-2 lik ılık laktik asit çözeltisine batırılarak, yüzey kontaminasyonunun giderilmesi için önerilmektedir (Gökalp ve ark., 2001; Ergönül, 2009)

Çalışmamızda örneklerin hiçbirinde küf tespit edilmemiştir, ancak maya sayısının yaklaşık 3.5-5 log kob/g aralığında değiştiği saptanmıştır. Maya sayısının yüksek oluşu, doğal bir mikrofloraya da sahip olan sucuk hamurunun doğal fermantasyonunun da bir sonucu olarak fermentasyon sürecinde mayaların da rol oynaması ile açıklanmaktadır. Şimdiye kadar yapılan bazı çalışmalarda sucuklardaki maya miktarının 3-5 log kob/g arasında değiştiği ve depolama periyodu sonunda maya miktarının çoğunlukla düşüş gösterdiği bildirilmiştir (Bozkurt, 2002; Aksu, 2003; Gençcelep, 2006; Serteser ve Gök 2006; Ulusoy, 2007).

4.2.4. *Staphylococcus* spp. sayım sonuçları

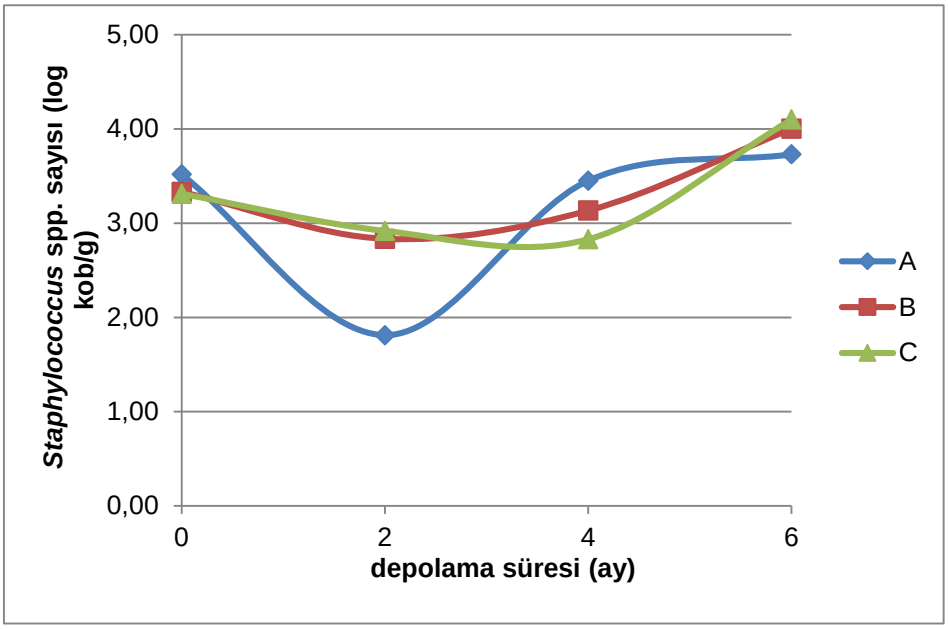
Çalışmamızda, depolama süresince sucuk örneklerinde saptanan *Staphylococcus* spp. sayısı, Çizelge 4.8. ve Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Sonuçlardan görüldüğü üzere, *Staphylococcus* spp. sayısı 2. ayın sonuna doğru her 3 grup sucukta da, azalmış ve A, B ve C örnekleri için sırasıyla, 3.52, 3.33 ve 3.31 log kob/g düzeyinden 1.81, 2.83 ve 2.92 log kob/g düzeyine inmiştir. 2. aydan itibaren

depolamanın sonuna kadar, *Staphylococcus* spp. sayısı artış göstermiş ve A, B, C örnekleri için sırasıyla 3.73, 4.00 ve 4.10 log kob/g düzeyine çıkmıştır.

Çizelge 4.8. Sucuk örneklerindeki *Staphylococcus* spp. sayım sonuçları

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	3.52^{bA}±0.07	1.81^{dB} ±0.13	3.45^{cA} ±0.42	3.73^{aA} ±0.46
B	3.33^{bA} ±0.25	2.83^{dAB} ±0.59	3.13^{cAB} ±0.51	4.00^{aB} ±0.25
C	3.31^{bAB} ±0.29	2.92^{cA} ±0.47	2.83^{dA} ±0.22	4.10^{aB} ±0.38

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.7. Sucuk örneklerindeki *Staphylococcus* spp. sayım sonuçları

A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile *Staphylococcus* spp. sayısı arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli ve grupların varyansları homojen bulunmuştur. A örneği için; 4. ve 6. aylardaki *Staphylococcus* spp. sayısı ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli olmadığı ancak, diğer gruplar 0. ve 2. aylardaki ortalama farklılıklarının istatistiksel açıdan önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 2. ay ile 6. ay arasındaki sayısal ortalama farklıkları istatistiksel olarak önemli iken, diğer gruplar arasındaki ortalama farklıklarının önemli olmadığı anlaşılmıştır ($p<0.05$). C örneği için; 2., 4. aylardaki

sayısal ortalamalar ile 6. ayda elde edilen sayısal ortalama arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemliyken, diğer gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur.

Tüm sucuk örnekleri için, *Staphylococcus* spp. sayısı üzerine, depolama zamanı ve depolama zamanı*sucuk türü interaksiyon etkisi %5 yanılma düzeyinde önemli olduğu ($p<0.05$), sucuk türünün ise önemsiz olduğu görülmektedir. Bunun bir sonucu olarak depolama süresince, *Staphylococcus* türlerinin sucuktaki duyusal ve aromatik özellikler üzerinde etkili olacağı düşünülmüştür. *Staphylococcus* spp. sayısı üzerine sucuk türlerinin istatistiksel açıdan öneminin olmadığı görülmüştür (A=B=C). Benzer bazı çalışmalarda da, fermente sosislerde bulunan *Staphylococcus* spp. türlerinin, çoğunlukla koagülaz negatif olduğu ve miktarlarının 2-4 log kob/g aralığında değiştiği bildirilmiştir (Fontan ve ark., 2007). Sucukta ise toplam *Staphylococus* spp. sayısının 3-4.5 log kob/g arasında değiştiği bildirilmiştir. *Staphylococcus* spp. türlerinin de sucuğun asitlik, aroma ve duyusal kalite özelliklerini etkilediği bilinmektedir (Kurt, 2006; Ercoşkun, 2006; Kaban, 2007).

Staphylococcus xylosus veya *Staphylococcus carnosus*, gerek fermente sosislerde ve gerekse sucukta kullanılan önemli starterler olarak bilinmektedir (Olesen ve Stahnke, 2004; Kaban, 2007). Fermente sosislerdeki mikrofloranın tespit edilmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda da, çoğunlukla izole edilen türünün, *Staphylococcus xylosus* olduğu bildirilmiştir. (Mauriello ve ark., 2004; Fontan ve ark., 2007).

Kara (2007) geleneksel yöntemle ürettiği sucuklarda, *Staphylococcus* sayısını 3.30-4.25 log kob/g ve 45 günlük depolama sonrasında 2.42 log kob/g olarak bulmuştur. Çalışmamızda da depolama sonundaki miktar hariç olmak üzere, benzer bulgular bulunmuştur.

4.2.5. Sucuk örneklerindeki *L. rhamnosus*'un safra tuzuna ve yapay mide koşullarına dayanımı

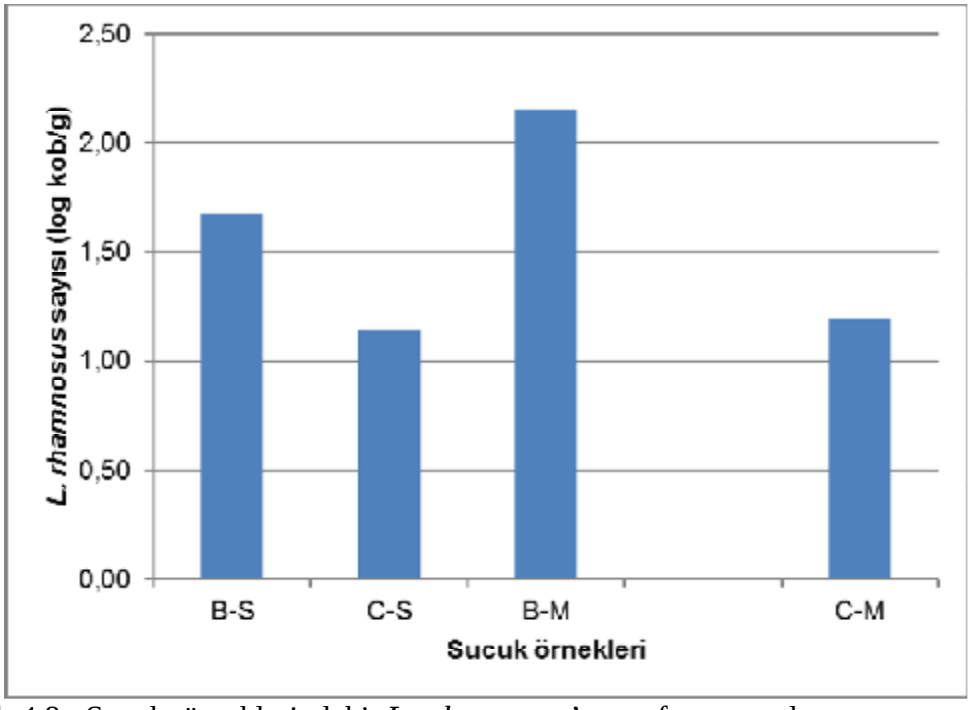
Serbest kültür (B) ve ME kültürle (C) üretilen sucuklarda bulunan *L. rhamosus*'un, yapay safra ve mide koşullarına dayanımları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.8'de gösterilmiştir. Sonuçlardan görüldüğü üzere, serbest kültürle üretilmiş

sucuklarda canlı hücre sayısındaki azalış daha çoktur, bu durum ME kültürle üretilmiş sucuklarda mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik kültürün dayanımını arttırdığını göstermiştir. Başlangıçta yaklaşık olarak 7 log kob/g düzeyinde olan *L. rhamnosus* sayısı, yapay mide ve safra koşullarına muamele işleminden sonra azalma göstermiş ve en büyük azalış serbest kültür içeren sucuklarda gözlenmiştir. Bu da, mikroenkapsülasyon işleminin, hücre canlılığında serbest kültüre göre, yaklaşık 1 log kob/g düzeyinde daha fazla dayanım kazandırdığını göstermektedir.

Çizelge 4.9. Sucuk örneklerindeki *L. rhamnosus*'un, safra tuzuna ve yapay mide koşullarına dayanımı

	Canlı hücre sayısındaki düşüş (log kob/g)
B-S	1.68^{cA}±0.32
C-S	1.14^{aA}±0.05
B-M	2.15^{dA}±0.22
C-M	1.20^{bA}±0.05

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$), B-S: B örneğinin safra tuzuna dayanımı, C-S: C örneğinin safra tuzuna dayanımı, B-M:B örneğinin yapay mide koşullarına dayanımı, C-M: C örneğinin yapay mide koşullarına dayanımı



Şekil 4.8. Sucuk örneklerindeki *L. rhamnosus*'un safra tuzunda ve yapay mide koşullarında canlı hücre sayısındaki azalış

Serbest kültür ve ME kültürle üretilen sucukların, safra ve mide ortamında logaritmik azalma üzerindeki etkisi, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Safra ve mide koşullarına maruz bırakılan serbest probiyotik kültür içeren sucuk örneklerindeki canlı hücre sayısında, ME probiyoik kültür içeren sucuklara göre daha yüksek bir azalma görülmüştür. Safra ve mide koşullarında canlı hücre sayısında benzer düzeyde azalış gözlemlenmiş ve bunun sonucu olarak canlı hücre sayısı üzerinde safra koşulunun gösterdiği etki ile mide koşulunun gösterdiği etki istatistiksel önemsiz bulunmuştur.

4.3. Probiyotik sucuk örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

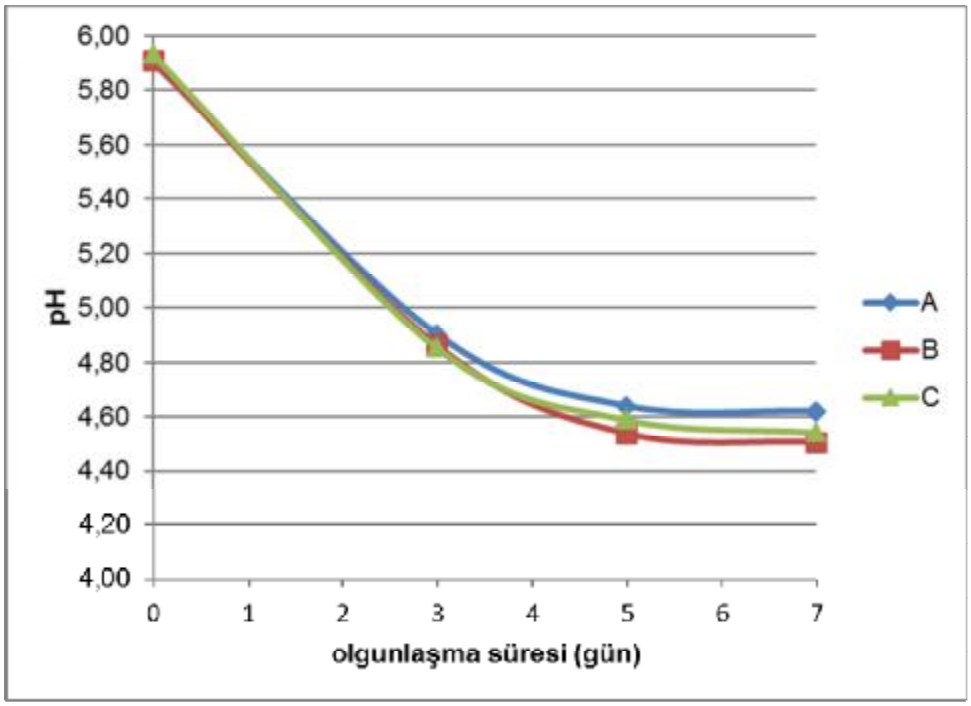
4.3.1. pH değerleri

Kontrol grubu ve probiyotik sucukların olgunlaşmanın belirli günlerindeki pH değerleri Çizelge 4.10 ve Şekil 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Olgunlaşma süresince sucuklardaki pH değerleri

	0.gün	3.gün	5.gün	7.gün
A	$5.90^{aA} \pm 0.11$	$4.90^{bB} \pm 0.02$	$4.64^{cC} \pm 0.03$	$4.62^{dC} \pm 0.01$
B	$5.91^{aA} \pm 0.07$	$4.86^{bB} \pm 0.21$	$4.54^{cC} \pm 0.04$	$4.51^{dC} \pm 0.03$
C	$5.93^{aA} \pm 0.04$	$4.85^{bB} \pm 0.17$	$4.59^{cC} \pm 0.02$	$4.54^{dC} \pm 0.01$

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-C}$: olgunlaşma süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.9. Olgunlaşma süresince sucuklardaki pH değerleri

Çizelge 4.10'dan da görüldüğü üzere, olgunlaşmanın sonuna doğru sucuktaki pH değerlerinde düşüş gözlenmiştir. Her 3 örnekte de olgunlaşmanın 3. gününde pH da yaklaşık olarak 1.5 düzeyinde düşüş gözlelenmiştir. Olgunlaşmanın 3. gününden sonra, pH'daki düşüş yavaşlamıştır ve 7. günün sonunda A, B ve C örnekleri için, pH sırasıyla 4.62, 4.51 ve 4.54 olarak bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği'ne göre (2012/74) sucukların fermantasyon ve kurutma sonrası pH değeri en fazla 5.40 olmalıdır (Anon., 2012). Sucuk örneklerimizin pH'ları tebliğ ile uyum içindedir.

A, B ve C ürünleri için olgunlaşma süresi ile pH sonuçları arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli ve grupların varyanslarının homojen olduğu bulunmuştur. A örneği için; 0. ile 3. günlerdeki pH sonuçları ortalamaları ile 5. ve 7. gündeki pH sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0.05$), 5. gün ile 7. gün pH sonuçları ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 0. ile 3. günlerdeki pH sonuçları ortalamaları ile 5 ve 7. gündeki pH sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). 5. gün ile 7. gün pH

sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). C örneği için; 0. ile 3. günlerdeki pH sonuçları ortalamaları ile 5 ve 7. gündeki pH sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). 5. gün ile 7. gün pH sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$).

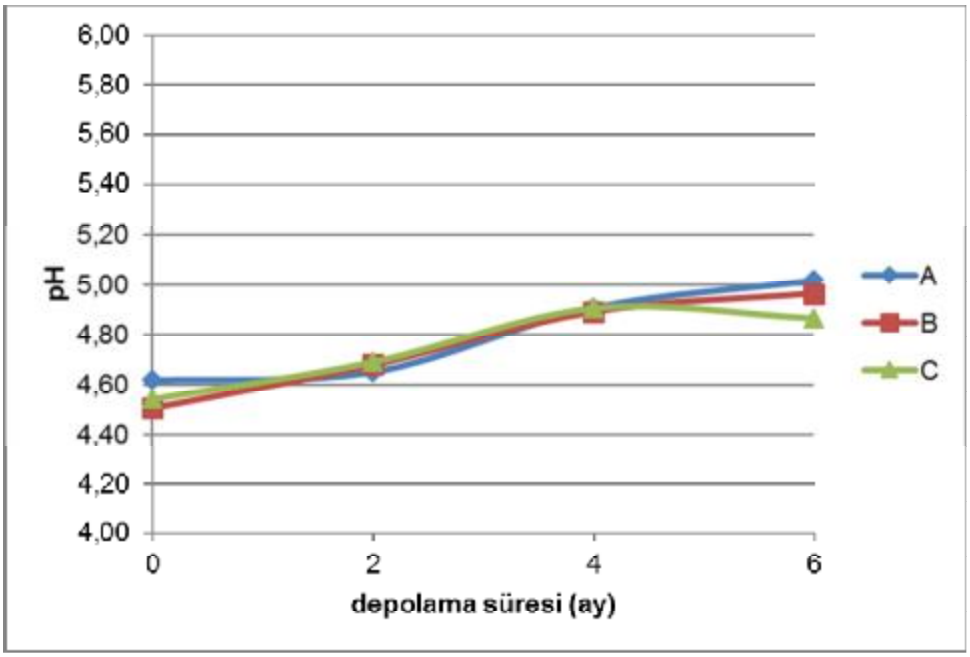
Tüm sucuk hamuru örnekleri için, pH üzerine, sucuk hamur türü ve olgunlaşma süresi*sucuk hamuru türü interaksiyon etkisinin önemsiz olduğu ($p>0.05$), tek başına olgunlaşma süresini ise önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Olgunlaşma sürecindeki pH üzerine, sucuk türünün etkisi istatistiksel olarak önemsiz (A=B=C) bulunmuştur. Depolama süresince pH değişimi incelendiğinde, 0. günün, en önemli istatistiksel veri olduğu, bu değeri, 3. gününün takip ettiği, 5. ve 7. günlerin ise en düşük etkiye sahip olduğu görülmektedir (0>3>5=7). Hughes ve ark. (2002), *L. sakei* ve *L. carnosus* starter kültürlerini kullanarak ürettikleri kuru fermente sosislerde, fermentasyon öncesi ve sonrası pH'ı 5.85 ve 5.03 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacıların bulguları ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar uyumlu olduğu belirlenmiştir. Fermantasyonla pH'ın 5.30'un altına düşmesi, nitritin antimikrobiyel aktivitesini arttırmakta ve mikrobiyel kalite açısından sucuk mikroflorasını daha güvenilir kılmaktadır (Nassu ve ark., 2003).

Kontrol grubu ve probiyotik sucukların depolama süresinde elde edilen pH değerleri ise Çizelge 4.11 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.11. Depolama süresinde sucuklardaki pH değerleri

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	4.62 ^{dA} ±0.01	4.65 ^{cA} ±0.02	4.91 ^{bB} ±0.04	5.02 ^{aB} ±0.08
B	4.51 ^{dA} ±0.03	4.68 ^{cA} ±0.03	4.89 ^{bB} ±0.12	4.97 ^{aB} ±0.09
C	4.54 ^{dA} ±0.01	4.69 ^{cA} ±0.05	4.91 ^{aB} ±0.09	4.87 ^{bB} ±0.09

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)



Şekil 4.10. Depolama süresinde sucuklardaki pH değerleri

Depolama süresinde ise, örneklerdeki pH değerlerinde fazla olmamakla birlikte bir artış gözlenmiştir. Depolamanın başlangıcında her 3 grup sucuk örneğinde pH yaklaşık 4.5 civarında iken depolama sonunda yaklaşık olarak 5'e çıkmıştır. A, B ve C ürünleri için, depolama zamanı ile pH sonuçları arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli ve grupların varyansları homojen bulunmuştur. A örneği için; 0. ve 2. ay pH sonuçları ortalamaları ile, 4. ve 6. aydaki pH sonuçlarına ait ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 0. ve 2. ay pH sonuçlarına ait ortalamalar ile 4. ve 6. aydaki pH sonuçlarına ait ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0. ve 2. ay pH sonuçların ortalamaları ile, 4. ve 6. aydaki pH sonuçlarına ait ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Tüm sucuk örnekleri için, pH üzerine, sucuk türü ve depolama zamanı*sucuk hamuru türü interaksiyon etkisinin %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu, tek başına depolama zamanının ise önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$). pH üzerinde sucuk türünün etkisinin istatistiksel olarak önemsiz (A=B=C) olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın etkisine bakmak için depolama süresindeki pH değişimi incelendiğinde, 4. ve 6. aylarda istatistiksel olarak en önemli farklılığın

görüldüğü ve bunu 2. ay ve 0. ay'ın takip ettiği görülmektedir (4=6>2>0).

Çalışmamızda elde edilen bütün sonuçlar değerlendirildiğinde, özellikle fermentasyonun ilk günlerinde, sucuk pH'sında hızlı bir düşüşün gerçekleşmesi beklenmektedir. Düşen pH ile birlikte proteinlerin izoelektrik noktaya yakınlaşması, proteinlerin su tutma kapasitesini azaltmakta ve sucuğun nem kaybetmesine neden olmaktadır (Gökalp ve ark., 2004; Çakır, 2010; Kaya ve Kaban 2010). Çalışmamızda kullanılan kültür kombinasyonları ile, 7 günlük fermentasyon ve kuruma süresince, sucukların istenilen pH düzeyine ulaşması mümkün olmuştur. Yapılan bazı benzer çalışmalarda da, olgunlaşma ile birlikte sucuk hamurunun kurumaya başladığı ve asitliğin artması ile pH değerinin düştüğü bildirilmiştir (Gençcelep, 2006; Kurt, 2006; Kaban, 2007; Ulusoy, 2007, Ercoşkun ve Özkal, 2011). Bu bulgular çalışmamızdaki sonuçlarla benzerdir.

Ergönül (2009), probiyotik sucuk üretimi ile ilgili yaptığı çalışmada, sucuk hamurunda başlangıçta 5.56-5.96 olan pH değerinin fermentasyon sonunda 5.08-5.20 aralığında ve 8 aylık depolama sonunda ise 4.84-4.95 aralığında olduğunu saptamış, depolama süresi ve kullanılan kültürlerin pH üzerinde etkili olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda da depolamanın etkisi bakımından, benzer sonuçlar bulunmuştur. Ancak kullandığımız kültürler pH üzerinde aynı düzeyde etki gösterdiği için bahsedilen çalışmadan farklılık göstermiştir.

4.3.2. Nem içerikleri

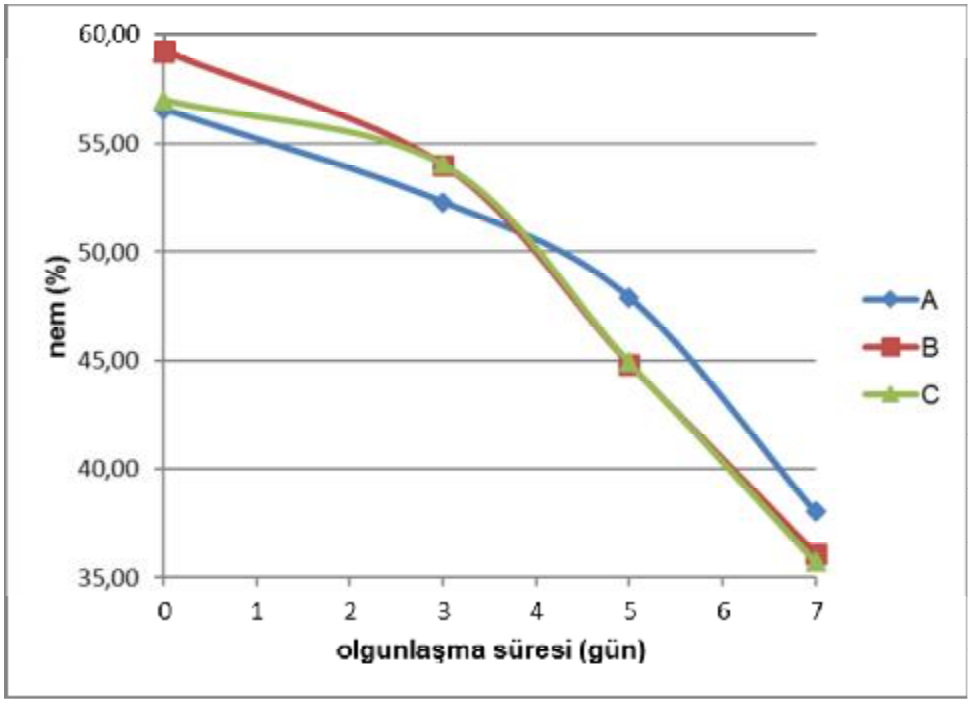
Kontrol grubu ve probiyotik sucukların olgunlaşmanın belirli günlerindeki nem miktarları, Çizelge 4.12 ve Şekil 4.11'de verilmiştir. Dolum öncesi sucuk hamurunda kontrol (A) grubu, serbest *L. rhamnosus* içeren (B) ve ME *L. rhamnosus* (C) içeren sucukların ortalama nem miktarları sırasıyla %56.59, %59.24 ve %57.02 olarak tespit edilmiştir. Her üç sucuk hamurunun, dolum öncesi nem miktarları birbirlerine çok yakındır. Çizelge 4.12'den de görüldüğü üzere olgunlaşma süresince, örneklerin nem miktarında düşüş gözlenmiştir. Olgunlaşma sürecinin sonundaki nem miktarlarında, her 3 grup sucuk için, yaklaşık olarak %20 düzeyinde düşüş

gözlenmiştir. Olgunlaşmanın 5. Gününde, nem miktarı %50'nin altına düşmüş, 7'inci günde ise %40'ın altına düşmüştür.

Çizelge 4.12. Olgunlaşma süresince sucuklardaki % nem değişimi

	0.gün	3.gün	5.gün	7.gün
A	56.59 ^{aA} ±0.89	52.29 ^{bA} ±1.10	47.91 ^{cAB} ±2.32	38.03 ^{dC} ±2.80
B	59.24 ^{aA} ±0.95	53.98 ^{bB} ±0.77	44.85 ^{cC} ±2.98	36.10 ^{dD} ±1.05
C	57.02 ^{aA} ±1.21	54.01 ^{bA} ±1.67	44.92 ^{cAB} ±7.39	35.73 ^{dC} ±2.10

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-D}$: olgunlaşma süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.11. Olgunlaşma süresince sucuklardaki % nem değişimi

A, B ve C ürünleri için olgunlaşma süresi ile nem sonuçları arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli, grupların varyansları homojen bulunmuştur. A örneği için; 0. ve 3. gündeki nem sonuçları ortalamaları ile 5. ve 7. günlerdeki pH ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; tüm gruplar arasında nem sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0. ve 3. gündeki

nem sonuçları ortalamaları ile 5. ve 7. günlerdeki pH ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

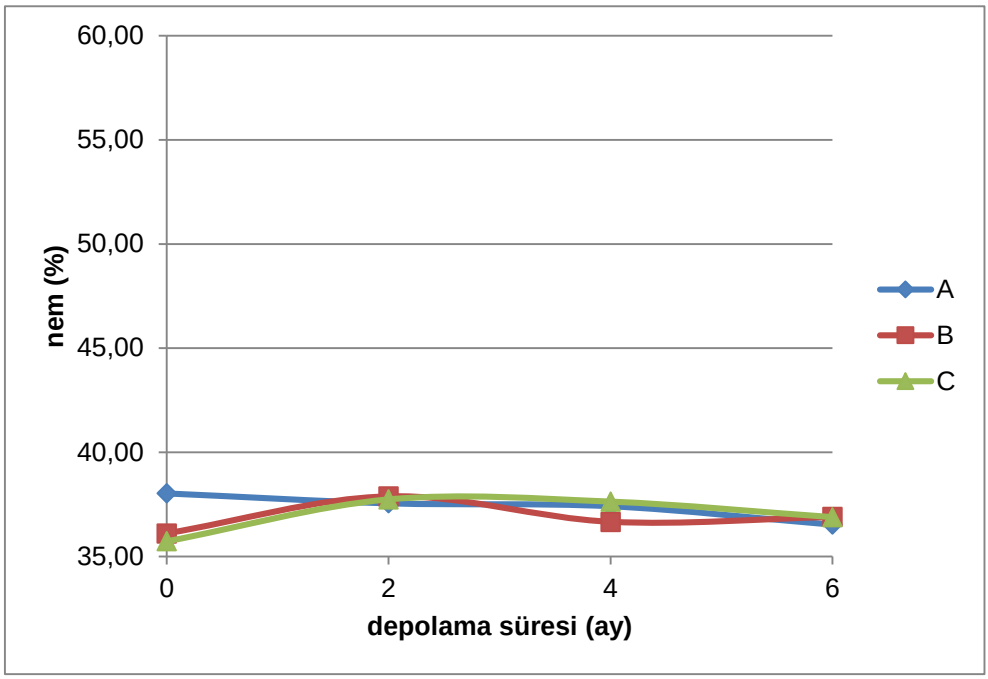
Tüm sucuk hamuru örnekleri için, nem üzerine, sucuk hamuru türü ve olgunlaşma süresi*sucuk hamuru türü interaksiyon etkisinin %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu, tek başına depolama zamanının ise önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Nem üzerine sucuk türünün etkisi, istatistiksel olarak önemsizken (A=B=C), olgunlaşma zamanı nem değişimi incelendiğinde, 0. günün istatistiksel olarak en önemli farklılığı oluşturduğu, bunu 3. günün, 5. günün değerlerinin takip ettiği görülmektedir. Önem düzeyi en az olan veri ise 7. güne aittir (0>3>5>7).

Kontrol grubu ve probiyotik sucukların depolama süresince nem değerleri, Çizelge 4.13'de ve Şekil 4.12'de verilmiştir. Depolama süresi sırasında, örneklerdeki nem miktarlarını incelediğimizde, nem miktarlarında önemli bir değişiklik olmamıştır (Şekil 4.12). Depolama sırasında örneklerimizdeki nem miktarında önemli değişikliğin olmamasının, vakum paketlemeden kaynaklandığı düşünülmektedir. Depolama süresi boyunca örneklerimizde nem miktarları, %36 ile 38 arasında değişmiştir.

Çizelge 4.13. Depolama sırasında sucuklardaki % nem değişimi

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	38.03 ^{aA} ±2.80	37.55 ^{bA} ±0.59	37.41 ^{cA} ±0.92	36.52 ^{dA} ±1.14
B	36.10 ^{dA} ±1.05	37.88 ^{aA} ±0.86	36.66 ^{cA} ±0.69	36.89 ^{bA} ±1.35
C	35.73 ^{dA} ±2.10	37.74 ^{aA} ±0.63	37.63 ^{bA} ±1.53	36.89 ^{cA} ±0.48

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.12. Depolama sırasında sucuklardaki % nem değişimi

A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile nem değerleri arasındaki ilişki, $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli olmadığı ve grupların varyanslarının homojen olduğu bulunmuştur.

Tüm sucuk hamuru örnekleri için, nem değerleri üzerinde, sucuk türü, depolama zamanı ve depolama zamanı*sucuk hamuru türü interaksiyon etkisi %5 yanılma düzeyinde önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Yani, nem değerleri üzerine sucuk türünün etkisi ve depolama zamanının (ay) etkisi istatistiksel olarak önemsizdir (A=B=C).

Çalışmamızda fermentasyon ve kurutma koşullarının ve süresinin, her üç sucuk örneğinde de aynı tutulmasına karşın, olgunlaşma süresi sırasında, örneklerdeki nem içerikleri, değişkenlik göstermiştir. Bu durumun ise, çalışma koşulları her ne kadar otomatik olarak ayarlanmış olsa dahi, kullanılan fermantasyon kabininin tasarımından kaynaklı homojen bir hava akışı olmamasından kaynaklanması olasıdır. Olgunlaşma sırasında istatistiksel olarak önemsiz olmakla birlikte mikroenkapsüle kültürlerin kullanıldığı sucuklarda nem içeriğinin daha düşük olması kapsül materyallerinin kuru madde miktarını arttırması ile açıklanabilmektedir. Depolama sırasında, sucuklardaki nem içeriklerine baktığımızda

ise, genel olarak değerlerin birbirlerine yakın olduğu görülmektedir. Depolama sırasındaki nem içeriğinde değişim olmamasının nedeninin, vakum ambalajdan kaynaklanması olarak belirtilmiştir. Vakum ambalajlamanın ürün karakteristiklerinin korunması açısından iyi bir ambalajlama yöntemi olduğu bildirilmiştir.

Konu ile ilgili olarak, yapılmış olan bazı çalışmalarda, sucuk hamurlarındaki nem miktarının, yaklaşık %50-60 aralığında değiştiği ve fermantasyon sonunda kurumanın bir sonucu olarak %35-45 aralığındaki değerlere düştüğü bildirlmiştir (Aksu, 2003; Serteser ve Gök, 2006; Ulusoy, 2007; Kaban, 2007; Gençcelep ve ark., 2007). Çalışmamızda da benzer olarak olgunlaşma süresinin sonunda, su kaybıyla birlikte nem miktarı kaynaklardaki belirtilen aralıktaki değerlere düşmüştür.

Serteser ve Gök (2006), buzdolabı koşullarında 3 ay boyunca polietilen poliamid (PE/PA) çift katlı plastikte vakum ambalajlı olarak muhafaza edilen sucuk örneklerinin nem niceliğinin, depolama başlangıcındaki nem niceliğine göre %7-9 oranında azalma gösterdiğini tespit etmiştir. Lin ve Chao (2001), yağ niceliği azaltılmış sucukların bazı kalite özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, vakum ambalajlı (PE/PA) ve +4±1ºC'de muhafaza edilen örneklerin nem niceliklerinin 9. hafta sonunda, başlangıç niceliğine göre yaklaşık %1-2 düzeyinde azalma olduğunu ortaya koymuştur. Bu olgu, ambalaj materyalinin nem geçirgenlik düzeyi ile doğrudan ilişkili olduğunu ve elde ettiğimiz sonuçları doğruladığını göstermektedir.

Yine, Ergönül (2009), farklı starter kültürler kullanarak ürettiği hindi sucuğunda başlangıçta sucuk hamurunda yaklaşık %50 civarında olan nem içeriğinin fermentasyon sonunda düşerek yaklaşık olarak % 31-36 aralığına geldiğini bildirmiştir. Ayrıca, 8 aylık depolama süresinin de örneklerin nem niceliği üzerinde önemli etkisinin olduğu, örnekler vakum ambalaj içinde ve buzdolabı koşullarında depolanmış olsalar dahi, sınırlı bir nem kaybının ortaya çıktığı açıkça görülmektedir. Bizim çalışmamızda da depolamanın etkisi ile ilgili benzer sonuçlar bulunarak bu bulgular desteklenmiştir. Ancak bizim çalışmamızda, kullanılan kültürlerin nem değeri üzerinde etkili olmadığı ve Ergönül (2009)'nın kullandıkları kültürlerin (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*) nem değeri üzerinde farklı etki gösterdiği saptanmıştır.

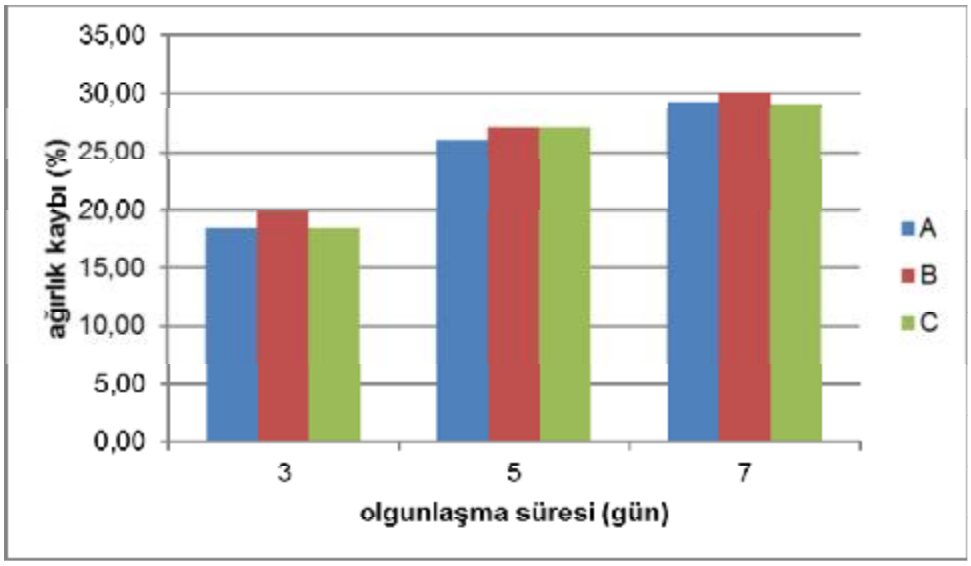
4.3.3. Ağırlık kaybı değerleri

Kontrol grubu ve probiyotik sucukların olgunlaşmanın belirli günlerindeki ağırlık kayıpları Çizelge 4.14 ve Şekil 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.14. Olgunlaşma sırasında, sucuklardaki % ağırlık kayıpları

	3.gün	5.gün	7.gün
A	18.47 ^{cA} ±1.22	26.09 ^{bB} ±0.40	29.29 ^{aC}±0.37
B	19.92 ^{cA} ±2.51	27.11 ^{bB} ±0.77	30.08 ^{aB} ±0.63
C	18.50 ^{cA} ±1.17	27.16 ^{bB} ±2.45	29.11 ^{aB} ±0.63

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-C}$: olgunlaşma süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.13. Olgunlaşma sırasında, sucuklardaki % ağırlık kayıpları

Olgunlaşmanın sonunda, örneklerdeki ağırlık kaybı, yaklaşık %30 düzeyinde bulunmuştur. A, B ve C ürünleri için olgunlaşma zamanı ile ağırlık kaybı, yüzde değişimleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli ve grupların varyansları homojen olarak belirlenmiştir. A örneği için; tüm gruplar arasında, olgunlaşma süresi ve ağırlık kaybı yüzde değişim değerleri ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 0. ve 3. gün ile 5. ve 7. günler için olgunlaşma süresi ve ağırlık kaybı yüzde değişim değerleri ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C

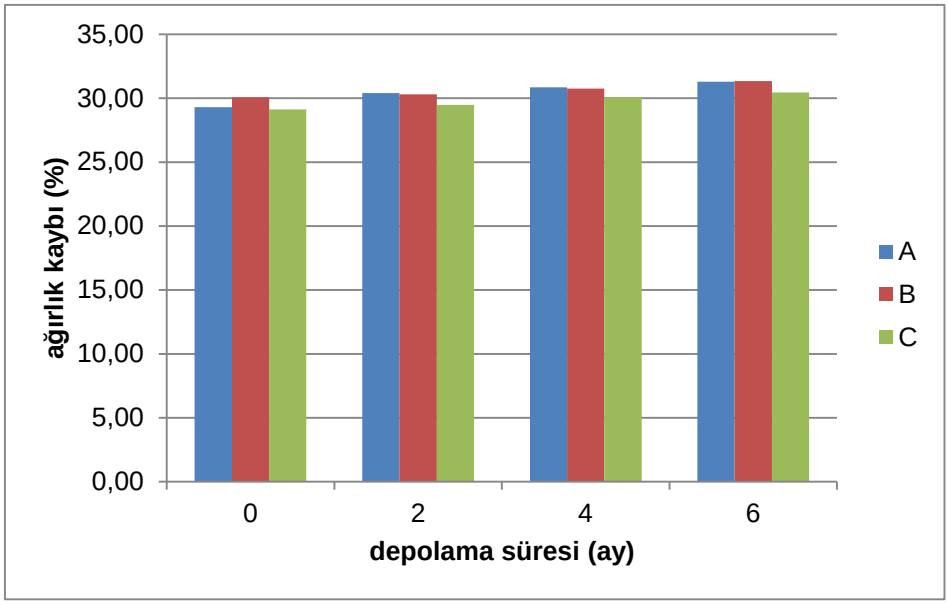
örneği için; 0. ve 3. gün ile 5. ve 7. günler için olgunlaşma süresi ve ağırlık kaybı yüzde değişim değerleri ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca, ağırlık kaybı üzerine sucuk türünün önemli olmadığı saptanmıştır (A=B=C). İstatistiksel olarak, olgunlaşma zamanı ile genel kabul edilebilirlik arasındaki ilişki incelendiğinde, en anlamlı verinin 7. günde elde edildiği, bu değerleri 5. ve 3. günlerin takip ettiği görülmektedir. Önem düzeyi en az olan veri ise 0. günde elde edilmiştir (7>5>3>0).

Kontrol grubu ve probiyotik sucukların depolama sürecindeki ağırlık kayıpları ise Çizelge 4.15 ve Şekil 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.15. Depolama sırasında, sucuklardaki % ağırlık kayıpları

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	29.29 ^{dA} ±0.37	30.38 ^{cA} ±1.43	30.83 ^{bA} ±1.19	31.28 ^{aA} ±1.43
B	30.08 ^{dA} ±0.63	30.28 ^{cA} ±0.77	30.75 ^{bA} ±0.64	31.34 ^{aA} ±0.97
C	29.11 ^{dA} ±0.63	29.48± ^{cA} 0.74	30.07 ^{bA} ±0.57	30.44 ^{aA}±0.64

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.14. Depolama sırasında, sucuklardaki % ağırlık kayıpları

6 aylık depolama süresinde ise, ağırlık kaybında önemli bir değişimin olmadığı görülmüştür. Ayrıca, örnekler arasında da ağırlık kaybı açısından önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Bu durumun da yine vakum ambalajdan kaynaklandığı düşünülmektedir. A, B ve C örnekleri için, depolama zamanı ile ağırlık kaybı değerleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli ve grupların varyansları homojen bulunmuştur. Tüm sucuk örnekleri için, ağırlık kaybı üzerine, sucuk türü ve depolama zamanı*sucuk hamuru türü interaksiyon etkisinin %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu, tek başına depolama zamanının ise önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Ağırlık kaybı üzerine, sucuk türünün (özellikle de, B ve C örnekleri) etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Ağırlık kaybı üzerine etki düzeyinin önemi ile ilgili sıralamada, en etkili sucuk türü B grubu iken, bunu, A grubu izlemekte ve en düşük önem düzeyindeki etkiyi ise C grubunun verdiği söylenebilir. (B>A>C). Depolama zamanına bağlı ağırlık kaybı karşılaştırmasında ise 6. ay en etkin ay iken, bunu sırayla 4, 2 ve 0. aylar takip etmektedir (6>4>2>0). Kullanılan kapsül materyalleri de su bağlama özelliğine sahip olduğundan C örneğindeki ağırlık kaybı daha az olmuştur.

Sucuk örneklerinin, fermentasyonu ve özellikle de kurutma aşamalarında, nem kaybına bağlı olarak ağırlık kaybı meydana gelmektedir. Ağırlık kaybı ile sucuğun nem oranı arasında çok önemli negatif korelasyon olduğu bildirilmiştir (Serteser ve Gök, 2006). Çizelge 4.15'de görüldüğü gibi, olgunlaşmanın 1. gününde, yaklaşık %19 seviyesinde olan ağırlık kaybı, olgunlaşrma sonunda yaklaşık %30 seviyesine kadar yükselmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, olgunlaşma süresince ölçülmüş olan su içeriği ile paralellik göstermektedir. Ağırlıkta meydana gelen kaybın tamamı, ortam sıcaklığı ve neme bağlı olarak, sucukların su kaybetmesinden kaynaklanmaktadır.

Yapılmış olan bazı çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, fermantasyonun ardından sucuklarda %22 ile %43 aralığında ağırlık kaybı meydana geldiği ve fermentasyon süresi uzadıkça ağırlık kaybının arttığı bildirilmiştir (Kaban, 2004 ve 2007; Çoksever, 2009; Serteser ve Gök, 2006; Gençcelep, 2006). Araştırmamızda üretilmiş olan sucuk örneklerinde de benzer sonuçlar elde edilmiş olup, fermentasyonun sonunda yaklaşık %30 düzeyinde bir ağırlık kaybı meydana

gelmiştir.

Ağırlık kaybı üzerinde olgunlaşma odasının sıcaklığı ve nemi, hava akımı, fermentasyon süresi, yağ içeriği, kılıf genişliği, kılıfın yapıldığı materyal, kullanılan starter kültürler gibi faktörlerin etkili olduğu ve starter kültür kullanımın ağırlık kaybını arttırdığı bilinmektedir. (Muguerza ve ark., 2002; Kaban, 2007; Gençcelep, 2006). Ancak, kendi çalışmamızda kullanılan kültürlerin ağırlık kaybı üzerinde etkisi olmadığı görülmüştür.

Depolama süresince ağırlık kaybı değerlerine bakıldığında, çalışmamızda % nem değerinde olduğu gibi, depolama sırasında, ağırlık kaybı istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş ve bu durumun yine kullanılan vakum ambalajdan kaynaklandığı düşünülmüştür.

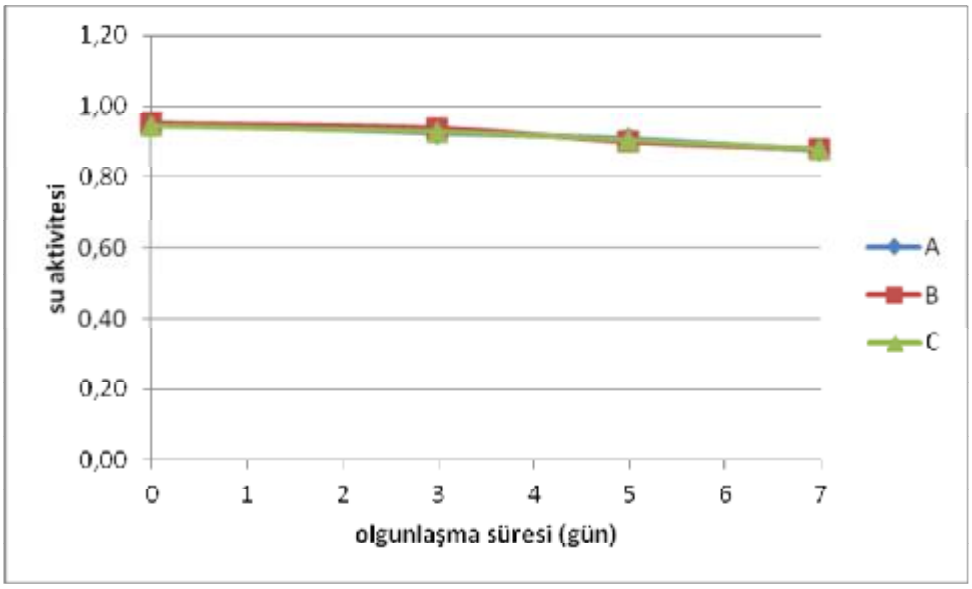
4.3.4. Su aktivitesi (Sa) değerlerleri

Kontrol grubu ve probiyotik sucukların olgunlaşmanın belirli günlerindeki su aktivitesi Çizelge 4.16 ve Şekil 4.15'de verilmiştir. Olgunlaşma süresince, su aktivitesinde düşüş gözlenmiştir. Her 3 grup sucuk örneği için başlangıçta 0.95 olan su aktivitesi değeri, olgunlaşmanın sonunda 0.88'e düşmüştür. Olgunlaşma sırasında, pH'nın düşmesi ile et proteinlerinin su tutma kapasitesi azalmakta ve böylece ürün kuruyarak daha sıkı bir yapı kazanmaktadır. Kuruma ile üründeki suyun bir kısmı uzaklaşmakta ve böylelikle Sa değeri düşmektedir (Kaban, 2007).

Çizelge 4.16. Olgunlaşma sırasında, sucuklardaki Sa değerleri

	0.gün	3.gün	5.gün	7.gün
A	$0.95^{aA} \pm 0.01$	$0.93^{bA} \pm 0.02$	$0.91^{cAB} \pm 0.01$	$0.88^{dC} \pm 0.01$
B	$0.95^{aA} \pm 0.01$	$0.94^{bA} \pm 0.01$	$0.90^{cB} \pm 0.01$	$0.88^{dC} \pm 0.01$
C	$0.95^{aA} \pm 0.01$	$0.93^{bA} \pm 0.01$	$0.91^{cB} \pm 0.01$	$0.88^{dC} \pm 0.01$

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-C}$: olgunlaşma süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.15. Olgunlaşma sırasında sucuklardaki Sa değerleri

A, B ve C ürünleri için olgunlaşma süresi ile su aktivitesi sonuçları arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli, grupların varyansları homojen bulunmuştur. A örneği için; 0. ve 3. günlerdeki su aktivitesi sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 0. ve 3. günlerdeki su aktivitesi sonuçları ortalamaları ile 5. ve 7. günlerdeki su aktivitesi ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0.05$), B örneği için; 0. ve 3. günlerdeki su aktivitesi sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 0. gün ile 3.gün su aktivitesi sonuçları ortalamaları ile 5.ve 7. günlerdeki su aktivitesi sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0. ve 3. günlerdeki su aktivitesi sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). 0. gün ile 3.gün su aktivitesi sonuçları ortalamaları ile 5.ve 7. günlerdeki su aktivitesi sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur($p<0.05$).

Tüm sucuk hamuru örnekleri için, su aktivitesi üzerinde, sucuk hamuru türü ve olgunlaşma süreci*sucuk hamuru türü interaksiyon etkisi %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu, tek başına olgunlaşma sürecinin ise, önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Sa üzerine, sucuk türünün etkisi istatistiksel olarak önemsiz (A=B=C) iken, olgunlaşma süresinde Sa değişiminin, 0. günün istatistiksel olarak en önemli farklılığı gösterdiği, bunu 3. günün ve 5. günün değerlerinin takip ettiği

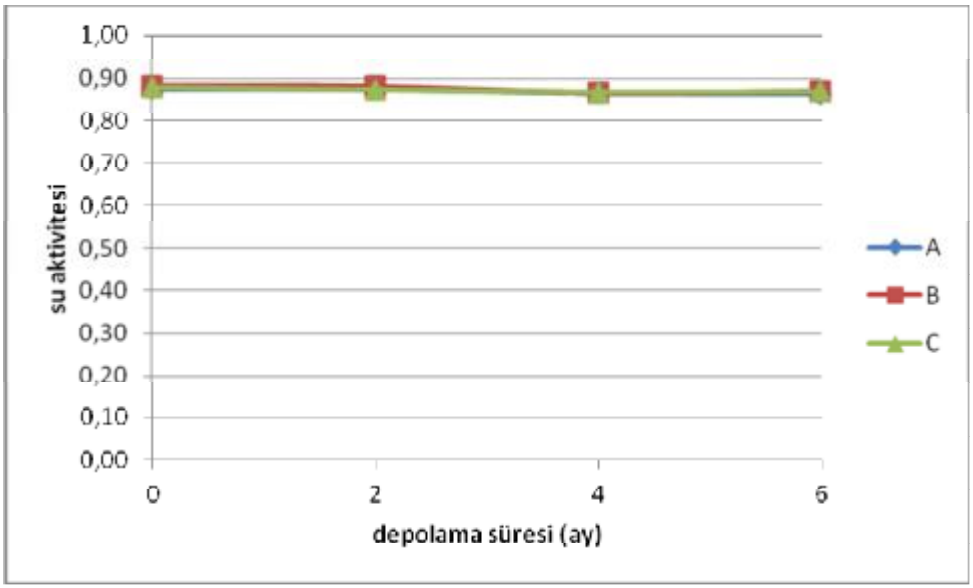
görülmektedir. Önem düzeyi en az olan değişimin ise 7. güne ait olduğu tespit edilmiştir (0>3>5>7).

Kontrol grubu ve probiyotik sucukların depolama sürecindeki su aktivitesi değerleri ise Çizelge 4.17 ve Şekil 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.17. Depolama sırasında sucuklardaki Sa değerleri

	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
A	0.88^{aA} ±0.01	0.88^{aA} ±0.01	0.87^{bB} ±0.00	0.87^{bB} ±0.00
B	0.88^{aA} ±0.01	0.88^{aA} ±0.00	0.87^{bB} ±0.00	0.87^{bB} ±0.00
C	0.88^{aA} ±0.01	0.87^{bA} ±0.00	0.87^{bA} ±0.00	0.87^{bA} ±0.00

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama $^{A-B}$: depolama süresi arasında farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir($p<0.05$)



Şekil 4.16. Depolama sırasında, sucuklardaki Sa değerleri

Depolama süresi boyunca, örneklerimizdeki su aktivitesi değerlerine bakıldığında, genel olarak aynı nem değerinde olduğu veya önemli bir değişiklik gözlenmediği belirlenmiştir. Bunun nedeni ise, daha önce de belirtildiği gibi vakum ambalajlamadır. Her 3 grup sucuk örneği için, depolama süresince su aktivitesi değerleri 0.88 ve 0.87 olarak bulunmuştur.

C örneği için depolama zamanı ile Sa değeri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, A ve B ürünü için depolama

zamanı ile Sa değeri arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Grupların varyansları homojendir. C örneği için ise; gruplar arasında, depolama zamanı ve sayım sonuçları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$).

Tüm sucuk örnekleri için, su aktivitesi üzerine, sucuk türü ve depolama zamanı*sucuk hamuru türü interaksiyon etkisi %5 yanılma düzeyinde önemsiz olduğu, tek başına depolama zamanının ise önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$).

Sa üzerine, sucuk türünün etkisi istatistiksel olarak önemsiz (A=B=C). Depolama zamanı* Sa değişimi incelendiğinde 0. ay ve 2. ayda elde edilen verilerin, 4. ay ve 6. ay verilerine oranla istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir. (0=2>4=6).

Olgunlaşma süresince, fermentasyon sırasındaki kurumanın doğal sonucu olarak su aktivitesinin düşmesi beklenmektedir. Konu ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda, sucuklardaki su aktivitesinin 0.81-0.92 gibi geniş bir aralıkta bulunduğu gözlenmektedir (Gençcelep 2006; Kaban 2007; Ulusoy 2007; Sadullahoğlu, 2010). Çalışmamızda bulunan sonuçlar da, bu sınırlar içerisindedir.

4.3.5. Sucuk örneklerindeki biyojen aminler

Probiyotik sucuk örneklerinde; triptamin, fenil etil amin, putresin, kadaverin, histamin, tiramin, spermidin ve spermin gibi biyojen aminlerinin varlığı ve niceliklerindeki değişmeler araştırılmıştır.

Depolama süresince saptanan biyojen aminler ve miktarları, Çizelge 4.18'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.18. Depolama süresince sucuk örneklerinde bulunan biyojen amin miktarları (mg/kg)

	A				B				C			
	0. ay	2. ay	4. ay	6. ay	0. ay	2. ay	4. ay	6. ay	0. ay	2. ay	4. ay	6. ay
triptamin	27.98^{dA}	43.55^{cAB}	57.39^{bA}	61.66^{aA}	8.99^{dC}	28.87^{cB}	37.70^{bAB}	52.24^{aA}	10,06^{dB}	15,57^{cB}	53,19^{bA}	56,09^{aA}
fenil etil amin	10.28^{dC}	14.66^{cBC}	18.89^{bB}	25.14^{aA}	1.47^{dB}	3.02^{cAB}	4.99^{bA}	4.99^{aA}	1,03^{cBC}	0,74^{dC}	3,83^{bAB}	5,40^{aA}
putresin	260.57^{dD}	404.41^{cC}	447.49^{bB}	535.13^{aA}	177.92^{dC}	314.48^{cB}	338.38^{bB}	522.57^{aA}	165,07^{dD}	334,21^{cC}	399,89^{bB}	510,16^{aA}
kadaverin	60.59^{dC}	63.98^{cC}	156.30^{aA}	121.96^{bB}	16.29^{dC}	21.67^{cC}	93.29^{bB}	169.27^{aA}	8,96^{dC}	12,83^{cC}	91,17^{bB}	166,84^{aA}
histamin	115.95^{dD}	145.72^{cC}	270.34^{aA}	232.31^{bB}	84.01^{dD}	110.76^{cC}	207.77^{bB}	401.90^{aA}	54,62^{dD}	113,31^{cC}	283,92^{bB}	358,78^{aA}
tiramin	121.02^{dD}	211.69^{cC}	259.69^{bB}	312.16^{aA}	78.88^{dC}	158.25^{cB}	164.58^{bB}	236.27^{aA}	82,40^{dC}	180,75^{cB}	192,95^{bB}	238,12^{aA}
spermidin	5.42^{cB}	4.75^{dB}	6.54^{bB}	10.06^{aA}	4.75^{dC}	6.85^{aA}	5.94^{bAB}	5.38^{cC}	5,77^{cB}	7,97^{aA}	5,31^{dB}	5,99^{bB}
spermin	33.83^{aA}	28.23^{cA}	24.20^{dA}	28.61^{bA}	28.63^{dC}	30.57^{cC}	37.71^{aA}	32.54^{bB}	32,77^{bB}	27,90^{dC}	29,99^{cBC}	36,97^{aA}

$^{a-d}$: istatistiksel ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama; $^{A-D}$: depolama süresine göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

Çalışmamızda sucuk örneklerinde saptanan biyojen aminlerden, triptamin 8.99-61.66 mg/kg, fenil etil amin 1.03-25.14 mg/kg, putresin 165.07-535.13 mg/kg, kadaverin 8.96-169.27 mg/kg, histamin 54.62-401.90 mg/kg, tiramin 78.88-312.16 mg/kg, spermidin 4.75-10.06 mg/kg ve spermin miktarı 24.20-36.97 mg/kg arasında bulunmuştur. Sonuçlardan da görüldüğü üzere, sucuk örneklerinde, en yüksek putresin bulunurken, bunu sırasıyla kadaverin, histamin, tiramin ve triptamin takip etmiştir. Fenil etil amin, spermin ve spermidin miktarlarının ise düşük düzeylerde olduğu saptanmıştır. Sucuk ve fermente sosislerle ilgili yapılan bazı çalışmalarda da, benzer olarak baskın biyojen aminlerin putresin, kadaverin, histamin, tiramin ve triptamin olduğu bildirilmiştir (Şenöz ve ark., 2000; Komprda ve ark., 2004; Ekici ve ark., 2004). Şimdiye kadar sucuktaki biyojen amin miktarı ile ilgili yapılan çalışmalarda, 123.45-619 mg/kg düzeyinde triptamin, 9.70-56.85 mg/kg fenil etil amin, 72-919 mg/kg putresin, 18.2-76.7 mg/kg kadaverin, 8.2-478.2 mg/kg histamin, 20-169.4 mg/kg tiramin, 7.6-8.9 mg/kg spermidin ve 33.2-38 mg/kg spermin tespit edildiği bildirilmiştir (Şenöz ve ark., 2000; Ekici ve ark., 2004, Erkmen ve Bozkurt, 2004; Bozkurt ve Erkmen, 2004). Çalışmamızda tespit edilen biyojen amin miktarları incelendiğinde elde edilen değerlerin literatürde saptanan değer aralıklarında olduğu ve literatür bilgilerinin desteklediği görülmektedir. Özellikle putresin, histamin ve tiramin miktarlarının 2. aydan sonra artış gösterdiği, putresinin en fazla 6. ayda 535.13 ppm, histaminin en fazla 401.90 ppm ve tiramin'in ise en fazla 312.16 ppm değerlerine kadar çıktığı görülmektedir. Çalışmamızda depolama süresi arttıkça biyojen amin miktarının artış göstermesi, sucukların depolama süreçlerinde biyojen aminlerin önemini vurgulamıştır.

Çizelge 4.18'den de görüldüğü üzere, biyojen amin miktarı, depolama sonuna doğru, tüm örneklerde genel olarak artış göstermiştir. Depolama esnasında belirlediğimiz biyojen amin niceliğindeki artışın sebebi, başlangıçta yüksek düzeyde biyojen amin olması veya sucukta mikrobiyolojik aktivitenin ve dekarboksilaz enzimi sentezinin buzdolabı koşullarında da devam etmiş olması ile açıklanabilmektedir (Ergönül, 2009). Ayrıca çalışmamızdaki sonuçlardan da görüldüğü üzere (Çizelge 4.19) probiyotik kültür içeren sucuklardaki biyojen amin miktarının kontrol grubundan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda

probiyotik kültür içeren sucuklarda biyojen amin oluşumunun daha düşük olması, probiyotik kültürlerin biyojen amin oluşumunu azaltıcı yönde rol üstlendiğini düşündürmüştür. Nitekim bazı araştırmalarda çalışma sonucumuzu destekler nitelikte, kullanılan probiyotik kültürlerin biyojen amin oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (Erkkila ve ark., 2001b). Bazı araştırmacılar tarafından da, starter kültür ilavesinin biyojen amin oluşumunu azaltıcı yönde etki yaptığı bildirilmiştir. Ayıca, kullanılan starter kültürlerin türüne, miktarına ve katkı maddelerine bağlı olarak biyojen amin miktarında değişiklikler olduğunu ve spontan flora ile üretilen ürünlerde daha yüksek biyojen amin belirlendiği belirtilmiştir (Şenöz ve ark., 2000; Erkmen ve Bozkurt, 2004; Gençcelep, 2006). Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre, starter kültür miktarı ve çeşidi biyojen amin miktarı üzerinde etkili olmuş ve starter kültüre ilave olarak probiyotik kültür içeren B ve C sucuk örneklerinde biyojen amin oluşumunun daha düşük olması literatür bilgilerini desteklemiştir.

Ergönül ve Kundakçı (2011), probiyotik sucuk örneklerinde 8 aylık depolama süresince, biyojen amin miktarındaki değişimleri inceledikleri çalışmada, biyojen amin miktarlarının depolama sonunda genel olarak artış gösterdiğini ve biyojen aminlerden putresinin, yaklaşık 4-35 ppm, kadaverinin 4-18.5 ppm, histaminin 5.5-11 ppm, tiraminin ise 4.5-9.5 ppm aralığında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, gerek kullanılan kültürlerin, gerekse de depolama sürecinin istatistiksel olarak biyojen amin üzerinde önemli etkilerinin olduğunu göstermiştir.

A, B, C örnekleri için, depolama zamanı ile spermin hariç triptamin, fenil etil amin, kadaverin, putresin, histamine, tiramin ve spermidin gibi biyojen aminlerin değer ortalamaları farkları arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu biyojen aminlerin değer ortalamaları farkları üzerinde sucuk türü, depolama zamanı ve sucuk türü*depolama zamanı arasındaki interaksiyon önemli bulunmuştur. Sucuk türleri arasında, biyojen amin değer ortalamaları farkları üzerinde en belirgin değişim A türünde tespit edilirken, bunu sırasıyla eşit önem düzeyinde B ve C türleri takip etmiştir. Depolama süresi, incelendiğinde değer ortalamaları farkları üzerinde en belirgin değişim depolamanın 6. ayında elde edilmiş ve bunu sırasıyla, 4., 2. ve 0. aylar takip etmiştir.

Putresin ve tiramin diğer biyojen aminlere kıyasla fermente et ürünlerinde fazla miktarda bulunan biyojen aminlerdir (Kurt, 2006). Bazı örneklerde ise putresin miktarının 450 mg /kg'a kadar arttığı da bildirilmektedir (Suzzi ve Gardini, 2003). Yapılan araştırmalarda histamin için toksik değerin 100 mg/kg olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda, 2. ay itibariyle örneklerdeki histamin miktarının toksik sınırı geçtiği görülmektedir. Ayrıca tiraminnin sucukta ve fermente sosislerde en önemli aminlerden biri olduğu bildirilmiştir (Şenöz ve ark., 2000; Bozkurt ve Erkmen, 2002; Ekici ve ark., 2004; Çolak ve Uğur, 2002). Çalışmamızdaki sonuçlar incelendiğinde kaynak araştırmalara benzer olarak tiraminin baskın biyojen aminlerden olduğu görülmekte ve kaynaklar desteklenmektedir.

A, B, C ürünleri için depolama zamanı ile spermin değer ortalamaları farkları arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Grupların varyansları homojendir. Spermin değer ortalamaları farkları üzerinde sucuk türü, depolama zamanı ve sucuk türü*depolama zamanı arasındaki interaksiyon önemli bulunmuştur. Sucuk türleri arasında spermin değer ortalamaları farkları üzerinde en belirgin değişim eşit önem düzeyinde B ve C türlerinde tespit edilirken, bunu A türü takip etmektedir. Depolama süresi incelendiğinde spermin değer ortalamaları farkları üzerinde en belirgin değişim depolamanın 6. ayında elde edilmiş ve bunu eşit önem düzeyinde 0. ve 4. aylar takip etmiştir. 2. ay ise en az değişimin görüldüğü depolama ayı olarak belirtilmiştir.

Fermente sosis ve sucukta bulunan biyojen aminlerden, spermin ve spermidin hammaddede bulunan temel aminler olup fermantasyon sırasında çok az değişiklik gösterirler (Bover-Cid ve ark., 2001; Gençcelep, 2006). Üretimde kullanılan ham materyal son üründeki spermin ve spermidin miktarına katkıda bulunmakta, olgunlaşma sırasında mikrobiyal dekarboksilasyonla oluşmadığı için ise miktar bakımından önemli bir değişiklik gözlenmemektedir (Ansorena ve ark., 2002; Suzzi ve Gardini; 2003). Ayrıca çesitli çalışmalarda fermente sosislerde belirlenen spermin miktarının spermidin miktarından daha fazla olduğu belirtilmektedir (Komprda ve ark. 2001; Bover-Cid ve ark. 2000b; Çolak ve Ugur 2002; Bozkurt ve Erkmen 2004). Bu literatür bilgileri doğrular nitelikte, kendi çalışmamızda spermin

ve spermidin miktarlarının genel olarak benzer miktarlarda olduğu ve spermin miktarının spermidini miktarından daha fazla olduğu görülmektedir.

4.3.7. Sucuk örneklerindeki aroma maddeleri

Sucuk örneklerinin üretim sonundaki ve 6 aylık depolama sürecinde belirlenen uçucu aroma bileşikleri, Çizelge 4.19'da verilmiştir. Olgunlaşmasını tamamlamış ve depolama periyodu süresince aroma içeriği izlenen sucuklardan, 60 adet aromatik bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden 6'sı aldehitler, 10'u asitler, 5'i alkoller, 3'ü esterler, 2'si kükürtlü bileşikler ve 34'ü terpenler olarak saptanmıştır. Sucuk örneklerindeki toplam aroma maddeleri miktarı ise 9964.5-45135.4 µg/kg arasında değişmiştir.

Çizelge 4.19. Depolama periyodundaki sucuklarda aroma maddeleri miktarı (µg/kg)

	A				B				C			
	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
Aldehitler	133.9	118.7	217.5	104.9	207,3	215.3	398.2	135.4	367.4	472.5	303.9	198.4
Esterler	76.5	67.5	108.4	50.7	95.3	73.7	146.5	53.8	189.4	229.7	106.7	56.7
Kükürtlü Bileşikler	344.2	204.3	198.8	100.1	277.9	298.6	302.5	137.4	506.8	514.6	329.5	243.9
Terpenler	17787.2	11223.3	17016.3	11076.7	12566.1	15454.1	22408.5	8696.5	31492.4	39392.7	28752.7	8087.4
Alkoller	718.6	453.4	625.2	351.6	793.5	841.5	768.7	378.2	1347.4	1374.1	520.5	352.0
Asitler	975.1	538.8	706.8	380.1	1395.6	1368.6	1237.8	563.2	1597.9	3151.7	969.8	1213.9
GENEL TOPLAM	20035.4	12598.2	18873.1	12064.0	15335.83	18251.8	25262.1	9964.5	35501.2	45135.4	30983.1	10152.4

Sucuk örneklerindeki toplam aroma bileşiklerine ait miktarları, 6.ay hariç olmak üzere, çoktan aza doğru sırasıyla C, B ve A örneklerinde olduğu saptanmıştır. C ve B örneklerinde starter kültürün yanısıra probiyotik kültür varlığının olması, aroma miktarını etkilemiş ve daha fazla aroma oluşumuna neden olmuştur. Ayrıca, tüm sucuk örnekleri içinde, en fazla aroma içeriğine sahip olan örneğin C olmasının, mikrokapsülasyondan kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Nitekim, gıda endüstrisinde mikroenkapsülasyon tekniği aroma bileşiklerini korumak ve onların ortaya çıkışlarını kontrol etmek için sıklıkla kullanılmaktadır. Kaplama materyalleri, aroma bileşiklerinin kaybını önleyen koruyucu bariyer görevini yapmakta ve bu şekilde aroma maddelerinin stabilitesi sağlamaktadır (Mongenot ve ark., 2000; Goubet ve ark., 2001; Gharsallaoui ve ark., 2007).

Sucukta bulunan aroma maddelerinin daha önce de belirttiğimiz üzere lipit oksidasyonu (aldehitler), amino asit oksidasyonu, amino asit şeker reaksionları, havyan yemleri ve baharatlardan ileri geldiği bilinmektedir. Baharattan kaynaklanan uçucu bileşiklerin çok önemli bir kısmını terpenler, geri kalan kısmını ise sülfürlü bileşikler, esterler ve alkoller oluşturmaktadır. Yapılan bazı araştırmalarda, sucuk ve fermente kuru sosis gibi ürünlerden alkanlar, alkenler, aldehitler, ketonlar, alkoller, aromatik hidrokarbonlar, karboksilik asitler, esterler, terpenler, kükürtlü bileşikler, furanlar, pirazinler, aminler gibi bileşikler tespit edilmiştir (Çakır 2010; Janssens ve ark., 2012).

4.3.7.1. Aldehitler

Sucuk örneklerinin üretim sonundaki ve 6 aylık depolama sürecinde belirlenen aldehit bileşikleri Çizelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.20. Depolama periyodundaki sucuklardaki aldehit miktarı (µg/kg)

	A				B				C			
Aldehitler	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
hekzenal	20.9^{dB}	21.9^{bB}	31.9^{aA}	21.4^{cB}	25,0^{cB}	23.3^{bB}	42.3^{aA}	11.5^{dC}	45.5^{aA}	36.4^{bAB}	31.2^{cAB}	16.8^{dC}
oktanal	12.6^{bA}	9.1^{dA}	15.6^{aA}	9.9^{cA}	29,5^{aA}	20.6^{cAB}	25.9^{bAB}	4.5^{dC}	55.4^{aA}	47.3^{bAB}	22.8^{cBC}	7.6^{dC}
nonanal	28.4^{cA}	30.9^{aA}	30.6^{bA}	20.3^{dA}	41,6^{bA}	40.4^{cA}	44.9^{aA}	9.8^{dB}	71.1^{bB}	133.8^{aA}	43.8^{cBC}	10.9^{dC}
hekza dekanal	31.2^{dB}	40.2^{bB}	112.3^{aA}	36.1^{cB}	61,7^{dB}	77.9^{cB}	250.1^{aA}	90.6^{bB}	134.4^{dA}	186.8^{bA}	189.1^{aA}	139.9^{cA}
benzaldehit	7.3^{aA}	1.6^{dC}	4.5^{bAB}	2.9^{cAB}	5,9^{bB}	4.1^{dB}	25.9^{aA}	4.4^{cB}	15.0^{bAB}	21.5^{aA}	7.9^{cAB}	3.6^{dC}
etil benzaldehit	33.7^{aA}	14.9^{cA}	22.7^{bA}	14.5^{dA}	44,0^{bA}	48.9^{aA}	8.9^{dA}	14.7^{cA}	45.9^{bAB}	46.6^{aA}	9.1^{dC}	19.5^{cAB}
Toplam	**133.9**	**118.7**	**217.5**	**104.9**	**207,3**	**215.3**	**398.2**	**135.4**	**367.4**	**472.5**	**303.9**	**198.4**

$^{a-d}$: istatistiksel ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama; $^{A-D}$: depolama süresine göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

Aldehitler, sucukta aromayı etkileyen ve metabolit olarak oluşan lipit oksidasyon ürünleridir (propanal, pentanal, hekzanal, heptanal, oktanal, nonanal) (Janssens ve ark., 2012). Lipid oksidasyonunun son ürünleri oldukça uçucudur ve düşük algılama eşikleri olduğu için oldukça önemlidirler. Lipit oksidasyonu sonucu ağırlıklı olarak aldehitler oluşmakla birlikte alkoller, ketonlar, furanlar vb. de oluşabilmektedir. Dallanmış aldehitler lipitotooksidasyonu ile meydana gelirken (2 metil propanal, 2 metil bütanal, 3 metil bütanal) buna karşın kısa zincirli olanlar (formaldehit, asetaldehit, propanal) ise karbonhidrat metabolizması ile meydana gelmiştir (Ordonez ve ark., 1999). Lipit oksidasyonu sonucu oluşan bileşiklerden 2-heptenal ve hekzenal in yağsı, patates kokusuna benzeyen ve et ürünlerinde önemli lezzet bozukluklarına yol açmaktadır.

Lipitler olgunlaşma esnasında oksidatif ve lipolitik aktiviteden gelen aroma maddelerinin temel kaynağını oluşturmaktadır. Laktobasil türleri genel olarak zayıf lipolitiktirler ve hidrojen peroksit üretimleri yüksektir. Hidrojen peroksit üretimi gıdanın korunmasında yararlı olmakla birlikte, lipid oksidasyonunu da tetikleyici etkiye sahiptir (Moyano ve ark., 2011b) Depolama süreci arttıkça genelde lipit oksidasyonu da artmaktadır (Triki ve ark., 2013).

Moyano ve ark. (2011a), fermente sosislerde probiyotik kültür kullanımının ürünün fizikokimyasal özelliklerindeki değişimi inceledikleri çalışmadan probiyotik kültürlü *Lactobacillus fermentum* HL57 ve *P. acidilactici* SP979) sucuklardaki aldehit içeriğinin kontrol sucuğundan daha az olduğunu saptamışlardır.

Çizelge 4.19'dan da görüldüğü üzere örneklerdeki aldehit miktarı (104.9-472.5 µg/kg) değişkenlik göstermiş ve depolama süreci boyunca 6. aya kadar bazı örneklerdeki aldehitlerde azalış bazılarında ise artış gözlenmiştir. 6. ayın sonunda ise başlangıçtaki aldehit miktarı ile karşılaştırıldığında bir azalış gözlenmiştir. Benzer bazı çalışmalarda, depolama süresi boyunca, toplam aldehit miktarında artış gözleneceği bildirilmesine karşın, bizim çalışmamızda toplam aldehit miktarları değişkenlik göstermiştir (Serteser ve Gök, 2006). Örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise probiyotik kültür içeren B ve C örneklerindeki toplam aldehit miktarının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Aldehitler, 6. ayın sonunda genel olarak azalmış ve hekzanal, oktanal ve nonanal miktarları A örneğinde, B ve C

örneklerine göre daha yüksek bulunmuştur. 6. ayda B ve C örneklerindeki düşük aldehit miktarının olması, probiyotiklerin antioksidatif özelliklerine bağlanabilmektedir. Zhang ve Zhang (2013), probiyotik özelliğe sahip bazı mikroorganizmaların, antioksidatif etkilerinin olduğunu ve özellikle de beta oksidasyonunu desteklediklerini bildirmişlerdir. Antioksidatif etkiler ile lipit oksidasyonunun önüne geçilebileceği bildirilmiştir. Literatürdeki bilgileri destekler şekilde çalışmamızda saptanan aldehitlerden hekzanal, oktanal, nonanal ve tetra dekanal miktarları C örneği hariç 4. aya kadar artış göstermiştir.

Çalışmamızda, toplam aldehit miktarının değişkenlik göstermekle birlikte bazı aldehitler için 4. aya kadar artış gösterdiği 6. ayda ise azaldığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada sucuk örneklerinin 8 aylık depolama periyodu sonrasında TBA miktarlarında artış olduğu bildirilmiştir. TBA sayısının, örnekte bulunan oksidasyon ürünü bileşiklerin niceliği hakkında bilgi vermektedir (Ergönül, 2009).

4.3.7.2. Terpenler

Sucuk örneklerinin üretim sonundaki ve 6 aylık depolama sürecinde belirlenen terpen bileşikleri, Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.21. Depolama periyodundaki sucuklardaki terpen miktarı (µg/kg)

	A				B				C			
Terpenler	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
alfa pinen	638.4^{dC}	882.6^{cBC}	1062.6^{bB}	1593.0^{aA}	610.8^{cBC}	2478.2^{aA}	1141.7^{bB}	517.9^{dC}	1061.8^{bA}	1192.2^{aA}	597.8^{cB}	422.0^{dB}
alfa tujen	380.8^{dB}	368.3^{bB}	330.2^{aA}	402.5^{cB}	219.2^{cB}	326.8^{bB}	526.7^{aA}	29.0^{dC}	458.3^{aA}	626.2^{bAB}	355.9^{cAB}	375.2^{dB}
beta pinen	3748.1^{aA}	2276.3^{cB}	1953.4^{dB}	2394.4^{bAB}	2653.3^{bA}	2635.5^{cA}	2748.7^{aA}	1912.6^{dA}	5534.8^{cA}	7696.9^{aA}	7123.0^{bA}	1409.0^{dB}
sabinen	742.5^{bB}	493.6^{dC}	1222.2^{aA}	622.7^{cBC}	437.3^{cB}	618.3^{bB}	1509.9^{aA}	364.7^{dB}	1167.6^{bA}	2253.4^{aA}	884.9^{cA}	525.7^{dA}
□-3-karen	181.6^{cB}	108.2^{dB}	335.3^{aA}	184.7^{bB}	129.1^{cB}	146.6^{bB}	339.7^{aA}	92.0^{dB}	299.2^{bAB}	435.5^{aA}	217.4^{cAB}	128.3^{dB}
alfa felandren	370.1^{cBC}	245.8^{dC}	766.4^{aA}	436.3^{bB}	162.4^{cB}	275.5^{bB}	723.1^{aA}	114.0^{dB}	654.1^{aA}	579.4^{bA}	272.2^{cB}	133.3^{dC}
1,8 cineol	188.5^{dAB}	84.1^{cB}	369.7^{aA}	271.3^{bAB}	101.5^{bB}	85.7^{cB}	298.9^{aA}	76.2^{dB}	341.3^{aA}	273.94^{bA}	114.1^{cB}	64.7^{dB}
gama terpinen	6384.2^{aA}	3756.5^{bB}	2585.7^{cB}	1848.7^{dB}	4059.7^{cA}	4665.3^{aA}	4465.7^{bA}	3271.2^{dA}	10973.3^{cA}	11602.6^{aA}	11286.8^{bA}	1810.7^{dB}
p-simen	1611.8^{bAB}	1059.7^{cAB}	3382.9^{aA}	1072.0^{dB}	1098.1^{bB}	1093.3^{cB}	1273.8^{aA}	946.9^{dB}	3504.5^{bAB}	3468.2^{aA}	3489.1^{cB}	1530.4^{dB}
alfa terpinolen	30.6^{aA}	23.5^{bA}	23.4^{cA}	22.1^{dA}	43.0^{bB}	42.2^{cB}	90.8^{aA}	17.9^{dC}	44.2^{bAB}	76.6^{aA}	13.2^{cBC}	7.0^{dC}
Linalool	213.5^{aA}	61.7^{cA}	189.2^{bA}	57.0^{dA}	126.5^{bB}	91.5^{cB}	376.4^{aA}	76.9^{dB}	381.8^{bAB}	476.8^{aA}	136.2^{cBC}	46.8^{dC}
izo karyoflen	328.9^{aA}	167.6^{dA}	313.9^{bA}	171.9^{cA}	292.0^{cB}	349.7^{bB}	847.5^{aA}	156.1^{dB}	1082.8^{aA}	994.4^{bAB}	461.5^{cAB}	120.9^{dB}
4 terpineol	45.6^{aA}	18.8^{cA}	23.6^{bA}	17.9^{dA}	28.0^{bB}	25.5^{cB}	176.6^{aA}	23.2^{dB}	188.6^{aA}	170.6^{bA}	130.6^{cA}	40.5^{dA}
alfa humulen	18.5^{aA}	10.5^{dA}	17.5^{bA}	14.2^{cA}	43.9^{bB}	30.5^{cBC}	80.8^{aA}	13.5^{dC}	116.8^{aA}	100.3^{bAB}	63.8^{cAB}	29.5^{dC}
E- beta farnesen	12.5^{cA}	13.9^{bA}	24.7^{aA}	8.8^{dA}	50.1^{bA}	28.8^{cB}	59.9^{aA}	14.9^{dB}	86.4^{aA}	63.9^{bAB}	38.5^{cBC}	17.7^{dC}
alfa-kopaen	27.4^{bA}	24.4^{cA}	29.9^{aA}	8.8^{dA}	48.4^{bAB}	42.6^{cC}	77.7^{aA}	16.2^{dC}	79.4^{bA}	106.4^{aA}	61.0^{cAB}	23.1^{dB}
alfa terpineol	105.5^{aA}	20.3^{dB}	37.9^{bB}	22.5^{cB}	59.4^{bB}	48.0^{cB}	230.^{aA}	33.1^{dB}	199.1^{bA}	220.9^{aA}	125.13^{cA}	28.8^{dA}

Çizelge 4.21. Devamı

beta bisabolen	15.9^{bA}	6.4^{dA}	21.5^{aA}	11.3^{cA}	38.5^{bB}	33.8^{cB}	74.9^{aA}	17.3^{dB}	80.6^{aA}	63.5^{bA}	56.9^{cAB}	32.5^{dB}
delta kadinen	29.6^{dA}	49.2^{bA}	45.2^{cA}	54.5^{aA}	155.9^{aA}	62.1^{bB}	48.1^{cB}	2.0^{dC}	76.8^{bB}	237.2^{aA}	29.9^{cB}	1.5^{dB}
Safran	175.8^{aA}	15.5^{cB}	25.7^{bB}	4.2^{dB}	36.8^{cBC}	64.7^{bAB}	96.3^{aA}	12.5^{dC}	237.4^{aA}	166.5^{bA}	37.7^{cA}	23.4^{dA}
anisol	39.9^{aA}	25.8^{bA}	21.5^{cA}	19.9^{dA}	48.2^{bB}	43.7^{cB}	129.63^{aA}	23.2^{dB}	215.4^{aA}	171.5^{bA}	61.7^{cA}	38.5^{dA}
p simen 8 ol	41.5^{aA}	6.9^{cB}	14.8^{bB}	3.1^{dB}	42.8^{aA}	14.3^{cBC}	35.5^{bAB}	6.4^{dC}	51.7^{bA}	54.7^{aA}	9.9^{dB}	14.3^{cB}
kamphen	20.3^{cB}	20.3^{bB}	63.6^{aA}	14.6^{dB}	69.9^{bB}	40.6^{cB}	225.8^{aA}	17.3^{dB}	183.2^{bA}	194.1^{aA}	85.0^{cB}	24.6^{dB}
metil öjenol	352.1^{aA}	135.6^{cA}	274.2^{bA}	104.1^{dA}	340.0^{bB}	269.1^{cB}	1920.7^{aA}	155.8^{dB}	726.3^{bAB}	1714.5^{aA}	624.2^{cAB}	272.0^{dC}
germakren D	9.9^{bAB}	6.7^{cB}	18.3^{aA}	5.4^{dB}	25.1^{bAB}	15.4^{cBC}	35.3^{aA}	4.1^{dC}	41.2^{aA}	33.5^{bA}	22.1^{cAB}	13.1^{dB}
p-cymen	167.2^{bAB}	69.7^{cAB}	250.2^{aA}	51.4^{dB}	191.7^{bB}	112.1^{cB}	650.4^{aA}	51.0^{dB}	362.6^{bAB}	709.8^{aA}	168.3^{cB}	92.2^{dB}
Öjenol	228.6^{aA}	36.1^{cB}	187.5^{bA}	26.3^{dB}	108.2^{bB}	66.9^{cB}	396.7^{aA}	32.1^{dB}	412.3^{aA}	390.1^{bA}	100.5^{cA}	55.1^{dA}
Kopaen	15.2^{bA}	9.6^{dA}	20.0^{aA}	13.7^{cA}	40.0^{bA}	25.85^{cA}	56.4^{aA}	9.5^{dA}	39.2^{bA}	66.7^{aA}	30.3^{dA}	35.0^{cA}
beta mirsen	358.6^{cB}	268.1^{dB}	1280.8^{aA}	545.7^{bB}	239.8^{cC}	796.45^{bB}	1433.5^{aA}	114.0^{dC}	644.2^{cBC}	2475.4^{aA}	1164.8^{bB}	338.3^{dC}
alfa terpinen	37.5^{bB}	27.0^{dB}	132.7^{aA}	33.3^{cB}	35.2^{bB}	53.7^{aA}	27.3^{cB}	25.6^{dB}	170.5^{bA}	174.8^{aA}	61.7^{cB}	27.4^{dB}
DL limonene	1030.9^{bB}	777.2^{cB}	1584.8^{aA}	775.6^{dB}	834.3^{bB}	696.4^{cB}	1857.3^{aA}	433.3^{dB}	1675.2^{bB}	2128.2^{aA}	738.7^{cC}	297.3^{dD}
beta phellandrene	199.6^{cB}	121.6^{dB}	372.2^{aA}	242.7^{bAB}	120.5^{cB}	132.5^{bB}	396.8^{aA}	89.9^{dB}	328.4^{bA}	356.7^{aA}	143.6^{cB}	66.3^{dC}
p-allil anisol	19.4^{bA}	20.3^{aA}	18.5^{cA}	8.6^{dA}	23.4^{bAB}	16.5^{cBC}	34.4^{aA}	9.9^{dC}	48.4^{bAB}	52.9^{aA}	24.0^{cBC}	14.5^{dC}
2,4bis1,1dimetil fenol	16.8^{aA}	11.7^{dA}	15.9^{bA}	13.1^{cA}	53.2^{aA}	25.9^{bAB}	21.1^{cB}	16.2^{dB}	25.2^{cB}	64.3^{aA}	22.0^{dB}	27.6^{bB}
Toplam	**17787.2**	**11223.3**	**17016.3**	**11076.7**	**12566.1**	**15454.1**	**22408.5**	**8696.5**	**31492.4**	**39392.7**	**28752.7**	**8087.4**

$^{a-d}$: istatistiksel ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama; $^{A-D}$: depolama süresine göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

Terpenik bileşikler daha çok hamura katılan baharattan kaynaklanmaktadır ve sucuktaki aroma maddelerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Kaban, 2007; Çakır, 2010). Elde ettiğimiz sonuçlarımızdan da görüldüğü üzere toplam aroma maddeleri içinde miktar bakımından en baskın terpenler bulunmuştur. Sucuk örneklerindeki toplam terpen bileşikleri miktarı 8087.4-39392.7 mg/kg arasında değişmektedir. Örnekler arasındaki terpen miktarları karşılaştırıldığında ise 6 aylık depolama periyodu süresince 6. ay hariç olmak üzere B ve C örneklerindeki toplam terpen bileşiği miktarının kontrol örneğindekinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda bütün terpen bileşikleri arasında miktarı diğerlerine göre daha baskın olanların alfa pinen, alfa tuhujene, beta pinen, gama terpinen, p-cymol, beta myrcene ve DL limonene olduğu görülmüştür. Serteser ve Gök (2006), çalışmasında da alfa pinen, p-simen, sabinen, alfa thujen oran olarak en fazla tespit edilen terpenlerden olduğu görülmüştür. Çakır (2010), çalışmasında da benzer sonuçlar bulunmuştur. Kaban (2007), ise bizim çalışmamızda tanımlananlara benzer olarak, sucuk örneklerinde terpenik bileşiklerden α–thujenal, β-pinen, linalool, α-pinen, β-pinen, β-mirsen, α-fellandren, 3-karen, α-terpinen gibi bileşikleri tanımlamıştır.

4.3.7.3. Asitler ve alkoller

Sucuk örneklerinin üretim sonundaki ve 6 aylık depolama sürecinde belirlenen asit ve alkoller, Çizelge 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.22. Depolama periyodundaki sucuklardaki asit ve alkol miktarı (µg/kg)

	A				B				C			
Alkoller	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
2 bütanol	344.7^{aA}	274.5^{bA}	176.0^{dA}	219.9^{cA}	264.6^{bA}	281.2^{aA}	124.2^{dA}	258.0^{cA}	309.9^{aA}	300.8^{bA}	149.7^{dB}	208.9^{cB}
2 hekzanol	43.2^{cB}	78.3^{bAB}	107.6^{aA}	31.0^{dB}	263.5^{bA}	272.5^{aA}	196.5^{cAB}	15.3^{dB}	342.7^{aA}	328.8^{bA}	167.3^{cA}	28.7^{dA}
2 metil-2-büten 1 ol	27.4^{dB}	35.2^{cB}	67.6^{aA}	41.4^{bB}	189.5^{bA}	193.7^{aA}	131.2^{cAB}	41.4^{dB}	214.0^{bA}	278.1^{aA}	45.7^{dB}	56.4^{cB}
2 metil-3-fenil propanol	272.8^{aA}	33.8^{dB}	236.0^{bAB}	54.5^{cAB}	31.5^{dB}	65.3^{bB}	263.3^{aA}	51.6^{cB}	450.4^{aA}	408.5^{bA}	117.0^{cA}	46.4^{dA}
2 fenil etanol	30.5^{cAB}	31.6^{bAB}	38.0^{aA}	4.6^{dB}	44.5^{bA}	28.7^{cAB}	53.5^{aA}	11.8^{dB}	30.3^{cBC}	57.2^{aA}	40.7^{bAB}	11.6^{dC}
Toplam	**718.6**	**453.4**	**625.2**	**351.6**	**793.5**	**841.5**	**768.7**	**378.2**	**1347.4**	**1374.1**	**520.5**	**352.0**
Asitler												
asetik asit	6.0^{cB}	3.5^{dB}	14.5^{bAB}	30.8^{aA}	38.6^{aA}	15.3^{dA}	23.4^{bA}	18.7^{cA}	36.4^{aA}	28.3^{bAB}	16.9^{cB}	27.1^{dAB}
hekzanoik asit	33.9^{aA}	12.9^{dA}	23.2^{bA}	19.5^{cA}	57.9^{aA}	22.7^{cB}	36.8^{bAB}	19.7^{dB}	58.9^{bB}	80.7^{aA}	29.3^{cC}	28.9^{dC}
oktanoik asit	168.1^{aA}	27.3^{cC}	96.0^{bB}	25.4^{dC}	149.5^{bB}	78.2^{cB}	331.7^{aA}	32.5^{dB}	227.9^{bAB}	374.4^{aA}	87.9^{cBC}	53.0^{dC}
nonanoik asit	49.2^{aA}	43.6^{bA}	22.3^{dA}	29.8^{cA}	150.8^{bAB}	111.3^{cBC}	252.2^{aA}	8.5^{dC}	180.6^{bAB}	347.7^{aA}	144.9^{cAB}	139.9^{dB}
dekanoik asit	108.9^{bA}	120.1^{aA}	106.0^{cA}	25.3^{dA}	393.5^{aA}	131.6^{bAB}	43.3^{cAB}	28.3^{dB}	192.8^{bB}	370.5^{aA}	40.4^{dC}	55.1^{cC}
benzoik asit	12.3^{cB}	6.4^{dB}	38.8^{aA}	18.8^{bB}	25.5^{bB}	51.4^{aA}	17.6^{cB}	15.5^{dB}	18.4^{cAB}	31.3^{bAB}	8.2^{dB}	35.6^{aA}
tetra dekanoik asit	231.0^{aA}	169.9^{bAB}	85.5^{cB}	83.9^{dB}	50.2^{dC}	350.9^{aA}	73.2^{cCB}	94.1^{bB}	225.8^{cA}	296.2^{aA}	116.1^{dA}	292.6^{bA}
dodekanoik asit	164.8^{aA}	37.8^{bB}	18.6^{cB}	15.8^{dB}	69.5^{dA}	117.8^{cA}	171.0^{aA}	147.6^{bA}	48.8^{cB}	220.7^{aA}	42.7^{dB}	74.1^{bAB}
palmitik asit	200.6^{bAB}	117.3^{dB}	301.9^{aA}	130.6^{cB}	460.0^{bA}	489.5^{aA}	288.4^{cA}	198.3^{dA}	608.1^{bB}	1401.8^{aA}	483.4^{dB}	507.5^{cB}
Toplam	**975.1**	**538.8**	**706.8**	**380.1**	**1395.6**	**1368.6**	**1237.8**	**563.2**	**1597.9**	**3151.7**	**969.8**	**1213.9**

$^{a-d}$: istatistiksel ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama; $^{A-D}$: depolama süresine göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

Asitler ve alkoller ise, daha çok karbonhidrat fermantasyonu sonucu oluşmaktadırlar. Mikroorganizmalardan, karbonhidrat metabolizaması sonucu oluşan uçucu bileşikler, organik asitlerden, asetik asit, bütanoik asit ve alkollerden ise etil alkoldür (Çakır, 2010; Sun ve ark., 2010; Janssens ve ark., 2012).

Sucuk örneklerindeki toplam asit miktarları, 380.1-3151.7 µg/kg arasında değişmiş ve probiyotik kültür içeren B ve C örneklerindeki asit miktarının kontrol örneğinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Toplam asit miktarındaki bu fazlalığın, starter kültürün yanısıra probiyotik kültürün faaliyeti sonucu oluşan asitlerden kaynaklandığı ve toplamdaki asit miktarını arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca depolama sürecinin toplam asit miktarı üzerindeki etkisine baktığımızda 2. aya kadar asit miktarında bir artış gözlendiği ancak 2. aydan sonra azalış gözlemlendiği belirtilmiştir. Yapılan literatür çalışmalarında genel olarak toplam asit miktarının değişken olduğu bildirilerek bulgularımız desteklenmiştir.

Sucuk ve benzeri ürünlerin fermentasyonunda laktik asitin dışında, asetik asit, etanol, asetoin, karbondioksit, prüvik asit vb. gibi diğer fermentasyon ürünleri de, kullanılan starter kültüre ve fermentasyon şartlarına bağlı olarak çeşitli miktarlarda üretilmektedir. Üretilen bu asitler aroma oluşumunda önem taşımaktadır. Asetik asit, sucuk (Kaban ve Kaya 2009a,b; Kaban ve Kaya 2010) ve diğer fermente sosislerde de saptanmıştır. Bu bileşik homofermantatif laktik asit bakterileri ve stafilokoklartarafından üretildiği gibi yağ asidi oksidasyonu ve alanin katabolizması sonucunda da oluşmaktadır (Çakır 2010). Sucuk örneklerinde ayrıca yaklaşık %20 gibi yüksek seviyelerde palmitik asit ve %1 hepta dekanoik asit gibi asitlerin tespit edildiği bildirilmiştir (Serteser ve Gök 2006; Ergönül, 2009; Sadullahoğlu, 2010)

Serteser ve Gök (2006)'nın, çalışmasında 90 günlük depolama sonunda asetik asit miktarında da bir azalış olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise, 4. ayın sonunda A örneği hariç asetik asit miktarında azalış olduğu ve literatürdeki bu bilgi ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

L. rhamnosus ve *L. plantarum* hücreleri fakültatif heterofermantatif olarak bilinirler ve laktik asit yanında az miktarda da olsa asetik asit üretmektedirler (Keersmaecker ark., 2006). Çalışmamızda, *L. plantarum* starter kültürünün yanısıra probiyotik *L. rhamnosus* kültürünü içeren B ve C örneklerinde asetik asit miktarının

daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun ise, sucuklarda starter kültürlerin yanı sıra, probiyotik kültürden kaynaklandığı ve asetik asit oluşumunu tetiklediği bildirilmiştir. 6. aydaki sonuçlar incelendiğinde, bu durumun aksi bir sonuç elde edilmiş ve probiyotik sucuk örneklerindeki asetik asit miktarında azalma gözlenirken kontrol örneğinde asetik asit miktarında artış gözlenmiştir. Kontrol örneğindeki artışın, asetik asit üretimine neden olan asetik asit bakterilerinin floraya hakim olmaya başlaması ile de açıklanabilmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda kültürlerin rekabetçi mikroflorada aktivitelerinin azalacağı bildirilmiştir. Sonuçlarımızdan da görüldüğü üzere 6. ayda kontrol örneğimizdeki asetik asit miktarındaki artışın *L. plantarum'un* sayısındaki azalışla birlikte ortamdaki asetik asit bakterlerinin faaliyetinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Nitekim analiz sonuçlarımıza göre 6. ayda toplam aerob mezofil bakteri sayısında artış gözlenmiş ve toplam aerob mezofil bakteri içeriğini oluşturan bakteri gruplarından biri olan asetik asit bakterisi sayısının da arttığını düşündürmüştür.

Örneklerimizdeki toplam alkol miktarları incelendiğinde ise 351.6 µg/kg ile 1374.1 µg/kg arasında değiştiği gözlenmektedir. Örneklerdeki alkol miktarları gerek depolama süresi açısından gerekse sucuk türü açısından değişkenlik göstermiş, istatistiksel olarak depolamanın veya sucuk türünün etkisini söylemek tam olarak mümükün olmamıştır. Nitekim sonuçlarımızdan da görüldüğü üzere aroma maddesi türüne, depolama zamanına ve sucuk türüne göre farklı sonuçlar elde edilmiş istatistiksel olarak bazı alkoller üzerinde depolamanın ve sucuk türünün etkisi önemli bulunurken bazılarında önemsiz bulunmuş ve bir korelasyon kurulamamıştır.

4.3.7.4. Esterler

Sucuk örneklerinin üretim sonundaki ve 6 aylık depolama sürecinde belirlenen ester bileşikleri, Çizelge 4.23'de verilmiştir.

Çizelge 4.23. Depolama periyodundaki sucuklardaki ester miktarı (µg/kg)

	A				B				C			
Esterler	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
linanil asetat	19.9^{cA}	21.9^{bA}	51.4^{aA}	12.8^{dA}	4.7^{dB}	20.6^{bB}	69.1^{aA}	14.6^{cB}	70.9^{bA}	75.4^{aA}	44.1^{cAB}	7.5^{dB}
metil benzoat	0.0^{dA}	1.7^{cA}	1.8^{bA}	3.0^{aA}	1.1^{cA}	0.0^{dA}	4.7^{bA}	9.1^{aA}	5.9^{aA}	0.0^{dA}	5.7^{bA}	2.0^{cA}
etil benzoat	32.4^{cA}	32.8^{bA}	36.9^{aA}	19.5^{dA}	27.6^{bB}	25.5^{cBC}	46.3^{aA}	11.2^{dC}	66.4^{bA}	73.1^{aA}	34.4^{cAB}	20.8^{dB}
etil oktanoat	24.1^{aA}	11.1^{dB}	18.3^{bAB}	15.4^{cAB}	61.9^{aA}	27.5^{bB}	26.3^{cB}	18.9^{dB}	46.2^{bB}	81.2^{aA}	22.6^{dC}	26.4^{cC}
Toplam	**76.5**	**67.5**	**108.4**	**50.7**	**95.3**	**73.7**	**146.5**	**53.8**	**189.4**	**229.7**	**106.7**	**56.7**

$^{a-d}$: istatistiksel ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama; $^{A-D}$: depolama süresine göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

Sucuklarda saptanan aroma bileşiklerinden esterler ise, karboksilik asit ve alkollerin esterifikasyonuyla oluşmaktadırlar (Çakır, 2010). Bakterilerin mayaların ve küflerin esterifikasyon reaksiyonları ile de esterler oluşmaktadır (Sun ve ark., 2010). Esterler genellikle kısa ve uzun zincirli olmakla birlikte kısa zincirliler meyvemsi tada, uzun zincirliler ise yağsı bir tada neden olmaktadırlar (Serteser ve Gök, 2006).

Çizelge 4.19'dan da görüldüğü üzere, toplam ester miktarları, 50.7-229.7 µg/kg arasında değişkenlik göstermiştir. 2. aya kadar tüm örnekler için toplam ester miktarında artış gözlenirken, C örneğinde 2. aydan sonra, A ve B örneklerinde ise, 4. aydan sonra azalış gözlenmiştir. Daha önceki çalışmalardan edinilen bilgilere göre, depolama süresince genel olarak ester miktarının artması beklenmektedir, ancak bazen bu durum değişkenlik de gösterebilmektedir. Bu araştırmada bulunan ester miktarları karşılaştırıldığında, başlangıç ve 2. ay örneklerinden C örneğinde, ester miktarının diğer iki örneğe gore oldukça yüksek olduğu gözlenmiş, 2. aydan itibaren ise, C örneğinde diğer örneklere nazaran daha düşük ester miktarı saptanmıştır. A ve B örneklerindeki ester miktarı, 4. aya kadar düzenli bir artış göstermiş ve 6. ayda düşmüştür.

4.3.7.5. Kükürtlü Bileşikler

Sucuk örneklerinin üretim sonundaki ve 6 aylık depolama sürecinde belirlenen kükürtlü bileşikler, Çizelge 4.24'de verilmiştir.

Çizelge 4.24. Depolama periyodundaki sucuklardaki kükürtlü bileşik miktarı (µg/kg)

	A				B				C			
Kükürtlü Bileşikler	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay	0.ay	2.ay	4.ay	6.ay
di alil sülfit	182.5^{aA}	132.3^{bAB}	130.9^{cAB}	83.8^{dB}	123.4^{cA}	139.2^{bA}	160.8^{aA}	97.6^{dA}	263.5^{bAB}	290.6^{aA}	171.2^{dB}	204.9^{cA} B
dialil disülfit	161.7^{aA}	72.04^{bB}	67.8^{cB}	16.2^{dB}	154.5^{bA}	159.4^{aA}	141.7^{cB}	39.7^{dB}	243.3^{aA}	223.9^{bA}	158.3^{cB}	39.1^{dC}
Toplam	**344.2**	**204.3**	**198.8**	**100.1**	**277.9**	**298.6**	**302.5**	**137.4**	**506.8**	**514.6**	**329.5**	**243.9**

$^{a-d}$: istatistiksel ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama; $^{A-D}$: depolama süresine göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

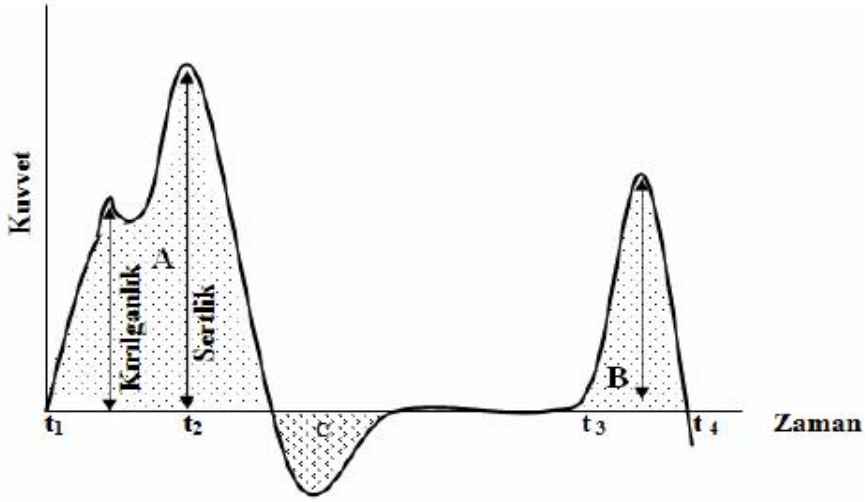
Sucuklarda tespit edilen kükürtlü bileşikler, daha çok sarımsakta bulunan aroma bileşenleri olup, fermente sosislerin aromasında önemli katkıları söz konusudur (Serteser ve Gök, 2006). Çalışmamızda, 6. ayın sonunda toplam kükürtlü bileşiklerin azaldığı gözlenmiştir. Örneklerdeki kükürtlü bileşik miktarları incelendiğinde, 0. ay hariç olmak üzere diğer aylarda B ve C örneklerindeki kükürtlü bileşiklerin, A örneğinde bulunan miktardan daha çok olduğu gözlenmiştir. Sucukta, özellikle sarımsaktan gelen sucuğun kendine has tadını oluşturan ve diğer kötü kokuları bastıran kükürtlü bileşikler, sucuğun duyusal kalitesi açısından da önemli bulunmaktadır. Duyusal sonuçlara bakıldığında, 6 ayın sonunda yabancı tat ve kokuların A örneğinde daha çok algılandığı görülmektedir. Bu durum, A örneğinde bu kokuları maskeleyen kükürtlü bileşiklerin azalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, fermente et ürünlerinde aroma oluşumunda en önemli etkenlerden biri mikrokok ve stafilokokların gelişimidir. Bu bakteriler, uçucu bileşikler oluşturarak ve proteolitik-lipolitik aktiviteleriyle bazı aroma bileşiklerinin oluşumuna katkıda bulunarak tipik aromanın oluşumunu sağlamaktadırlar (Ulusoy, 2007). Bu bakımdan çalışmamızdaki aromatik sonuçlar üzerinde sadece probiyotik ve starter kültürlerin etkili olduğunu söylemenin uygun olmadığı düşünülmektedir. Nitekim aroma sonuçlarımızdan da görüldüğü üzere gerek depolama sürecinin gerekse de farklı kültürlerin etkisini tam olarak ayırtedebilmek mümkün olamamış ve istatistiksel analiz sonuçlarımızın aroma maddesine göre değişkenlik gösterdiği görülmüştür (Çizelge 4.19). Bu durumun ise daha önce de bahsettiğimiz gibi aroma üzerinde etkili olan ve spontan fermantasyon sırasında ortaya çıkan staphylocococ ve mayalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.8. Sucuk örneklerinin tekstür özellikleri

Çalışma kapsamında sucuk örneklerinin tekstürel profil analizi gerçekleştirilmiş ve örnekler sertlik, iç yapışkanlık, dış yapışkanlık, elastikiyet, çiğnenebilirlik ve sakızımsılık özellikleri açısından birbirleriyle kıyaslanmıştır. Örneklerin tekstürel özelliklerinin her biri aşağıda ayrı ayrı ele alınmıştır. Örnekler, 6

aylık depolama periyodu süresince 2'şer ay aralıklarla analiz edilmiştir. Sucuk hamurunda ise, tekstürel ölçüm yapılmamıştır. Şekil 4.17'de tekstür profil analizinde elde edilen özelliklerinin hesaplanmasıyla ilgili grafik verilmiştir.



Kohezyon=B/A; Yapışkanlık=C; Esneklik=(t2-t1)/(t4-t3); sakızımsızılık=sertlik x kohezyon; Çiğnenebilirlik=Sakızımsılık x esneklik

Şekil 4.17. Tekstür profil analizi ile ölçülen parametreler

Çizelge 4.25'de sucuk örneklerinin depolama süresince ölçülen tekstürel özellikleri ile ilgili değerler verilmiştir.

Çizelge 4.25. Sucuk örneklerinin depolama sürecindeki tekstür özellikleri

Sucuk örnekleri	Sertlik	Dış yapışkanlık	Elastikiyet	İç yapışkanlık	Sakızımsılık	Çiğnenebilirlik	Dirençlilik
A-0.ay	101.46 ^{bA} ±6.98	-0.38 ^{aA} ±0.19	0.61 ^{dA} ±0.01	0.59 ^{cA} ±0.02	59.93 ^{bAB} ±5.10	36.72 ^{bA} ±3.02	0.19 ^{bA} ±0.00
A-2.ay	78.13 ^{dA} ±15.63	-0.48 ^{bA} ±0.30	0.69 ^{aB} ±0.03	0.60 ^{bA} ±0.04	46.68 ^{dA} ±6.10	31.96 ^{dA} ±4.30	0.18 ^{cA} ±0.01
A-4.ay	105.10 ^{bA} ±12.92	-1.18 ^{cA} ±0.39	0.62 ^{bA} ±0.02	0.62 ^{aA} ±0.04	64.99 ^{aB} ±5.74	40.65 ^{aA} ±4.51	0.20 ^{aA} ±0.01
A-6.ay	98.11 ^{cA} ±13.18	-2.83 ^{dA} ±3.75	0.62 ^{cA} ±0.00	0.58 ^{dA} ±0.00	56.23 ^{cAB} ±8.27	35.41 ^{cA} ±5.02	0.17 ^{dA} ±0.00
B-0.ay	107.51 ^{bA} ±8.84	-0.70 ^{cA} ±0.47	0.64 ^{cA} ±0.05	0.60 ^{bA} ±0.02	64.43 ^{bA} ±4.46	41.53 ^{bAB} ±6.20	0.20 ^{bA} ±0.01
B-2.ay	103.64 ^{cA} ±9.68	-0.25 ^{aA} ±0.13	0.64 ^{bA} ±0.03	0.58 ^{cA} ±0.01	59.70 ^{cAB} ±6.70	38.57 ^{cAB} ±6.65	0.18 ^{cA} ±0.00
B-4.ay	125.60 ^{aA} ±14.86	-0.98 ^{dA} ±0.11	0.70 ^{aA} ±0.10	0.56 ^{dA} ±0.01	70.75 ^{aA} ±6.63	49.82 ^{aA} ±9.02	0.17 ^{dA} ±0.01
B-6.ay	100.66 ^{dA} ±39.48	-0.44 ^{bA} ±0.25	0.57 ^{dA} ±0.03	0.60 ^{aA} ±0.02	47.92 ^{dB} ±2.29	28.17 ^{dB} ±3.17	0.20 ^{aA} ±0.00
C-0.ay	97.49 ^{cA} ±15.73	-0.57 ^{bA} ±0.29	0.67 ^{aA} ±0.04	0.61 ^{aA} ±0.03	60.05 ^{bA} ±13.70	40.69 ^{aA} ±11.26	0.19 ^{aA} ±0.01
C-2.ay	93.69 ^{dA} ±5.08	-0.58 ^{cA} ±0.18	0.65 ^{bA} ±0.07	0.60 ^{bA} ±0.01	56.15 ^{dA} ±2.02	36.60 ^{cA} ±5.30	0.18 ^{bA} ±0.00
C-4.ay	104.15 ^{bA} ±7.45	-0.49 ^{aA} ±0.04	0.60 ^{dA} ±0.03	0.55 ^{dA} ±0.01	57.65 ^{cA} ±2.56	34.77 ^{dA} ±2.03	0.17 ^{dA} ±0.00
C-6.ay	114.84 ^{aA} ±10.69	-1.00 ^{dA} ±0.33	0.62 ^{cA} ±0.06	0.56 ^{cA} ±0.03	64.20 ^{aA} ±2.29	39.64 ^{bA} ±5.05	0.18 ^{cA} ±0.01

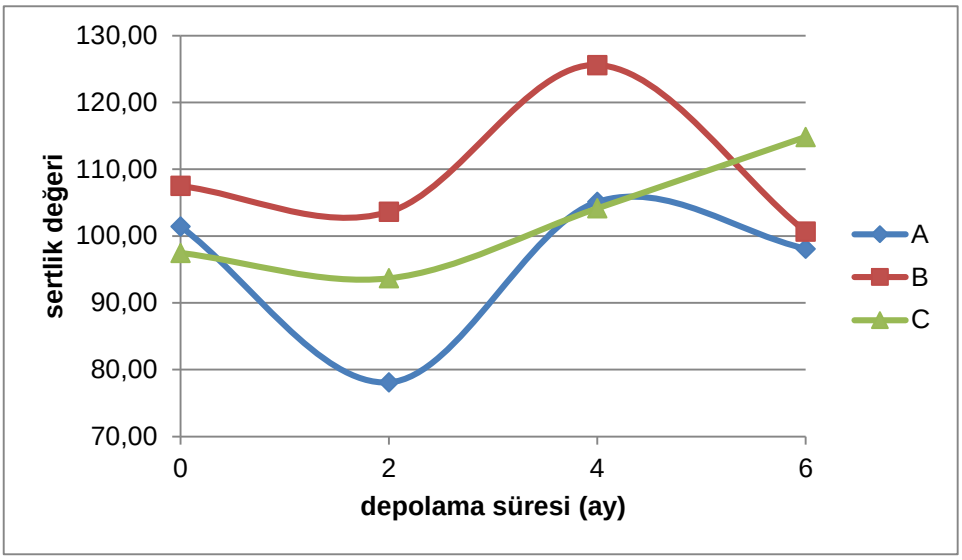
a-d: istatistiksel ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama; A-D: depolama süresine göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

Çalışmamızda örneklerin tekstür değerleri üzerinde gerek kullanılan starter ve probiyotik kültürler gerekse de depolama sürecinin etkisi incelenmiştir. Nitekim yapılan literatür çalışmalarına göre fermente sosis ve sucuklarda, tuz konsantrasyonu, pH, su aktivitesi, kuru madde, yağ içeriği ve ısıl işlem gibi etmenlerin tekstürel özellikleri etkilediği bildirilmiştir (Gimeno ve ark., 2001; Herrero ve ark., 2007; Ilıkan ve ark., 2007; Rubio ve ark., 2007; Toptancı, 2007; Menegas ve ark., 2013).

Fermente sosislerde, özellikle yağ içeriğindeki düşüş, tekstür özellikleri üzerinde önemli düzeyde etki yaptığı ve örnek hazırlama ve olgunlaşma süresinin de bu özellikler üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Yağ içeriğindeki azalış ve uzun olgunlaşma süreci (yüksek su kaybından dolayı) sertlik değerini yükselttiği ve yağ miktarındaki azalışın, aynı zamanda çiğnenebilirlikteki artışa da neden olduğu belirtilmektedir (Olivares ve ark., 2009). Örneklerdeki yağ içeriğinin tekstür değeri üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Nitekim örneklerimizde yağ içeriğinin standart olması ve vakum ambalajlama uygulanması, örneklerimizin çoğunda tekstür özelliklerinde önemli bir değişiklik olmasını engellemiştir.

4.3.8.1. Sertlik değeri

Sucuk örneklerinin sertlik değerlerine ilişkin bulgular Şekil 4.18'de verilmiştir.



Şekil 4.18. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki sertlik değerinin değişimi

A, B ve C örneklerinin, fermentasyon ve kurutma aşaması sonundaki (0. ay) sertlik değerleri sırasıyla, 101.46, 107.51 ve 97.49 N olarak tespit edilmiş, depolama süresince sertlik değerleri değişkenlik göstererek, 6. ay sonunda 98.11, 100.66 ve 114.84 N düzeyinde bulunmuştur. Şekil 4.18'den de görüldüğü gibi tüm örneklerde 2. ayda sertlik değerlerinde azalma görülmüş, buna karşın 4. ayda artış gözlenmiştir. 6. ayda ise A ve B örneklerinin sertlik değerleri azalmaya başlamış, C örneğinin sertlik değeri ise, artmaya devam etmiştir. C örneği, A ve B örnekleri ile karşılaştırıldığında, depolama periyodu süresince daha stabil bir davranış göstermiştir. Bu durumun, içeriğinde yer alan kapsüllerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Normal koşullarda, örneklerdeki su aktivitesi düşüşü, nem kaybının ve ağırlık kaybının artışı gibi olayların sertlik değerinde artışa neden olması beklenmektedir. Nitekim A ve B örneklerimiz hariç C örneğimizde 6. ayın sonunda sertlik değerinde bir artış meydana gelmiş ve bir önceki cümledeki hipotezi doğrulamıştır.

A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile sertlik değişimleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli olmadığı, ancak grupların varyanslarının homojen olduğu bulunmuştur. Sertlik ile sucuk türü arasındaki ilişki, istatistiksel olarak önemli bulunmazken, A ile B sucuk örnekleri arasındaki farklılık

önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Depolama zamanında ise, 2. ay ile 4. aydaki farklılık önemli bulunmuştur.

Bozkurt ve Bayram (2006), olgunlaşma esnasında pH'nın düşüşü ve proteinlerin koagülasyonu ile birlikte meydana gelen kuruma ile sertlik değerinin arttığını bildirmiştir. Çalışmalarında, fermentasyonu tamamlanmış sucukta sertlik değerini 88.46 N olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamızda, sertlik değeri, örneklerimizin kuru olması nedeniyle daha yüksek bulunmuştur.

Essid ve Hassouna (2013), geleneksel "tunisian" fermente sosisinde starter kültür kullanımı ile sertlik değerindeki değişimi incelemişler ve *S. xylosus*'un proteaz aktivitesi ile *L. plantarum*'un pH'yı düşürücü etkisinin bir sonucu olarak sertlik değerinin arttığını saptamışlardır. Çalışmamızda da benzer olarak, A ve B örneklerinde kullandığımız starter ve probiyotik kültürlerin etkisinin bir sonucu olarak sertlik değerleri farklı bulunmuştur. B örneğinde starter kültürün yanı sıra probiyotik kültürün varlığı daha iyi bir pH düşüşü sağlayarak, sertlik değerini yükseltmiştir.

Serteser ve Gök (2006), sucuk örneklerinin bazı kalite özelliklerini araştırdığı çalışmasında, sucuk örneklerinin sertlik değerlerinin fermantasyon ve kurutma sürecinin hemen sonunda 3.53 kg ile 3.71 kg arasında değişiklik gösterdiğini belirlemiş, sucuk örneklerinin sertlik değerlerinin soğuk koşullarda gerçekleştirilen depolama süresince giderek yükseldiğini belirlemiştir. Sucuk örneklerinin 90 gün sonunda sertlik değerlerinin 12.83 kg ile 13.08 kg arasında yüksek değerlere çıktığı, bizim çalışmamızda ise depolama sonunda bu derece yüksek bir artışın olmadığı saptanmıştır. Serteser ve Gök (2006)'nın çalışmasında depolama sürecinde kurumanın önemli ölçüde devam ettiği ve bu durumun ambalaj materyali ve depo koşullarından kaynaklandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda, vakum ambalajlama sertlik değerinde çok büyük değişikliklerin olmasını önlemiştir.

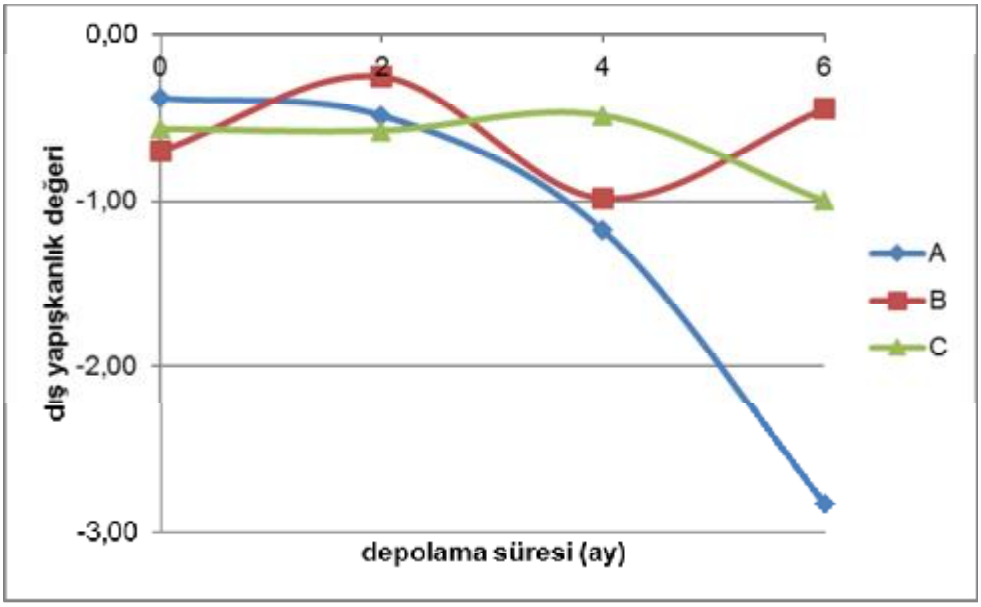
Ergönül (2009) ise ürettikleri probiyotik sucuklarda sertlik değerinin 6 ayın sonunda *L. casei* için 6.12 kg'dan 8.73 kg'a, *L. acidophilus* için 7.99 kg'dan 6.83 kg'a ve iki kültürün karışımı ile üretilen sucuk için 6.29 kg'dan 8.66 kg'a ulaştığını saptamışlardır. Sonuçlardan da görüldüğü üzere sertlik değeri kullanılan kültüre ve depolama sürecine göre değişkenlik göstermiştir. Bu araştırmada ise bu sonucun

aksine gerek kullanılan kültürün gerekse de depolama zamanının sertlik üzerinde etkili olmadığı saptanmış ve daha yüksek sertlik değerleri elde edilmiştir. Araştırmada, fermentasyon sürecinde sucuklarda çok iyi bir su kaybı olmuş ve depolama süresince vakum ambalajlamanında etkisiyle su kaybı önlenerek, sertlik değerinin stabil kalması sağlanmıştır.

4.3.8.2. Dış yapışkanlık değeri

Sucuk örneklerinin yapışkanlık özelliğinin belirlenmesinde, dış yapışkanlık yerine genellikle iç yapışkanlık değerleri göz önünde bulundurulmakla birlikte, çalışma kapsamında fikir vermesi açısından dış yapışkanlık değerleri de belirlenmiştir.

Sucuk örneklerinin dış yapışkanlık değerindeki değişim Şekil 4.19'da görülmektedir. Depolamanın başlangıcında, dış yapışkanlık değerleri, A, B ve C örnekleri için sırasıyla 0.38, 0.70, ve 0.57 N.s, depolama sonunda ise, 2.83, 0.44 ve 1.00 N.s olduğu saptanmıştır. Depolama süresi sonunda B ve C örneklerinin dış yapışkanlık değeri azalırken, A örneğininki artmıştır.



Şekil 4.19. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki dış yapışkanlık değerinin değişimi

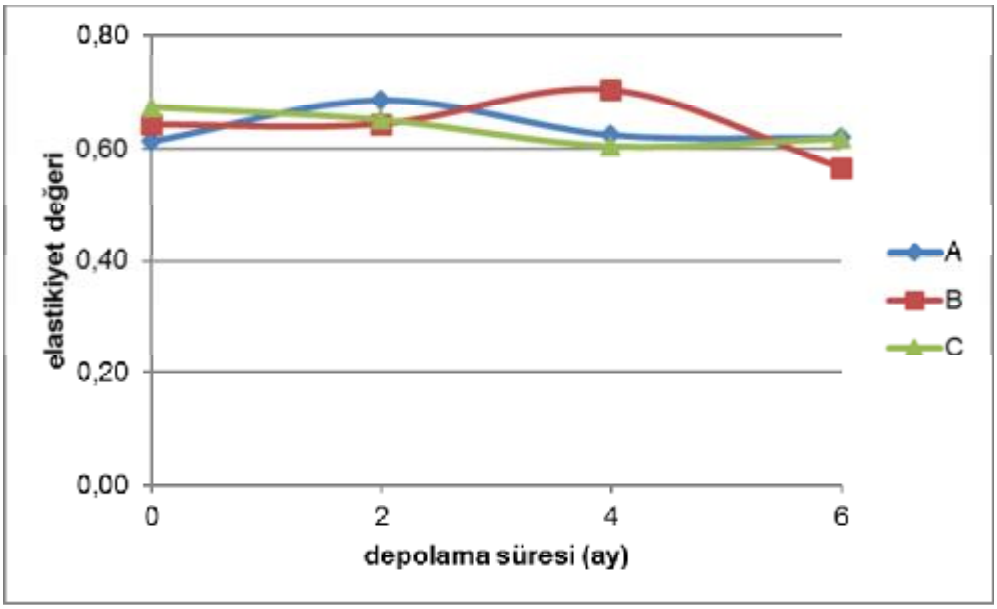
A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile dış yapışkanlık değişimleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Grupların varyansları homojendir.

Sucuk türünün yapışkanlık değerleri üzerinde etkisinin olmadığı bululunmuştur. Aynı şekilde, depolama zamanı ile yapışkanlık değerleri arasındaki ilişki de istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$).

Bozkurt ve Bayram (2006), sucuklarda dış yapışkanlık değerini, 0.92 N.s olarak bulmuşlardır. Bu değer, araştırmada elde edilen değerlere göre yüksektir. Dış yapışkanlık değeri düştükçe, sucuğun dilimlenebilirliğinin kolaylaştığı ve dilimleme esnasında bıçağa sucuk parçalarının yapışmasının azaldığı bildirilmiştir. Bu araştırmada elde edilen sucuklarda dilimleme esnasında zaman zaman bıçağa sucuk parçalarının yapışmakla birlikte genel olarak dilimlemenin kolay olmasının dış yapışkanlık değerimizin düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Dış yapışkanlık değerinin düşük olması için iyi bir kuruma ve protein jelatinizasyonunun gerekli olduğu bildirilmiştir.

4.3.8.3. Elastikiyet değeri

Sucukların elastikiyet değerlerine ilişkin bulgular, Şekil 4.20'de verilmiştir. Su kaybının artışı ile birlikte sucuklarda elastikiyet kaybı meydana geldiği bilinmektedir. A, B ve C örnekleri için elastikiyet değerleri sırasıyla, 0.61, 0.64 ve 0.67 olarak bulunmuştur. Depolama süresi boyunca, elastikiyet değerinde artış ve azalmalar gözlenmiş, depolamanın son ayında ise elastikiyet değerinin sırasıyla, 0.62, 0.57 ve 0.62 olduğu belirlenmiştir. Depolama boyunca, tüm örneklerdeki elastikiyet değerinin, 0.57 ve 0.70 arasında değiştiği belirlenmiştir. Elastikiyet değeri açısından C örneğindeki değişimler, A ve B örneklerinden daha az bulunmuş ve C örneğinin daha stabil olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.20. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki elastikiyet değerinin değişimi

B ve C ürünleri için depolama zamanı ile elastikiyet arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz, A ürünü için depolama zamanı ile elastikiyet arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Grupların varyansları homojendir.

A örneği için; 2. aydaki depolama zamanı ve elastikiyet değerleri ortalamaları ile diğer tüm gruplardaki depolama zamanı ve elastikiyet değerleri ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; gruplar arasında, depolama zamanı ve elastikiyet değerleri ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$).

C örneği için; gruplar arasında, depolama zamanı ve elastikiyet değerleri ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Sucuk türünün elastikiyet değerleri üzerinde etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Depolama zamanında ise, 2. ay ile 6. aydaki farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

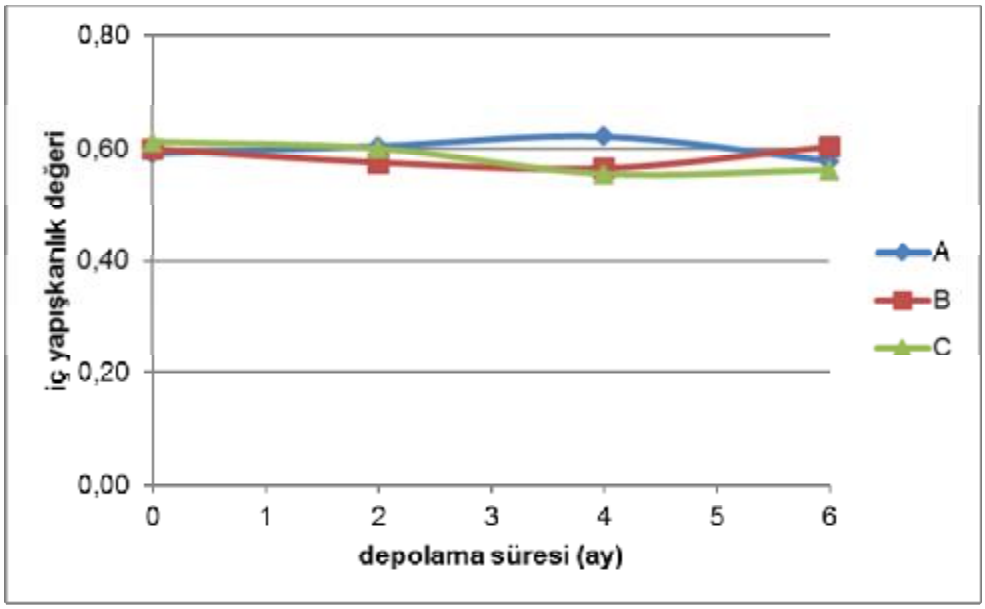
Bozkurt ve Bayram (2006), sucuk örneklerindeki elastikiyet değerini 0.65 olarak belirlemişlerdir. Bu değer, çalışmamızda bulunan elastikiyet değerlerine benzerdir. Elastikiyet değeri sucuğun elastik özellikleri ile ilgilidir. Su kaybından dolayı sucuğun elastikiyetini kaybetmesi elastikiyet değerinin düşmesine neden olmaktadır.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda olgunlaşma süreci boyunca sucuğun elastkiyetinin düzenli olarak düştüğü bildirilmiştir (Bozkurt ve Bayram, 2006). Depolama süresi boyunca, düzenli bir kurumanın devam etmesi halinde elastikiyetin de düşmesi beklenmektedir. Ancak, çalışmamızda vakum ambalajlama ile sucuk örneklerindeki nem miktarı genel olarak stabil kalmış ve elastikiyet değerinin depolama sürecinde düzenli olarak düşmediği gözlenmiştir.

4.3.8.4. İç yapışkanlık değeri

TPA ile tekstür profilinin belirlenmesi sırasında yapışkanlık özelliği denilince iç yapışkanlık değeri akla gelmektedir. İç yapışkanlık değeri birimsizdir. Grafikte ardışık iki sıkıştırma işlemi sonucu elde edilen alanların birbirine oranıdır. İç yapışkanlığı etkileyen bir çok faktör vardır. Formülasyon ile yakından ilgilidir. Kullanılan yağ niceliği iç yapışkanlık değerini önemli ölçüde etkiler.

Sucuk örneklerinin iç yapışkanlık değerindeki değişim, Şekil 4.21'de gösterilmiştir. A, B ve C örnekleri için iç yapışkanlık değerleri sırasıyla, 0.59, 0.60 ve 0.61 olarak bulunmuştur Depolama süresi boyunca, iç yapışkanlık değerinde artış ve azalmalar gözlenmiş, depolamanın son ayında ise, yapışkanlığın sırasıyla 0.58, 0.60 ve 0.56 olduğu belirlenmiştir. Depolama boyunca, tüm örneklerdeki iç yapışkanlık değerinin 0.55 ve 0.62 arasında değiştiği belirlenmiştir.



Şekil 4.21. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki iç yapışkanlık değerinin değişimi

B ve C örneklerinde iç yapışkanlığın benzer olması, bu sucukların probiyotik kültür içermesinden ve A sucuğunun ise, sadece starter kültür ile yapılmasından kaynaklandığını düşündürmektedir. Nitekim, mikrobiyal flora, protein degradasyonu üzerinde etkili olarak iç yapışkanlaşmayı etkilemektedir. B ve C örneklerinde bulunan probiyotik kültürler, iç yapışkanlaşma açısından pozitif bir korelasyon göstermiş ve A örneğinden ayrılmıştır. Aynı durum, dış yapışkanlıkta da görülmüş ve oradaki sonuçlarda da A örneği B ve C den gösterdiği eğilim açısından farklı bulunmuştur.

A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile iç yapışkanlık değişimleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Grupların varyansları homojendir.

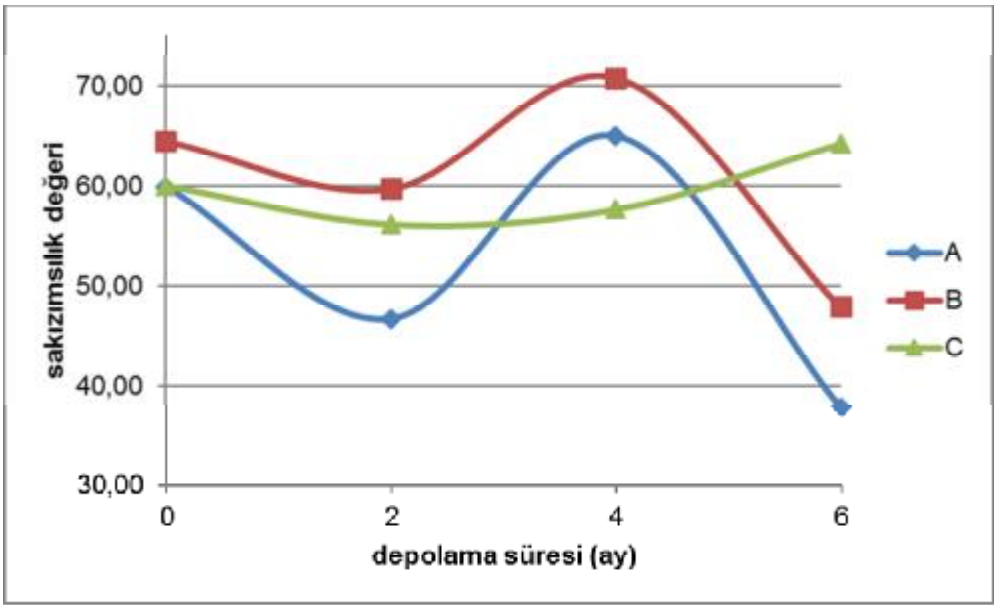
Sucuk türünün, dış yapışkanlık değerleri üzerinde etkisinin olmadığı bulunmuştur. Aynı şekilde, depolama zamanı ile dış yapışkanlık değerleri arasındaki ilişki de, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). İç yapışkanlık değerinin de, sucuğun nem içeriği ile ilgili olduğu ve sucuğun kesilebilirliği üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Bozkurt ve Bayram, 2006). Örneklerimizde, depolama süresi boyunca nem değerinde önemli bir değişiklik olmaması, depolamanın iç yapışkanlık değeri üzerinde etkili olmadığını göstermiştir.

Ergönül (2009), probiyotik sucuk örneklerinde iç yapışkanlık değerinin 0.50-1.35 arasında değiştiğini ve depolama süresince artış ve azalmalar gözlendiği bildirilmiştir. İç yapışkanlık değeri, formülasyonla özellikle de yağ içeriği ile doğrudan ilgili olduğundan, elde edilen değerlerin değişken olması normal bulunmuştur. Bu araştırmada ise, iç yapışkanlık değerleri çoğunlukla benzer bulunmuş, bu benzerliğin nedeninin ise, sucukların yağ içeriklerinin formülasyonda genel olarak iyi bir karıştırmanın da etkisi ile homojen olmasından kaynaklanabilir.

Depolama süresi boyunca, gerek kullanılan kültürlerin gerekse de diğer mikrofloranınprotein degradasyonuna bağlı olarak, iç yapışkanlığı arttırıcı etkiye neden olduğu bildirilmiştir (Ergönül, 2009). İncelenen örneklerde ise, kullanılan kültürlerin ve mikrofloranın iç yapışkanlık üzerinde etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bu durum, kullanılan kültürlerin ve mikrofloranın incelenen örneklerde benzer protein degradasyonlarına neden olduğunu düşündürmüştür.

4.3.8.5. Sakızımsılık değeri

Örneklerin sakızımsılık değerlerindeki değişim Şekil 4.22'de verilmektedir. Sakızımsılık değeri (N), TPA analizinde ikinci sıkıştırma işleminde elde edilen A2 alanının ilk sıkıştırma işleminde, elde edilen A1 alanına oranı (birimsiz) ile elde edilen değer ve sertlik değerinin (N) çarpımı sonucu bulunmaktadır. Gıdayı yutulmaya hazır hale getirmek için, parçalamaya yönelik uygulanan kuvvet olarak da bilinen sakızımsılık değeri, gıdanın sertliği ile yakından ilgili olan bir özelliktir (Ergönül, 2009).



Şekil 4.22. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki sakızımsılık değerinin değişimi

Örneklerin depolama öncesi son ürünün üretimini takiben ölçülen sakızımsılık değerleri, A, B ve C örnekleri için, 59.93, 64.43 ve 60.05 N olarak tespit edilmiştir. Depolama esnasında, örneklerin sakızımsılık değerleri değişkenlik göstermiş, 6.ay sonunda sıra ile 56.23, 47.92 ve 64.20'ye ulaştıkları görülmüştür. Görüldüğü gibi sakızımsılık değerlerinde, 6 ayın sonunda A ve B örneklerinde azalış, C örneğinde ise, artış gözlenmiştir. Sucukların sakızımsılık değeri, sertliklerinin bir yansımasıdır. Şekil 4.22. incelendiğinde, örneklerin sakızımsılıkları ile sertlikleri arasında pozitif yönde bir korelasyonun olduğu görülmektedir.

A ve B ürünleri için, depolama zamanı ile sakızımsılık arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli, C ürünü için depolama zamanı ile sakızımsılık arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Grupların varyansları homojendir. A örneği için; 2. aydaki depolama zamanı ve sakızımsılık değerleri ortalamaları ile, 4. aydaki depolama zamanı ve sakızımsılık değerleri ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 0. ve 4. aydaki depolama zamanı ve sakızımsılık değerleri ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve sakızımsılık değerleri ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak yine önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; gruplar arasında, depolama zamanı ve sakızımsılık değerleri ortalamaları arasındaki

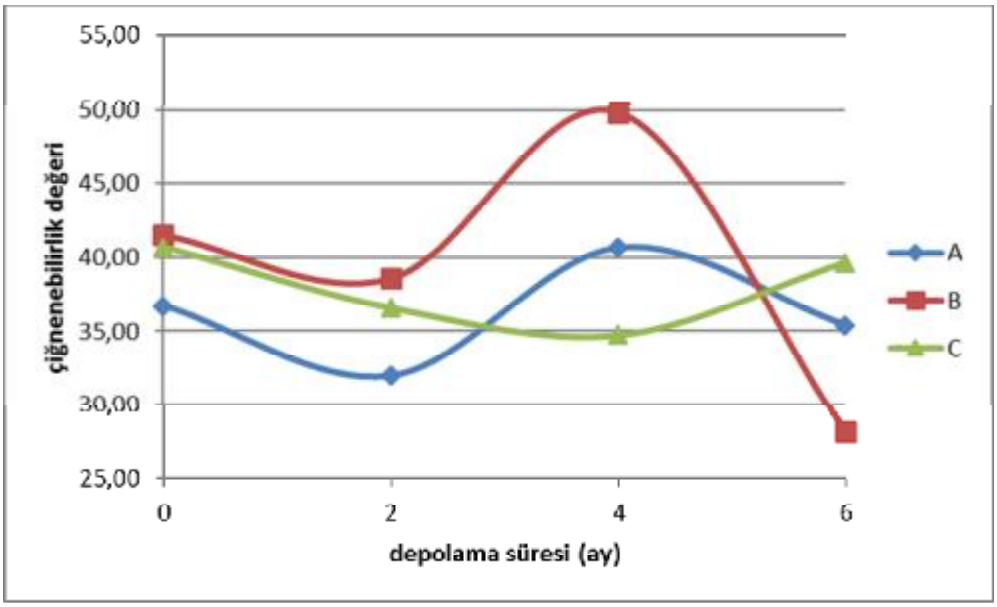
fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Sucuk türünün, sakızımsılık değerleri üzerinde etkisi yoktur. Fakat depolamanın 4. ayı ile 2. ve 6. aylarındaki verilerin aralarındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

Bozkurt ve Bayram (2006), sucuklardaki sakızımsılık değerini 56.79 N bulmuş olup, bu araştırmada bulunan değerlere yakındır.

Ergönül (2009), probiyotik sucuk örneklerinde fermantasyon sonunda sakızımsılık değerlerinin yaklaşık olarak 3-4.5 kg aralığında, depolamanın 6. ayında ise 6.5-9 kg aralığında olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda bulunan sakızımsılık değerlerinin ise, sertlik değerlerinin bir yansıması olarak, depolama süresince benzer olduğu, depolama sonunda ciddi bir yükselişin olmadığı, aksine A ve B örneklerinde düşüş gözlendiği bulunmuştur.

4.3.8.6. Çiğnenebilirlik değeri

Sucukların çiğnenebilirlik değerlerindeki değişim, Şekil 4.23'de verilmiştir. Sucuk örneklerinin ortalama çiğnenebilirlik değerleri, depolama başlangıcında A, B ve C örnekleri için sırasıyla, 36.72 N.s, 41.53 N.s ve 40.69 N.s olarak bulunmuştur. +4±1ºC'de depolanan örneklerin çiğnenebilirlik değerleri depolama sonunda düşmüştür. Depolama sonunda çiğnenebilirlik değerlerinin A, B ve C örnekleri için sırasıyla 35.41, 28.17 ve 39.64 N.s arasında değiştiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.23. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki çiğnenebilirlik değerinin değişimi

A ve C ürünleri için depolama zamanı ile çiğnenebilirlik arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz, B ürünü için depolama zamanı ile çiğnenebilirlik arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Grupların varyansları homojendir. A örneği için; gruplar arasında, depolama zamanı ve çiğnenebilirlik değerleri ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$).

B örneği için; 4. aydaki depolama zamanı ve çiğnenebilirlik değerleri ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve çiğnenebilirlik değerleri ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; gruplar arasında, depolama zamanı ve çiğnenebilirlik değerleri ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). Sucuk türünün çiğnenebilirlik değerleri üzerinde etkisi yoktur. Depolama zamanında ise 4. ay ile 6. aydaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$).

Çiğnenebilirlik, sakızımsılık (kg) ve elastikiyet (s) değerlerinin çarpımı ile elde edilmektedir. Sakızımsılık, sertliğin bir fonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle, çiğnenebilirlik direkt olarak sertlikteki değişimden doğru orantılı olarak, etkilenen bir özeliktir. Sucuk örneklerinin sertlik değerlerine bakıldığında, A ve B örnekleri için, 6. aya kadar çiğnenebilirlik değeri ile benzer bir eğilim gösterdiği,

ancak C örneğinin 2. aydan sonra sertliğinde, artışların başladığı gözlenmiştir. Sertlik ve sakızımsılık değeri arasında doğru orantını olduğunu belirtenbu hipotez C örneği hariç diğer 2 örnek için doğrulanmıştır.

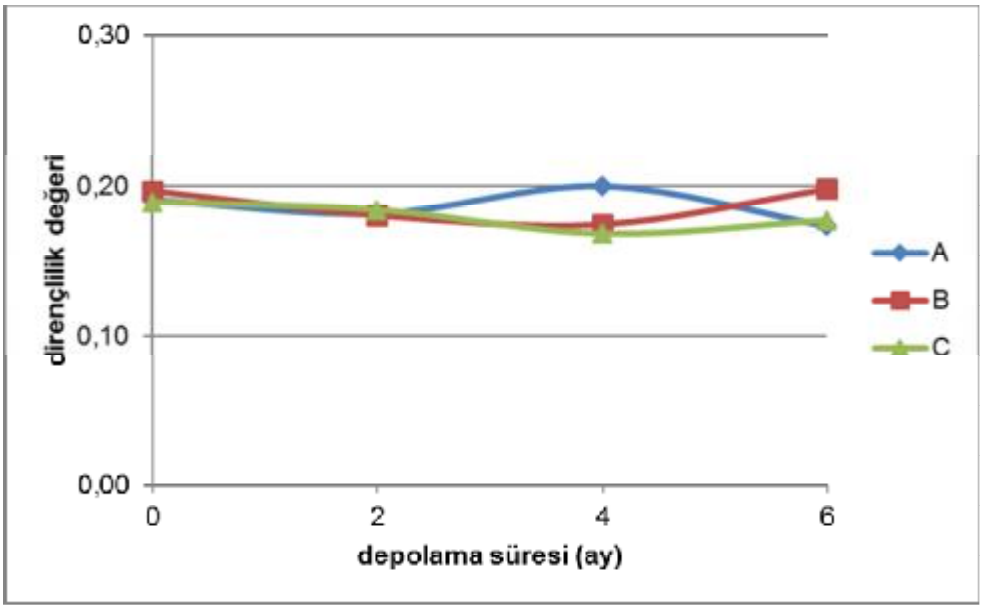
Çiğnenebilirlik değeri yükseldikçe, örneğin daha zor çiğnenebildiği sonucuna ulaşılmaktadır. Bu noktadan hareketle, örneklerin çiğnenebilirlik değerleri ile duyusal analizlerdeki doku beğeni durumu karşılaştırıldığında, çiğnenebilirlikteki artışın bir sonucu olarak, doku beğeni durumunun, tüm örnekler için 2. aydan sonra azaldığı gözlenmiştir. Sertliğin bir yansıması olarak, çiğnenebilirlik değerindeki artışın, tüketici tercihini olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir.

Bozkurt ve Bayram (2006), sucuklardaki çiğnenebilirlik değerini, bu araştırmada bulunan sonuçlara benzer, 36.93 N olarak bulmuştur.

Ergönül (2009), probiyotik sucuk örneklerinde, başlangıçta yaklaşık olarak 14-17 kg.s olan çiğnenebilirlik değerlerinin, doplama sonunda artarak, yaklaşık 40-45 kg.s aralığına çıktığını saptamışlar ve kullanılan kültürlerin çiğnenebilirlik değerleri üzerinde etkili olmadığını bulmuşlardır. Bu araştırmada benzer olarak, sucuk kültürlerinin etkisinin olmadığı, ancak depolama süresinin bu bulguların aksine çiğnenebilirlik değerleri üzerinde pek farklılık yapmadığı saptanmıştır.

4.3.8.7. Dirençlilik değeri

Sucukların dirençlilik değerlerindeki değişim, Şekil 4.24'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, A ve C örnekleri için dirençlilik değerinin 0.19 ve B örneği için 0.20 bulunduğu görülmektedir. Depolama süresi boyunca, dirençlilik değerinde artış ve azalmalar gözlenmiş, depolamanın son ayında ise, A, B ve C örnekleri için dirençliliğin sırasıyla, 0.17, 0.20 ve 0.18 olduğu belirlenmiştir. Depolama süresi boyunca, dirençlilik açısından B ve C örnekleri benzer bir eğilim göstermiş, buna karşın, A örneğinde farklı bir eğilim gözlenmiştir. Bu durumun ise, B ve C örneklerinin her ikisinin de probiyotik kültür içermesinden kaynaklandığı söylenebilir.



Şekil 4.24. Sucuk örneklerinde depolama sürecindeki dirençlilik değerinin değişimi

A, B ve C örnekleri için, depolama zamanı ile dirençlilik değişimleri arasındaki ilişki p<005 düzeyinde istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Grupların varyansları homojendir.

Sucuk türünün dirençlilik değerleri üzerinde etkisi yoktur. Aynı şekilde, depolama zamanı ile dirençlilik değerleri arasındaki ilişki de istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p<0.05).

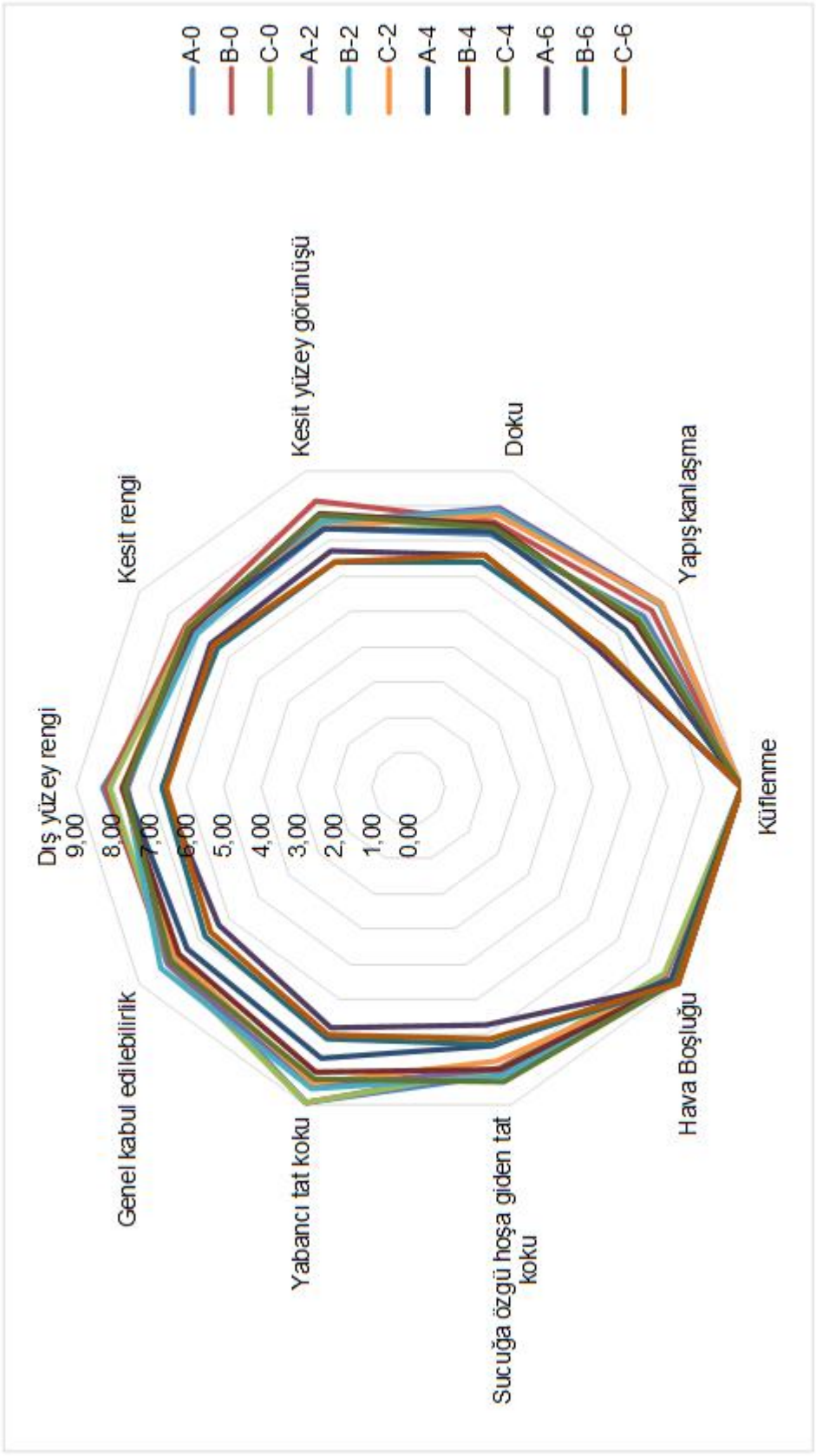
4.3.9. Sucuk örneklerininin duyusal özellikleri

Kontrol grubu (*L. plantarum*) ve probiyotik sucukların (*L. plantarum* + *L. rhamnosus*) depolama süresince belirlenen duyusal özellikleri ve beğeni durumu ile ilgili ortalama puanları Çizelge 4.21'de ve şekil verilmiştir. Değerlendirme, 5 kişilik bir panelist grubunca yapılmış ve duyusal özellikler (dış yüzey rengi, kesit rengi, kesit yüzey görünüşü, doku, yapışkanlaşma, sucuğa özgü hoşa giden tat koku, yabancı tat koku, genel kabul edilebilirlik) için 1-9 arasında puan vermeleri istenmiştir. Sucuk örneklerindeki duyusal beğeni durumu örümcek kart üzerinde de gösterilmiştir (Şekil 4.25).

Çizelge 4.26. Sucuk örneklerinin depolama sürecindeki duyusal özellikleri

	0. ay			2. ay			4. ay			6. ay		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Dış yüzey rengi	8.27^{aA}	8.20 ^{aA}	8.07 ^{aA}	7.60 ^{cA}	7.67 ^{cABC}	7.73 ^{bAB}	7.67 ^{bA}	7.73 ^{bB}	7.67 ^{cAB}	6.67 ^{dB}	6.67 ^{dC}	6.53 ^{dB}
Kesit rengi	7.13 ^{cA}	7.47 ^{aA}	7.33 ^{bA}	7.40 ^{aA}	7.07 ^{cA}	7.40 ^{aA}	7.33 ^{bA}	7.27 ^{bA}	7.33 ^{bA}	6.60 ^{dA}	6.40 ^{dA}	6.53 ^{cA}
Kesit yüzey görünüşü	7.33 ^{bA}	8.13 ^{aA}	7.67 ^{bA}	7.53 ^{aA}	7.53 ^{cA}	7.40 ^{cABC}	7.33 ^{bA}	7.80 ^{bA}	7.73 ^{aAB}	6.73 ^{cA}	6.40 ^{dB}	6.40 ^{dC}
Doku	7.20 ^{cAB}	7.53 ^{bAB}	7.33 ^{cAB}	7.93 ^{aA}	7.87 ^{aA}	7.73 ^{aA}	7.27 ^{bAB}	7.47 ^{cAB}	7.40 ^{bAB}	6.60 ^{dB}	6.40 ^{dB}	6.60 ^{dB}
Yapışkanlaşma	7.87 ^{bAB}	8.13 ^{bA}	7.73 ^{bAB}	8.47 ^{aA}	8.40 ^{aA}	8.47 ^{aA}	7.27 ^{cAB}	7.60 ^{cAB}	7.67 ^{cAB}	6.33 ^{dB}	6.47 ^{dB}	6.47 ^{dB}
Hava Boşluğu	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
Sucuğa özgü hoşa giden tat koku	8.13 ^{a}	7.93 ^{c}	8.00 ^{bAB}	8.00 ^{b}	8.20 ^{a}	7.73 ^{cABC}	7.33 ^{c}	8.00 ^{b}	8.33 ^{aAB}	6.73 ^{d}	7.27 ^{d}	7.13 ^{dC}
Yabancı tat koku	8.93 ^{aA}	8.93 ^{aA}	8.93 ^{aA}	8.47 ^{bAB}	8.53 ^{bAB}	8.40 ^{bA}	7.67 ^{cB}	8.07 ^{cB}	8.27 ^{cA}	6.80 ^{dBC}	7.13 ^{dC}	7.00 ^{dB}
Genel kabul edilebilirlik	7.87 ^{bA}	8.07 ^{bA}	8.07 ^{aA}	8.07 ^{aA}	8.27 ^{aA}	7.80 ^{cA}	7.40 ^{cAB}	7.67 ^{cAB}	7.93 ^{bA}	6.33 ^{dB}	6.80 ^{dB}	6.60 ^{dB}

$^{a-d}$: ortalamalar açısından büyükten küçüğe sıralama; $^{A-D}$: depolama süresine göre ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)



Şekil 4.25. Sucuk örneklerinin depolama sürecindeki duyusal özellikleri

Sonuçlar incelendiğinde, dış yüzey rengi bakımından en yüksek puanı 0. ay grubundaki kontrol örneğinin aldığı görülmüş ve depolamanın sonuna doğru, tüm örnekler için beğeni durumunun azaldığı gözlenmiştir. İlk aydan sonraki diğer aylara baktığımızda ise, en çok beğenilen örnekler, aylara göre değişkenlik göstermiştir. 2. ayda, en çok beğenilen örnek, ME probiyotik kültür içeren sucuk, 4. ayda, serbest probiyotik kültür içeren sucuk ve 6. ayda ise hem kontrol hem de serbest probiyotik kültür içeren sucuk en yüksek beğeni puanını almıştır. Dış yüzey rengi açısından puanlar 6.53-8.27 arasında değişmiştir. Dış yüzey rengi açısından kontrol grubu sucuğa en yakın sonuçları ise serbest kültür ile üretilen sucuklar almıştır. A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile dış yüzey renk değişimleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Grupların varyansları homojendir. A örneği için; 0., 2. ve 4. aylardaki depolama zamanı ve dış yüzey renk değişimleri ortalamaları ile 6. aydaki renk değişimleri ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 0. ay ile 4. ve 6. aylardaki depolama zamanı ve renk değişimleri ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0. ay ile 6. aydaki depolama zamanı ve renk değişimleri ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Dış yüzey rengi üzerine sucuk türünün önemsiz olduğu bulunmuştur (A=B=C). Depolama zamanı ile dış yüzey rengi arasındaki ilişki incelendiğinde, istatiksel olarak en önemli verinin, 0. ayda elde edildiğinin, bunu 2. ve 4. ayların (eşit önem düzeyinde) takip ettiği görülmektedir. İstatiksel olarak önem düzeyi en az olan veri ise, 6. ayda elde edilmiştir (0>2=4>6).

Kesit rengi bakımından, en yüksek puanı 0. ay grubundaki serbest kültür içeren, sucuk örneğinin aldığı görülmüş ve depolamanın sonuna doğru, tüm örnekler için beğeni durumunun azaldığı gözlenmiştir. İlk aydan sonraki diğer aylara baktığımızda ise, en çok beğenilen örnekler, aylara göre değişkenlik göstermiştir. 2. aydan sonra, diğer tüm aylarda en çok beğenilen örneklerin, kontrol grubu sucuk ile ME probiyotik kültür içeren sucuklar olduğu bulunmuştur. Kesit rengi açısından puanlar, 6.40-7.47 arasında değişmiştir. Kesit rengi açısından, kontrol grubu sucuğa en yakın sonuçları ise ME kültür ile üretilen sucuklar almıştır. A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile kesit rengi arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak

önemsiz bulunmuştur.

Kesit yüzey görünüşü bakımından, en yüksek puanı 6. ay'a kadar serbest probiyotik kültür içeren örneğimizin aldığı görülmüş ve depolamanın sonuna doğru tüm örnekler için beğeni durumunun azaldığı gözlenmiştir. Kesit yüzey görünüşü açısından puanlar, 8.13-6.40 arasında değişmiştir. Kesit yüzey görünüşü açısından kontrol grubu sucuğa en yakın sonuçları, ME probiyotik kültür ile üretilen sucuklar almıştır. B ve C ürünleri için depolama zamanı ile kesit yüzey görünüşü arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunurken, A ürünü için depolama zamanı ile kesit yüzey görünüşü arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). A örneği için; gruplar arasında, depolama zamanı ve kesit yüzey görünüşü ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 0., 2. ve 4. aylardaki depolama zamanı ve kesit yüzey görünüşü ortalamaları ile 6. aydaki kesit yüzey görünüşü ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0., 2. ve 4. aylardaki depolama zamanı ve kesit yüzey görünüşü ortalamaları ile 6. aydaki kesit yüzey görünüşü ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Kesit yüzey görünüşü üzerinde sucuk türünün etkisi önemsiz olduğu saptanmıştır (A=B=C). Depolama zamanı ile kesit yüzey görünüşü arasındaki ilişki incelendiğinde, istatistiksel olarak en önemli verinin 0. 2. ve 4. ayların (eşit önem düzeyinde) takip ettiği görülmektedir. İstatistiksel olarak önem düzeyi en az olan veri ise, 6. ayda elde edilmiştir (0=2=4>6).

Doku bakımından en yüksek puanı, 2. ay grubundaki kontrol grubu sucuk örneğinin aldığı görülmüş ve depolamanın 4. ayına kadar tüm örnekler için doku açısından beğeni durumunun arttığı gözlelenmiştir. Buna karşın, altıncı ayda doku özellikleri açısından örnekler, en düşük puanları almıştır. İlk aydan sonraki diğer aylara baktığımızda ise, en çok beğenilen örnekler aylara göre değişkenlik göstermiştir. 2. ve 6. ayda en beğenilen örnek kontrol örneğimiz olarak bulunurken 4. ayda, en beğenilen örneğin serbest kültür içeren sucuk örneği olduğu belirtilmiştir. Doku açısından puanlar, 6.40-7.93 arasında değişmiştir. Doku açısından kontrol grubu sucuğa en yakın sonuçlar, aylara göre değişkenlik göstermiş,, buna göre 0. ve 4. ayda ME probiyotik kültür içeren sucuklar yakın bulunurken, 2. ve 6. ayda serbest

probiyotik kültür içeren sucuklar yakın bulunmuştur. B ve C ürünleri için, depolama zamanı ile kesit yüzey görünüşü arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli, A ürünü için depolama zamanı ile kesit yüzey görünüşü arasındaki ilişki ise, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). A örneği için; 2. aydaki depolama zamanı ve doku puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve doku puan ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 2. aydaki depolama zamanı ve doku puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve doku puan ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak yine önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; ; 2. aydaki depolama zamanı ve doku puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve doku puan ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Doku üzerinde sucuk türünün önemli olmadığı saptanmıştır (A=B=C). Depolama zamanı ile kesit yüzey görünüşü arasındaki ilişki incelendiğinde, istatiksel olarak en anlamlı verinin 0. 2. ve 4. ayların (eşit önem düzeyinde) takip ettiği görülmektedir. İstatistikksel olarak önem düzeyi en az olan veri ise 6. ayda elde edilmiştir (0=2=4>6).

Yapışkanlaşma açısından puanlar, 6.33-8.47 arasında değişmiştir. Yapışkanlaşma açısından kontrol grubu sucuğa en yakın sonuçları, çoğunlukla ME kültür ile üretilen sucuklar almıştır. Yapışkanlaşma bakımından en yüksek puanı, 2. ay gurubundaki kontrol ve ME kültür içeren sucuk örneğimizin aldığı görülmüş ve depolamanın sonuna doğru, tüm örnekler için beğeni durumunun azaldığı gözlenmiştir. İlk aydan sonraki diğer aylara baktığımızda ise, en çok beğenilen örnekler aylara göre değişkenlik göstermiştir. Buna göre, 0. ayda serbest kültür ile üretilen sucuklar, 2. ayda kontrol ve ME kültür ile üretilen sucuklar, 4. ayda ME kültür ile üretilen sucuklar ve son olarak 6. ayda serbest ve ME kültür ile üretilen sucuklar en çok beğeniyi almıştır. Sonuçlardan da görüldüğü üzere, 0. aydan sonra, tüm aylar için en çok beğenilen sucuğun, ME kültür ile üretilen sucuk olduğu görülmektedirA, B ve C ürünleri için, depolama zamanı ile yapışkanlaşma değişimleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. A örneği için; 2. aydaki depolama zamanı ve yapışkanlaşma puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve doku puan ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 0. ve 2. aylardaki

depolama zamanı ve yapışkanlaşma puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve yapışkanlaşma ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 2. aydaki depolama zamanı ve yapışkanlaşma puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve doku puan ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Yapışkanlaşma üzerine, sucuk türünün etkili olmadığı belirlenmiştir (A=B=C). Depolama zamanı ile yapışkanlaşma arasındaki ilişki incelendiğinde, istatistiksel olarak en önemli verinin, 2. ayda elde edildiği görülmektedir. Bunu, 0. ve 4. ay verileri takip etmektedir. İstatistiksel olarak önem düzeyi en az olan veri ise, 6. ayda elde edilmiştir (2>0>4>6).

Sucuk örneklerinin hiçbirinde, 6 ay boyunca hava boşluğu tespit edilmemiştir. Sucuğa özgü hoşa giden tat koku bakımından en yüksek puanı 4. ay gurubundaki, ME kültür ile üretilmiş olan sucuk almış ve depolamanın sonunda, tüm örneklerde beğeni durumunun azaldığı gözlemlenmiştir. İlk aydan sonraki diğer aylara baktığımızda ise en çok beğenilen örnekler, aylara göre değişkenlik göstermiştir. Buna göre 0. ayda kontrol gurubu sucuklar, 2. ve 6. ayda serbest kültür ile üretilen sucuklar, 4. ayda ME kültür ile üretine sucuklar en çok beğeniyi almıştır. Sucuğa özgü hoşa giden tat koku açısından puanlar, 6.73-8.33 arasında değişmiştir. Kontrol grubu sucuğa en yakın sonuçları ise çoğunlukla, ME kültür ile üretilen sucuklar almıştır. A ve B ürünleri için depolama zamanı ile sucuğa özgü hoşa giden tat koku puanları arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuş, C ürünü için depolama zamanı ile sucuğa özgü hoşa giden tat koku puanları arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). A örneği için; gruplar arasında, depolama zamanı ve sucuğa özgü hoşa giden tat koku puanları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; Gruplar arasında, depolama zamanı ve sucuğa özgü hoşa giden tat koku puanları ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0. ve 4. aylardaki depolama zamanı ve sucuğa özgü hoşa giden tat koku puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve sucuğa özgü hoşa giden tat koku puan ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Sucuğa özgü hoşa giden tat-koku üzerinde sucuk türünün etkili olmadığı

belirlenmiştir (A=B=C). Depolama zamanı ile sucuğa özgü hoşa giden tat-koku arasındaki ilişki incelendiğinde, istatistiksel olarak en önemli verinin, 0. 2. ve 4. aylarda (eşit önem düzeyinde) elde edildiği görülmektedir. İstatistiksel olarak önem düzeyi en az olan veri ise, 6. ayda elde edilmiştir (0=2=4>6).

Yabancı tat ve koku gelişimi açısından panalisler, sucuk örneklerinden genel olarak rahatsız edici bir kokunun hissedilemediğini, ancak depolamanın sonuna doğru hoşa gitmeyen kokuların ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Panelistler tarafından, ilk iki ayda yabancı tat ve konunun pek hissedilmediği, ancak 2. aydan sonra 4. ayda az da olsa yabancı tat ve koku hissinin oluştuğu, özellikle 6. ayda bu durumun belirgin düzeye geldiği bildirilmiştir. Yabancı tat ve koku ile ilgili puanlara baktığımızda, 0. ayda tüm sucukların aynı puanı aldığı ve genel olarak beğenildiği gözlenirken, diğer aylarda bu puanların, değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Depolamanın sonunda, 4. ve 6. aylarda özellikle kontrol grubu örneklerde, yabancı tat ve kokunun belirginleştiği tespit edilmiştir. Probiyotik kültür içeren sucuklarda, kontrol grubuna göre, daha az düzeyde yabancı tat ve koku hissedilmesinin, probiyotik kültürlerin istenmeyen kokulara neden olacak mikroorganizmaların gelişimini engellemesi olarak açıklanabilir. A, B ve C ürünleri için depolama zamanı ile yabancı tat koku değişimleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. A ve B örnekleri için; 0. ay depolama zamanı ve yabancı tat ve koku puan ortalamaları ile 4. ve 6. aylardaki yabancı tat ve koku puanları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0., 2. ve 4. aylardaki depolama zamanı ve yabancı tat ve koku puan ortalamaları ile 6. aydaki yabancı tat ve koku puanları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Yabancı tat-koku üzerinde sucuk türünün, etkili olmadığı belirlenmiştir (A=B=C). Depolama zamanı ile yabancı tat-koku arasındaki ilişki incelendiğinde, istatiksel olarak en önemli verinin 0. ayda elde edildiği görülmektedir. Bunu, 2. ve 4. ay verileri takip etmektedir. İstatiksel olarak, önem düzeyi en az olan veri ise 6. ayda elde edilmiştir (0>2>4>6).

Genel kabul edilebilirlik açısından puanlar, 6.33-8.27 arasında değişmiştir. Genel kabul edilebilirlik bakımından en yüksek puanı, 2. ay gurubundaki serbest kültür içeren sucuk örneğimizin aldığı görülmüş ve depolamanın sonuna doğru, tüm

örnekler için beğeni durumunun azaldığı gözlemlenmiştir. İlk aydan sonraki diğer aylara baktığımızda ise, en çok beğenilen örnekler, aylara göre değişkenlik göstermiştir. Buna göre, 0. ayda serbest kültür içeren ve ME içeren sucuk aynı puanı alarak en çok beğenilmiştir, 2. ayda ve 6. ayda serbest kültür içeren sucuk ve 4. ayda ise ME kültür içeren sucuk en çok beğenilen sucuk olmuştur. Sonuçlardan da görüldüğü üzere, genel kabul edilebilirlilik açısından, ME ve serbest probiyotik kültür içeren sucuklar, daha çok beğeni toplamışlardır. A, B ve C ürünleri için, depolama zamanı ile genel kabul edilebilirlik değişimleri arasındaki ilişki $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. A örneği için; 0. ve 2. aylardaki depolama zamanı ve genel kabul edilebilirlik puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve genel kabul edilebilirlik puan ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). B örneği için; 0. ve 2. aylardaki depolama zamanı ve genel kabul edilebilirlik puan ortalamaları ile 6. aydaki depolama zamanı ve genel kabul edilebilirlik puan ortalamaları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). C örneği için; 0., 2. ve 4. aylardaki depolama zamanı ve genel kabul edilebilirlik puan ortalamaları ile 6. aydaki yabancı tat ve koku puanları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Genel kabul edilebilirlik üzerine, sucuk türünün etkili olmadığı belirlenmiştir (A=B=C). Depolama zamanı ile genel kabul edilebilirlik arasındaki ilişki incelendiğinde, istatistiksel olarak en önemli verinin 0. 2. ve 4. aylarda (eşit önem düzeyinde) elde edildiği görülmektedir. İstatistiksel olarak önem düzeyi en az olan veri ise 6. ayda elde edilmiştir (2=0=4>6).

Genel kabul edilebilirlik değerlerini incelediğimizde, probiyotik sucukların daha iyi puanlar aldığı görülmektedir. Dış yüzey rengi ile ilgili sonuçlarda ise, 2. ay hariç, ME probiyotik kültür içeren sucukların daha az puan aldıkları görülmüştür. Bu durumunun, kullanılan mikrokapsüllerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim sucuk üretiminde katkı olarak kullanılan kapsüllerin beyaza yakın bir renkte olması sucuk renginde alışılagelmiş sucuk renginden farklı bir algının oluşmasına neden olabilmiştir.

Çizelge 4.21'den de görüldüğü üzere, küflenme ve hava boşluğu özellikleri hariç, depolamanın sonunda sucuğun diğer tüm duyusal özelliklerinde beğeni

durumu azalmaya başlamıştır. Depolamanın 4. ayına kadar duyusal özellikler değişkenlik göstermiş, ancak 4 aydan sonra 6. ay örneklerinde beğeni durumu azalmıştır. Örnekleri kendi içlerinde değerlendirdiğimizde ise, probiyotik sucuk örnekleri ile sade sucuk örnekleri arasında duyusal olarak önemli bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir.

Fermente sosislerde probiyotik kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalarda, probiyotik kültür kullanımının duyusal özellikler üzerine yaptığı etkiye dair farklı araştırmacılar tarafından farklı sonuçlar verilmiştir. Nitekim Moyano ve ark. (2011b) probiyotik kültür (*Lactobacillus fermentum* HL57 ve *P. acidilactici* SP979) ilavesinin duyusal özelliklerden aromayı olumsuz etkilediğini bildirmişler ve farklı probiyotik kültürlerin aroma üzerinde farklı etkilerinin olabileceğini belirtmişlerdir. Rubio ve ark. (2013) ise, probiyotik kültür kullanımın (*L. casei* CTC1677, *L. casei* CTC1678 ve *L. rhamnosus* CTC1679) duyusal özellikler üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Trzaskowska ve ark. (2013) ise, probiyotik kültür kullanımının (*Lactobacillus casei* LOCK 0900) duyusal özellikleri değiştirebildiğini saptamışlar ve probiyotik ilavesinin daha iyi algılanabilir, hoş bir aromaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında 6 aylık depolama süreci sonunda duyusal özellikler üzerinde pozitif etkilerin meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Ergönül (2009), probiyotik sucuk örneklerinde depolama süresince yaptığı duyusal analiz sonucunda lezzet, koku, renk, doku, genel beğeni gibi duyusal özelliklerde depolamanın sonunda azalış olduğunu ve farklı kültürlerin farklı beğeni özelliklerine neden olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda ise bu çalışmaya benzer olarak depolama sonuna doğru beğeni durumunun azaldığı görülmüştür.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, hem mikroenkapsüle probiyotik kültürle, hem de serbest kültürle üretimi yapılan sucuk örneklerinin tümünde, 6 ay'lık depolama periyodu süresince 2'şer ay aralıklarla, mikrobiyolojik analizler, biyojen amin tayini, aroma maddeleri tayini ve duyusal analizler yapılmış ve analizlerin sonuçları istatistiksel yönden karşılaştırmıştır. Elde edilen sonuçlardan aşağıdaki genel sonuç ve öneriler çıkarılmıştır.

- *L. rhamnosus*'un, gastrik koşullara dayanımı, cevap yüzey tekniğiyle belirlenmiş ve ideal kaplama materyali kombinasyonunun, %1.89 sodyum aljinat, %0.96 gellan gam, %0.15 jelatin, %1 peptit, %1.45 fruktooligosakkarit olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlardan da görüldüğü üzere, canlılığı destekleyici yararlı özelliğinden dolayı, kaplama materyallerine ilave olarak, prebiyotik katkı kullanımı, bu teknik ile ortaya konmuştur.
- Depolamanın başlangıcında, *L. rhamnosus* sayısı, kontrol gurubu sucuk örneklerinde, 4.55 log kob/g, serbest *L. rhamnosus* içeren sucuklarda, 7.35 log kob/g ve mikroenkapsüle *L. rhamnosus* içeren sucuklarda, 8.19 log kob/g düzeyinde bulunmuştur. 6. ayın sonunda *L. rhamnosus* sayısı serbest *L. rhamnosus* içeren sucuklarda, 6.59 log kob/g ve ME *L. rhamnosus* içeren sucuklarda, 7.99 log kob/g düzeyine azalmıştır. Serbest *L. rhamnosus* sayısında, depolamanın sonunda 1 log kob/g'a (0.76 log kob/g) yakın düzeyde bir azalış meydana gelirken, ME *L. rhamnosus* içeren sucukta, 0.20 log kob/g düzeyinde bir düşüş meydana gelmiştir. Sonuçlardan da görüldüğü üzere, mikroenkapsülasyon işlemi sucuk gibi kuru ve yoğun baharat içeren bir üründe, probiyotik kültürlerin dayanımını sağlamış ve üründeki probiyotik kültürlerin sayısının sabit kalmasına katkıda bulunmuştur.
- Serbest kültür (B) ve ME kültürle (C) üretilen sucukların, yapay safra ve mide koşullarına dayanımlarıyla ilgili elde edilen sonuçlara göre, serbest kültürle üretilmiş sucuklarda, canlı hücre sayısındaki azalışın daha çok olduğu, ME kültürle üretilmiş sucuklarda ise, mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik

kültürün dayanımını arttırdığı belirlenmiştir. Başlangıçta, 7 log kob/g düzeyinde olan *L. rhamosus* sayısı, yapay mide ve safra koşullarında, azalmış ve en büyük azalma, serbest kültür içeren sucuklarda gözlenmiştir. Bu sonuçlardan da görüldüğü üzere, mikroenkapsülasyon işlemi hücre canlılığında, serbest kültüre göre, yaklaşık 1 log kob/g düzeyinde daha fazla dayanım kazandırmıştır.

- Örneklerin nem içerikleri, kurumaya bağlı olarak, fermantasyon ve kurutma sonrası azalmış ve sucuk örneklerinde ağırlık kaybı, su aktivitesinde ve pH'da düşüş gözlenmiştir. Depolama boyunca örneklerin nem miktarlarında (yaklaşık %36-38) önemli bir değişiklik olmamıştır. Nem miktarında önemli değişikliğin olmamasının, vakum paketlemeden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda, gıda ambalajlamada, depolama süresince, başlangıç değerlerine yakın değerler elde etmek için yani ürünü, ilk günkü özelliklerine yakın tutmak ve daha stabil kalmasını sağlamak için vakum paketlemenin önemi ortaya çıkmıştır.
- Sucuk örneklerimizdeki biyojen aminlerin çoğunun (triptamin, fenil etil amin, putresin, kadaverin, histamin ve tiramin) miktarında, depolama sonuna doğru genel olarak artış gözlenmiş ve probiyotik kültür içeren sucuklardaki biyojen amin miktarının, daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, toksik etkileri de olduğu bilinen biyojen amin oluşumunun önüne geçmek veya daha düşük düzeyde oluşumlarını sağlamak için probiyotik kültür kullanımı önerilmiştir.
- Olgunlaşma sürecini tamamlamış ve depolama periyodu süresince izlenen sucuklardan, 60 adet aromatik bileşik tespit edilmiş ve bu bileşiklerden 6'sı aldehitler, 10'u asitler, 5'i alkoller, 3'ü esterler, 2'si kükürtlü bileşikler ve 34'ü terpenler olarak tanımlanmıştır. Sucuk örneklerindeki toplam aroma maddeleri miktarı, 9964.5-45135.4 µg/kg arasında ve örneklerde en yüksek düzeyde bulunan aroma maddesi grubunun baharatlardan gelen terpenler olduğu bildirilmiştir. Sucuk örneklerindeki toplam aroma bileşiklerinin miktarı incelendiğinde, 6.ay hariç olmak üzere, aroma miktarlarının genelde çoktan aza doğru sırasıyla, ME probiyotik kültür içeren sucuk, serbest

probiyotik kültür içeren sucuk ve kontrol grubu sucuk örneklerinde olduğu saptanmıştır. C ve B örneklerinde starter kültürün yanı sıra, probiyotik kültür varlığının olması, aroma miktarını etkilemiş ve daha yüksek miktarlarda aroma oluşumuna neden olmuştur. Özelliklede, mikroenkapsüle *L. rhamnosus* içeren sucuk örneklerinde, aroma maddelerinin miktarının daha yüksek olması, mikrokapsülerin aroma maddelerini yapısında tutup salınımlarını önlemeleri ile açıklanabilmektedir. Bu durum, özellikle fermantasyon sürecinde veya depolama periyodunda dışarıdan ilave edilen baharatlardan gelen, terpenik bileşik miktarının korunması açısından oldukça faydalı olduğunu düşündürmüştür.

- Sucuktaki, lipid oksidasyonundan gelen aldehitlerin probiyotik sucuk örneklerinde daha yüksek düzeyde bulunduğu görülmüştür. Laktobasil türleri, genel olarak zayıf lipolitiktirler ve hidrojen peroksit üretimleri yüksektir. Hidrojen peroksit üretimi, gıdanın korunmasında yararlı olmakla birlikte, lipid oksidasyonunu da tetikleyici etkiye sahiptir. Görüldüğü üzere, laktik asit bakterilerinin daha düşük lipit oksidasyonuna neden olmaları beklenmekle birlikte, hidrojen peroksit üretmeleri, bunu tersi yönüne de çevirebilmektedir. Nitekim, starter kültürün yanı sıra, *L. rhamnosus* probiyotik kültürünü içeren sucuklardaki, aldehit içeriğinin daha yüksek olması, *L. rhamnosus*'un yüksek hidrojen peroksit üretiminden kaynaklanabildiğini düşündürmüştür. Bu kapsamda, *L. rhamnosus*'un veya başka bir probiyotik kültürün hidrojen peroksit üretimi ve aldehit üretimi üzerindeki etkisi detaylı olarak araştırılmalı ve aroma özelliklerini geliştirmesi açısından da en uygun probiyotik türünün belirlenmesi önerilmektedir.
- Sucuklarda tekstürel özellikler üzerine, depolama sürecinin ve kullanılan kültürlerin istatistiksel olarak etkili olmadığı bulunmuştur. Bu durumun, sucuklarda üretim sırasında uygulanan vakum ambalajlamadan kaynaklandığı belirtilmiştir. Bu nedenle, ürünün stabilitesinin korunması açısından, vakum ambalajlamanın oldukça yararlı bir işlem olduğu görülmektedir.
- Duyusal özellikler bakımından sonuçlar incelendiğinde, depolamanın sonuna doğru tüm örnekler için beğeni durumunun azaldığı gözlenmiştir. Dış yüzey

rengi bakımından en yüksek puanı 0. ay grubundaki kontrol örneğinin aldığı görülmüş ve ilk aydan sonraki diğer aylara baktığımızda ise, en çok beğenilen örnekler, aylara göre değişkenlik göstermiştir. Kesit rengi bakımından, en yüksek puanı 0. ay grubundaki serbest kültür içeren, sucuk örneğinin aldığı görülmüş ve ilk aydan sonraki diğer aylara baktığımızda ise, en çok beğenilen örnekler, aylara göre değişkenlik göstermiştir. Kesit yüzey görünüşü bakımından, en yüksek puanı 6. ay'a kadar serbest probiyotik kültür içeren örneğimizin aldığı görülmüştür. Doku bakımından en yüksek puanı, 2. ay grubundaki kontrol grubu sucuk örneğinin aldığı görülmüştür. Yapışkanlaşma bakımından en yüksek puanı, 2. ay gurubundaki kontrol ve ME kültür içeren sucuk örneğimizin aldığı görülmüştür. Yabancı tat ve koku gelişimi açısından panalisler, sucuk örneklerinden genel olarak rahatsız edici bir kokunun hissedilemediğini, ancak depolamanın sonuna doğru hoşa gitmeyen kokuların ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Genel kabul edilebilirlik bakımından en yüksek puanı, 2. ay gurubundaki serbest kültür içeren sucuk örneğimizin aldığı görülmüş. Duyusal özellikler bakımında sonuçlar genel olarak incelendiğinde gerek serbest kültür ile üretilen gerekse mikroenkapsüle kültür ile üretilen probiyotik sucukların, kontrol gruba yakın olduğu belirlenmiştir. Bu durum kontrol grubu sucuğa eşdeğer duyusal özelliklerde probiyotik sucuk üretiminin mümkün olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada, probiyotik sucuk üretiminde mikroenkapsüle edilmiş kültürlerin kullanımı ile ilgili yukarıda özetlenen somut bilgiler ortaya çıkmış olup, çalışmanın endüstriyel boyutunde bu bilgiler ele alınmalıdır. Üretilen probiyotik sucuğun, hem dilimlenmiş olarak sandviç tarzı tüketime uygunluğu ile kolay hazırlanabilir nitelikte bir ürün, hem de probiyotik mikroorganizmaları içermesi nedeniyle, probiyotik ürün tüketimine eğilimli olan tüketiciler için, iyi bir fonksiyonel ürün olacağı düşünülmektedir. Böylece, düzenli olarak probiyotik ürün tüketmek isteyen tüketiciler bir yandan sucuk gibi kolay hazırlanabilen ve ülkemizde oldukça sevilen bir ürünün yanı sıra, probiyotik ürün de tüketmiş olacaklardır. Ürün çeşitliliğinin artması, süt veya bazı tahıl ürünlerinin yanı sıra, probiyotik sucuk

tüketme olanağı da verecektir. Ayrıca ülkemizde geleneksel olarak hiçbir ısıl işleme maruz bırakılmadan hijyenik koşullarda üretilen sucuğun tüketicilerin damak zevkine uygun olarak, fermente ürüne özgü tadı ile ülkemizde üretilen salam çeşitleri gibi, dilimlenmiş olarak satışa sunulabilecektir.

Diğer yandan, bu çalışma ile, geleneksel bir ürünümüz olan ve tüketicinin yıllardan beri severek tükettiği sucuğun, mikroenkapsüle probiyotik kültürlerle üretimini olanaklı kılan metot geliştirilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, daha çok süt ürünlerinde mikroenkapsüle probiyotik kullanımı üzerinde durulmuş ve mikroenkapsülasyon tekniğinin mikroorganizmanın canlılığını koruduğuna dair birçok çalışma yapılmıştır.

Ayrıca, araştırmada, cevap yüzey tekniğinin kullanılması sayesinde, yapay gastrik koşullarda canlılığın korunması bakımından en ideal kaplama materyali kombinasyonunun seçimi yapılmıştır. Böylece, bu çalışmada kullanılan kültürlerin kullanılacağı başka çalışmalarda, ideal mikroenkapsülasyon materyali seçiminin yapılması bakımından da katkı sağlanmış olacaktır.

KAYNAKLAR

AGERHOLM-LARSEN, L., RABEN, A., HAULRIK, N., HANSEN, A.S., MANDERS M., and ASTRUP, A., 2000. Effect of 8 week intake of probiotic milk products on risk factors for cardiovascular diseases. European Journal of Clinical Nutrition, 54, 288–297.

AKSAN, E., 2005. Çeşitli mayalardan karotenoidlerin elde edilmesi ve sucukta renklendirici olarak kullanım olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 160s.

AKSU, M., 2003. Türk sucugu üretiminde *Urtica dioica* L. (Isırgan Otu) kullanımının sucugun kalitesi üzerine etkisi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 27, 685-693.

ALLAN-WOJTAS P, TRUELSTRUP HANSEN L, PAULSON AT. 2008. Microstructural studies of probiotic bacteria-loaded alginate microcapsules using Standard electron microscopy techniques and anhydrous fixation. LWT-Food Sci Technol, 41, 101-108.

ALPER, N., ve TEMİZ, A., 2001. Gıdalardaki biyojen aminler ve önemi. Türk Hij Den Biyol Derg, Cilt 58, No 2, S : 71 – 80

AMMOR, M.S., and MAYO, B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. Meat Science, 76, 138–146

ANAL AK, SINGH H, 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends Food Sci Tech, 18, 240-251.

ANDERSEN, L., 1998. Fermented dry sausages produced with the admixture of probiotic cultures. 44th International Congress of Meat Science and Technology, pp. 826– 827.

ANNAN NT, BORZA AD, HANSEN LT. 2008. Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. Food Res Int, 41, 184–193.

ANONYMOUS, 2001b. Et ve Et Ürünleri- Rutubet Muhtevası(Referans Metot). TS 1743.

ANONYMOUS, 2011. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği.

ANONYMOUS, 2012. Türk Sucukları. TS 1070.

ANONYMOUS,1978. Et ve Et Mamüllerinde pH Tayini (Referans Metot). TS 3136.

ANSORENA D., GIMENO O., ASTIASARAN I., and BELLO J., 2001. Analysis of volatile compounds by GC±MS of a dry fermented sausage: chorizo de Pamplona. Food Research International., 34, 67-75.

ANSORENA D., ZAPELENA M.J., ASTIASARAN I., and BELLO J., 1998. Addition of palatase m (lipase from *rhizomucor miehei*) to dry fermented sausages: Effect over lipolysis and study of the further oxidation process by GC-MS. J. Agric. Food Chem., 46, 3244-3248.

ARGIN S. 2007. Microencapsulation of probiotic bacteria in xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels. Ph.D. Dissertation, University of Maryland, College Park, Amerika, 70p.

AŞKAR, M., 1996. Bazı fermente et ürünlerinden izole edilen Pediococcus suşlarının metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi ve yeni bir metodla bakteriyosinin kısmi pürifikasyonu ile aktivitesinin tespiti. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimileri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 110s.

AYHAN, K., KOLSARICI, N., and OZKAN, G.A., 1999. The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish Soudjoucks. Meat Science, 5:183–188.

BARBERÁ, E.S., VIUDA-MARTOS, M., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, F., PÉREZ-ALVAREZ, J.A., and SENDRA, E., 2012. Combined use of a probiotic culture and citrus fiber in a traditional sausage ‘Longaniza de Pascua’. Food Control, 27, 343-350

BAŞYİĞİT, G., KARAHAN, AG, KILIÇ, B, (2007). Fermente et ürünlerinde fonksiyonel starter kültürler ve probiyotikler. Türk hijyen ve deneysel biyoloji dergisi, 64(2): 60-69.

BEK, Y., EFE, E., 1988. Araştırma ve Deneme Metodları-I. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Adana.

BOVER-CID, S., HUGAS, M., IZQUIERDO-PULIDO, M., and VIDAL-CAROU, M.C., 2000. Reduction of biogenic amine formation using a negative amino aciddecarboxylase starter culture for fermentation of Fuet sausages. Journal of Food Protection, 63, 237–243.

BOVER-CID, S., IZQUIERDO-PULIDO, M., and VIDAL-CAROU, M.C., 2000. Mixed starter cultures to control biogenic amine production in dry fermented sausages. Journal of Food Protection, 63, 1556– 1562.

BOVER-CID, S., IZQUIERDO-PULIDO, M., and VIDAL-CAROU, M.C., 2001. Effectiveness of a *Lactobacillus sakei* starter culture in the reduction of biogenic amine accumulation as a function of the raw material quality. Journal of Food Protection, 64, 367– 373.

BOZKURT, H. and ERKMEN, O., 2002. Effects of starter cultures and additives on the quality of Turkish style sausages (Sucuk). Meat Science, 61, 149-156.

BOZKURT, H. and ERKMEN, O., 2004. Effects of temperature, humidity and additives on the formation of biogenic amines in sucuk during ripening and storage periods. Food Science and Technology International, 10(1), 21-28.

BOZKURT, H., 2002. Effects of some storage conditions and additives on quality and stability of sucuk (Turkish dry fermented sausage). University of Gaziantep, Food Engineering Department, PhD Thesis, 252s.

BOZKURT, H., and ASLIM, B., 2004. İmmobilizasyonun probiyotik kültürlerde kullanımı. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi Yıl: 2004 Cilt: 02 Sayı: 07 Sayfa: 01-14

BOZKURT, H., and BAYRAM, M., 2006. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. Meat Science, 73, 344–350.

BOZKURT, H., and ERKMEN, O., 2007. Effects of some commercial additives on the quality of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). Food Chemistry, 101, 1465–1473.

BUJALANCE, C., JIMÉNEZ-VALERA, M., MORENO, E., RUIZ-BRAVO, A., 2006. A selective differential medium for *Lactobacillus plantarum*. Journal of Microbiological Methods 66 (2006) 572–575.

BURGAIN, J., GAIANI, C., LINDER, and M., SCHER, J., 2011. Encapsulation of probiotic living cells:Techniques and industrial applications in the food field. Journal of Food Engineering, 104 (2011) 467–483

ÇAKIR, İ., 2003. Lactobasillus ve Bifidobakterlerde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 84s.

ÇAKIR, M.A., 2010. Isıl işlem uygulamasının sucuğun uçucu bileşikleri ve diğer kalitatif özelliklerine etkisi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Ensititüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 54s.

CAPELA P, HAY T.K., and SHAH, N.P. 2007. Effect of homogenisation on bead size and survival of encapsulated probiotic bacteria. Food Res Int, 40, 1261–1269.

CAPELA P., HAY T.K., and SHAH N.P. 2006. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. Food Res Int, 39, 203–211.

CAPILLAS, C.R., COLMENERO, F.J., CARRASCOSA, A.V., and MUN˜OZ, R., 2007. Biogenic amine production in Spanish dry-cured ‘‘chorizo’’ sausage treated with high-pressure and kept in chilled storage. Meat Science, 77, 365–371.

CASQUETE, R., BENITO, M.J., MARTIN, A., RUIZ-MOYANO, S., CÓRDOBA, J.J., and CÓRDOBA, M.G., 2011. Role of an autochthonous starter culture and the protease EPg222 on the sensory and safety properties of a traditional Iberian dry-fermented sausage “salchichón”. Food Microbiology, 28, 1432-1440.

CHAMPAGNE, C., and FUSTIER, P., 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. Curr Opin Biotech, 18, 184–190.

CHANDRAMOULIA, V., KAILASAPATHYA, K., PEIRIS, P., and JONES, M., 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. J Microbiol Meth, 56, 27– 35.

CHAVARRI, M., MARANON, I., ARES, R., IBANEZ, F.C., MARZO, F., and VILLARAN, M.D.C., 2010. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. International Journal of Food Microbiology 142, 185-189.

CHEN, K.N., CHEN, M.J., and LIN, C.W., 2006. Optimal combination of the encapsulating materials for probiotic microcapsules and its experimental verification (R1). J Food Eng, 76, 313–320.

CHEN, M., CHEN, K., and KUO, Y., 2007. Optimal thermotolerance of *Bifidobacterium bifidum* in gellan–alginate microparticles, Biotechnology and Bioengineering, Vol. 98, No. 2.

ÇOKSEVER, E. 2009, Farklı oranlarda turunç albedosu ilavesinin sucuk kalitesi üzerine etkisi, Selçuk Üniv. Fen. Bil. Enst., Gıda Müh., Yük. Lis. Tezi.

ÇOLAK, H., 2000. Farklı muhafaza sıcaklığı ve süresinin fermente sucuklarda biyojen aminlerin oluşumu üzerine etkisi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora tezi, 69s.

ÇOLAK, H., ve UĞUR, M., 2002. Farklı muhafaza sıcaklığı ve süresinin fermente sucuklarda biyojen aminlerin oluşumu üzerine etkisi. Turk J Vet Anim Sci, 26, 779-784.

ÇON, A.H., and GÖKALP, H.Y., 2000. Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. Meat Science, 55, 89-96.

CRUZ, A.G., ANTUNES, A., SOUSA, A.L., FARIA, J., and SUSANA, S., 2009. Ice-cream as a probiotic food carrier. Food Res Int, Article in press.

DE VUYST, L., FALONY, G., LEROY, F., 2008. Probiotics in fermented sausages. Meat Sci, 80, 75–78.

DİNÇER, B., MUTLUER, B., EROL, İ., ÖZDEMİR, H., YAĞLI, Ö., AKGÜN, S., 1995. Türk fermente sucuğuna özgü starter kültür bakterilerinin izolasyon, identifikasyon ve üretimleri. Ankara Unv., Vet Fak Derg, 42: 285-293.

DING, W.K., and SHAH, N.P., 2008. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. International Food Research Journal 15 (2), 219–232.

DING, W.K., SHAH, N.P., 2009a. An improved method of microencapsulation of probiotic bacteria for their stability in acidic and bile conditions during storage. J Food Sci, 74(2).

DING, W.K., SHAH, N.P., 2009b. Effect of homogenization techniques on reducing the size of microcapsules and the survival of probiotic bacteria therein. J Food Sci, 74(6), 231-236.

DÖNDERİCİ, S.Z., 2005. *Penicillium* cinsine ait bazı küflerin türk tipi fermente sucuk üretiminde koruyucu kültür olarak kullanım olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi,112s.

DUBEY, R., SHAMI, T.C., BHASKER, and RAO, K.U., 2009. Microencapsulation technology and applications. Defence Sci J. 59(1), 82-95.

DWIVEDIA, A., NOMIKOUB, N., NIGAMA, P.S., and MCHALE, A.P., 2012. The effects of microencapsulated *Lactobacillus casei* on tumour cell growth: In vitro and in vivo studies. International Journal of Medical Microbiology, in press.

EEROLA, S., HINKKANEN, R., LINDFORS, E., HIRVI, T., 1993. Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. Journal of AOAC International. 76(3), 575-577.

EKİCİ, K., SEKEROĞLU, R., SANCAK, Y. C., and NOYAN, T., 2004. A note on histamine levels in Turkish style fermented sausages. Meat Science 68:123-125.

ERCOŞKUN H., and DEMIRCI ERCOŞKUN, T., 2009. walnut as fat replacer and functional component in sucuk. Journal of Food Quality, 33, 646-59.

ERCOŞKUN, H., 2006. Isıl işlem uygulanarak üretilen sucukların bazı kalite özelliklerine fermentasyon süresinin etkileri. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

ERCOŞKUN, H., and ÖZKAL, S.G., 2011. Kinetics of traditional Turkish sausage quality aspects during fermentation. Food Control 22, 165-172

EREN, L., 2009. Sodyum Aljinatla kapsüllenmiş bazı probiyotik bakterilerin stırred tip meyveli yoğurtlarda ve ın vıtro koşullarda canlı kalma sürelerinin araştırılması. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 77s.

ERGÖNÜL, B., 2009. Farklı probiyotik kültürler kullanılarak hindi sucuğu üretimi ve kalite üzerine etkileri. (Doktora Tezi), Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

ERGÖNÜL, B., and KUNDAKÇI, A., 2011. Microbiological attributes and biogenic amine content of probiotic Turkish fermented sausage J. Verbr. Lebensm. 6:49–56.

ERKKILA, S., PETAJA, E., EEROLA, S., LILLEBERG, L., and MATTILA-SANDHOLM, T., and SUIHKO, M.L., 2001a. Flavour profiles of dry sausages fermented by selected novel meat starter cultures. Meat Science, 58, 111-116.

ERKKILA, S., SUIHKO, M.L., EEROLA, S., PETAJA, E., and MATTILA-SANDHOLM, T., 2001b. Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. International Journal of Food Microbiology, 64, 205–210.

ERKMEN, O., and BOZKURT, H., 2004. Quality characteristics of retailed sucuk (Turkish Dry Fermented Sausage). Food Technology and Biotechnology, 42(1), 63-69.

ERTAŞ, A.H., ve 2006. Isıl işlem uygulanarak üretilen sucukların bazı kalite özelliklerine üretim koşullarının etkisi. Ankara Üniversitesi, BAP Kesin Raporu, 39s.

ERTAŞ, Y., ve DOĞRUER, Y., 2010. Besinlerde tekstür. Erciyes Üniv., Vet Fak, Derg, 7(1) 35-42.

ESPINOZA, Y.R., and NAVARRO, Y.G., Non-dairy probiotic products. Food Microbiology, 27, 1–11, (2010).

ESSID, I., and HASSOUNA, M., 2013. Effect of inoculation of selected *Staphylococcus xylosus* and *Lactobacillus plantarum* strains on biochemical, microbiological and textural characteristics of a Tunisian dry fermented sausage. Food Control, 32, 707-714.

FAVARO-TRINDADE, C.S., and GROSSO, C.R.F., 2002. Microencapsulation of *L. acidophilus* (La-05) and *B. Lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile. Journal of Microencapsulation 19 (4), 485–494.

FONTAN, M.C.G. LORENZO, J.M., PARADA, A., FRANCO, I., and CARBALLO, J., 2007. Microbiological characteristics of ‘‘androlla’’, a Spanish traditional pork sausage. Food Microbiology, 24, 52–58.

GBASSI, G.K., VANDAMME, T., ENNAHAR, S., and MARCHIONI, E., 2009. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp in an alginate matrix coated with whey proteins. Int J Food Microbiol, 129, 103–105.

GENÇCELEP, H., 2006. Sucuk üretiminde değişik starter kültürler ve farklı nitrit seviyelerinin biyojen amin oluşumu üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 131s.

GENÇCELEP, H., KABAN, G., AKSU, M.İ., ÖZ, F., and KAYA, M., 2008. Determination of biogenic amines in sucuk. Food Control 19, 868–872.

GENÇCELEP, H., KABAN, G., and KAYA, M., 2007. Effects of starter cultures and nitrite levels on formation of biogenic amines in sucuk. Meat Science, 77(3), 424-430

GHARSALLAOUI, A., ROUDAUT, G., CHAMBIN,O., VOILLEY, A., RE´MI SAUREL, R., 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. Food Research International, 40,1107–1121.

GIMENO, O., ASTIASARA´ N, I., and BELLO, J., 2001. Calcium ascorbate as a potential partial substitute for NaCl in dry fermented sausages: effect on colour, texture and hygienic quality at different concentrations. Meat Science, 57, 23–29.

GIOVANNA E.F., and DELLAGLIO, F., 2005. Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria. Curr. Issues Intestinal Microbiol. 8: 44–61.

GÖKALP, H.Y., 1982. Starter kültür kullanılarak türk tipi sucuk imalinde metod geliştirilmesi. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Grubu, Proje No:VHAG-523, Erzurum.

GÖKALP, H.Y., ERCOŞKUN, H., ve ÇON, A.H., 1998. Fermente et ürünlerinde bazı biyokimyasal reaksiyonlar ve aroma üzerine etkileri. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi, 4(3):805-811.

GÖKALP, H.Y., KAYA, M. ve ZORBA, Ö., 2004. Et ürünleri işleme mühendisligi. Atatürk Üniversitesi Yayın No: 786. Ziraat Fakültesi Yayın No: 320. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset tesisi, 562s, Erzurum.

GÖKALP, H.Y., KAYA, M.,TÜLEK, Y., ve ZORBA, Ö., 2001. Et ve ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuar uygulama kılavuzu. Atatürk Üniv. Yayın No:751, Ziraat Fak. Yayın No:318, Ders Kitapları Serisi, No: 69, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ C., SANTOS E.M., JAIME I., and ROVIRA, J., 2003. Influence of starter cultures and sugar concentrations on biogenic amine contents in chorizo dry sausage. Food Microbiology, 20: 275-284.

GOUBET, I. , DAHOUT, C., SE´MON, E., GUICHARD, E., LE QUE´RE´, J.L., AND VOİLLEY, A., 2001. Competitive binding of aroma compounds by *â*-Cyclodextrin. J. Agric. Food Chem., 49, 5916-5922

GOUIN S., 2004. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. Trends Food Sci Tech, 15, 330–347.

GROBOILLOT, A.F., CHAMPAGNE, C.P., DARLING, G.F., and PONCELET, D., 1993. Membrane formation by interfacial cross-linking of chitosan for microencapsulation of *Lactococcus lactis*. Biotechnology and bioengineering, 42 (10), 1157–1163.

GÜCÜKOĞLU, A., KÜPÜLÜ, Ö., 2010. The effect of different starter cultures and ripening temperatures on formation of biogenic amine in Turkish fermented sausages. Eur Food Res Technol, 230:875–884.

HARRIGAN, W.F., 1998. Laboratory methods in food microbiology (3.Edition), Academic Press Ltd., USA.

HEIDEBACH T, FÖRST P, and KULOZIK U. 2009a. Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells. Int Dairy J, 19, 77–84.

HEIDEBACH T, FÖRST P, and KULOZIK U. 2009b. Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. Food Hydrocolloids, 23, 1670–1677.

HERRERO, A.M., ORDO´N˜EZ, J.A., AVILA, R., HERRANZ, B., and HOZ, L., and CAMBERO, M.I., 2007. Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) and physico-chemical characteristics. Meat Science, 77, 331–338.

HOMAYOUNI, A., AZIZI, A., EHSANI M.R., YARMAND M.S., and RAZAVI, S.H., 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. Food Chem, 111, 50–55.

HSIEH, C.W., LU W.C., HSIEH, W.C., HUANG, Y.P., LAI, C.H., and KO, W.C., 2009. Improvement of the stability of nattokinase using g-polyglutamic acid as a coating material for microencapsulation. LWT-Food Sci Technol, 42, 144–149.

HSIEH, Y.P., and OFORI, J.A., 2007. Innovations in food technology for health. Asia Pac J Clin Nutr, 16 (1), 65-73.

HUGHES, M.C., KERRY, J.P., ARENDT, E.K., KENNEALLY, P.M., MCSWEENEY, P.L.H. and O' NEİLL, E.E., 2002. Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. Meat Science, 62, 205-216.

ILIKKAN, H., ERCOŞKUN, H., VURAL, H., and ŞAHİN, E., 2009. The effect of addition of hazelnut oıl on some quality characteristics of turkish fermented sausage (sucuk). Journal of Muscle Foods, 20, 117–127.

JAHREIS, G., VOGELSANG, H., KIESSLING, G., SCHUBERT, R., BUNTE, C., and HAMMES, W.P., 2002. Influence of probiotic sausage (*Lactobacillus paracasei*) on blood lipids and immunological parameters of healthy volunteers. Food Research International 35, 133– 138.

JANSSENS, M., MYTER, N., DE VUYST, L., and LEROY, F., 2012. Species diversity and metabolic impact of the microbiota are low in spontaneously acidified Belgian sausages with an added starter culture of *Staphylococcus carnosus*. Food Microbiology, 29, 167-177.

KABAHARNUP, Y., 2004. İmmobilize *Saccharomyces cerevisiae* mayasıyla şarap üretimi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, Türkiye, 47s.

KABAN, G. KAYA, M., 2010. Farklı proses şartlarında olgunlaştırılan sucukların uçucu bileşikleri ve diğer kalitatif özellikleri. Tübitak Tovag 107 O 769 no'lu Proje Sonuç Raporu.

KABAN, G., 2004, Sucuk üretiminde starter kültür kullanımının *staphylococcus aureus*'un geliğimi üzerine etkisi, Yük. Lis. Tezi, *Atatürk Üniv. Fen Bil. Enst.*, Erzurum.

KABAN, G., 2007. Geleneksel olarak üretilen sucuklardan laktik asit bakterileri ile katalaz pozitif kokların izolasyonu-identifikasyonu, üretimde kullanılabilme imkanları ve uçucu bileşikler üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 101s.

KABAN, G., KAYA, M., 2009a. Effects of *Staphylococcus carnosus* on quality characteristics of sucuk (turkish dry-fermented sausage) during ripening. Food Science and Biotechnology, 18(1), 150-156**.**

KABAN, G., KAYA, M., 2009b. Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* on the quality characteristics of dry fermented sausage "sucuk". Journal of Food Scıence, 74(1), S58-S63.

KAILASAPATHY, K., 2002. Microencapsulation of probiotic bacteria: Technology and potential applications. Curr Iss Intest Microbiol, 3, 39-48.

KAILASAPATHY, K., 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT-Food Sci Technol, 39, 1221–1227.

KARA, R., 2007. Doğal koşullarda ve ısıl işlem uygulanarak üretilen türk sucuklarında *Salmonella Typhimurium'*un gelişimi. Afyon Kocatepe Ünv, Saglık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 53s.

KARAHAN, A.G., 2003. Gıdalarda biyojen aminler. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, Cilt: 01, Sayı: 05, Sayfa: 21-32.

KAYA, M., and AKSU, M.I., 2005. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics of sliced 'sucuk' produced using probiotics culture. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85 (13): 2281-22.

KAYA, M., and KABAN, G., 2010. Fermente et ürünleri. Gıda Biyoteknolojisi, Ed. NeclaAran (2010)., Nobel Yayın Evi.

KAYAARDI, S. ve GÖK, V. (1999). Et teknolojisi laboratuvar uygulama Kılavuzu. Celalbayar Üniversitesi, Manisa.

KAYNAKCI, E., ve KILIÇ, B., 2009. Et ürünlerinde yeni eğilimler: Daha Sağlıklı Ürün Gelistirme Çalısmaları. Akademik Gıda, 7(6), 52-59.

KEERSMAECKER, S.C.J., VERHOEVEN, T.L.A., DESAİR, J., MARCHAL, K., VANDERLEYDEN, J., and NAGY, I., 2006. Strong antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG against *Salmonella typhimurium* is due to accumulation of lactic acid. FEMS Microbiol Lett, 259, 89–96.

KHAN, M.I., ARSHAD, M.S., ANJUM, F.M., SAMEEN, A., REHMAN, A., and GILL, W.T., 2011. Meat as a functional food with special reference to probiotic sausages. Food Research International, 44(10), 3125-3133.

KIM, S., CHO, S.Y., KIM, S.H., SONG, O., SHIN, S., CHA, D.S., and PARK, H.J., 2008. Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC-43121. LWT-Food Sci Technol, 41, 493–500.

KLINGBERG, T.D., AXELSSON, L., NATERSTAD, K., ELSSER, D., and BUDDE, B.B., 2005. Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages. International Journal of Food Microbiology, 105, 419– 431.

KNORR D. 1998. Technology aspects related to microorganisms in functional foods. Trends Food Sci Tech, 9, 295-306.

KOŁOZYN-KRAJEWSKAA, D., and DOLATOWSKI, Z.J., 2012. Probiotic meat products and human nutrition. Process Biochemistry, in press.

KOLSARICI, N., 2005. Hindi sucuğu üretiminde starter kültür ve isıl işlem uygulamasının ürün kalitesine etkisi. Ankara Üniversitesi, BAP Kesin Raporu, Ankara, 63s.

KOMPRDA, T., SME˘LA´, D., PECHOVA´, P., KALHOTKA, L., S ˇ TENCL, J., and KLEJDUS, B., 2004. Effect of starter culture, spice mix and storage time and temperature on biogenic amine content of dry fermented sausages. Meat Science, 67, 607– 616.

KOTIKALAPUDI, B.L., 2009. Characterization and encapsulation of probiotic bacteria using a pea-protein alginate matrix. Master thesis, the Department of Food and Bioproduct Sciences University of Saskatchewan Saskatoon, Saskatchewan, Canada,123s.

KRASAEKOOPT W, BHANDARI B, DEETH H. 2006. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. LWT-Food Sci Technol, 39, 177–183.

KRASAEKOOPT, W., BHANDARI, B., and DEETH, H., 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. Int Dairy J, 13, 3–13.

KRASAEKOOPT, W., BHANDARI, B., DEETH, H., 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. Int Dairy J, 14, 737–743.

KURT, A., 2012. Fermente sucuk üretiminde kuru incir ve taze siyah incir kullanımı. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği, Yüksek lisans tezi, 57s.

KURT, Ş., 2006. Sucuğun bazı özellikleri ve biyojen amin oluşumu üzerinde fermentasyon süresi, nitrit seviyesi ve ısıl işlem sıcaklığı etkisi. Yüzüncüyıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 99s.

KURT, S., and ZORBA, Ö., 2009. The effects of ripening period, nitrite level and heat treatment on biogenic amine formation of ‘‘sucuk” – A Turkish dry fermented sausage. Meat Science 82: 179-184.

LACROIX, C., YILDIRIM, S., 2007. Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality. Curr Opin Biotech, 18, 176–183.

LAMMERS, M., DIETZE, K., and TERNES, W., 2011. Headspace volatiles of dry-cured ham: a comparison of different manufacturing styles by spme and Gc/Ms Analysis. Journal of Food Processing and Preservation 35, 850–860.

LEROY, F., and DE VUYST, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food industry. Trends in Food Science & Technology 15, 67–78.

LEROY, F., VERLUYTEN, J., and DE VUYST, L., 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation, International Journal of Food Microbiology, 106, 270 – 285.

LI, X.Y., CHEN, X.G., Cha, D.S., PARK, H.J., AND LIU, C.S., 2009. Microencapsulation of a probiotic bacteria with alginate–gelatin and its properties. Journal of Microencapsulation, 26(4): 315–324.

LI, X.Y., CHEN, X.G., LIU, C., LIU, C., XUE, Y., 2008. Preparation of alginate-gelatin capsules and its properties. Front. Mater. Sci. China, 2(3): 253–260.

LIN, K.W., and CHAO, J.Y., 2001. Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan’s molecular weight. Meat Science, 59, 343–351.

LU, S., XU, X., ZHOU, G., ZHU, Z., MENG, Y., and SUN, Y., 2010. Effect of starter cultures on microbial ecosystem and biogenic amines in fermented sausage. Food Control 21, 444–449.

MADUREIRA, A.R., AMORIM, M., GOMES, A.M., PINTADO, M.E., and MALCATA, F.X., 2011. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. Food Research International 44, 465-470.

MAHONEY, M., and HENRIKSSON, A., 2003. The effect of processed meat and meat starter cultures on gastrointestinal colonization and virulence of Listeria monocytogenes in mice. International Journal of Food Microbiology, 84, 255–261.

MAKINEN, K., BERGER, B., BEL-RHLID, R., and ANANTA, E., 2012. Science and technology for the mastership of probiotic applications in food products. Journal of Biotechnology, in press.

MANDAL, S., PUNIYA, A.K., and SINGH, K., 2006. Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* NCDC-298. Int Dairy J, 16, 1190–1195.

MARCO, A., NAVARRO, J.L., and FLORES, M., 2004. Volatile compounds of dry-fermented sausages as affected by solid-phase microextraction (SPME). Food Chemistry, 84, 633-641.

MATTILA-SANDHOLM, T., ARINENA, P.M., CRITTENDEN, R., MOGENSEN, A.G., FOND, R., and SAARELA, M., 2002. Technological challenges for future probiotic foods. Int Dairy J, 12, 173–182.

MAURIELLO, G., CASABURI, A., BLAIOTTA, G., and VILLANI, F., 2004. Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy, Meat Science, 67, 149–158

MENEGAS, L.Z., PIMENTEL, T.C., GARCIA, S., and PRUDENCIO, S.H., 2013. Dry-fermented chicken sausage produced with inulin and corn oil: Physicochemical, microbiological, and textural characteristics and acceptability during storage. Meat Science, 93, 501–506.

MOKARRAM RR, MORTAZAVI SA, NAJAFI MBH, and SHAHIDI F. 2009. The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. Food Res Int, 42, 1040–1045.

MONGENOT, N., CHARRIER, S., AND CHALIER, P., 2000. Effect of Ultrasoundemulsification on Cheese Aroma Encapsulation by Carbohydrates. J. Agric. Food Chem., 48, 861-867.

MORATALLA, M.L., BOVER-CID, S., TALON, R., GARRIGA, M., ZANARDI, E., LANIERI, A.., FRAQUEZA, M.J., ELIAS, M., DROSINOS, E.H., VIDAL-CAROU, M.C., 2010. Strategies to reduce biogenic amine accumulation in traditional sausage manufacturing LWT - Food Science and Technology 43, 20–25.

MOSILHEY, S.H., 2003. Influence of different capsule materials on the physiological properties of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus.* Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät, Institut für lebensmitteltechnologie, Doctor-Ingenieur, El-Beheira, Agypten, 154p.

MOYANO, S.R, MARTÍN, A., BENITO, M.J., ARANDA, E., CASQUETE, R., and CÓRDOBA, M.G., 2011a. Implantation ability of the potential probiotic strain, *Lactobacillus reuteri* PL519, in “Salchichón", a traditional Iberian dry fermented sausage. Journal of Food Science,76(5), 268-275.

MOYANO, S.R., MARTIN, A., BENITO, M.J., CASQUETE, R., MANUEL JOAQUIN, M., SERRADILLA, M.G.C., 2009. Safety and functional aspects of pre-selected lactobacilli for probiotic use in Iberian dry-fermented sausages. Meat Science, 83, 460–467.

MOYANO, S.R., MARTIN, A., BENITO, M. J., HERNÁNDEZ, A., CASQUETE, R., and CÓRDOBA, M.G., 2011b. Application of *Lactobacillus fermentum* HL57 and *Pediococcus acidilactici* SP979 as potential probiotics in the manufacture of traditional Iberian dry-fermented sausages. Food Microbiology, 28(5), 839-847.

MUGUERZA, E., FISTA, G., ANSORENA, D., ASTIASARÁN, I., and BLOUKAS, J. G., 2002. Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. Meat Science, 61, 397–404.

MUTHUKUMARASAMY, P., and HOLLEY, R.A., 2006. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. Int J Food Microbiol, 111, 164–169.

MUTHUKUMARASAMY, P., and HOLLEY, R.A., 2007. Survival of Escherichia coli O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria. Food Microbiology, 24, 82-88.

MYERS, R.H., and MONTGOMERY, D.C., 2002. Response Surface Methodology. Wiley, New York.

NAG, A., HAN, K.S., and SINGH, H., 2011. Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum. International Dairy Journal, 21, 247-253.

NASSU, R. T., GONÇALVES, L. A. G., SILVA, M. A. A. P. and BESERRA, F. J. 2003, Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant, *Meat Sci.*, 63, 43-49.

NAZZARO, F., FRATIANNI, F., COPPOLA, R., SADA, A., and ORLANDO, P., 2009. Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 1, 319–323.

NIEDZIELIN, K., KORDECKI, H., and BIRKENFELD, B., 2001. A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299v in patients with irritable bowel syndrome. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 13, 1143-1147.

NIVOLIEZA, A., CAMARES, O., PAQUET-GACHINAT, M., BORNES, S., FORESTIER, C., and VEISSEIRE, P., 2012. Influence of manufacturing processes on in vitro properties of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35. Journal of Biotechnology, 160, 236– 241.

OHASHI, Y., UMESAKI, Y., and USHIDA, K., 2004. Transition of the probiotic bacteria, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract of a pig. International Journal of Food Microbiology 96, 61– 66.

OLESEN, P.T., and STAHNKE, L.H., 2004. The influence of environmental parameters on the catabolism of branched-chain amino acids by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus*. Food Microbiology, 21(1), 43-50.

OLIVARES, A., NAVARRO, J.L., and FLORES, M., 2009. Establishment of the contribution of volatile compounds to the aroma of fermented sausages at different stages of processing and storage. Food Chemistry, 115, 1464–1472.

ORDÓÑEZ, J.A., HİERRO, E.M., BRUNA, J.M., and HOZ, L., 1999. Changes in the Components of Dry-Fermented Sausages during Ripening. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 39(4):329–367.

OUWEHAND,A.C., and ISOLAURI S.S.E., 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. A Van Leeuw J Microb, 82, 279–289.

ÖZDEMİR, H., 1999. Türk fermente sucuğunun florasındaki dominant laktobasil türlerinin sucuğun organoleptik nitelikleri ile ilişkisi. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi, 46(2-3):189-198.

ÖZDESTAN, Ö., ve ÜREN, A., 2006. Biyojen amin analiz yöntemleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu, 325-328.

ÖZDESTAN, Ö., ve ÜREN, A., 2012. Gıdalarda biyojen aminlerle ilgili yasal düzenlemeler. Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi / Journal of Food and Feed Science – Technology, 12:27-40.

ÖZER, B., KIRMACI, H.A., ŞENEL, E,, ATAMER, M., ve HAYALOĞLU, A., 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. Int Dairy J, 19, 22–29.

ÖZTAN, A., 2008. Et bilimi ve teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitaplar Serisi, Yayın No:1, Filiz Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, Pp: 526.

ÖZTÜRK, N., 2006. Hidrofobik nanoyapılarda *Candida rugosa* lipaz immobilizasyonu. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü Yüksek Lisans Tezi, Aydın, Türkiye, 116s.

PAPAGIANNI, M., and ANASTASIADOU, S., 2009. Encapsulation of *Pediococcus acidilactici* cells in corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides and stabilized with xanthan in oil-in-water emulsions: studies on cell viability under gastro-intestinal simulating conditions. Enzyme Microb Tech, 45, 514–522.

PAPAMANOLI, E., TZANETAKIS, N., LITOPOULOU-TZANETAKI, E., and KOTZEKIDOU, P., 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. Meat Science, 65, 859–867.

PARENTE, E., GRIECO, S., and CRUDELE, M.A., 2001. Phenotypic diversity of lactic acid bacteria isolated from fermented sausages produced in Basilicata (Southern Italy). Journal of Applied Bacteriology, 90, 943–952.

PARK, J.K., and CHANG, H.N., 2000. Microencapsulation of microbial cells. Biotechnol Adv, 18, 303–319.

PARVEZ, S., K.A. MALIK , S., AH KANG and H.Y. KIM , 2006 . Probiotics and their fermented food products are beneficial for health . Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-5072 .

PELTO, L., ISOLAURI, E., LILIUS, E.M., NUUTILA J, and SALMINEN S. Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. Clin Exp Allergy 1998;28:1474–1479.

PIANOA MD, MORELLIC L, STROZZIB GP, ALLESINAB S, BARBAB M, DEIDDAB F, LORENZINIB P, BALLAR´EA M, MONTINOA F, ORSELLOA M, SARTORIA M, GARELLOA E, CARMAGNOLAA S, PAGLIARULOA M, and CAPURSO L. 2006. Probiotics: from Research to Consumer. Digest Liver Dis, 38 (2): 248–255.

PIDCOCK, K., HEARD, G. M., and HENRIKSSON, A., 2002. Application of nontraditional meat starter cultures in production of Hungarian salami. International Journal of Food Microbiology, 76, 75–81.

PIMENTEL-GONZÁLEZ, D.J., CAMPOS-MONTIEL, R.G., LOBATO-CALLEROS, C., PEDROZA-ISLAS, R., and VERNON-CARTER, E.J., 2009. Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. Food Res Int, 42, 292–297.

PRANTEDA, M.L.J., PONCELET, D., NÁDER-MACÍAS, M.E., ARCOS, A., AGUILERA, M., MONTEOLIVA-SÁNCHEZ, M. and RAMOS-CORMENZANA, A., 2012. Stability of lactobacilli encapsulated in various microbial polymers. Journal of Bioscience and Bioengineering VOL. 113 No. 2, 179–184.

QI, W.T., MAJ YU, W.T., XIE, Y.B., WANG, W., and MA, X., 2006. Behavior of microbial growth and metabolism in alginate–chitosan–alginate (ACA) microcapsules. Enzyme Microb Tech, 38, 697–704.

RADULOVIĆ, Z., ŽIVKOVIĆ, D., MIRKOVIĆ, N., PETRUŠIĆ, M., STAJIĆ, S., PERUNOVIĆ, M., and PAUNOVIĆ, D., 2011. Effect of probiotic bacteria on chemical composition and sensory quality of fermented sausages. 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11), procedia food science,1516-1522.

RANADHEERA, R.D.C.S., BAINES, S.K., and ADAMS, M.C., 2009. Importance of food in probiotic efficacy. Food Res Int, Article in press.

REBUCCI, R., SANGALLI, L., FAVA, M., BERSANI, C., and CANTONI, C. and BALDI, A., 2007. Evaluatıon of Functional Aspects In *Lactobacillus* Strains Isolated From Dry Fermented Sausages. Journal of Food Quality, 30, 187–201.

ROSEIRO, L.C., SANTOS, C., SOL, M., SILVA, L., and FERNANDES, I., 2006. Prevalence of biogenic amines during ripening of a traditional dry fermented pork sausage and its relation to the amount of sodium chloride added. Meat Sci. 74, 557-563.

RUBIO, B., MARTÍNEZ, B., SÁNCHEZ, M.J., GARCÍA-CACHÁN, M.D., ROVIRA, J., and JAIME, I., 2007. Study of the shelf life of a dry fermented sausage “salchichon” made from raw material enriched in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids and stored under modified atmospheres. Meat Science, 76, 128–137.

RUBIO, R., JOFRÉ, A., AYMERICH, T., GUÀRDIA, M.D., and GARRIGA, M., 2013. Nutritionally enhanced fermented sausages as a vehicle for potential probiotic lactobacilli delivery. Meat Science, in press.

SAAD, N., DELATTRE, C., URDACI, M., SCHMITTER, J.M., and BRESSOLLIER, P., 2012. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. LWT - Food Science and Technology, 1-16.

SADULLAHOĞLU, H., 2010. Öğütülmüş çeşitli bitki tohumlarinin sucuğun bazı kalite özelliklerine etkisi. Yüksek lisans tezi, Selçuk Ünv., Fen bilimleri ens., Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 109s.

SAJILATA, M.G., SINGHAL, R.S., and KULKAMI, P.R., 2006. Resistant starch – a review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 5 (1), 1–17.

SAMESHIMA, T., MAGOME, C., TAKESHITA, K., ARIHARA, K., ITOH, M., and KONDO, Y., 1998. Effect of intestinal Lactobacillus starter cultures on the behaviour of Staphylococcus aureus in fermented sausage. International Journal of Food Microbiology 41, 1– 7.

SANCHEZ, B., RUIZ, L., GUEIMONDE, M., RUAS-MADIEDO, P., and MARGOLLES, A., 2012. Toward improving technological and functional properties of probiotics in foods. Trends in Food Science & Technology 26, 56-63.

SANTO, A.P.D.E., PEREGO, P. , CONVERTI, A., and OLIVEIRA, MARICE, N., 2011. Influence of food matrices on probiotic viability - A review focusing on the fruity bases. Trends in Food Science & Technology 22, 377-385

ŞENÖZ, B., IŞIKLI, N., ÇOKSÖYLER, N., 2000. Biogenic amines in Turkish sausages (sucuks). Journal of Food Science, 65(5):764-767.

SERTESER, A., ve GÖK, V., 2006. Antioksidan kullanımının fermente sucuklarda bazı kalite özellikleri üzerine etkileri. Tübitak hızlı destek projesi, proje no: 104O230,121s.

SHAH, N.P., 2007. Functional cultures and health benefits. Int Dairy J, 17, 1262–1277.

SULTANA, K., GODWARD, G., REYNOLDS, N., ARUMUGASWAMY, R., PEIRIS, P., KAILASAPATHYA, K., 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. Int J Food Microbiol, 62, 47–55.

SUN, W., ZHAO, Q, ZHAO, H., ZHAO, M., YANG, B., 2010. Volatile compounds of Cantonese sausage released at different stages of processing and storage. Food Chemistry, 121, 319–325.

SUZZI, G., and GARDINI, F., 2003. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. International Journal of Food Microbiology, 88, 41-54.

THANTSHA MS, CLOETE TE, MOOLMAN FS, LABUSCHAGNE PW. 2009. Supercritical carbon dioxide interpolymer complexes improve survival of ***B. longum*** BB-46 in simulated gastrointestinal fluids. Int J Food Microbiol, 129, 88–92.

THARMARAJ, N., and SHAH, N.P., 2003. Selective Enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus*, Bifidobacteria, *Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus*, and *Propionibacteria*, J. Dairy Sci. 86:2288–2296.

TIMMERMAN, H.M., KONING, C. J.M., MULDER, L., ROMBOUTS, F.M., and BEYNEN, A.C., 2004. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics e a comparison of functionality and efficacy. International Journal of Food Microbiology, 96, 219-233.

TOPTANCI, İ., 2007. Sucuğun renk ve tekstürüne farklı ısıl işlem sıcaklıklarının etkisi. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

TOSUKHOWONG, A., VISESSANGUAN, W., PUMPUANG, L., TEPKASIKUL, P., PANYA, A., VALYASEVI, R., 2011. Biogenic amine formation in Nham, a Thai fermented sausage, and the reduction by commercial starter culture, *Lactobacillus plantarum* BCC 9546. Food Chemistry 129, 846–853.

TRIKI, M., HERRERO, A.M., RODRÍGUEZ-SALAS, L., JİMÉNEZ-COLMENERO, F., RUİZ-CAPİLLAS, C., 2013. Chilled storage characteristics of low-fat, n-3 PUFA-enriched dry fermented sausage reformulated with a healthy oil combination stabilized in a konjac matrix. Food Control, 31,158-165

TRZASKOWSKA, M., KOLOZYN-KRAJEWSKA, D., WÓJCIAK, K., and DOLATOWSKI, Z., 2014. Microbiological quality of raw-fermented sausages with *Lactobacillus casei* LOCK 0900 probiotic strain. Food Control, 35, 184-191

TSEN, J.H., LIN, Y.P., and KING, E., 2004. Fermentation of banana media by using k-carrageenan immobilized *Lactobacillus acidophilus*. International Journal of Food Microbiology, 91, 215-220.

ULUSOY, B.H., 2007. Kefir kültürü ile fermente sucuk üretimi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 95s.

ÜNLÜSAYIN, M., VE ERDİLAL, R., 2008. Taze su ürünleri için tekstür profil analizi. Natural and Applied Sciences, 3, (3), 424-435.

UYAN ERSUS, S., 2004. Kara havuç antsiyanin ekstraktının püskürtmeli kurutucu kullanılarak mikroenkapsülasyonu, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye, 167s.

VASILJEVIC, T., and SHAH, N.P., 2008. Probiotics—from metchnikoff to bioactives. Int Dairy J, 18, 714–728.

VOS, P., FAAS, M.M., SPASOJEVIC, M., and SIKKEMA, J., 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. International Dairy Journal, 20, 292–302.

WATTS, B.M., YLIMAKI, G.L., JEFFERY, L.E., and ELIAS, L.G., 1989. Basic sensory methods for food evaluation. Int. Development Research Centre, Canada, pp:154.

WULT, M., HAGSLATT, M. L., and ODENHOLT, I., 2003. *Lactobacillus plantarum* 299v for the treatment of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a doubleblind, placebo-controlled trial. Scandinavian Journal of Infection Disease, 35, 365-367.

ZHANG W., XIAO S., SAMARAWEERA H., LEE E.J., and AHN D.U., 2010. Improving functional value of meat products. Meat Science, 86, 15–31.

ZHANG, Y., and ZHANG, H., 2013. The Effect of probiotics on lipid metabolism. INTECH, Lipid metabolism, Chapter 17, 443-460.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Adana'da doğdu. İlk ve ortaöğrenimini Adana'da tamamladı. 1999 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazanarak lisans eğitimine başladı ve 2003 yılında mezun oldu. 2004 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimime başlayıp, 2007 yılında mezun oldu. Mastır öğrenimi sırasında, Devlet okulları, Üniversite Yurtları ve Bazı Devlet Hastanelerine yemek tedarik eden bir yemek fabrikasında sorumlu yönetici olarak çalıştı. 2008 yılında doktora öğrenimime başladı ve aynı yıl araştırma görevlisi olarak atandı.