

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Emine AKSAN

**ÇEŞİTLİ MAYALARDAN KAROTENOİDLERİN ELDE EDİLMESİ VE
SUCUKTA RENKLENDİRİCİ OLARAK KULLANIM OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2005

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ MAYALARDAN KAROTENOİDLERİN ELDE EDİLMESİ VE
SUCUKTA RENKLENDİRİCİ OLARAK KULLANIM OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI

Emine AKSAN

DOKTORA TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 23/06/2005 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği İle Kabul Edilmiştir.

İmza..... İmza..... İmza.....

Doç.Dr.Zerrin ERGİNKAYA Doç.Dr.Aydın ÖZTAN Yrd.Doç.Dr.İşıl VAR

DANIŞMAN ÜYE ÜYE

İmza..... İmza.....

Prof.Dr.Hasan FENERCİOĞLU Prof.Dr.Fatih KÖKSAL

ÜYE ÜYE

Bu tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No :

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FBE2002D119

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

ÖZ

DOKTORA TEZİ

ÇEŞİTLİ MAYALARDAN KAROTENOİDLERİN ELDE EDİLMESİ VE SUCUKTA RENKLENDİRİCİ OLARAK KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Emine AKSAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Doç.Dr.Zerrin ERGİNKAYA

Yıl:2005 Sayfa: 160

Jüri :Doç.Dr.Zerrin ERGİNKAYA
Doç.Dr.Aydın ÖZTAN

Yrd.Doç.Dr.Işıl VAR

Prof.Dr.Hasan FENERCİOĞLU

Prof.Dr.Fatih KÖKSAL

Bu çalışmada, karotenoid üreten maya türleri ve bu maya türlerinin karotenoid miktarları araştırılarak, karotenoidlerin Türk sucuğunda renk maddesi olarak kullanılabilirliği incelenmiştir.

Araştırmada, farklı ortamlardan izole edilen ve pigment üreten 100 farklı maya suşu, *Rhodotorula* sp. olarak tanımlanmış ve bu suşların ürettikleri toplam karotenoid miktarları ise 0,89-3,63 mg/L arasında bulunmuştur. Toplam karotenoid miktarı yüksek olan *Rhodotorula glutinis* (15,14, 19, 26, 27, 28), *Rhodotorula mucilaginosa* (16, 25), *Rhodotorula minuta* (23, 31)'nin karotenoid üretimlerini artırmak amacı ile yapılan MNNG ve UV mutasyon uygulamalarında en yüksek toplam karotenoid miktarı, *Rhodotorula mucilaginosa* 16 mutant suşunda 3,94 mg/l olarak belirlenmiştir. Karotenoid üretimi ile ilgili yapılan optimizasyon çalışmalarında ise, *Rhodotorula mucilaginosa* 16 mutant suşunun, %2 inokülasyon oranında, pH=5,5-6,0'da ve karbon kaynağı olarak glikoz kullanımında en yüksek miktarda karotenoid üretimi gerçekleştirdiği belirlenmiştir.

Rhodotorula mucilaginosa 16 mutant suşu, Türk sucuğu üretiminde renk maddesi olarak kullanmak amacı ile, 10 litrelik fermentörde geliştirilmiştir. Gelişen kültürden karotenoid ekstrakte edilerek zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutma işlemi uygulanmıştır.

Sucuk örneklerinde yapılan 30. gün renk analiz sonuçlarına göre, kullanılan karotenoid miktarının artması ve nitrit miktarının azalmasıyla sucuk renginin açıklık/koyuluk değeri azalmış, yüksek miktarda nitrit ve yüksek miktarda karotenoid kullanımında ise kırmızılık değerinin yükseldiği belirlenmiştir. Sucuklarda sarılık değerinin de karotenoid miktarının artması ve nitrit miktarının azalması ile yükseldiği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler:Maya, Karotenoid, Sucuk, Renk

ABSTRACT

PhD THESIS

A RESEARCH ON THE CAROTENOIDS EXTRACTED FROM VARIOUS YEAST AND THE USABILITY AS FOOD COLOURING IN SAUSAGE

Emine AKSAN

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNİVERSITY OF CUKUROVA

Supervisor : Doç.Dr.Zerrin ERGİNKAYA

Year: 2005 Pages: 160

Jury : Assos.Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA
Assos.Prof.Dr.Aydın ÖZTAN
Assist.Prof.Dr.İşıl VAR
Prof.Dr.Hasan FENERCİOĞLU
Prof.Dr.Fatih KÖKSAL

This research was undertaken to investigate which yeast produce carotenoids, carotenoid production by these yeast and use of carotenoids as food colouring in sausage.

In this research, different hundred yeast cultures isolated from various materials were identified as different species of *Rhodotorula* sp. The amount of total carotenoid produced by *Rhodotorula* sp. was in the range of 0,89-3,63mg/L. In order to improve total carotenoid production of *Rhodotorula glutinis* (15,14, 19, 26, 27, 28), *Rhodotorula mucilaginosa* (16, 25), *Rhodotorula minuta* (23, 31) MNNG and UV mutation methods were applied. It was found that the mutant obtained from *Rhodotorula mucilaginosa* 16 produced a higher amount of total carotenoid (3,94mg/L). Optimization of carotenoid production by a mutant of *Rhodotorula mucilaginosa* 16 resulted in a medium containing glucose, pH of 5,5-6,0 and inoculation rate of %2.

Rhodotorula mucilaginosa 16 was cultered in a fermenter whose volume was 10L. Carotenoids was then extracted from the culture and dissolved in oil and freeze dried.

According to 30th day analysis, as the amount of carotenoid increased and the amount of nitrite reduced, the L value of sausage colour (lightness/darkness) decreased. A higher use of nitrite and carotenoid resulted in an increase in a* value (redness). When the amount of carotenoid increased and nitrite reduced, b value (yellowness) increased.

KeyWords : Yeast, Carotenoid, Sausage, Colour,

TEŞEKKÜR

Doktora tezinde katkılarından dolayı danışman hocam Doç.Dr.Zerrin ERGİNKAYA' ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, çalışmaya katkılarından dolayı tez izleme komitesi üyeleri, Doç.Dr.Aydın ÖZTAN ve Yrd.Doç.Dr.Işıl VAR'a

Sucuk üretimi ve katkı maddelerinin temini konusunda destek olan Pınar Et Entergre Tesisi AR-GE bölüm şefi Tayfun KIRMIZIBAYRAK'a

Maya üretiminde yardımcı olan Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm öğretim üyesi Prof.Dr.Haluk HAMAMCI'ya

Karotenoidlerin dondurarak kurutulmasında yardımcı olan, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm öğretim üyesi Prof.Dr.Faruk BOZOĞLU'na

Araştırmanın çeşitli aşmalarında katkılarını gördüğüm Ç.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fatih KÖKSAL'a, Ç.Ü. Biyoloji Bölümü öğretim üyeleri Doç.Dr.Sadık DİNÇ'e ve Doç.Dr.Hatice KORKMAZ GÜVENMEZ'e

Çalışmanın gerçekleşmesinde maddi desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimine,

Ayrıca, her türlü yardımlarını gördüğüm Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü elemanlarına ve diğer tüm arkadaşlarıma,

Her zaman maddi ve manevi desteklerini gördüğüm aileme içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER.....SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
RESİMLER DİZİNİ.....	X
EK ÇİZELGE LİSTESİ.....	XIII
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
2.1.Renk Maddeleri ve Gıdalarda Kullanımı	6
2.2.Gıdalarda Renk Maddeleri Kullanımında Yasal Düzenlemeler.....	9
2.3.Gıdalarda Renk Maddesi Olarak Karotenoidlerin Kullanımı	13
2.3.1.Karotenoidlerle İlgili Genel Bilgiler	13
2.3.2. Karotenoidlerin Gıdalarda Renk Maddesi Olarak Kullanımı	17
2.3.3. Karotenoidlerin Toksikolojik Değerlendirilmesi	19
2.4.Karotenoidlerin Elde Edildiği Kaynaklar.....	20
2.4.1. Bitkisel ve Hayvansal Kaynaklı Karotenoidler ve Yapılan Bazı.....	
Çalışmalar	20
2.4.2. Mikrobiyel Kaynaklı Karotenoidler.....	21
2.5. Mayalardan Karotenoid Üretimi ve Yapılan Bazı Çalışmalar	24
2.5.1. Mayalarda Karotenoid Miktarının Belirlenmesi	27
2.5.2. Mayalarda Karotenoid Üretimini Artırmaya Yönelik Yapılan Bazı.....	
Çalışmalar	28
2.5.2.1. Gelişim Koşullarının Mayaların Karotenoid Üretimleri Üzerine.....	
Etkisi İle İlgili Yapılan Çalışmalar	29
2.5.2.2. Mayaların Karotenoid Üretimi Üzerine Mutasyonun Etkisi İle İlgili. 34	
Yapılan Çalışmalar.....	34
2.5.2.3. Mikroorganizmalardan Karotenoid Üretimi İle İlgili Yapılan Bazı ... 36	

Genetik Çalışmalar.....	36
2.6.Karotenoidlerin Renk Maddesi Olarak Gıdalarda Kullanımı İle İlgili	
Yapılan Bazı Çalışmalar	37
2.7. Sucuk Üretimi İle İlgili Genel Bilgiler.....	38
2.7.1.Fermente Sucuklarda Mikroorganizmaların Rolü ve Yapılan Bazı.....	
Araştırmalar.....	39
2.7.2.Fermente Sucuklarda Renk Oluşumu	41
2.7.3. Sucukta Nitrat/Nitrit Kullanımının Sağlık Üzerinde Etkileri ve Konu ile.....	
İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar.....	43
2.7.4. Sucuk Yapımında Kullanılan Nitrit Miktarını Azaltmaya Yönelik ve Nitrit	
Yerine Kullanılabilecek Maddeler ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar	47
3. MATERYAL VE METOT	50
3.1.Materyal	50
3.1.1.Karotenoid Üretiminde Kullanılan Mayalar	50
3.1.2.Besiyerleri	53
3.1.3.Kimyasal Maddeler	54
3.1.4.Alet ve Ekipmanlar	54
3.1.5.Sucuk Üretiminde Kullanılan Hammaddeler	55
3.2.Metot	55
3.2.1.Maya Suşlarının İzolasyonu ve Saflaştırılması	56
3.2.2.Maya Suşlarının Stok Kültürlerinin Hazırlanması.....	57
3.2.3.Maya Suşlarının Tanımlanması.....	57
3.2.3.1. Maya Suşlarının Farklı Karbon Kaynağında Gelişimlerinin	
Belirlenmesi	58
3.2.3.2. Maya Suşlarının Farklı Azot Kaynağında Gelişimlerinin.....	
Belirlenmesi	58
3.2.3.3.Maya Suşlarının Farklı Sıcaklıklarda Gelişimlerinin Belirlenmesi	59
3.2.3.4.Maya Suşlarının Tiamin ve PABA'sız Ortamda Gelişimlerinin.....	
Belirlenmesi	59
3.2.3.5.Maya Suşlarının Sikloheksimide Gelişimlerinin Belirlenmesi.....	59
3.2.3.6.Maya Suşlarının Nişasta Kullanım Özelliklerinin Belirlenmesi.....	59

3.2.3.7. Maya Suşlarının Diazonium Blue B Reaksiyonlarının Belirlenmesi..	59
3.2.4. Maya Suşlarının Toplam Karotenoid Miktarlarının Belirlenmesi	60
3.2.5. Mutant Maya Suşlarının Elde Edilmesi	61
3.2.5.1. 1-Methyl-3-Nitro-Nitrosoguanidin (MNNG) Mutasyonu	61
3.2.5.1. Ultraviyole (UV) Mutasyonu	62
3.2.6. Mutant Mayaların Toplam Karotenoid Miktarlarının Belirlenmesi	62
3.2.7. Farklı Gelişme Koşullarının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi.....	62
Üzerine Etkisinin Belirlenmesi	62
3.2.7.1. Farklı İnokülasyon Oranlarının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi	62
Üzerine Etkisinin Belirlenmesi	62
3.2.7.2. pH'nın Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisinin	63
Belirlenmesi	63
3.2.7.3. Karbon Kaynağının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine ...	63
Etkisinin Belirlenmesi	63
3.2.8. Sucuk Üretiminde Kullanılan Karotenoidlerin Elde Edilmesi.....	63
3.2.8.1. Fermentörde Mayanın Geliştirilmesi	63
3.2.8.2. Mayadan Karotenoid Ekstraksiyonu.....	66
3.2.8.3. Karotenoidin Türk Sucuğunda Renk Maddesi Olarak Kullanımı İçin	
Yapılan İşlemler	66
3.2.9. Türk Sucuğu Üretimi.....	67
3.2.9.1. Türk Sucuğunda Yapılan Analizler.....	71
3.2.9.1.(1). pH Değerinin Belirlenmesi.....	71
3.2.8.2.(2). Nem Oranı	71
3.2.8.2.(3). Renk Analizi	72
3.2.8.2.(4). Duyusal Analiz	72
3.2.8.2.(5). Mikrobiyolojik Analizler.....	73
3.2.9.1.(5).(a) Toplam Aerob Mezofilik Bakteri Sayımı.....	73
3.2.9.1.(5).(b) <i>Enterobacteriaceae</i> Sayımı.....	73
3.2.9. İstatistiksel Değerlendirme	73
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	74
4.1. Maya Suşlarının Tanımlanması	74

4.2. Maya Suşlarının Toplam Karotenoid Oranlarının Belirlenmesi	89
4.3. Mutant Maya Suşlarının Elde Edilmesi	92
4.4. Mutant Maya Suşlarının Toplam Karotenoid Miktarlarının Saptanması.....	95
4.4.1. Farklı Gelişme Koşullarının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi.....	
Üzerine Etkisi.....	96
4.4.1.1. Farklı İnokülasyon Oranlarının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi...	
Üzerine Etkisi.....	96
4.4.1.2. pH'nın Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisi	97
4.4.1.3. Farklı Karbon Kaynağının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi	
Üzerine Etkisi.....	98
4.6. Türk Sucuğu Üretimi	99
4.6.1. Sucuk Örneklerinin pH Değerleri	100
4.6.2. Sucuk Örneklerinin Nem Oranı	102
4.6.3. Renk Analiz Sonuçları	103
4.6.3.1. Sucuk Örneklerinde L (Açıklık/Koyuluk) Değeri Sonuçları	103
4.6.3.2. Sucuk Örneklerinde a* (Kırmızılık) Değeri Sonuçları	105
4.6.3.3. Sucuk Örneklerinde b* (Sarılık) Değeri	108
4.6.4. Duyusal Analiz.....	110
4.6.5. Sucuk Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	113
4.6.5.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayım Sonuçları	113
4.6.5.2. <i>Enterobacteriaceae</i> Sayım Sonuçları	114
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	117
KAYNAKLAR	121
ÖZGEÇMİŞ	144
EK ÇİZELGE LİSTESİ	145

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 2.1. Kullanımı Yasaklanan Yapay Renk Maddeleri	9
Çizelge 2.2. Türk Gıda Kodeksinde Gıdalarda Kullanımına İzin Verilen Doğal	
Renk maddeleri	12
Çizelge 2.3. Türk Gıda Kodeksinde Gıdalarda Kullanımına İzin Verilen Suda.....	
Çözünen Yapay Renk maddeleri.....	13
Çizelge 2.4. Karotenoidlerin Sınıflandırılması	14
Çizelge 2.5. Farklı Renkler İçin Önerilen Karotenoid Miktarları	16
Çizelge 2.6. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne Göre Karotenoidler ve Özellikleri	18
Çizelge 2.7. Gıda Maddelerinde Kullanılan Bazı Karotenoidler	19
Çizelge 2.8. Mikrobiyel Kaynaklı Ticari Olarak Üretilen Karotenoidler	23
Çizelge 2.9. <i>Rhodotorula</i> spp.'nin Biyokimyasal Özellikleri	24
Çizelge 2.10. <i>Rhodotorula</i> Türleri	25
Çizelge 2.11. <i>Phaffia rhodozyma</i> 'nın Biyokimyasal Özellikleri	25
Çizelge 2.12. Farklı Karotenoid Türlerinin Absorbans Değeri ve Spesifik	
Absorpsiyon Katsayısı	28
Çizelge 2.13. Nitrit Konsantrasyonu ve Nitrosamin Oluşumu	45
Çizelge 2.14. İngiltere'de Sucuklarda Kullanımına İzin Verilen Renk Maddeleri.....	48
Çizelge 3.1. İzole Edilen Mayaların Suş Numarası ve İzole Edildiği Kaynak	50
Çizelge 3.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri	53
Çizelge 3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	54
Çizelge 3.4. Araştırmada Kullanılan Alet ve Ekipmanlar	55
Çizelge 3.5. Maya Suşlarını Tanımlamada Kullanılan Karbon Kaynakları	57
Çizelge 3.6. Maya Suşlarını Tanımlamada Kullanılan Azot Kaynakları.....	58
Çizelge 3.7. Maya Suşlarını Tanımlamada Kullanılan Diğer Testler	58
Çizelge 3.8. Türk Sucuğu Yapımında Kullanılan Hammaddeler	67
Çizelge 3.9. Türk Sucuğu Yapımında Kullanılan Katkı Maddeleri.....	68
Çizelge 3.10. Türk Sucuğu Üretiminde Kullanılan Nitrit ve Karotenoid Miktarları	
(kg ürün için).....	68
Çizelge 3.11. Sucukların Olgunlaşma Süresince Uygulanan Sıcaklık, Nem, Hava ..	71

Akış Hızı ve Süre	71
Çizelge 4.1.Maya Suşlarının Morfolojik Özellikleri	75
Çizelge 4.2. Maya Suşlarının Assimilasyon ve Bazı Fizikokimyasal Test Sonuçları	80
Çizelge 4.3.Tanımlanan Maya Türü, Suş Numaraları ve İzole Edildiği Kaynaklar ..	85
Çizelge 4.4. Belirlenen Maya Türlerinin Ortalama Karotenoid Miktarı.....	90
Çizelge 4.5. Mutant Maya Suşlarının Toplam Karotenoid Miktarları.....	95
Çizelge 4.6. Farklı İnokülasyonlarda Mutant Mayanın Ürettiği Toplam Karotenoid.... Miktarları.....	96
Çizelge 4.7. Farklı pH Ortamlarında Mutant Mayanın Ürettiği Toplam Karotenoid Miktarları.....	97
Çizelge 4.8. Farklı Karbon Kaynağında Mutant Mayanın Toplam Karotenoid	99
Çizelge 4.9. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların ... pH Değeri	100
Çizelge 4.10. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucuklarda Belirlenen Nem Oranları (%).....	102
Çizelge 4.11. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucuklarda Belirlenen L Değeri.....	104
Çizelge 4.12.Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucuklarda.. Belirlenen a* Değeri	106
Çizelge 4.13. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucuklarda. Belirlenen b* Değeri	108
Çizelge 4.14. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların . Duyusal Renk Puanları.....	110
Çizelge 4.15. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı (log kob/g).....	113
Çizelge 4.16. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların . <i>Enterobacteriaceae</i> Sayımı (log kob/g).....	115

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. a) İzopren Ünitesi b) Karotenoid Yapısı	14
Şekil 2.2. Karotenoidlerin Özellikleri	16
Şekil 2.3. Karotenoid Biyosentez Yolu	22
Şekil 2.4. a) Kangal sucuk, b) Baton sucuk, c) Parmak sucuk	39
Şekil 2.5. Kütleme Maddeleri Kullanılan Et Ürünlerinde Renk Oluşumu	42
Şekil 2.6. Nitrat ve Nitritin Azot Monoksite İndirgenmesi	43
Şekil 3.1. Araştırmanın İşlem Akış Aşamaları	56
Şekil 3.2. Sucuk Üretim Aşamaları	69
Şekil 3.3. Duyusal Değerlendirme Formu	72

RESİMLER DİZİNİ

SAYFA

Resim 3.1.Mutant Mayanın Fermentörde Gelişimi.....	65
Resim 3.2. Fermentörde Geliştirilen Maya Kültüründen Karotenoid Extraksiyonu .	66
Resim3.3. Türk Sucuğunda Renk Maddesi Olarak Kullanılan Karotenoid Ekstraktı a)Zeytinyağında Çözündürülmüş b)Dondurarak Kurutulmuş	70
Resim 3.4.Sucuk Dolumunda Kullanılan Alet.....	70
Resim 3.5. Askılarda Hazırlanmış Sucuk Örnekleri	70
Resim 4.1. a)UV mutasyonu b)MNNG mutasyonu	94
Resim 4.2.Vakum Paketlenmiş Sucuk Örnekleri	112
Resim 4.3.Sucuk Örneklerinin Kesiti.....	112

EK ÇİZELGE LİSTESİ

SAYFA

Ek 1. Mayaları Tanımlamada Kullanılan Anahtar	145
Ek 2. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	153
0.Gün pH Değeri Varyans Analizi	153
Ek 3. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
30.Gün pH Değeri Varyans Analizi	153
Ek 4. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
0.Gün % Nem Varyans Analizi	154
Ek 5. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
30.Gün % Nem Varyans Analizi	154
Ek 6. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
0.Gün L Değeri Varyans Analizi	155
Ek 7. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
30.Gün L Değeri Varyans Analizi	155
Ek 8. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
0.Gün a* Değeri Varyans Analizi	156
Ek 9. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
30.Gün a* Değeri Varyans Analizi	156
Ek 10. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
0.Gün b* Değeri Varyans Analizi	157
Ek 11. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
30.Gün b* Değeri Varyans Analizi	157
Ek 12. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
30.Gün Duyusal Analiz Varyans Analizi	158
Ek 13. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
0.Gün Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı Varyans Analizi	159
Ek 14. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
30.Gün Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı Varyans Analizi	159
Ek 15. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
0.Gün <i>Enterobacteriaceae</i> sayım Varyans Analizi	160

Ek 16. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların	
30.Gün <i>Enterobacteriaceae</i> sayım Varyans Analizi	160

1.GİRİŞ

Gıda sanayinde ürünün renk kalitesini artırmak ya da dekoratif amaçlı olarak yapay ve doğal renk maddeleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapay renk maddelerinin daha dayanıklı bir yapıya sahip olduğu belirtilmesine karşın, astıma neden olabileceği, toksik ve alerjik etkileri görülebileceği bildirilmektedir (Karaali ve Özçelik, 1993; Yentür ve ark., 1998). Ayrıca, yapay renk maddelerinin kullanımındaki yasal kısıtlamalar ve tüketicinin tercihinin az olması gibi bazı dezavantajları da söz konusudur (Fabre ve ark., 1993; Prasad ve ark., 1993; Zhang ve ark., 2005). Örneğin tereyağ ve margarinlerde renk maddeleri olarak kullanılmış olan Ponso SX ABD'de 1976 yasaklanmış ve Ponso SX yerine doğal renk maddeleri olan β -karoten kullanılmaya başlanmıştır (Demirağ ve Uysal, 2001). Norveç'te 1978'de, İsviçre'de 1980'de her türlü sertifikalı (sentetik) boyaların gıda maddelerinde kullanımı tamamen yasaklanmıştır (Karaali ve Özçelik, 1993).

Doğal renk maddeleri, çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklarda yaygın olarak bulunmaktadır. Geçmişten günümüze kadar kullanılan doğal renk maddelerinden en çok bilinenleri; mürver ağacı çiçeğinden ve kırmızı lahanadan antosiyaninler, havuçdan karotenoidler, kırmızı pancardan betalainler, kadife çiçeğinden lutein, yabani bir bitki türünden kurkumin, kınkanatlılardan bir insektin türünden karmik asittir (Genç, 1999).

1900'lü yılların başından beri yürütülen çalışmalarda, mikroorganizmalar, renk maddesi üretimi açısından oldukça zengin bir kaynak olduğu belirtilmiştir (Acheampong ve Martin, 1995). Mikroorganizmaların ürettiği pigmentler; melanin, karotenoid, fotosentetik pigmentler, riboflavin, phenazine, naftokinon, monaskus pigmentleri ve diğer heterosiklik pigmentlerdir. Mikroorganizmalar, çok çeşitli pigment maddesi üretmesine karşın, bunlardan birkaçının endüstriyel boyutta kullanımları söz konusudur (Veiga-Crespo ve ark.,2005)

Monascus spp.'nin ürettiği sarı-kırmızı renkli pigmentler, Çin'de şarap, balık ve peynir (Lin ve Demain, 1991) ve Japonya ile Tayvan'da ise içecek ve bazı gıdalarda (Chen ve Johns, 1993) doğal renk maddeleri, *Ashbya gossypi* ve *Eremothecium ashbyii*'nin ürettiği riboflavin ise, birçok ülkelerde gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Vandamme, 1992). *Spirulina*'nın ürettiği ve mavi renk veren

fikobiliproteinler Japonya’da sakızlarda, dondurma şerbetlerinde, şekerlemelerde, az alkollü içeceklerde, süt ürünlerinde, *Streptomyces propurpuratus* ve *Bacillus* sp.’nin karışık kültürleri tarafından üretilen pembe-kırmızı pigment olan neopurpuratinin Çin’de az alkollü içeceklerin yanı sıra, jel ve turşularda potansiyel gıda renk maddesi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Vandamme, 1992).

Karotenoidler, gıdalarda renk maddesi olarak kullanımlarının yanı sıra A vitamini aktivitesine sahip olmaları, antioksidan aktivite göstererek kanser ve kalp hastalıkları riskini azaltıcı etkileri olması nedeniyle, doğal renk maddeleri arasında önemli bir yere sahiptir (Rock, 1997, Chaudhry, 2003). Günümüzde, renk maddesi olarak kullanılan karotenoidlerin en önemlileri, *Dunaliella salina*, *D. bardawil* (Vandamme, 1992) ve *Blakeslea trispora* (Gavrilov ve ark., 1996; Tereshina ve ark., 1996)’dan elde edilen β -karoten, *Phaffia rhodozyma*’dan elde edilen ksantofil (Malgalth, 1992, Vandamme, 1993), *Haematococcus* ve *Phaffia rhodozyma*’dan elde edilen astaksantindir.

Karotenoidler, birçok bakteri, küf, maya ve alg tarafından üretilmesine karşın, üretilmelerinin daha kolay ve daha düşük maliyette ve güvenilir bir gıda katkısı maddesi kaynağı olmasından dolayı en çok mayalardan özellikle de, *Rhodotorula* sp. ve *Phaffia rhodozyma*’dan üretilmektedir (Acheampong ve Martin, 1995).

Karotenoid üretimi, *Rhodotorula* sp.’de logaritmik fazda, *Phaffia rhodozyma*’da logaritmik fazın yanı sıra durgun fazda da devam etmektedir (Acheampong ve Martin, 1995). *Rhodotorula* sp.’nin ürettiği karotenoidlerin başında; α -karoten, β -karoten, torulene ve torularhodin gelmektedir (Krumphanzl ve ark. 1971; Stabnikova ve ark., 1975; Costa ve ark.,1987; Mahattanatavee ve Kulprecha,1991; Hari ve ark.,1992; Frengova ve ark.,1994; Ozawa ve Takahashi, 1994; Buzzini ve ark., 1995; Perrier ve ark.,1995; Shih ve Hang, 1996; Frengova ve ark.,1997; Sandhu ve Joshi, 1997; Sakaki ve ark., 2002; Tinoi ve ark., 2005). *Phaffia rhodozyma* ise, *Rhodotorula* sp.’den farklı olarak bir karotenoid türü olan astaxanthini yüksek oranda üretmektedir (Reed ve Nagodawithana, 1991; Malgalth, 1992; Acheampong ve Martin, 1995; Ahn, 1996; Wang ve ark., 2005).

Phaffia rhodozyma ve *Rhodotorula* sp.’nin ürettiği karotenoid miktarları, besiyeri bileşimi, ortamı sıcaklığı, pH ve oksijen düzeyi gibi koşullara bağlı olarak

değişmektedir (Lewis ve ark.,1990; Fang ve Cheng, 1993; Fontana ve ark.,1996a; Reynders ve ark.,1996; Fontana ve ark.,1997; Gu ve ark.,1997; Parajo ve ark.,1997; Vazquez ve ark.,1997; Yamane ve ark.,1997a; Parajo ve ark.,1998; Vazquez ve ark.,1998). Karotenoidlerin miktarını arttırmak amacıyla, birçok çalışmada optimizasyon çalışmalarının dışında çeşitli mutajen maddeler kullanılarak mutant kültürler elde edilmiştir (Girard ve ark., 1994; Bon ve ark., 1997).

Karotenoidler, yenilebilir yağlar, dondurma ve çeşitli içeceklerde renk maddesi olarak kullanılabilir (Haan ve ark., 1991; Vandamme, 1992; Vandamme, 1993). Ayrıca, karotenoidlerin yağda çözünbilme özelliğinden dolayı çeşitli et ürünlerinde de kullanılabilir (Bloukas ve ark., 1999).

Ülkemizde sucukta renk maddeleri kullanımına izin verilmemesine (Anon, 1991) rağmen, çeşitli ülkelerde Ponceau 4R (Ibanez ve ark., 1996; Gimeno ve ark., 2001), karmin kosinal (http://www.doremus.com.br/receita/ltoscana_in.asp), Crocerin Scarlet 7B (<http://www.fehd.gov.hk/safefood/report/lapmei/report.html#8>), betanin (Stümpel, 1996) sucukta renk maddeleri olarak kullanılmaktadır. Ancak bilindiği üzere sentetik renk maddelerinin sağlık üzerinde olumsuz etkileri bilinmektedir. Ponceau 4R'nin toksik etkileri nedeniyle bazı ülkelerde gıda renk maddesi olarak kullanımı yasaklanmıştır (Chena ve ark., 1998).

Uzakdoğu'da yüzyıllardır çeşitli gıdalarda doğal renk maddeleri olarak *Monascus* sp.'un ürettiği pigment maddeleri kullanılmaktadır. Son yıllarda ise bu pigmentin sucukta renk maddeleri olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır (Ryu ve ark., 1989; Fabre ve ark., 1993, Rasan ve Öztan, 2000).

Sucuğun, tüketici tarafından seçilmesi ve satın alınmasında ürün rengi önemli bir kriterdir. Sucuk renginin oluşmasında, etin rengini oluşturan myoglobin, küreleme maddesi olarak kullanılan nitrat-nitrit ve mikroflorada bulunan mikroorganizmalar önemli etkiye sahiptir (Üren ve Babayigit, 1996).

Nitrat-nitrit, mikroflorada bulunan indirgen mikroorganizmaların etkisiyle nitritoksiti, nitritoksit ise etin rengini veren myoglobin ile reaksiyona girerek nitrosomyoglobin oluşturmaktadır. Nitrosomyoglobin, dayanıklı bir yapıdadır ve sucuğun rengini oluşturmaktadır (Öztan ve Vural, 1991). Ette myoglobin oranının düşük olması ya da nitrit oranının yüksek olması nedenlerinden dolayı bazen

kullanılan nitrat-nitritin tamamı myoglobin ile reaksiyona girememektedir. Bunun sonucunda, sucukta kalıntı olarak serbest nitrat-nitrit bulunmaktadır. Ayrıca, sadece nitrit kullanılan üründe de, nitriti nitrata yükseltgeyen bakterilerin faaliyeti sonucu üründe kalıntı olarak serbest nitrata rastlanabilmektedir (Öztan, 2003).

Nitrat-nitrit, sucukta 80-200 ppm arasında kullanılması durumunda *Enterobacteriaceae*, *Clostridium* sp., *Staphylococcus aureus*'un gelişimini engelleyerek antimikrobiyel özellik göstermektedir (Alkın, 2003; Öztan, 2003).

Nitrat doğrudan insanlar için toksik bir bileşik değildir, ancak, bağırsaklarda ya da ağızda bulunan indirgen mikroflora tarafından toksik bir bileşik olan nitrite indirgenmektedir. Nitritin zararlı etkisi iki yönden oluşmaktadır. Nitrit, bir yandan kanda oksijenin taşınmasında rol alan hemoglobini methemoglobine dönüştürerek oksijenin taşınmasını engellemekte, ayrıca sistemik kan basıncını düşürmektedir. Ayrıca, nitrit aminlerle ve amidlerle reaksiyona girerek kanserojenik N-nitrozo bileşiklerinin oluşturmakta, bu bileşiklerde vücutta mutajenik ve teratojenik etki göstermektedir (Vural ve Öztan, 1991; Alkın, 2003). İran, İngiltere ve Hawai'de mide ve yemek borusu kanserine çok sık rastlanma nedeni olarak, yüksek oranda nitrit içeren gıda maddelerinin tüketimi gösterilmiştir (Alkın, 2003). Nitrat ve nitritin insan sağlığı üzerindeki bu olumsuz etkilerinden dolayı, sucukta nitrat-nitrit kullanımına alternatif madde ile ilgili olarak bazı araştırmalar yürütülmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda, nitrat-nitritin antimikrobiyel özelliği yerine, sorbik asit ya da tuzlarının kullanımında olumlu sonuçlar alınmış, ürünün renk özelliği açısından nitrat-nitrit gibi katkısı olmadığı için kullanılamamıştır. Bu nedenle de sucukta kullanılan nitrat-nitrit miktarının azaltılma olanakları yoluna gidilmiştir (Gökalp, 1985; Alkın, 2003).

Bu çalışmada, karotenoid üreten maya türleri araştırılmış ve mayaların ürettiği karotenoid miktarları incelenmiştir. Araştırmada belirlenen maya türünün ürettiği karotenoid miktarını artırmak amacıyla, çeşitli mutajenler (MNNG, UV) kullanılarak mutant kültürler elde edilmiş ve elde edilen mutant suşun gelişim koşullarına (inokülasyon oranı, pH, karbon kaynakları) yönelik optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Ayrıca, mutant mayadan suşundan elde edilen karotenoid, değişik miktarlarda nitrit ilavesi yapılan Türk sucuğu üretiminde farklı miktarlarda kullanılarak, nitritin sağlık üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak ve düşük nitrit kullanılması nedeniyle sucukta oluşabilecek renk problemlerini iyleştirmek amaçlanmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1.Renk Maddeleri ve Gıdalarda Kullanımı

Renk gıdanın çekiciliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Tüketicinin gıdanın kalitesi hakkındaki ilk izlenimi rengi ile ilgilidir (Saldamlı ve Uygun, 2004). Renk, gıdada olgunluğun, bozulmanın, kalitenin göstergesi olduğu için, tüketicinin gıdayı kabul ya da red etme kararını etkilemektedir. Gıdanın toplam kalitesini belirlemede uygulanan duyuşal değerdendirmede de, toplam kalite puanının önemli bir oranını renk oluşturmaktadır (Ural, 1983).

Uygulanan gıda işleme tekniklerine bağılı olarak ortaya çıkan renk bozukluklarını gidermek amacıyla bazı gıdalarda renk maddeleri kullanılmaktadır. Ayrıca, üründe homojen renk dağılımını, görünümü çekici hale getirmek ve yeni formülasyonlarda gıdaya renk kazandırmak amacıyla da renk maddeleri kullanılmaktadır (Saldamlı ve Uygun, 2004).

Çeşitli gıda maddelerinin renklendirilmesinde duyulan gereksinim, sosyal, coğrafik, etnik ve tarihsel gelişim faktörleri etkisinde oluşmuştur. Aslında antik çağlarda baharatlar ve meyveler gibi çeşitli maddeler şarap, ekmek gibi maddelerin renklendirilmesinde kullanılmıştır (Altuğ, 2001). On binlerce yıldır, kurkuma, kökboya, anatto, indigo ve çivitotu gibi bitki materyalleri gıdalarda renk maddesi olarak kullanılmaktadır (Henry, 1980). Gıdalarda kullanılan ilk ticari renk maddeler basit bitki ekstraktlarıdır. Kırmızıdan maviye kadar renk aralığı oluşturan antosiyaninler genel olarak üzümlerden, mürver ağacı çiçeğinden ve kırmızı lahanadan ekstrakte edilmiştir. Sarı, turuncu ve kırmızı renk aralığı oluşturan karotenoidler, havuç, kırmızı domates ve biber gibi çok çeşitli meyve ve sebzelerde bulunmuştur. Kadife çiçeğinden, sarı renkli lutein ve kırmızı pancardan da betalainler ekstrakte edilmiştir (Genç, 1999). Kurkumin, açık sarıdan koyu sarı renk aralığı oluşturan ve Asya ülkelerinde yaygın olarak yetiştirilen bir bitkinin toz haline getirilmesiyle elde edilmiştir. Ayrıca, yoğun pembe, kırmızı renk veren karmik asit, kınkanathılardan bir insektin kurutulmuş gövdesinden elde edilmiştir. Bu pigmentin elde edilmesi azteklerin tarihine kadar uzanmaktadır. Günümüzde de aynı kaynaklar halen renk maddesi ekstrakte edilmesinde kullanılmaktadır (Andres, 1987).

Çeşitli hayvan ve bitki materyalinden doğal renk maddelerinin elde edilmesine yönelik araştırmalar yapılmıştır. Volpe (1976), bir çeşit kızılçık türünden kırmızı renkli madde ekstrakte edilerek gıdalarda kullanımını araştırmıştır. Sheo (1981), *Gardenia fructus*'dan %99.89 saflıkta, 9.28 g/100g doğal renk maddesi olan crocin ekstrakte edildiğini belirtmiştir. Avila ve ark. (1983), farklı mikroorganizma kültürleri ile kırmızı pancarı (*Beta vulgaris* var. *Crosby's Egyptian*) fermente etmiş ve kırmızı renk maddesi betasiyanin ekstrakte edildiğini açıklamışlardır. Rodriguez-Saona ve ark. (1998), kırmızı patatesten antosiyanin ekstrakte edildiğini ve gıdalarda renk maddesi olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Mikroorganizmalarda da çok fazla çeşitlilikte pigment maddesi bulunduğu belirlenmiştir. Imada ve ark. (1983), *Streptomyces propurpuratus* ve *Bacillus* sp. No.751 kültürlerinin birlikte geliştirilmesi ile canlı eflatun renkli neopurpuratin ekstrakte ettiklerini açıklamışlardır. Kondo (1995), *Chromobacterium violaceum* ve *Janthinobacterium* sp. türlerinin sıvı besiyerinde gelişiminden sonra kültür ortamından ve hücrelerden violacein ekstrakte edildiğini belirtmişlerdir. Vanetti (1992), *Pachysolen tannophilus* NRRL Y-2460'den 10-75 g/L riboflavin ekstrakte edildiğini saptadıklarını bildirmiştir.

Ancak, çok çeşitli pigment maddeleri belirlenmesine rağmen, bu doğal renk maddelerinin miktar açısından yeterli olmaması, ışık, ısı ve oksijene karşı duyarlı olmaları nedenleriyle, sadece birkaçı gıda renk maddesi olarak ticari önem taşımaktadır (Altuğ, 2001).

18. yüzyılda başlayan sanayi devrimi ile birlikte hızla şehirleşme başlamış ve buna bağlı olarak hazır gıda tüketimi yaygınlaşmıştır. Hazır gıdaların yüksek miktarda üretilmesine rağmen, bu gıdalarda kullanılacak doğal renk maddelerinin üretim miktarı artan talebi karşılayamamıştır. Bu nedenle de bakır ve kurşun tuzları, bakır sülfat gibi çeşitli kimyasal maddeler renk maddesi olarak kullanılmıştır. Bu toksik maddelerle gıdaların renklendirilmesi sonucu İngiltere'de birçok ölüm vakası bildirilmiştir. Artan renk maddeleri talebini karşılaması için yapay renk maddeleri üzerinde çalışmalar yoğunlaştırılmıştır. Doğal renk maddelerine göre yapay renk maddelerinin renk verme gücü, renk aralıkları ve stabiliteleri daha yüksek ve ayrıca kullanımları daha uygundur. Bu nedenle de yapay renk maddeleri sanayide çok geniş

kullanım alanı bulmuştur. Yapay renk maddelerinin keşfedildiği ve üretildiği 19. yüzyılın ortalarından itibaren, bu boyalar geleneksel olarak kullanılan doğal renk maddelerinin yerini almış ve günümüze kadar pek çok yapay renk maddesi sentezlenmiştir (Henry, 1980). Bu nedenle de doğal renk maddelerinin ticari olarak yaygın kullanımı 19. yüzyılın ortalarına kadar devam etmiştir (Karaali ve Özçelik, 1993). Ancak sonraki yıllarda yapılan araştırmalarda çeşitli yapay renk maddelerinin kullanımında sınırlamalar yapılması ve tüketicinin yapay renk maddeleri kullanılan gıdalara şüpheli yaklaşımı nedenleriyle, üreticiler tekrardan doğal renk maddelerini kullanmaya yönelmişlerdir (Henry, 1980). Ayrıca teknolojik gelişmelerle birlikte, başlangıçta üretilen doğal renk maddelerinin mat ve zayıf stabilite özellikleri geliştirilmiş ve böylece üreticilerin doğal renk maddesi kullanım oranı artmıştır (Genç, 1999).

Günümüzde gıdalarda kullanılan renk maddelerinin elde ediliş şekillerine göre doğal ve yapay renk maddeleri olarak iki guruba ayrılmaktadır. Doğal renk maddeleri, mikrobiyel, bitkisel, hayvansal ve mineral kaynaklardan elde edilen pigment maddeleridir. Yapay renk maddeleri ise kimyasal yapıları nedeniyle doğada bulunmayan ancak kimyasal sentez yoluyla üretilen renk maddeleridir. Yapay renk maddelerinin çoğunluğunun sentezinde kömür katranı kullanılır. Yapay renk maddeleri çözünürlüklerine göre suda çözünen, yağda çözünen ve lake renk maddeler olarak üç grupta toplanmıştır. Yapay renk maddelerinin yapısında en az bir tuz formunun bulunması nedeniyle suda çözünebilmektedirler. Gıda maddelerinde kullanılan renk maddeleri sadece suda çözünme özelliği gösterenler arasından seçilmiştir. Yağda çözünen renk maddeleri yapılarında tuz formu bulunmadığı için suda çözünmezler. Bu renk maddeleri toksik özellikleri nedeniyle gıdalarda kullanımına izin verilmemektedir. Lake renk maddeleri ise suda çözünen yapay renk maddelerinin alüminyumoksit üzerine alüminyumklorür ilavesi ile alüminyum tuzu olarak çöktürülmeleri yoluyla elde edilen suda çözünmeyen pigmentlerdir (Altuğ, 2001).

2.2.Gıdalarda Renk Maddeleri Kullanımında Yasal Düzenlemeler

Yapılan çalışmalarda birçok yapay renk maddesinin toksik özellikleri belirlenmiştir. Toksik ve kanserojenik olarak değerlendirilen renk maddelerinin gıdalarda kullanımı yasaklanmıştır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Kullanımı Yasaklanan Yapay Renk Maddeleri
(<http://www.saglikvakfi.org.tr/>)

Yapay Renk Maddeleri	Yasaklandığı Yıl	Oluşturduğu Sağlık Problemi
Butter yellow	1919	Toksik, sonraları karaciğer kanserine yol açtığı bulundu
Green 1	1965	Karaciğer kanseri
Orange 1	1956	Organ hasarı
Orange 2	1960	Organ hasarı
Orange B	1978	Kanser
Red 1	1961	Karaciğer kanseri
Red 2	1976	Kanserojen
Red 4	1976	Yüksek düzeyleri köpeklerde adrenal korteks hasarına neden olmakta. 1965 yılından sonra sadece maraschino kirazlarında ve bazı haplarda kullanıldı. Halen haricen uygulanan ilaç ve kozmetikte kullanılmasına izin verilmektedir
Red 32	1956	İç organlarda hasarlar ve zayıf kanserojen, 1956 yılından beri Citrus Red 2 ismi ile sadece turuncu rengi vermek amacıyla kullanılmaya devam edilmektedir (2 ppm)
Sudan	1919	Toksik, daha sonra kanserojen olduğu bulundu
Violet 1	1973	Kanserojen (Yenilmek üzere kesilmiş sığır etleri üzerinde Tarım Bölümünün denetim mührü olarak kullanılırdı)
Yellow 1 ve 2	1959	Yüksek dozlarda barsak lezyonları
Yellow 3	1959	Yüksek dozlarda kalp hasarı
Yellow 4	1959	Yüksek dozlarda kalp hasarı

Bu nedenle de yapay renk maddelerinin sadece bir bölümünün gıdalarda kullanımına izin verilmiştir. Ancak toksik ve kanserojenik olmadığı belirlenip kullanımına izin verilen renk maddelerinin kullanımında da allerjik reaksiyonlar ve deri döküntüleri, astım ve hiperaktivite gibi sağlık sorunları oluşabilmektedir.

(Karaali ve Özçelik, 1993; Yentür ve ark., 1998). Gıdalarda renk maddelerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda, kullanımına izin verilen renk maddelerinin yüksek miktarda kullanıldığı ve ayrıca izin verilmeyen renk maddelerine de rastlanıldığı belirtilmiştir (Demirer, 1974; Yentür ve Karakaya, 1985; Topsoy ve ark., 1991; Kalyoncu ve Yurttagül, 1995). Çizelge 2.1.'de kullanımı yasaklanan yapay renk maddeleri verilmiştir.

Renk maddelerinin sağlık üzerindeki olumsuz etkileri ve uygun olmayan kullanım şekilleri gibi nedenlerle, kullanımında ulusal ve uluslar arası bazı yasal düzenlemeler yapılmıştır. 1938 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde Gıda, İlaç ve Kozmetik Yasası çıkartılarak renk maddeleri ile ilgili ilk yasal düzenleme yapılmıştır. Bu yasa ile renk maddeleri sertifikalı ve sertifikasız olarak iki ana gruba ayrılmıştır. Sertifikalı olanlar, gıdalarda kullanılan miktarı sınırlanan suda çözünen yapay organik ve lake renk maddelerini kapsamaktadır. Sertifikasız olanlar ise doğal renk maddeleridir. Ayrıca renk maddeleri, Gıda, İlaç ve Kozmetik Yasası'nda yaygın olarak bilinen isimleri yerine renk verme özellikleri ve numaraları ile adlandırılmıştır. Bunun yanı sıra, her renk maddesi için sertifikasyon işlemi zorunlu hale gelmiş ve Gıda, İlaç İdaresi (FDA)'nın yetkisi altına girmiştir. Daha sonraki yıllarda da düzenlemeler devam etmiştir (Altuğ, 2001). Gıdalarda kullanılması kabul edilen renk maddeleri uluslararası Numaralandırma Sistemine (INS) göre numaralandırılmıştır. Ayrıca FDA'da Gıda, İlaç ve Kozmetik yasasında izin verilen renk maddelerine FD&C numarası verilmiştir. Avrupa Topluluğu Konseyi tarafından da E kod numarası verilmiştir. Bu nedenle renk maddelerinin gıdalarda kullanımı için FD&C numarası ve E kod numarasına sahip olması gerekmektedir. 1994 yılında Avrupa Birliği, renk maddelerinin gıdalarda kullanım düzeyini belirleyen yasal düzenlemeyi yayınlamış ve 1995 yılında da renk maddelerinin saflık düzeyleri ile ilgili özellikleri bildirilmiştir (Altuğ, 2001).

Gıdalarda kullanımına izin verilen renk maddelerinin sayısı ve tipi ülkeden ülkeye farklılıklar göstermektedir. Örneğin, İskandinav ülkelerinin bazılarında, her türlü sertifikalı boyanın gıda maddelerinde kullanımı tamamen yasaklanmıştır. Avusturya'da 8'i sentetik olmak üzere 27 renk maddesinin kullanımına izin vermektedir. İsviçre'de doğal ve sentetik birkaç renk maddesinin (karotenoidler,

kantaksantin, riboflavin, antosiyaninler ve klorofiller, amarant, tartazin ve eritrosin) kullanımı yasal olarak kabul edilmiştir. ABD’de sertifikalı ve sertifikasız olarak guruplandığı renk maddelerinin dışındaki boyaların kullanımına izin vermemektedir (Karaali ve Özçelik, 1993).

Genel olarak günümüzde gıdalarda kullanılacak renk maddeleri, Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ve Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)’nun oluşturduğu Gıda Kodeks Komisyonu (CAC)’nın yayınlarında belirtilmektedir. Gıda Kodeks Komisyonu ise renk maddelerinin toksik özelliklerini incelemektedirler (Bağdatlıoğlu ve Demirbüker, 1999).

Ülkemizde ise, tüketici taleplerinin yanı sıra gelişen gıda sanayi ve uluslararası gıda ticaretine bağlı olarak 1983 yılında Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği oluşturulmuş, 1997 yılında yürürlüğe giren Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinin 7 no’lu eki renk maddeleri ile ilgili düzenlenmiştir. 2002 yılında ise Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda kullanılan Renk maddeleri Tebliğini yayınlamıştır. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre, renk maddeleri tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıdalarda ana bileşen olarak kullanılmayan, gıdaya renk artırıcı veya renk düzenleyici olarak katılan maddeler olarak tanımlanmaktadır (Anon, 2002a). Türk Gıda Kodeksi’ne göre gıda maddelerinde kullanımına izin verilen doğal renk maddeleri Çizelge 2.2’de yapay renk maddeleri Çizelge 2.3’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Türk Gıda Kodeksinde Gıdalarda Kullanımına İzin Verilen Doğal Renk maddeleri (Anon, 2002a)

Organik Doğal Renk maddeleri	İnorganik Doğal Renk maddeleri
Anatto, Biksin, Norbiksin (E 160b)	Alüminyum (E 173)
Antosiyaninler (E 163)	Altın (E 175)
Beta-apo-8'-karotenal (C 30) (E 160e)	Demir oksit ve hidroksitler (E 172)
Beta-apo-8'-karotenik asidin etil esteri(C 30)(E 160f)	Gümüş (E 174)
Bitkisel karbon (E 153)	Titanyum dioksit (E 171)
Kantaksantin(E 161g)	Kalsiyum karbonat (E 170)
Sade Karamel (1) (E 150a)	
Kostik sulfit karamel(E 150b)	
Amonyum karamel(E 150c)	
Amonyum sülfid karamel(E 150d)	
Karotenler(E160a)	
Karışım halindeki karotenler	
Beta-karoten	
Klorofiller ve Klorofilinler(E 140)	
(i) Klorofiller	
(ii) Klorofilinler	
(ii) Klorofilinler bakır kompleksleri	
Koşineal, Karminik asit, Karminler(E 120)	
Kurkumin(E100))	
Likopen(E 160d)	
Lutein(E 161b)	
Pancar kökü kırmızısı, Betanin(E 162)	
Paprika ekstraktı, Kapsantin, Kapsorubin(E 160c)	
Riboflavin, Riboflavin-5'-fosfat(E 101)	

Çizelge 2.3. Türk Gıda Kodeksinde Gıdalarda Kullanımına İzin Verilen Suda Çözünen Yapay Renk maddeleri (Anon, 2002a)

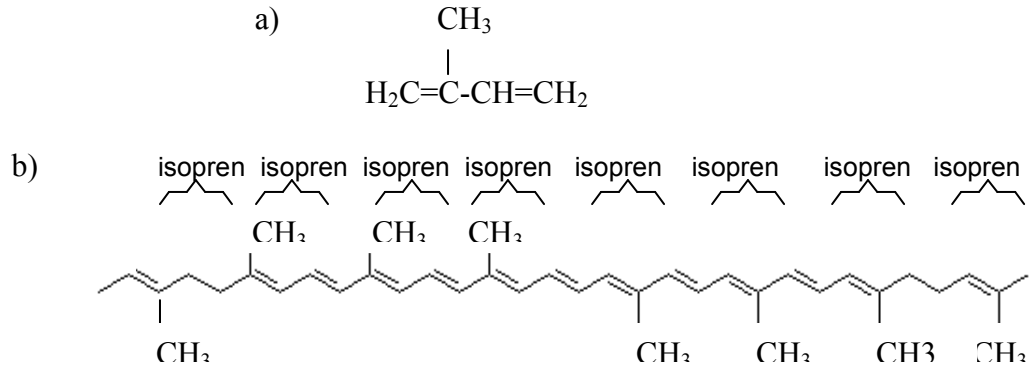
Suda Çözünen Yapay Renk maddeleri

Allura Red AC(E 129)
Amarant(E 123)
Azorubin, Karmosin(E 122)
Brilliant Black BN, Black PN(E 151)
Brilliant Blue FCF(E 133)
Brown FK(E 154)
Brown HT(E 155)
Eritrosin(E 127)
Green S(E 142)
Indigotin (Indigo Karmin(E 132)
Kinolin sarısı(E 104)
Litolrubin BK(E 180)
Patent Blue V(E 131)
Ponso(ponceau) 4R, Koşineal Red A(E 124)
Red 2G(E 128)
Sunset yellow FCF Orange yellow S(E 110)
Tartrazin(E 102)

2.3.Gıdalarda Renk Maddesi Olarak Karotenoidlerin Kullanımı

2.3.1.Karotenoidlerle İlgili Genel Bilgiler

Karotenoidlerin merkezi iskeleti 8 izoprenoid ünitesinin yan yana dizilmesiyle oluşmuştur (Şekil 2.1.). Genel formülü $C_{40}H_{56}$ 'dır (Bağdatlıoğlu ve Demirbüker, 1999; Denizci, 1990). Yapılarında çok sayıda çift bağ bulunmaktadır. Çift bağlar, cis ya da trans izomeri oluşturabilmelerine rağmen doğada genellikle trans izomeri formunda bulunmaktadır (Denizci, 1990).



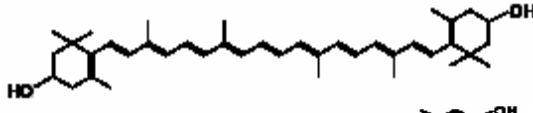
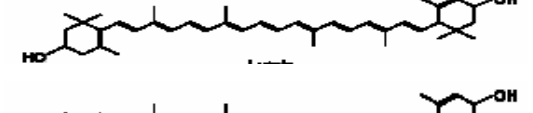
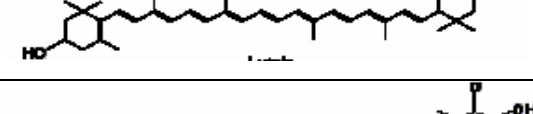
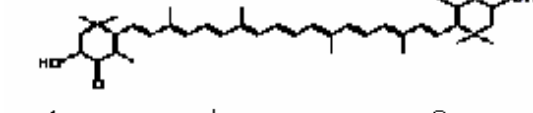
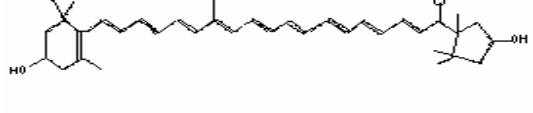
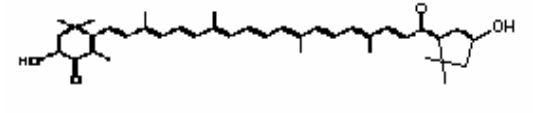
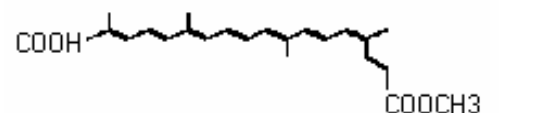
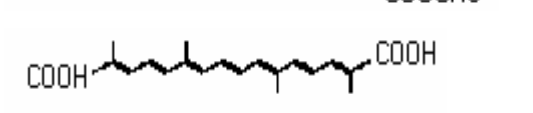
Şekil 2.1. a) İzopren Ünitesi b) Karotenoid Yapısı (Delgado-Vargas ve ark., 2000)

Günümüze kadar 600'den fazla karotenoid çeşidi belirlenmiştir (Astorg, 1997). Karotenoidler çeşitli özelliklerine göre farklı gruplar altında toplanmıştır. Ancak genel olarak, karotenler, ksantofiller, karotenoid ketonlar ve karotenoid asitler olarak dört ana grupta adlandırılmışlardır (Çizelge 2.4). Karotenler, yapılarında karbon bulunan karotenoidlerdir, oksijen bulunanlar ise ksantofiller olarak adlandırılır (Bağdatlıoğlu ve Demirbüker, 1999).

Çizelge 2.4. Karotenoidlerin Sınıflandırılması (Bağdatlıoğlu ve Demirbüker, 1999)

I. Karotenler		
(Hidrokarbon yapıları)	α -karoten	
	β -karoten	
	γ -karoten	
	δ -karoten	
	Lutein	
II. Ksantofiller		
(Karotenoid alkoller)	β -Kriptoksantin	
	α -Kriptoksantin	

Çizelge 2.4.'ün Devamı

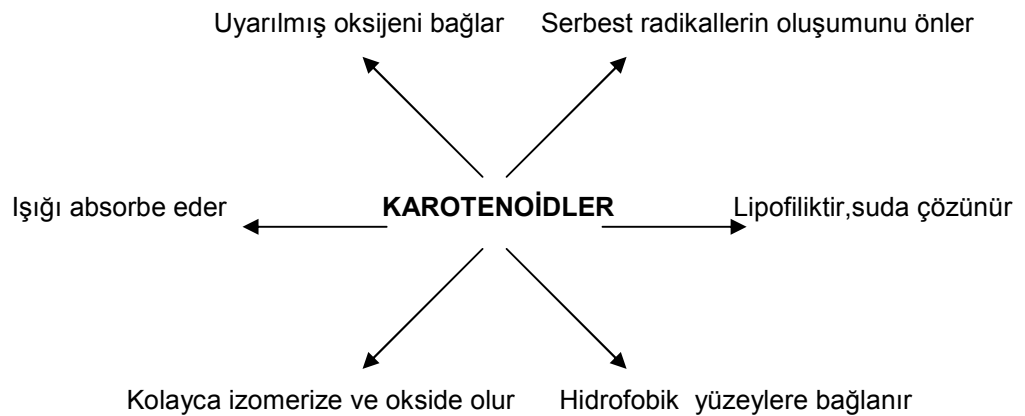
Lutein	
Flavoksantin	
Violaksantin	
III.Karotenoid Ketonlar	
Astaksantin	
Kapsantin	
Fukoksantin	
IV.Karotenoid Asitler	
Biksin	
Krosetin	

Karotenoidler, sarıdan kırmızıya kadar değişen renk aralığında bulunabilmektedir. Karotenoidlerin renk özellikleri yapılarındaki konjuge çift bağlardan kaynaklanmaktadır. Karotenoidlerde belirli bir renk oluşumu için en az yedi konjuge çift bağ içermelidir. Konjuge bağ sayısı arttıkça renk yoğunluğu da artmaktadır. Beş konjuge çift bağ içeren phytoene renksiz, onbir çift bağ içeren likopen ise kırmızı renklidir. Aynı sayıda çift bağ içeren karotenoidler, siklizasyon nedeniyle, farklı renk tonlarında bulunabilmektedir. Genel olarak karotenoidlerin renkleri, konsantrasyona ve molekülün yapısına bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca farklı karotenoidlerin karışım halinde kullanılmasıyla farklı renk tonları elde edilmektedir (Çizelge 2.5) (Astorg, 1997).

Çizelge 2.5. Farklı Renkler İçin Önerilen Karotenoid Miktarları (Astorg, 1997)

Renk	Kapsantin (mg/l)	Apokarotenal (mg/l)	β -karoten (mg/l)
Sarı	5,3	-	4,2
Turuncu	10,6	4,2	10,6
Turuncu-kırmızı	21,1	16,9	-
Çilek rengi	25,4	21,1	-
Ahududu rengi	31,7	25,4	-
Kiraz rengi	52,8	31,7	-

Tüm karotenoidler, hidrofobik moleküllerdir ve suda çözünmezler. Aseton, alkol, etileter, tetrahidrofuron, kloroform gibi yağ çözücülerinde çözünürler. Özellikle petrol eteri ve heksanda hızla çözünürler. Ksantofiller ise, metanol ve etanolde en iyi çözünürler. Bitkilerde ve hayvanlarda karotenoidler ya kristal ya da amorf katılar ya da yağ ortamında çözünmüş olarak, kolloidal olarak dağılmış ya da proteinler ile birlikte bulunmaktadır. Karotenoidlerin, proteinlerle birlikte bulunmasında pigment daha stabildir ve renk özellikleri değişir. Örneğin, karides, yengeç ve istakozda karotenoid-protein kompleksi olarak bulunan astaksantin mavi, yeşil ve pembe renklidir. Isıl işlem uygulaması ile proteinler denatüre olduğunda, astaksantin protein kompleksinden ayrılır ve kırmızı renk ortaya çıkar (Rodriguez-Amaya, 1997). Şekil 2.2.'de karotenoidlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir.



Şekil 2.2. Karotenoidlerin Özellikleri (Rodriguez-Amaya, 1997).

Karotenoidler pigment maddesi olarak bilinmesinin yanı sıra provitamin A aktivitesi de uzun zamandır bilinmektedir. Ayrıca, karotenoidlerin antioksidan

aktiviteleri nedeniyle DNA’da oluşan hasarları, yanlış bilgi aktarımını ve oluşabilecek hücre hasarını azaltmakta ve böylece vücudun bağışıklık sistemini güçlendirerek hastalık oluşum riskini azaltmaktadır (Rodriguez-Amaya, 1997).

Karotenoidler, oksijen, sıcaklık, ışık, pH, su aktivitesi ve sülfidlerin etkisiyle oksidatif olarak parçalanmaktadır. Oksijen, konjuşe çift bağların okside olmasına neden olarak çift bağ sayısını azaltmakta ve azalan çift bağ sayısı ile birlikte karotenoidlerin renk yoğunluğu da azalmaktadır. Işık, organizmada pigment oluşum metabolizmasını etkilemektedir, böylece ışığın etkisi ile birbirine dönüşümünü sağlayarak karotenoid konsantrasyonunu değiştirmekte ve ayrıca pigment parçalanmasını teşvik edici etki yaparak karotenoidlerin yapısını da bozmaktadır. Isıl işlem uygulamasında ise karotenoidlerde enzimatik olan ve enzimatik olmayan değişiklikler oluşmaktadır. Karotenoidler oksijensiz ortamlarda ısıl işlem uygulamalarına daha çok dayanıklıdır. Karotenoidlerin ayrıca farklı pH değerlerinde, farklı izomer yapı gösterdikleri belirlenmiştir. Yüksek pH değerinde poli-, cis-formlarında olan karotenoidlerin düşük pH değerinde cis- izomer formunda artış olduğu saptanmıştır. Ortamın nem oranı ise, karotenoidlerin stabilitesinin korunmasında etkili olmaktadır. Yüksek nem oranında (%10-14) karotenoid parçalanmasının yavaşladığı, düşük nem oranında (<%8) karotenoid parçalanmasının hızlandığı açıklanmıştır. Nemin, ortamdaki serbest radikallere doğrudan etki ederek karotenoidleri oksidasyondan koruduğu belirtilmektedir. Ortamda nem oranının artmasıyla, serbest radikal sayısını azalttığı ve böylece karotenoidlerin oksidasyonunun yavaşladığı açıklanmıştır. Kükürtdioksit ve sülfidler, karotenoidleri oksidasyona karşı koruyan en etkili inhibitörler oldukları belirtilmiştir. Gıdaların karotenoid oranının değişmeden depolanması için inert gaz altında ve ışık geçirgenliği az olan ambalajlarda muhazafa edilmesi gerektiği belirtilmiştir. (Bağdatlıoğlu ve Demirbüker, 1999).

2.3.2. Karotenoidlerin Gıdalarda Renk Maddesi Olarak Kullanımı

600’den fazla karotenoid çeşidi belirlenmesine rağmen sanayide üretilen ve gıdalarda renk maddesi olarak kullanılan karotenoidler birkaç türdür. Türk Gıda

Kodeksi Yönetmeliği'ne göre gıdalarda kullanılan karotenoidler ve özellikleri Çizelge 2.6.'da verilmiştir.

Çizelge 2.6.Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne Göre Karotenoidler ve Özellikleri (Anon, 2002b).

Karotenoid	Kaynağı	Karotenoid karışımı	Renk
Bitkisel Karotenler	Yenilebilir bitkiler, havuç, bitkisel yağ	β -karoten oranı %2, α , γ -karoten ve diğer pigmentler bulunabilir, ayrıca kaynaktan gelen yağ ve mumları içerebilir	Gıda Turuncusu 5
Deniz Yosunu Karotenleri	<i>Dunaliella salina</i> deniz yosunu	β -karoten oranı >%20 α -karoten karoten, lutein, zeaksantin ve β -kriptoksantin bulunabilir, ayrıca kaynaktan gelen yağ ve mumları içerebilir	Gıda Turuncusu 5
Beta Karoten	<i>Blakeslea trispora</i>	trans $\square$ -karoten oranı %96	Gıda Turuncusu 5
Annatto, Biksin, Norbiksin	Annatto ağacının (<i>Bixa orellana</i> L.) çekirdeklerinin dış kabuğu	Cis ve trans formunda biksin % 75 oranında	Doğal turuncu 4
Paprika Ekstraktı, Kapsantin, Kapsorubin	<i>Capsicum annum</i> L'nin meyvelerinden	Kapsantin ve kapsorubin % 30'dan fazla	Koyu kırmızı
Likopen	<i>Lycopersicon esculentum</i> , kırmızı domatesden	Likopen Ayrıca sıvı yağ, katı yağ, mumlar ve tatlandırıcılar içerebilir	Doğal sarı
Beta-Apo-8'-Karotenol	-	β -apo-8'-karotenol'in tüm trans izomerleri > % 96 oranında	Gıda turuncusu 6
Beta-Apo-8'-Karotenoik Asitin Etil Esteri	-	β -apo-8'-karotenoik asit etil ester'in tüm trans izomerler >% 96 oranında	Gıda turuncusu 7
Lutein	Yenilebilir meyve ve bitkiler, ot, yonca (alfalfa) ve <i>Tagetes erecta</i> 'nın doğal türlerinden	Lütein ve onun yağ asit esterlerinin büyük kısmını oluşturduğu karotenoidler içerir Karışık karotenoidler, ksantofiller, bitki materyallerinde doğal olarak oluşan katı yağları, sıvı yağları ve mumları içerebilir	-
Kantaksantin	-	Kantaksantin'in tüm trans izomerlerine >% 96 oranı	Gıda turuncusu 8

Ticari olarak kullanılan karotenoid çeşitlerinden β -karoten ve β -apo-8-karotenalin renk verme özelliğinin yanı sıra A vitamini aktiviteside bulunmaktadır. Gıda maddelerinde genel olarak kullanılan karotenoid çeşitleri Çizelge 2.7.'de verilmiştir.

Çizelge 2.7.Gıda Maddelerinde Kullanılan Bazı Karotenoidler (Anon, 2002b).

Gıda Maddeleri	Karotenoid
Süt Ürünleri	β -karoten
Et ve et ürünleri	%10 kapsantin
Domates ürünleri	%10 kapsantin
Dondurulmuş ve kurutulmuş yumurta ürünleri	β -karoten
İçecekler ve içkiler	β -karoten
Donmuş ürünler	β -karoten
Margarinler	β -karoten
Tereyağ	β -karoten
Peynir	Anotta
Patlamış mısır	β -karoten
İşlenmiş peynirler	β -karoten
Fırıncılık ürünleri	β -karoten, kapsantin

Genellikle, ticari olarak üretilen karotenoidler bitkisel yağ içinde çözünmüş sıvı süspansiyon formda, %25 hidrojenize bitkisel yağda yarı-katı formda, emülsiyon formda ve suda çözünebilen granül formda bulunmaktadır. Karotenoidlerin ticari olarak bulunan kristal formu oksijen ve ışığa karşı duyarlıdır, yağda çözünmüş formlar ise oksijen ve ışığa karşı daha dayanıklıdır (Demirağ ve Uysal, 2001).

2.3.3. Karotenoidlerin Toksikolojik Değerlendirilmesi

Karotenoidler, Gıda Kodeks Komisyonu tarafından setifikasız renk maddeleri arasında belirtilmiştir. Türk Gıda Kodeksi'nde de gıdalarda kullanımına izin verilen doğal renk maddeleri listesinde yer almaktadır. Ayrıca yapılan çeşitli çalışmalarda da karotenoidlerin gıdalarda güvenli olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Agarwal ve ark. (1993), Poncea 4R ve β -karoten ile beslenen farelerde sitogenetik değişiklikler araştırılmış ve Poncea 4R'nin ADI değerinde önemli düzeyde kromozomal farklılıklar belirlenmiştir. β -karoten ise kontrol olarak kullanılan zeytinyağından önemli düzeyde farklı olmadığı saptanmış ve karotenin gıdalarda kullanımının güvenli olduğu belirtilmiştir.

Durnev ve ark. (1997), 0.5, 5, ve 50 mg/kg dozlarında β -karoten enjekte edilen farelerde herhangi bir mutajen etki belirlenmediğini açıklamışlardır.

2.4.Karotenoidlerin Elde Edildiği Kaynaklar

Karotenoidler, meyve ve sebzelerde, bitkilerde, balıklarda, kuşlarda pigment maddesi olarak bulunmakta ve organizmanın sarı, turuncu ve kırmızı renklerini oluşturmaktadır. Karotenoidler, bazı yüksek bitkilerin kloroplastlarında bulunmasına rağmen, klorofil tarafından rengi baskılanmıştır. Doğada bir yılda yaklaşık 100 milyon ton karotenoid üretildiği belirtilmektedir (Rodriguez-Amaya, 1997).

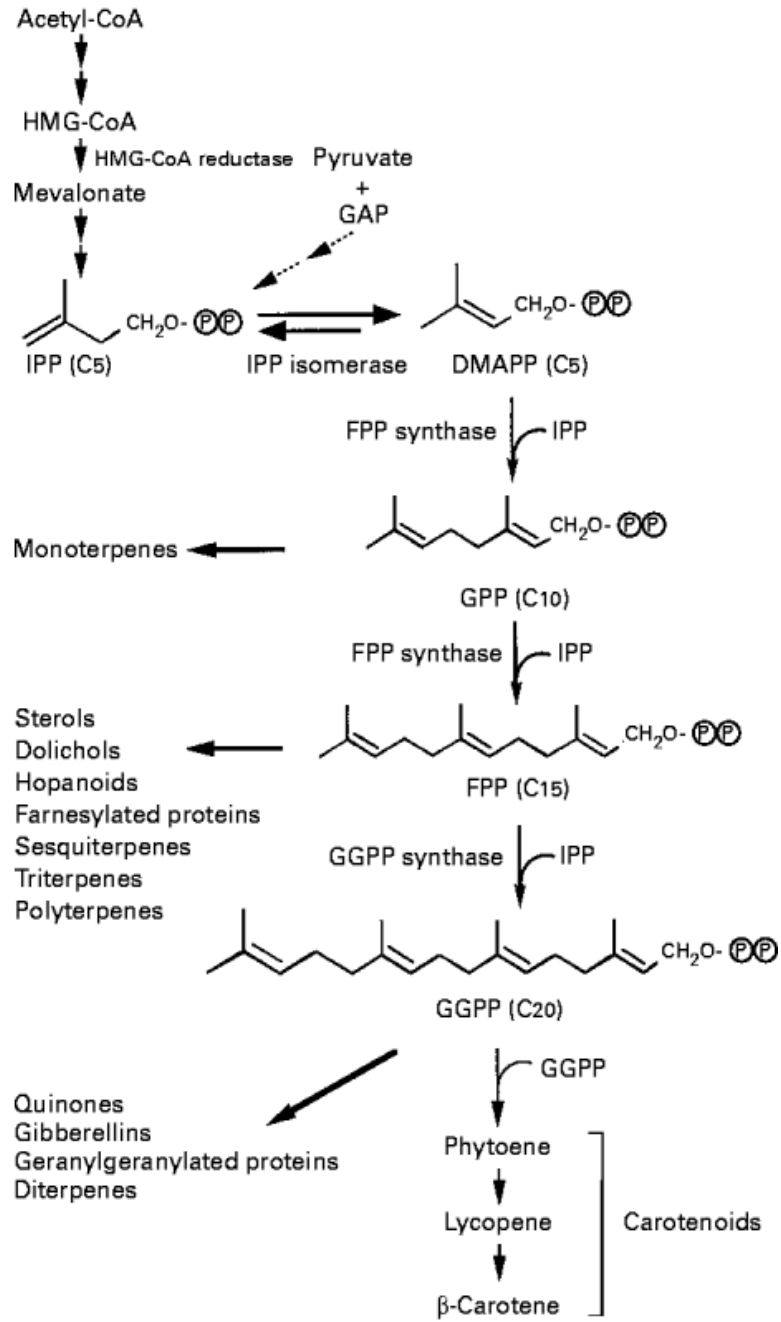
2.4.1. Bitkisel ve Hayvansal Kaynaklı Karotenoidler ve Yapılan Bazı Çalışmalar

Karotenoidler, havuç, domates, kırmızı biber, kıvırcık lahana, palm yağı, kadife çiçeği, annotta ve karides kabuklarında yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan karotenoid türleri, fitoflavin, likopen, γ -karoten, β -karoten, α -karoten, ζ -karoten, β -kriptoksantin, α -kriptoksantin, zeaksantin lutein, violaksantin ve astaksantin'dir. Bitkilerde ise yaygın olarak, zeaksantin, lutein antheraksantin, violaksantin ve neoksantin bulunmaktadır (Cemeroğlu ve Karadeniz, 2001).

Chen ve Meyers (1983), karides atıklarından ekstrakte edilen karotenoid miktarını artırmak için yaptıkları çalışmada, ekstrakte edilen astaksantin oranını %40-50 oranında artırabildiklerini açıklamışlardır. Santamaría ve ark. (2000), etanol kullanılarak kırmızı biberden karotenoid ekstraksiyonu yapıldığını belirtmişlerdir. Bosma ve ark. (2003) kadife çiçeğinden ekstrakte edilen luteinin ticari olarak değerlendirilebileceğini açıklamışlardır. Yapılan bir çalışmada palm yağından ve meyvesinden karotenoid ekstrakte edildiğini belirtmişlerdir (Lietz ve ark., 2001). Mike (2005), İsrail'de yapılan bir çalışmada domatesteki likopen oranının dört kat artırılarak ekstrakte edildiğini belirtmiştir.

2.4.2. Mikrobiyel Kaynaklı Karotenoidler

Karotenoidler çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklarda yaygın olarak bulunmasının yanı sıra, mikroorganizmalar da karotenoid üretimi açısından zengin bir kaynaktır. Karotenoidler mikroorganizma hücresinde çoğunlukla sferosomlar ya da lipid yapılarında oluşmakta ve endoplazmik retikulumda da sentezlenerek lipolitik orta katmanda birikmektedir. Sferosomlarda oluşan karotenoidler ise, belirli bir miktara ulaştığında stoplazmaya geçmektedir. Mikroorganizmalarda, karotenoidler mevalonik asitten sentezlenmektedir (Şekil 2.3) (Malgalith, 1992).



Şekil 2.3. Karotenoid Biyosentez Yolu (Malgath, 1992)

IPP =isopentilpirofosfat

DMAPP=dimetilalilpirofosfat

FPP =fornesilpirofosfat

GPP =geranylpirofosfat

GGPP =geranylgeranylpirofosfat

Karotenoidler, çeşitli algler, bakteriler, küfler ve mayalar tarafından üretilmektedir. Alglerin ürettiği karotenoidlerin çoğu C₄₀'lu karotenoidlerdir. Yeşil alglerde çoğunlukla β-karoten, lutein, ζ-karotenoidler oluşmaktadır. Mavi-yeşil alglerde de en yaygın olarak üretilen karotenoidler β-karoten, echinenone, zeaksantin ve kantaksantin belirlenmiştir. Algler içinde özellikle *Dunaliella bardawil* ve *Dunaliella salina* yüksek miktarda β-karoten üretmektedir. Bakterilerin ürettiği karotenoidler ise yapı bakımından birbirinden farklılıklar göstermektedir. Kromoorganotrofik bakterilerde, genel olarak C₄₀'lu karotenoidlerin yanı sıra C₃₀, ve C₅₀'lu karotenoidler de üretilmektedir. *Staphylococcus aureus*, *Halobacteria*, *Corynebacteria*, *Myxobacteria*, *Streptomyces mediolanus* ve *Brevibacter linens* karotenoid üreten bakteriler arasında en yaygın olarak bilinenlerdir. Fotosentetik bakterilerden ise, purple bakteriler alifatik ve aromatik karotenoidleri içermektedir. Küfler arasında ise yüksek miktarda karotenoid üretenlerin başında *Mucorales* ve daha sonra ise *Phycomyces blakesleeanus* (*Mucoraceae*) ve *Blakeslea nispora*(*Choanopheraceae*), *Mucor mucedo*, *Ustilago violacea*, *Neurospora crassa* ve *Fusarium aquadectum* gelmektedir (Costa ve ark., 1987). Çizelge 2.8'de karotenoid üretimleri açısından ticari olarak dikkat çeken mikroorganizmalar verilmiştir.

Çizelge 2.8. Mikrobiyel Kaynaklı Ticari Olarak Üretilen Karotenoidler
(Veiga-Crespo ve ark. 2005)

Mikroorganizma	Karotenoid	Miktar
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Astaksanthin	1.30 mg/l
<i>Phaffia rhodozyma</i>	Astaksanthin	30 µg/g
<i>Halobacterium salinarum</i>	Astaksanthin	265 µg/g
<i>Dictyococcus cinnabarinus</i>	Kantaksanthin	1 mg/g
<i>Brevibacterium</i> KY-4313	Kantaksanthin	2 mg/l
<i>Haloferax alexandrinus</i>	Kantaksanthin	2156.67 µg/g [2]
<i>Muriellopsis</i> sp.	Lutein	22.7 mg/g
<i>Blakeslea trispora</i>	Likopen	40 mg/l
<i>Flavobacterium</i> sp	Zeaksanthin	0.09 µg/l
<i>Dunaliella salina</i>	β-karoten	2.12 mg/l
<i>Dunaliella bardawil</i>	β-karoten	20.1 pg/cell

2.5. Mayalardan Karotenoid Üretimi ve Yapılan Bazı Çalışmalar

Saitoella spp., *Rhodotorula* spp., *Rhodospiridium* spp., *Phaffia* spp. ve *Oosporidium* spp. karotenoid oluşturan maya cinsleridir (Barnett ve ark., 1990). Mayaların oluşturduğu karotenoidler genellikle ksantofillerdir. Mayalar arasında *Rhodotorula* spp. ve *Phaffia rhodozyma* yüksek oranda karotenoid oluşturmaları ile endüstriyel açıdan önemlidir. Karotenoid üretimi, *Rhodotorula* spp.'de logaritmik fazda, *Phaffia rhodozyma*'da logaritmik fazın yanısıra durgun fazda da devam etmektedir (Acheampong ve Martin, 1995).

Rhodotorula spp., *Basidiomycetous* mayası olup, parlak, mukoid sarıdan turuncuya kadar değişen renklerde koloniler oluşturur. Başlıca ürettiği karotenoid türleri, β -karoten, torulin ve torularhodindir. *Rhodotorula glutinis*'in seksüel formu *Rhodospiridium*'dur. Hif oluşumu *Rhodotorula* spp. türlerinde nadir olarak görülmesine rağmen, *Rhodospiridium* spp.'nin türleri dikaryotik hif oluşturabilmektedir (Fell ve ark., 2000) *Rhodotorula* spp. genel özellikleri Çizelge 2.9'da verilmiştir.

Çizelge 2.9. *Rhodotorula* spp.'nin Biyokimyasal Özellikleri (Barnett ve ark., 1990)

Şeker fermantasyonu	-
Miyoinositol	+/-
Nitrat	+/-
Üre hidrolizi	+
Diazonium Blue B reaksiyonu	+
Nişasta Üretimi	+/-

Fell ve ark. (2000)'e göre belirlenen *Rhodotorula* spp. türleri Çizelge 2.10.'da verilmiştir.

Çizelge 2.10. *Rhodotorula* Türleri (Fell ve ark. 2000)

<i>Rhodotorula acheniorum</i>	<i>Rhodotorula acuta</i>	<i>Rhodotorula araucariae</i>
<i>Rhodotorula armeniaca</i>	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	<i>Rhodotorula bacarum</i>
<i>Rhodotorula bogoriensis</i>	<i>Rhodotorula buffonii</i>	<i>Rhodotorula diffluens</i>
<i>Rhodotorula ferulica</i>	<i>Rhodotorula foliorum</i>	<i>Rhodotorula fragaria</i>
<i>Rhodotorula fujisanensis</i>	<i>Rhodotorula futronensis</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>
<i>Rhodotorula glutinis</i> var. <i>dairenensis</i>		<i>Rhodotorula graminis</i>
<i>Rhodotorula glutinis</i> var. <i>glutinis</i>		<i>Rhodotorula hinnulea</i>
<i>Rhodotorula hordea</i>	<i>Rhodotorula hylophila</i>	<i>Rhodotorula ingeniosa</i>
<i>Rhodotorula javanica</i>	<i>Rhodotorula lactosa</i>	<i>Rhodotorula lignophila</i>
<i>Rhodotorula marina</i>	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Rhodotorula nothofagi</i>
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Rhodotorula muscorum</i>	<i>Rhodotorula philyla</i>
<i>Rhodotorula phylloplana</i>	<i>Rhodotorula pilati</i>	<i>Rhodotorula pustula</i>
<i>Rhodotorula sonckii</i>		

Phaffia rhodozyma'da *Basidiomycetous* mayası olup, ürettiği başlıca karotenoid türü astaksantindir. Klamidospor ve yalancı misel oluşturma özelliğinin yanı sıra tomurcuklanarak çoğalır ve seksüel üreme görülmez. *Xanthophyllomyces dendrorhous* ise seksüel formudur (Barnett ve ark., 1990). *Phaffia rhodozyma*'nın biyokimyasal özellikleri Çizelge 2.11.'de verilmiştir.

Çizelge 2.11. *Phaffia rhodozyma*'nın Biyokimyasal Özellikleri (Barnett ve ark., 1990)

Nitrat	-
Üre hidrolizi	+
Diazonium Blue B reaksiyonu	+
Nişasta Üretimi	+/-

Çoğu *Basidiomycetous* mayası gibi *Rhodotorula* spp. ve *Phaffia rhodozyma*'da toprak, hava, su, meyve suyu ve süt ürünleri gibi çok çeşitli ortamlarda bulunabilmektedir (Fell ve ark., 200).

Ramirez ve ark. (1981), kırmızı biberden izole edilen maya suşu, *Rhodotorula matritense* olarak tanımladıklarını açıklamışlardır.

Comi ve ark. (1982), fermente yoğurtdan izole edilen maya türleri arasında *Rhodotorula rubra* saptadıklarını açıklamışlardır.

Aboudi ve Ayoub (1987), koyun, sığır ve kümes hayvanlarının etlerinden alınan örnekte izole edilen maya türleri arasında *Rhodotorula mucilaginosa* belirlediklerini açıklamışlardır.

Rohm ve ark. (1990), Avusturya’da doğal yoğurtların depolanmaları süresince mikroflorasını incelemişlerdir. Araştırmada izole edilen maya türleri arasında *Rhodotorula mucilaginosa* belirlediklerini açıklamışlardır.

De Araujo ve ark. (1995), Brezilya’da yetişen yöresel bir bitki üzerindeki yengeç ve omurgasız bir çeşit hayvan (mollusk)’nın maya mikroflorası incelemişler ve izole edilen maya suşları *Rhodotorula* spp. olarak tanımlamışlardır.

Li ve ark., (1995), tropikal “*Milicia excelsa*” ağaçlarının maya popülasyonunu incelemişler ve 62 maya izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatların % 1.5’ini *Rhodotorula minuta* ve % 1.5’ini *Rhodotorula rubra* olarak saptamışlardır.

Viljoen ve Greyling (1995), çedar ve gouda peyniri üretimi yapılan bir fabrikada salamura, peynir altı suyu, eller, ekipman gibi çeşitli 187 maya suşu izole etmişlerdir. Yapılan çalışmada bu mayalardan 2 suşun *Rhodotorula diffluens*, 11 suşun *Rhodotorula minuta*, 3 suşun *Rhodotorula glutinis* olarak tanımlamışlardır.

Welthagen ve Viljoen (1998), peynir üretimi yapılan fabrikanın çeşitli ortamlarından (hava, duvar, zemin, ve ekipman) izole edilen maya türleri arasında *Rhodotorula glutinis*, *R. minuta* saptamışlardır.

Osei Abunyewa ve ark. (2000), ticari olarak satılan salamaların üretimi süresince maya popülasyonu incelemişler. Araştırmada 108 maya suşu izole edildiğini ve tanımlanan maya suşları arasında, *Rhodotorula mucilaginosa* belirlemişlerdir.

Slavikova ve Vadkertiova (2000), üç farklı ormandan toplanan 180 toprak örneğinin maya florasını araştırmışlar ve belirlenen maya türleri arasında *Rhodotorula aurantiaca* tanımladıklarını açıklamışlardır.

Nagahama ve ark. (2001), Japonya’da Sagami Bay denizinin 1156 m derinliğinden alınan örneklerden izole edilen maya suşu *Rhodotorula* sp. SY-89 olarak tanımlamışlar ve SY-89 türü diğer genetik olarak tanımlananlardan farklı olduğu için *R. lamellibrachii* olarak adlandırıldığını belirtmişlerdir.

Vital ve ark. (2002), Brezilya Amazon Ormanlarından izole ettikleri 240 maya suşundan 3 suşu *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta* ve *Rhodotorula mucilaginosa* olarak tanımlamışlardır.

2.5.1. Mayalarda Karotenoid Miktarının Belirlenmesi

Mayaların ürettiği karotenoidler kromatografik ve spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmektedir. Kromatografik yöntemlerde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ince tabaka kromatografisi (TLC) ve kolon kromatografisi kullanılmaktadır. Her üç yöntemde de öncelikle, karotenoidler mayadan çözücüler yardımıyla ekstrakte edilmekte ve kromatografiye uygulanmaktadır. HPLC kromatoğrafında elde edilen piklerden karotenoid türü ve miktarı belirlenebilmektedir (Girard ve ark., 1994). TLC’de ise elde edilen beneklerin Rf değerinden karotenoid türü belirlenmekte, karotenoidin miktarını belirlemek için ise benekler ayrı ayrı çözücüye kazınarak aktarılmakta ve spektrofotometrik olarak ölçüm yapılmaktadır (Bhosale ve Gadre, 2001a). Kolon kromatografisinde de, kolonda oluşan farklı renk katmanları ayrı toplama kaplarına alınarak, spektrometrede maksimum absorbanası ölçülerek karotenoid türü ve miktarı belirlenmektedir (Simpson ve ark., 1964).

Mayalarda toplam karotenoid miktarı, spektrofotometik yöntemde aşağıda verilen formül kullanılarak belirlenmektedir.

$$\text{karotenoid } (\mu\text{g/ml}) = \frac{(Ax) \times D \times V}{E_1^{1\%}}$$

Ax :Absorbans değeri
D :Dilüsyon oranı
V :Petrol eteri hacmi
E₁^{1%} :Toplam karotenoid için spesifik absorpsiyon katsayısı

Farklı karotenoid türleri için absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı farklıdır. Çizelge 2.12.'de farklı karotenoid türlerinin absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı verilmiştir.

Çizelge 2.12. Farklı Karotenoid Türlerinin Absorbans Değeri ve Spesifik Absorpsiyon Katsayısı (Simpson ve ark., 1964)

Karotenoid	Absorbans Değeri	Spesifik Absorpsiyon Katsayısı
Phytoen	285	850
Phytofluen	348	1,540
ζ-caroten $\alpha\gamma$	400	2,500
Neurosporone	439	2,740
β-Zeacaroten	426	1,940
β ₁ - Zeacaroten	427	1,800
γ-caroten	460	2,760
β-caroten	452	2,500
Torulin	485	2,680
Torularhodin	515	1,932
Astaksantin	478	2,100

Kullanılacak absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı miktarı belirlenmek istenilen karotenoid türüne göre belirlenmektedir. Toplam karotenoid miktarında ise, maya türünün ürettiği karotenoidlerden en yüksek % oran içeren karotenoid türüne göre absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı belirlenir. *Rhodotorula*'de üretilen en yüksek karotenoid türü torulin (%27) belirlenmiştir. Bu nedenle de toplam karotenoid miktarı belirlenirken torulin için verilen absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı formülde kullanılmaktadır (Simpson ve ark. 1964; Frengova ve ark., 1994; Bhosale ve Gadre, 2001a). *Phaffia rhodozyma*'da ise üretilen karotenoidler arasında en yüksek oran astaksantin olması nedeni ile toplam karotenoid miktarı için astaksantin absorbans değeri ve spesifik absorpsiyon katsayısı kullanılmaktadır (Chumpolkulwong ve ark., 1997).

2.5.2. Mayalarda Karotenoid Üretimini Artırmaya Yönelik Yapılan Bazı Çalışmalar

Maya türleri tarafından üretilen karotenoid miktarının artırılması amacıyla maya türlerinin farklı koşullarda (karbon kaynağı ve oranı, azot kaynağı ve oranı, sıcaklık, pH, inkübasyon süresi, karıştırma hızı) gelişimleri ve gelişim ortamlarının

bileşimlerine yönelik araştırmalar yoğunlaşmıştır. Ayrıca, çeşitli mutajenler kullanılarak mutant kültürler elde edilmesi de mayaların karotenoid üretimlerini artırmaya yönelik çalışmalar arasındadır.

2.5.2.1. Gelişim Koşullarının Mayaların Karotenoid Üretimleri Üzerine Etkisi İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Johnson ve Lewis (1979), *Phaffia rhodozyma*'nın gelişim koşullarına bağlı olarak karotenoid oluşumunu araştırmışlardır. Gelişim ortamında karoten konsantrasyonu yaklaşık 5µg/g maya hücresi olarak belirlenirken, ksantofil miktarı fermantasyon süresince 90µg/g kuru maya hücresinden 406 µg/g kuru maya hücresine kadar yükselmiştir. Ayrıca farklı pH değerinde (3,5, 4,5, 5,5, 6,5) ve farklı sıcaklıklarda (14°C, 18°C, 22°C, 26°C) *Phaffia rhodozyma* gelişiminin, karotenoid üretimindeki değişimini incelemişlerdir. Yüksek karotenoid üretimi için en uygun pH 5,0 ve en uygun sıcaklık 20-22°C olarak belirlemişlerdir. Farklı karbon kaynaklarını (D-maltoz, D-cellobioz, sukroz, suksinat, D-mannitol, D-ksiloz, L-arabinoz, glukono-δ-lakton, D-glikoz) kullanmışlar ve D-sellobioz kullanımında en yüksek astaksantin üretimi belirlemişlerdir. Ayrıca gelişim ortamında glikoz konsantrasyonu arttıkça, toplam astaksantin miktarı arttığı, ancak, birim ağırlıkta mayanın ürettiği astaksantin üretiminin düştüğünü belirlemişlerdir.

Okagbue ve Lewis (1985), *Bacillus circulans* WL-12 ve *Phaffia rhodozyma* karışık kültürünün astaksantin oluşumu üzerinde etkisini incelemişlerdir. Ayrıca farklı pH değerinin (6,0, 6,5, 6,8, 7,0, 7,4, 7,8), inkübasyon sıcaklığının (15, 20, 24, 27, 30), glikoz konsantrasyonunun (%1, %2, %3, %4, %5) ve *Bacillus circulans* WL-12, *Phaffia rhodozyma* inokülasyon oranının (0,5:1, 1:1, 2:1, 4:1) litik aktivite ve astaksantin ekstraksiyonu üzerine etkisini de araştırmışlardır. Araştırma sonunda litik aktivite ve astaksantin ekstraksiyonu için en uygun pH 6,8-7,4, en uygun inkübasyon sıcaklığı 20-27°C belirlemişlerdir.

Haard (1988), *Phaffia rhodozyma*'nın %7-10 oranında B ve C sınıfı melas içeren ortamda, 2-3 kat daha yüksek oranda astaksantin ürettiklerini saptamıştır.

Martin ve ark. (1993a), *Rhodotorula rubra*'nın farklı gelişme koşullarında ürettiği toplam karotenoid oranını incelemişlerdir. *Rhodotorula rubra*'nın, başlangıç karbon konsantrasyonu 15g/L ve pH=5,5, karıştırma hızı 200 rpm olan ortamda, 22°C'de 3,5 günlük bir inkübasyonda en uygun gelişme gösterdiklerini ve toplam karotenoid miktarını 1256 µg/g olarak saptamışlardır.

Martin ve ark. (1993b), *Phaffia rhodozyma*'nın farklı gelişim ortamında oluşturduğu biyokütle verimini incelemişlerdir. Araştırma sonunda *Phaffia rhodozyma*'da en yüksek biyokütle oluşumunu, 15g/L substrat konsantrasyonunda, pH 7'de, 18°C inkübasyon sıcaklığında, 120 saat inkübasyon süresinde ve 150 rpm çalkalama hızında belirlemişlerdir. Ayrıca, *Phaffia rhodozyma*'nın optimum gelişme koşullarında ürettiği en yüksek astaksantin miktarı da 1567µg/g hücre olarak saptamışlardır.

Meyer ve Preez (1993), gelişim ortamına ilave ettikleri asetik asitin *Phaffia rhodozyma*'da astaksantin üretiminin pigment oluşumunu azalttığı ve 2g asetik asit/l'de ise pigment üretiminin tamamen durduğunu belirtmişlerdir.

Meyer ve Preez (1994), mutant *Phaffia rhodozyma*'nın kesikli ve sürekli fermentörde farklı besi ortamları kullanarak pigment üretimini araştırmışlardır. Sürekli fermentörde geliştirilen *Phaffia rhodozyma*'da en yüksek toplam pigment ve astaksantin oranı 727µg/g kuru hücre ve 447µg/g kuru hücre, kesikli fermentörde de 1249µg/g kuru hücre ve 1082µg/g kuru hücre olarak belirlemişlerdir. Kesikli fermentörde *Phaffia rhodozyma*'nın optimum gelişimi, 20-22°C'de, pH 4,5-5,5 ve sukroz varlığında belirlemişlerdir.

Acheampong ve Martin (1995)'in yaptıkları araştırmada, *Phaffia rhodozym*'yı kesikli ve sürekli fermentörde geliştirerek karotenoid üretimini karşılaştırmışlar ve her iki üretimde de karotenoid miktarlarında farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Fontana ve ark. (1996b), *Phaffia rhodozyma*'nın şeker kamışı suyunda ve diğer bir kamış çeşidi olan bagassede, %0,1 N oranı ve %0,1 amino asit karışımları ilave ederek gelişim ve karotenoid üretimlerini incelemişlerdir. Şeker kamışına ayrı ayrı olarak pepton, üre ve amino asit grupları (succinigenik, glikogenik, ve proketoglutarik) ilave edilmiştir. En yüksek biyokütle oranı (5,4g/L) üre ilave edilen örneklerde belirlemişler ve aynı örnekteki astaksantin miktarını ise, 1,2-1,4 mg/g

hücre olarak saptamışlardır. Basit amino asit karışımında en yüksek astaksantin miktarını 3,0 mg/g hücre olarak saptamışlardır. Bunun yanı sıra, farklı disakkarit açısından zengin olan kaynakları (patates, bagasse kamışı, siyah şeker, şeker pancarı suyu) da incelemişlerdir. İncelenen örneklerde sakkaroz içeren kaynaklarda en yüksek oranda pigment üretimi belirlemişlerdir. Araştırmada en yüksek astaksantin oranı 1,16mg/100ml olarak belirlenmiştir.

Shih ve Hang (1996), saurkraut salamurasında *Rhodotorula rubra*'nın ürettiği toplam karotenoid miktarını 1041 µg/g kuru hücre olarak saptamışlardır.

Bon ve ark. (1997), *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17269'dan yüksek oranda karotenoid üreten mutant kültürler elde ederek, farklı karbon kaynağı (glukoz, maltoz, ksiloz) ilave edilen Yeast Extract Broth'ta ve karanlıkta karotenoid üretimini incelemişlerdir. Araştırma sonunda, mutant kültürün ürettiği karotenoid miktarının %100-%50 arasında azalmasında, ortamında bulunan şekerlerin değişiminin etkili olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca karanlıkta gelişen mutant kültürde de karotenoid oranının azaldığını belirtmişlerdir.

Frengova ve ark. (1997), *Lactobacillus helveticus* ve *Rhodotorula glutinis*'in birlikte peynir altı suyunda (42g/l laktoz) karotenoid üretimini incelemişlerdir. Yapılan araştırma sonunda, toplam karotenoid miktarı 248µg/g kuru hücre belirlemişlerdir. Toplam karotenoidin %15'i β-karoten, %10'u torulen ve %69 torularhodin olarak saptadıklarını açıklamışlardır.

Gu ve ark. (1997), *Phaffia rhodozyma*'da gelişim ortamına etanol ilavesinin karotenoid üretimine etkisini araştırmışlardır. Gelişim ortamına ilave edilen %0,2 etanol ilavesinin karotenoid üretimini artırdığını saptamışlardır.

Parajo ve ark. (1997), *Phaffia rhodozyma*'da gelişim ortamında karbon kaynağı olarak ksiloz kullanımının karotenoid üretimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmada, 160 saat inkübasyon süresi 20,3g/L ve 41,7g/L ksilon içeren gelişim ortamında, karotenoid miktarı sırasıyla 2,5mg/L ve 2,85 mg/L belirlemişlerdir.

Parajo ve ark. (1998), *Phaffia rhodozyma*'nın gelişim ortamı için öğütülmüş ağaç örnekleri asit ve enzim ile hidrolize edilerek kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Araştırma sonunda, hidrolizasyon ile elde edilen kültür ortamının

mikroorganizmanın çoğaltılması ve karotenoid üretimi için uygun olduğunu belirlemişlerdir.

Vazquez ve ark. (1997), *Phaffia rhodozyma*'nın farklı karbon kaynaklarında (glikoz, sukroz ve ksiloz) ürettiği karotenoid miktarı ve karotenoid türlerini incelemişler ve *Phaffia rhodozyma*'nın ürettiği karotenoidler canthaxantin, echinenone, 3-hidroksiechinenon, likopen, 4-hidroksi-3', 4'-dihidro- β - ψ -karoten, phoenicoxantin ve astaksantin olarak belirlemişlerdir. *Phaffia rhodozyma*'nın ürettiği karotenoid kompozisyonunun gelişim ortamında bulunan karbon kaynağına bağlı olarak değiştirdiğini saptamışlardır. *Phaffia rhodozyma*'nın ürettiği en yüksek karotenoid miktarı ise (3,60mg/l) ksiloz içeren ortamda belirlenmiştir.

Yamane ve ark. (1997a), *Phaffia rhodozyma*'nın astaksantin üretimi üzerinde oksijen ve glikoz oranlarının etkisini incelemişler ve *Phaffia rhodozyma*'nın, düşük miktarda oksijen ve yüksek miktarda glikoz içeren ortamda ürettiği astaksantin miktarının azaldığı, yüksek miktarda oksijen içeren ortamda ise *Phaffia rhodozyma*'nın ürettiği astaksantin miktarının yükseldiğini belirlemişlerdir.

Yamane ve ark. (1997b), *Phaffia rhodozyma*'nın farklı karbon kaynakları (glikoz, fruktoz, ksiloz, maltoz, sukroz, etanol, asetat ve prüvat) ve etanol (%3, %5, %10) içeren ortamda ürettiği astaksantin miktarını incelemişlerdir. Araştırmada fruktoz, maltoz ve sukroz içeren gelişim ortamında belirlenen astaksantin miktarı, glikoz içeren gelişim ortamında belirlenen astaksantin miktarından daha yüksek belirlemişlerdir. Ayrıca, gelişim ortamına %3 etanol ilave edilmesi astaksantin miktarını 2.2 kat artırdığını belirlemişlerdir.

Cruz ve Parajo (1998), *Xanthophyllomyces dendrorhous*'un sellüloz ile hidrolize edilen okaliptus odunundan elde edilen hidrolizatı içeren ortamda ve sentetik besiyerinde, oluşturduğu karotenoid oranını incelemişlerdir. Araştırma sonunda, hidrolizat içeren gelişim ortamında en yüksek toplam karotenoid miktarını 2,14 mg/L olarak belirlemişlerdir.

Buzzini ve Martini (1999), *Rhodotorula glutinis*'de üzüm sırası, glikoz şurubu, pancar küspesi, soya unu ekstraktı ve mısır unu ekstraktında ürettiği karotenoid miktarını inceledikleri araştırmada, toplam karotenoid oranı sırasıyla 5,95mg/L, 3,37mg/L, 1,80mg/L, 3,09mg/L, 4,24mg/L, 3,82mg/L olarak

belirlenmişler ve tüm örneklerde temel karotenoidlerin, β -karoten, torulene ve torularhodin olduğunu açıklamışlardır.

Chen ve Liu (1999), *Rhodotorula* sp.'nin farklı küf türleri ile birlikte %60 mısır tozu içeren gelişim ortamında ürettiği karotenoid miktarını incelenmişlerdir. Araştırmada toplam karotenoid miktarını 3.42 mg/L beirlemişlerdir.

Govindaswamy ve ark. (1999), *Rhodotorula gracilis*'in farklı ortamlarda ürettiği karotenoid miktarını araştırdıkları çalışmada, %10 glikoz %2 inokülasyon oranı ve 9 gün inkübasyon süresinde karotenoid oranını %0,054 belirlemişlerdir.

Buzzini (2000), *Rhodotorula glutinis*'de karbonhidrat kaynağı olarak konsantre üzüm şırası kullanımında ve farklı gelişim koşullarında ürettiği karotenoid miktarını incelemişlerdir. Araştırma sonunda karotenoid üretimi üzerinde en çok başlangıç pH'sının ve maya ekstraktı oranının etkili olduğunu belirlemişlerdir. pH 5,78'de, 4,67g/L maya ekstraktı içeren ortamda toplam karotenoid miktarı ve β -karoten miktarı sırasıyla 6,9mg/l ve 1100 μ g/L olarak bulmuşlardır.

Ramirez ve ark. (2000), *Phaffia rhodozyma*'nın farklı nitrojen içeren, farklı oranda yeast extract (0-0,5-1,0-1,5-3,0g/L) ve şeker (5-10-15-22,5-30g/L) içeren ortamlarda ürettiği astaksantin miktarını incelemişlerdir. Araştırmada, nitrojen kaynağı olarak amonyum fosfat, amonyum sülfat, amonyum nitrat, amonyum klorit, üre ve triptofan kullanılmış ve en yüksek astaksantin miktarı 4078 μ g/g kuru hücre belirlenmiştir.

Somashekar ve Joseph (2000), *Rhodotorula glutinis*'in gelişme ortamındaki karbon/azot oranına göre ürettiği karotenoid miktarındaki değişimi incelemişlerdir. Araştırma sonunda en yüksek karotenoid üretimi karbon/azot oranı 10:1 oranında ve 26 mg/g kuru hücre ağırlığı olarak belirlemişlerdir.

An ve ark. (2001), mutant *Phaffia rhodozyma* kültürünü gelişiminde şeker pancarı melası kullanarak yaptıkları çalışmada, besiyeri olarak %5 (v/v) şeker pancarı melası, %30 (g/L melas) üre ve %5 (g/L melas) sodyum fosfat kullanmışlardır. 100L'lik fermentörde yapılan çalışma sonucunda en yüksek biyo kütle verimini 36g/l (0,18g maya L⁻¹h⁻¹ ve 40mg karotenoid L⁻¹) olarak bulmuşlardır.

Bhosole ve Gadre (2001a), *Rhodotorula glutinis*'in farklı oranlarda maya ekstraktı, glikoz ve treonin içeren ortamda ürettiği karotenoid miktarını

incelemişlerdir. Araştırma sonunda, *Rhodotorula glutinis*'nin 11,74g/L maya ekstraktı, 46g/L, glikoz, 18g/L treonin içeren ortamda, en yüksek toplam karotenoid miktarını 129 mg/L olarak belirlemişlerdir.

Buzzini (2001), *Rhodotorula glutinis* DBVPG 3853 ve *Debaryomyces castellii* DBVPG 3503 suşlarını mısır şurubu içeren ortamda geliştirerek karotenoid üretimlerini incelemişler ve toplam karotenoid miktarını 8,2 mg/L belirlemişlerdir.

2.5.2.2. Mayaların Karotenoid Üretimi Üzerine Mutasyonun Etkisi İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Mutant maya suşları elde etmek amacıyla 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidin (MNNG), etil metan sülfonat (EMS), ultraviyole (UV) gibi çeşitli mutajen maddeler kullanılmaktadır. MNNG, DNA'nın tek zincirinde kırılmaya neden olmakta, etil metan sülfonat ise DNA'nın guanin bazını alkilleri ve oluşan 7-alkil-guanin DNA yapısından ayrılmaktadır. UV ışınlarında ise DNA'nın daha çok primidin (timin ve sitozin) tabanları arasında dimerler oluşmaktadır. Konu ile ilgili birçok araştırmada farklı mutajen maddeler kullanılarak mutant mayalar elde edilmiş ve oluşturdıkları karotenoid miktarı incelenmiştir.

An ve ark. (1989), *Phaffia rhodozyma*'nın MNNG, UV ve EMS mutajenleri kullanılarak mutant kültürlerini elde etmişler ve mutant kültürler ile ana kültürlerin ürettiği karotenoid oranını incelemişlerdir. Araştırmada, en iyi mutajen maddenin MNNG olduğunu belirtmişlerdir. MNNG ile mutasyon sonunda elde edilen mutant hücrenin ürettiği karotenoid miktarını 900-1300µg/g kuru hücre olarak belirlemişler ve ana hücrenin ürettiği karotenoid miktarından 300-450µg/g daha fazla karotenoid üretimi gerçekleştiğini belirlemişlerdir.

Lewis ve ark. (1990), MNNG kullanarak *Phaffia rhodozyma*'nın mutant mayalarını elde ederek, daha sonra mutant mayaları β-ionone içeren ortamda geliştirmişler ve yüksek miktarda astaksantin üreten mutant kültürler belirlemişlerdir.

Girard ve ark. (1994), UV ve EMS kullanılarak *Phaffia rhodozyma*'nın mutantlarını elde ederek, bu mutant mayaların karotenoid kompozisyonlarını incelemişlerdir. Araştırma sonunda, mutant kültürlerde beyazdan koyu kırmızıya

kadar değişen renklerde koloniler elde etmişler ve bu mayaların yüksek miktarda astaksantin ve β -karoten ürettiklerini saptamışlardır.

Calo ve ark. (1995), *Phaffia rhodozyma*'dan benomil ve EMS mutajenleri kullanılarak mutant mayalar elde etmişler ve elde ettikleri mutantların oluşturduğu karotenoid miktarını, karotenoid kompozisyonunu incelemişlerdir. Çalışma sonunda yüksek oranda pigment üreten mutant kültürde yüksek miktarda β -karoten belirlendiği ve astaksantin oranının ana kültüre göre %232 oranda arttığını belirlemişlerdir.

Bon ve ark. (1997), *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17269 kültüründen, NNG mutajen madde kullanılarak, yüksek karotenoid üreten JB2 mutantı elde edilmişlerdir. Araştırmada 10 ml JB2 mutant kültüründe toplam karotenoid miktarı olarak $1.54 \pm 0.21 \mu\text{g} / \text{mg}$ kuru hücre, ana kültürde ise $0.38 \pm 0.04 \mu\text{g}$ karotenoid/mg kuru hücre elde edildiği belirtilmiştir.

Chumpolkulwong ve ark. (1997), *Phaffia rhodozyma*'nın MNNG kullanarak mutant mayaları elde etmişlerdir. Elde edilen mutant kültürler, $75 \mu\text{M}$ difenilamin içeren ortamda inkübasyona bırakmışlar ve seçilen mutant kültürlerde karotenoid oranının ana kültüre göre iki kat arttığını ve temel karotenoidin 15-cis phytoene olduğunu belirlemişlerdir.

Ramirez ve ark. (2000), *Phaffia rhodozyma*'nın nitrosoquanidin ile mutant kültürlerini elde edilmişler ve ana kültür ile mutant kültürün üre içeren ortamda oluşturduğu karotenoid miktarını incelemişlerdir. Araştırmada ana kültür ve mutant kültürün ürettiği toplam karotenoid miktarı sırasıyla $1047 \mu\text{g/L}$ ve $4078 \mu\text{g/L}$ belirlenmiştir.

Bhosole ve Gadre (2001b), *Rhodotorula glutinis*'in ve UV mutasyonu ile elde edilen mutantlarının şeker pancarı melası içeren ortamda ürettiği toplam karotenoid ve β -karoten miktarını araştırmışlardır. Araştırmada, gelişim ortamı olarak şeker pancarı melası (başlangıç toplam indirgen şeker içeriği 40g/l ve $\text{pH}=6,0$) kullanımında en yüksek karotenoid miktarı 14 mg/l ve toplam karotenoidin %70'ini β -karoten oluşturduğunu belirlemişlerdir.

Bhosole ve Gadre (2001c), *Rhodotorula glutinis*'in UV mutasyonu ile elde edilen mutant mayaların ürettiği toplam karotenoid ve β -karoten miktarını incelemiştir. Araştırmada, ana kültürün ürettiği toplam karotenoid miktarı 2.2 mg/l, toplam karotenoidin %14'ünün β -karotenin oluşturduğunu saptamışlardır. Mutant hücrede β -karoten miktarının 120 kat arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca mutant maya, farklı karbon ve nitrojen kaynağı içeren ortamlarda ürettiği karotenoid miktarı 33 mg/L olarak saptanmıştır. Bunun yanı sıra, aynı araştırmada gelişim ortamına ilave edilen farklı tuzların da toplam karotenoid miktarı 66 mg/L'ye kadar yükseldiğini ve β -karotenin toplam karotenoidin içindeki oranı %55'e kadar artırılabilirdiğini saptamışlardır.

Bhosole ve Gadre (2001d), *Rhodotorula glutinis* NCIM 3353'den elde edilen mutant kültürün ana kültüre göre, 76 kat daha yüksek miktarda β -karoten ürettiğini ve mutant kültürün gelişim ortamında deniz suyu kullanımında toplam karotenoid miktarı 86mg/l ve kuru hücre ağırlığı 16g/L olduğunu saptamışlardır.

Sakaki ve ark. (2001), *Rhodotorula glutinis*'in zayıf beyaz ışık radyasyonunun karotenoid üretimi üzerinde etkisini araştırmışlar ve *Rhodotorula glutinis*'in mutant mayasında, beyaz ışığın torularhodin üretimini artırdığını belirtmişlerdir.

Bhosale ve. Gadre (2002), araştırmada mutant 32 *Rhodotorula glutinis*'in 30°C'de 125 ± 2 mg/L, 20 °C'de 250 ± 7 mg/L β -karoten ürettiğini belirlemişlerdir. 1000 lx beyaz ışık ile sürekli aydınlanma karotenoid üretimine ve gelişime zarar verdiğini, ancak logaritmik fazın sonlarından itibaren aydınlanma β -karoten oranını 558 oranında artırdığını belirtmişlerdir.

2.5.2.3. Mikroorganizmalardan Karotenoid Üretimi İle İlgili Yapılan Bazı Genetik Çalışmalar

Kajiwara ve ark. (1997), *Erwinia* sp.'den karotenoid oluşturan genleri *Escherichia coli*'ye aktararak, *E. coli*'nin β -karotenden dolayı sarı renkli koloniler oluşturduğunu saptamışlardır.

Miura ve ark. (1998), *Erwinia uredovora* ve *Agrobacterium aurantiacum*'dan karotenoid sentezleyen genleri, *Candida utilis*'e aktararak, *C. utilis*'in 1.1mg/g kuru hücre likopen, 0.4mg/g kuru hücre ağırlığı β -karoten ve 0.4mg/g kuru hücre astaksantin ürettiğini belirlemişlerdir.

Misawa ve Shimada (1998), doğal olarak karotenoid oluşturmeyan *Escherichia coli*'ye *Phaffia rhodozyma* ve *Haematococcus pluvialis*'den karotenoid oluşturan genleri aktararak, *Escherichia coli*'nin de karotenoid üretmesini sağlamışlardır.

2.6.Karotenoidlerin Renk Maddesi Olarak Gıdalarda Kullanımı İle İlgili

Yapılan Bazı Çalışmalar

Bolton ve ark. (1971), düşük miktarda karotenoid içeren diyetlerle beslenen tavuklarda yumurta renk koyuluğunun yükseldiğini açıklamışlardır.

Dike ve ark. (1992), 20 haftalık tavuklar, *Phaffia rhodozyma* ilave edilmiş yem ile besleyerek yumurta verimi ve rengi üzerinde etkisini araştırmışlardır. Bir grup tavuğa ticari olarak satılan karofil-kırmızı-10 (cantaksantin), diğer gruba, %0,3 parçalanmış maya hücresi, başka bir gruba ise %0,3 maya hücresi ilave edilerek beslemişlerdir. Çalışma sonunda, en yüksek renk puanı ticari üründe belirlenirken, maya hücresi ilave edilen grubun renk değeri, parçalanmış hücre ilave edilenden bir puan yüksek olarak bulunmuştur.

Ingemansson ve ark. (1993), karotenoid pigmenti içeren yem ile beslenen alabalıklarda dondurma süresince astaksantin oranındaki değişimi incelemişlerdir. Araştırma sonunda, alabalık kas dokusunda astaksantin miktarının dondurarak depolama süresince önemli oranda azaldığını saptamışlardır. Ayrıca, karotenoid ilavesinin alabalık kas dokusundaki oksidasyon ve yağ hidrolizi üzerinde bir etkisi olmadığını saptamışlardır.

So ve ark. (1997), *Phaffia rhodozyma*'nın antioksidan özelliği nedeniyle kozmetik ürünlerde renk maddesi olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Akiba ve ark. (2001), 4-5 haftalık piliçleri 14 ve 21 gün süre ile *Phaffia rhodozyma* hücresi ilave edilmiş yemle beslenmişler ve daha sonra et renginin

kalitesini araştırmışlardır. Araştırma sonunda tüm örneklerin kırmızılık değerinin kontrole göre önemli oranda yükseldiğini belirlemişlerdir.

Toyomizu ve ark. (2001), tavukların diyetlerine zeaksantin içeren spirulina ilave edilmiş ve tavuk etinin rengindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Yüksek oranda ilave edilen spirulina tavuk eti renginin hem sarılık hem de kırmızılık değerlerinde artış sağladığını belirlemişlerdir.

Lorez (1998), karideslerde renk kalitesini artırmak için diyetlerine astaksantin ilave edilmiş ve 100mg/100g diyet astaksantrine ile beslenen karideslerde renk kalitesinin en yüksek olduğunu ve karideslerin yaşama süresinin de yükseldiğini belirlemişlerdir.

2.7. Sucuk Üretimi İle İlgili Genel Bilgiler

Sucuk, çeşitli kesim hayvanlarına ait etlerin kısılarak çiğ, tuzlanmış, haşlanmış ve tütsülenmiş durumda doğal veya yapay barsaklara doldurulmasıyla elde edilen et ürünleridir ve fermente, haşlanmış pişirilmiş ve kızartılarak tüketilen sucuklar olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır (Yıldırım, 1984, İnal, T., 1992).

Kuru fermente sucuk uzun yıllardan beri geleneksel bir ürün olarak Güney ve Merkez Avrupa'da özellikle de Almanya, İtalya, İspanya ve Fransa'da yaygın olarak tüketilen bir üründür (Fernandez ve ark., 2000).

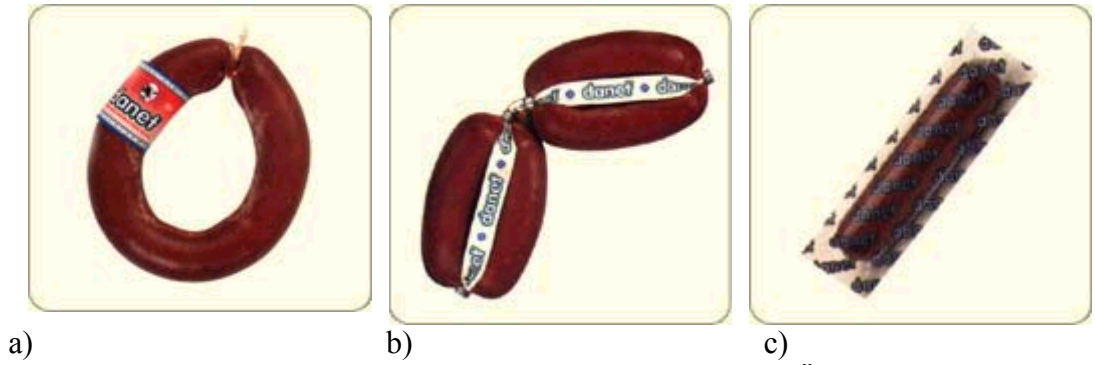
Ülkemizde tüketilen sucuk fermente ve yarı kuru bir üründür. Türkiye'de sucuk üretimi Cumhuriyetin kurulmasından sonra hristiyanlara yönelik olarak domuz etinden jambon, salam, sosis üretimi ile başlamış, daha sonra 1950'li yıllarda Et ve Balık Kurumu kombinalarında sığır eti kullanılarak üretime başlanmıştır. Türk Standartlarında Türk sucuğu "kasaplık büyükbaş hayvan gövde etlerinden hazırlanan hamurun, doğal veya yapay kılıflara doldurulması ve bir süre bekletilerek olgunlaştırılmasıyla elde edilen et ürünü" olarak tanımlanmaktadır (Anon, 2002c).

Genel olarak Türk sucuğunun üretim aşamaları şöyledir; kuşbaşı olarak hazırlanan etler, yağ, tuz, kürlleme maddeleri ve kürlleme yardımcı maddeleri ve baharatlar ile karıştırıp, soğuk depoda (0-4°C) 8-12 saat bekletildikten sonra karışım kyma makinasından çekilerek barsaklara doldurulur. Barsaklara doldurulan sucuklar

fermantasyona bırakılır ve daha sonra nem oranı % 40'a düşünceye kadar kurutulur (Öztan, 2003).

Sucuk üretiminde kullanılan formülasyonlar, üretici firmaya göre değişmekle birlikte, %80 et, %10-20 yağ, %2-3 tuz, %0,05 nitrat veya %0,02 nitrit, %0,1-2 baharatlar ve %0,4-1 sarımsak kullanılmaktadır (Yıldırım, 1984). Türk Gıda Kodeksi et ürünleri tebliğinde “fermente sucuklarda yağ miktarı en çok %40, rutubet miktarı en çok %40, pH değeri en çok 5.4 olarak ” belirtilmiştir (Anon, 2000).

Sucuk dış görünüşüne göre, kangal sucuk, baton sucuk, parmak sucuk olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.4) (Öztan, 1993).



Şekil 2.4. a) Kangal sucuk, b) Baton sucuk, c) Parmak sucuk(Öztan, 1993)

Sucuk, fermente bir ürün olduğu için fermentasyon ortam sıcaklığı, bağıl nem ve hava sirkülasyonu sucuk kalitesinde önemli rol oynamaktadır. Fermentasyon aşamasında sucuk pH'sı ilk 36 saat içerisinde 5.3-5.4'e, 72 saat sonunda da 5,1-5,2'ye kadar düşmektedir. Üründe pH düşüşü ile birlikte su tutma kapasitesi azalmakta, kuruma hızlanmakta ve arzu edilen renk, tat, koku ve kıvam oluşmaktadır (Öztan, 1993).

2.7.1.Fermente Sucuklarda Mikroorganizmaların Rolü ve Yapılan Bazı Araştırmalar

Kesimden sonra etin mikroflorasının büyük bir çoğunluğunu mikrokoklar oluştururken, etin soğukta depolanması sürecinde *Pseudomonaslar* ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait türler ortamda gelişmektedir. Etin, sucuk

hamuruna işlenmesinden, fermantasyonunun ilk günlerine kadar geçen süreçte, ortamdaki oksijen mikroorganizmalar tarafından tüketilir, sucuk hamurunun su aktivitesi ve redoks potansiyeli azalır. Böylece, oksijene ihtiyaç duyan, tuz ve nitrata duyarlı olan *Pseudomonas*'lar inaktive olmakta ve *Enterobacteriaceae* sayısında azalmaktadır. Fermantasyonun başlamasından birkaç gün sonra, ortamda mikroflorayı oluşturan *Lactobacillus*'lar ve *Micrococcus*'lar gelişmektedir. Daha sonra ise, laktik asit bakterilerinin gelişimi sonunda laktik asit üretimi sonucu sucuk pH'sı düşmektedir. Düşük pH ise üründe patojenlerin ve bozulma etmeni mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir (Erkkila, 2001). Mikrokok ve stafilokoklar ise asit ve anaerobik ortama hassas, düşük aw değerine ise dirençlidir. Maya ve küfler ise düşük aw ve pH değerlerine en dirençli mikroorganizmalardır ve olgunlaşmış sucukların dış kısmında bulunurlar (İnal, 1992).

Etin mikroflorasında bulunan, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* ve *Clostridium botulinum* gibi patojen bakterilerin de, sucuk yapımı sürecinde oluşan yapı nedeniyle gelişimleri engellenebilmektedir. *Salmonella* gibi *Enterobacteriaceae* familyasında olan ve sucukta rastlanan bazı patojenler, nitrit, düşük su aktivitesi, pH oksijen düzeyi nedeni ile gelişimi önlenmektedir. *Staphylococcus aureus*, sucuktaki düşük su aktivitesinde gelişebilmektedir, ancak laktik asit bakterileri ve starter *Staphylococcus*'larla rekabet gücü zayıftır. Baharatlarda ve etin mikroflorasında bulunabilen *Bacillus* ve *Clostridium* sporları düşük pH ve su aktivitesinde gelişimleri kontrol edilebilmektedir. Ancak, *Listeria monocytogenes* ve enterohemorragic *Escherichia coli* O157:H7 düşük pH'ya rağmen sucuk ortamında gelişebilmektedir. *Escherichia coli* O157:H7 asidik ortama yüksek oranda adapte olabilmekte ve oldukça düşük dozlarda tüketici için yüksek risk oluşturabilmektedir (Lucke, 2000).

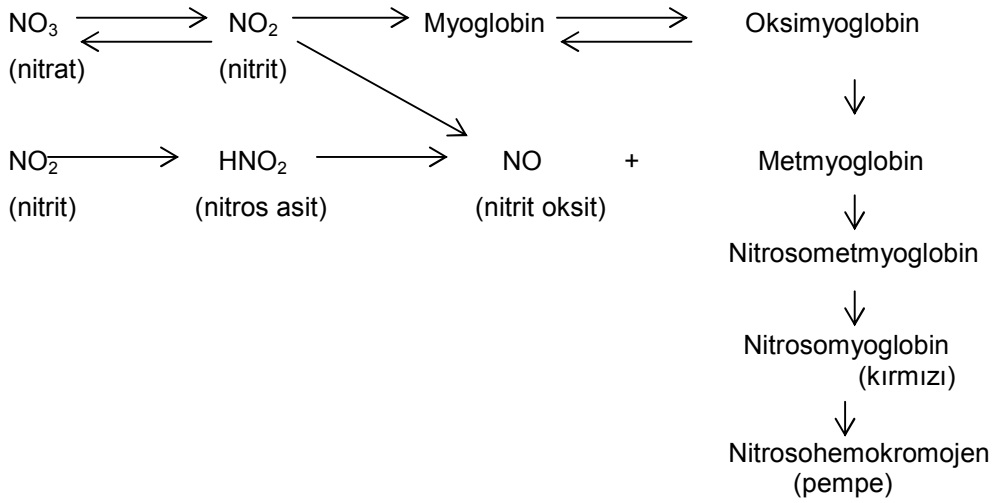
Ancak, patojen bakterilerin gelişiminde sucuk yapısının engelleyici rol oynamasına rağmen, çeşitli çalışmalarda patojen bakterilerin sucukta canlılığını sürdürebildiği de belirlenmiştir. Gaziantep'te meydana gelen gıda zehirlenmesinin sucuk tüketiminden sonra olduğu bildirilmiş ve sucuk örneklerinden *Salmonella* Typhimurium izole edildiği açıklanmıştır (Ulutan ve ark., 1998). Sarpkaya, (2000), 50 adet Türk sucuğunun mikrobiyolojisini araştırmış ve sucuk örneklerinde, fekal

koliform, *Escherichia coli*, *Salmonella* ssp. bulunamadığı, ancak örneklerin %12'sinde *Staphylococcus aureus* belirlendiğini açıklamışlardır. Noveir ve ark. (2000), yaptıkları araştırmada 101 sucuk örneğinden birinde *E. coli* O157 izole edildiğini açıklamışlardır. Little ve ark. (1998), 2304 sucuk örneğinde *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella* ssp. varlığını araştırmışlardır. Araştırma sonunda, 2283 örnekte *Staphylococcus aureus* sayımı $<10^1$ saptanmış, diğer örneklerde sayım sonuçları 10^2 - 10^6 log kob/g arasında belirlendiği, *Salmonella* ssp. de iki örnekte saptandığını açıklamışlardır.

2.7.2.Fermente Sucuklarda Renk Oluşumu

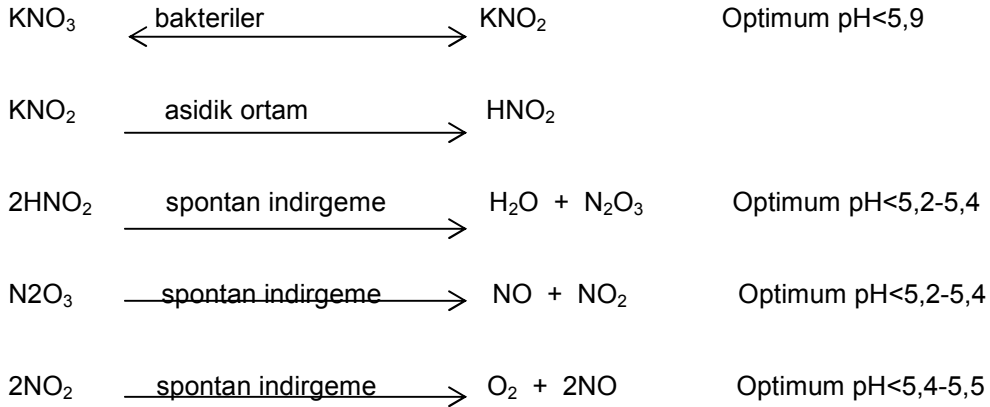
Fermente sucuk rengi üzerinde üç önemli faktör etkilidir; taze etin yapısında bulunan myoglobin, sucuk üretiminde kürleme maddesi olarak kullanılan nitrat-nitrit ve sucuk mikroflorasını oluşturan mikroorganizmalardır (Öztan, 2003).

Taze etinin rengi myoglobinden kaynaklanmaktadır. Myoglobin okside olarak kolayca oksimiyoglobin ve metmyoglobine dönüşür. Metmyoglobin, nitritoksit ile reaksiyona girerek nitrosometmyoglobin oluşur. Bu reaksiyon pH değerinin azalması ile hızlanmaktadır. Nitrosometmyoglobin ise indirgenerek parlak kırmızı renkte nitrosomyoglobin oluşur. Isıl işlem gören üründe, nitrosomyoglobinin protein kısmı denatüre olarak daha stabil pembe renkli nitrosohemokromojen elde edilir (Şekil 2.5). Ancak düşük pH ve Eh değerlerinde yağ dokusunda bulunan, ayrıca aerobik ortamda laktobasiller tarafından oluşturulan peroksitler ve azot oksit, myokromojende bulunan demiri oksitleyerek etin renginin kahverengiye dönmesine neden olabilmektedir. (Öztan, 2003).



Şekil 2.5.Kürleme Maddeleri Kullanılan Et Ürünlerinde Renk Oluşumu (Öztan, 2003).

Fermente sucukta kürleme maddesi olarak kullanılan nitrat ya da nitrit, Şekil 2.6.'da verilen reaksiyonlarla azot okside indirgenmektedir. Et ürünlerinde nitrat ve nitritin indirgenerek azot oksit oluşturması, kırmızı rengin oluşumunda ve renk stabilitesinin sağlanmasında önemlidir. Nitrat ve nitritin azot okside indirgenmesinde sucuk mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar önem taşımaktadır. Özellikle sucuk mikroflorasında saprofit olarak bulunan mikrokoklar, nitratın nitrite parçalanmasında, etkili olmaktadır (Öztan, 2003). Laktobasiller, streptokoklar ve mayalar da, nitratın nitrite indirgenmesinde kısmen etkili olmaktadır. Ayrıca nitrit oksit oluşumuna kadar gerçekleşen reaksiyonlarda ortamın asidik karakterde olması gerekmektedir. Mikrokokların oluşturduğu laktik asit sucuk ortamının pH'sının düşmesinde rol almaktadır (Yıldırım, 1984).



Şekil 2.6.Nitrat ve Nitritin Azot Monoksitle İndirgenmesi (Öztan, 2003).

2.7.3. Sucukta Nitrat/Nitrit Kullanımının Sağlık Üzerinde Etkileri ve Konu ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Etlerde nitrit kullanımının başlangıcı belli değildir. Ancak, milattan önce 850 yılında etlerin korunmasında nitrit içeren tuz kullanıldığı belirlenmiştir. Romalılar da nitrit içeren tuzu etlerde kütleme amacıyla kullanımını Yunanlılardan öğrenmişler ve nitritin etin kırmızılığı üzerinde etkisi olduğuna değinmişlerdir. 1600-1700 yılları arasında nitratin, etlerde renk maddesi ve renk koruyucu olarak kullanımı başlamıştır. 19. yüzyıldan itibaren de nitrat ve nitrit kütleme maddesi olarak et ürünlerinde yaygın olarak kullanımına başlanmıştır (Ray, 2004).

20. yüzyılın başlarından itibaren, nitrit/nitrat et renginin kalıcılığında etkili olmasının yanı sıra, antimikrobiyel etki göstererek patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimini önlediği ve ayrıca antioksidan özelliği ile yağların oksitlenmesiyle oluşan ransiditeyi engellediği ve bunların yanı sıra sucuğa özgü tat ve kokunun oluşumunda etkili olduğu belirlenmiştir (Ünlütürk, 1998).

Ancak et ve et ürünlerinde kullanılan nitritin myoglobine bağlanmamasından veya fazla nitrit kullanılması sonucunda üründe serbest nitrit bulunabilmektedir. Ayrıca, nitriti nitrata yükseltgeyen bakterilerin faaliyeti sonucu sadece nitrit kullanılan ürünlerde de nitrata da rastlanabilmektedir. Nitrat insanlar için toksik bir bileşik olmamasına rağmen, bağırsaklarda ya da ağızda indirgen mikroflora tarafından nitrite indirgenmektedir (Alkın, 2003).

Nitritin zararlı etkisi iki yönde oluşmaktadır. İlk etki, nitritin doğrudan oluşturduğu toksik etkidir. Bu durumda kanda bulunan hemoglobin ile nitritin reaksiyonu sonucu methemoglobinami hastalığının ortaya çıkmasıdır. Bu durumda nitrit bir yandan oksijenin taşınmasında rol alan hemoglobini methemoglobine dönüştürerek oksijenin taşınmasını önlerken, diğer taraftan da sistematik kan basıncının düşmesine yol açmaktadır (Alkın, 2003). Ayrıca, nitrat ve nitritler bazı bünyelerde baş ağrısı ve kurdeşene sebep olabileceği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra nitrat ve nitritin indirgenmesi sonucu oluşan azot oksit (NO), metabolik olaylar sonucu akciğerde çok az oranda oluşan H_2O_2 ile reaksiyona girerek serbest OH- oluşturmaktadır. Bunun sonucu olarak ise akciğer kanseri oluşabilmektedir. Ayrıca, azot oksitler tiyofenol ya da diğer tiyol bileşikleriyle pH 5-10 arasında disülfürleri oluşturmaktadır. Böylece tiyol grubu bulunan enzimleri etkisiz hale getirerek metabolizmayı bozmakta, kanser ve diğer hastalıklara neden olmaktadır (Alkın 2003). Ayrıca nitroz asit de kuvvetli bir mutajendir (Ünlütürk, 1998). Helal, (2001) 10mg/kg sodyum nitrit ve 0,5mg/kg/gün sunset yellow karışımı ile beslenen farelerin çoğu biyokimyasal ve hematolojik ölçümlerinin normal olmadığını belirlediklerini açıklamışlardır.

Nitrat ve nitritin sağlık açısından asıl önemi, sucuk yapısında ya da midede asidik koşullarda sekonder ve tersiyer aminlerin, nitros asit veya nitrojen dioksit ile yer değiştirerek N-dimetilnitrosamin veya dietil nitrosamin oluşturmalarıdır (Gökalp, 1985). Nitrit, önce asidik ortamda nitrozanhidrit'e dönüştükten sonra aminlerle reaksiyona girebilmektedir. Bununla birlikte ortam çok asidikse amin proton alarak nitrozaminle reaksiyona girmeyebilir. Bu reaksiyonlar için optimum pH 2-4'dür. Nötral pH'ya doğru nitrozamin oluşumunun yavaşladığı belirtilmektedir. Nitrozamin oluşum hızı her 100°C'de iki kat artmaktadır. Nitrozaminlerin kanserojenik bileşiklerdir ve ilk defa 1954 yılında farelerde karaciğer tümörüne neden olduğu saptanmıştır. 1964 yılında da yüksek oranda dimetilnitrozamin içeren balık unu yedirilen koyun ve maymunlarda karaciğer tümörü olduğu saptanmıştır. Nitrozaminlerin kanserojenik etkisi, 30'dan fazla hayvan türü üzerinde test edilmiş ve hepsinde kanserojenik etki belirlenmiştir. Sucuk ortamında bulunan nitrosaminler,

kanserojenik olmalarının yanında mutajenik ve teratojenik etki de gösterirler (Alkın, 2003).

Biyojenik aminler, amino asitlerin mikroorganizmalar tarafından dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Biyoljenik amin oluşumunda, amino asitleri parçalayabilen mikroorganizmaların bulunması, amino asit prekürsörleri ile mikrobiyel enzimlerin aktivitesi ve sentezi için uygun koşullar (düşük pH, ve kofaktörlerin bulunması) gerekmektedir. Sucuk fermentasyonu sırasında da tüm bu koşullar oluşmakta ve bu nedenle de fermente sucukta yüksek oranda biyolojik aminlere rastlanabilmektedir (Bover-Cid ve ark., 2001). Nitrosamin oluşumunda, nitros asit ile birleşen amino asitlerin başlıcaları; putrasin, tiamin, piperidin, morfolin, pirolidin, dimetilamin, histamin, kadavarin, trimetilamin, 2-feniletılamin, n-propilamin ve izopropilamin'dir (Alkın, 2003).

Sucukta nitrosamin oluşumu, aminlerin yapısına, reaktiflerin konsantrasyonuna, pH'ya, ortam sıcaklığına ve ortamda bulunan bazı inorganik iyonların varlığına bağlı olarak değişmekle birlikte, daha çok sucuk üretiminde kullanılan nitrat-nitrit konsantrasyonuyla direkt bağlantılıdır. Başlangıçta kullanılan yüksek nitrat-nitrit oranı, yüksek oranda kalıntı nitrit oluşmasına neden olmaktadır. Kalıntı nitrit oranının yükselmesiyle birlikte nitrosamin oluşumu da yükselmektedir. Yapılan çeşitli araştırmalarda yüksek nitrat-nitrit kullanımının kalıntı nitrat-nitrit oranını yükselttiği belirlenmiştir. Sucukta kullanılan nitrit konsantrasyonunun nitrosamin oluşumuna etkisi Çizelge 2.10.'de verilmiştir (Alkın, 2003).

Çizelge 2.13. Nitrit Konsantrasyonu ve Nitrosamin Oluşumu (Alkın, 2003)

% NaNO ₂	N-nitrozopiperidin(µ/kg)	N-nitrozoprolidin(µ/kg)
0,1	600	40
0,2	2000	900
0,3	5000	1000
0,5	15000	3000

Nitrosamin oluşum miktarı ve kalıntı nitrat-nitrit miktarı ile sucukta kullanılan kürlleme maddelerinin oranıyla doğrudan ilişkili olduğu için, sucukta

kullanılacak nitrat ve nitrit oranına yasal kısıtlamalar getirilmiştir (Soyutemiz ve Özenir, 1996;Alkın, 2003).

Kürleme maddelerinin kullanımıyla ilgili düzenlemeler Amerika Birleşik Devletlerinde 1926 belirlenmiştir. Avrupa Birliği standartlarında, et ürünlerinde kalıntı nitrit miktarı en yüksek 15 ppm, Kodeks Alimentarius'ta ise 30ppm olarak verilmektedir. Birleşmiş Milletler kürlenmiş etlerde sodyum nitrit miktarının en fazla 156 ppm olmasına izin vermektedir. 1995'de FAO/WHO Gıda Katkı Maddesi Uzmanlar Komitesi tarafından ADI değeri nitrit için 0-0,06 mg/kg vücut ağırlığı, nitrat için, 0,3 mg/kg vücut ağırlığı olarak verilmiştir. Dünya Sağlık Teşkilatının nitrit için belirlediği ADI değeri 0,2mg/kg vücut ağırlığı, LD₅₀ ise 15-20mg/kg vücut ağırlığıdır (Alkın, 2003).

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre yurdumuzda üretilen fermente et ürünlerine ilave edilebilecek en fazla nitrat miktarı (sodyum nitrat) 300 ppm ve nitrit miktarı (sodyum nitrit) 150 ppm'dir. Son üründe bulunabilecek kalıntı miktarı da nitrit (sodyum nitrit) için 50 ppm, nitrat için de (sodyum nitrat) 250 ppm ile sınırlandırılmıştır (Çon ve ark., 2002).

Sucuklarda kalıntı nitrat ve nitrit düzeyi araştırılan çeşitli çalışmalarda, kalıntı oranının yüksek olarak belirlenmiştir.

Çon ve ark. (2002), Afyon ilinden toplanan 30 adet sucuk örneğinde nitrit oranını 41,80-631,03 ppm belirlediklerini açıklamışlardır.

Üren ve Babayiğit (1997), yaptıkları çalışmada, Türk sucuğunda kalıntı nitrit oranını 4,00-11,25 mg/kg belirlediklerini açıklamışlardır.

Soyutemiz ve Özenir (1996), Bursa'da tüketilen sucuklarda kalıntı nitrat ve nitrit oranını araştırmışlar ve sucuklarda kalıntı nitrat ve nitritin ortalama miktarı sırasıyla 89,58 ppm ve 4,94 ppm belirlediklerini açıklamışlardır. Sucuk örneklerinin %28'inde kalıntı nitrat ve nitrit miktarı 100 ppm'lik sınırın üzerinde saptamışlardır.

Bir zehirlenme olayında, sucuk tüketimi sonucu methemoglobinemia olduğu belirtilmiş ve 10,14,19 yaşında çocuklara sahip bir ailenin tüm bireylerinde sucuk tüketiminden 2 saat sonra bulantı, baş ağrısı ve baş dönmesi, benzin solması belirtileri görülmüş ve yapılan araştırma sonucu bunun methemoglobiniyadan kaynaklandığı bildirilmiştir (Kennedy ve ark., 1997).

2.7.4. Sucuk Yapımında Kullanılan Nitrit Miktarını Azaltmaya Yönelik ve Nitrit Yerine Kullanılabilecek Maddeler ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Et ürünlerinde nitrit kullanılması ile oluşabilecek sağlık riskleri söz konusu olmasına karşın, nitrit kullanılmaması sonucunda ise yine gıda zehirlenmelerine rastlanacaktır. Bu nedenle de et ürünlerinde kullanılan nitrit miktarını azaltmaya yönelik çalışmalar yapılmıştır.

Nitritin antimikrobiyel etkisi yerine, bakteriosin üreten laktik asit bakterileri sucukta starter olarak kullanılarak ürün güvenliğini artırmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Montel ve ark., 1996;Hugas ve Monfort, 1997;González-Fandos ve ark., 1999;Callewaert ve ark., 2000;Erkkil ve ark., 2000;Wang, 2000).

Nitritin antioksidan etkisi yerine ise, E vitamini gibi çeşitli antioksidan maddeler kullanılarak yağların oksidasyonunun engelleneceği belirtilmiştir (Alkın, 2003). Ancak, sucukta oluşabilecek renk kalitesinin de azalan nitrit miktarı ile olumsuz etkilenmesi söz konusudur. Ülkemizde sucukta renk maddesi kullanımına izin verilmemiştir. Ancak çeşitli ülkelerde araştırmalar yapılmakta ve ticari olarak çeşitli renk maddeleri kullanılarak sucuk üretilmektedir. Bununla ilgili olarak bazı yasal düzenlemelerde yapılarak üründe kullanılmasına izin verilen renk maddeleri belirtilmektedir

1995 yılında İngiltere’de farklı tip sucuklarda kullanımına izin verilen renk maddeleri yasal düzenleme ile belirlenmiştir (Çizelge 2.11.).

Çizelge 2.14.İngiltere’de Sucuklarda Kullanımına İzin Verilen Renk Maddeleri
(<http://www.legislation.hmso.gov>)

Ürün	Renk maddeleri	Miktarı
Sucuk	%10 kapsantin	20 mg/kg
	Kurkumin,	100mg/kg
	Koşineal,	sınırlama yok
	Sade karamel,	sınırlama yok
	Kostik sulfit karamel,	sınırlama yok
	Amonyum karamel,	sınırlama yok
	karoten,	20mg/kg
	Paprika ekstraktı,	10mg/kg
	Pancar kökü kırmızısı	sınırlama yok
	Allura Red AC	25mg/kg
	Ponceau 4R	250mg/kg

Brezilya’da üretilen “tuscan” sucuğunda renk maddesi olarak %0,003 karmin kosinal kullanıldığı belirtilmiştir (http://www.doremus.com.br/receita/ltoscana_in.asp).

Elbe ve ark. (1974), sucukta renk maddesi olarak pancardan elde edilen betalain kullanmışlar ve araştırma sonunda, örnekler arasında mikrobiyolojik açıdan farklılık olmadığını belirtmişlerdir. Örneklerin duyuşal açıdan da kabul edilebilir olduğunu ve ayrıca betalain kullanılan örneklerin ışıktaki renklerinin daha stabil kaldığını belirtmişlerdir.

Chasco ve ark. (1996), İspanya’da yerel bir fabrikada üretilen sucuklarda renk maddesi olarak 40ppm/100kg cochineal red (E124) kullanıldığını belirtmişlerdir.

Buckenhuskes ve ark. (1998), Mısır’da yaptıkları bir çalışmada, nitrit kullanımını azaltmak amacıyla farklı renk maddeleri kullanılarak sucuk üretmişler ve doğal renk maddeleri kullanarak sucuk renk kalitesini iyileştirdiğini açıklamışlardır.

Stümpel (1996), kosinal, betanin ve karotenoid kullanılan sucukların kimyasal, fiziksel ve duyuşal özellikleri incelemişler ve araştırma sonunda, sucukta duyuşal özellikleri değişmeden renk kalitesinin yükseldiği belirtilmiştir.

Callewaert ve ark. (2000), Ansove ark. (1998) ve Zalacain ve ark. (1997) İspanyol fermente sucuğunda yaptıkları çalışmada, sucukta kırmızı renk oluşumu için Ponceau 4R(E-124) 0,15g/kg oranında kullandıklarını belirtmişlerdir.

Ureta ve ark. (2004), Meksikada soya kullanılarak üretilen sucukları renklendirmek amacı ile strawberry red colorant (FD&C Red 33) kullanıldığını açıklamışlardır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

3.1.1.Karotenoid Üretiminde Kullanılan Mayalar

Bu araştırmada kullanılan pembe-kırmızı renkli mayalar yılın farklı zamanlarında çeşitli meyve, sebze, et ve süt ürünleri, toprak, ağaç yaprağı ve kabuk gibi materyallerden izole edilmiştir. Söz konusu maya suşları daha sonra karotenoid üretiminde kullanılmışlardır. Çizelge 3.1.'de izole edilen maya suş numarası ve izole edildiği kaynaklar verilmiştir.

Çizelge 3.1.İzole Edilen Mayaların Suş Numarası ve İzole Edildiği Kaynak

Maya Suş No	İzole Edildiği Kaynak
S1	Maydanoz
S2	Siyah turp
S3	Armut
S4	Tere otu
S5	Isırgan
S6	Toprak
S7	Toprak
S8	Isırgan otu
S9	Isırgan otu
S10	Ağaç yaprağı (geniş yapraklı)
S11	Karnabahar
S12	Armut
S13	Isırgan otu
S14	Dereotu
S15	Ispanak
S16	Maydanoz
S17	Kabak
S18	Isırgan otu
S19	Maydanoz
S20	Brokoli

Çizelge 3.1.'in devamı

S21	Isırgan otu
S22	Marol
S23	Maydanoz
S24	Dereotu
S25	Armut
S26	Patates
S27	Kırmızı biber
S28	Lahana
S29	Toprak
S30	Armut
S31	Patates
S32	Brokoli
S33	Brokoli
S34	Siyah turp
S35	Maydanoz
S36	Maydanoz
S37	Papates
S38	Toprak
S39	Dereotu
S40	Otsu bitki
S41	Maydanoz
S42	Isırgan otu
S43	Maydanoz
S44	Armut
S45	Patates
S46	Patates
S47	Domates
S48	Toprak
S49	Patates
S50	Maydanoz
S51	Maydanoz
S52	Dereotu
S53	Turp
S54	Toprak
S55	Armut

Çizelge 3.1.'in devamı

S56	Karnabahar
S57	Otsu bitkiler
S58	Toprak
S59	Armut
S60	Dereotu
S61	Maydanoz
S62	Ağaç yaprağı (geniş yapraklı)
S63	Isırgan otu
S64	Patlıcan
S65	Zeytin
S66	Odunsu bitki
S67	Yeşil biber
S68	Toprak
S69	Patlıcan
S70	Patates
S71	Domates
S72	Havuç
S73	Siyah turp
S74	Dereotu
S75	Maydanoz
S76	Lahana
S77	Brokoli
S78	Otsu bitki (geniş yapraklı)
S79	Toprak
S80	Otsu bitkiler
S81	Patates
S82	Patates
S88	Maydanoz
S84	Lahana
S85	Kırmızı biber
S86	Toprak
S87	Brokoli
S88	Brokoli
S89	Toprak
S90	Maydanoz

Çizelge 3.1.'in devamı

S91	Otsu bitki
S92	Dereotu
S93	Maydanoz
S94	Marul
S95	Karnabahar
S96	Ispanak
S97	Tere
S98	Kabak
S99	Marul
S100	Maydanoz

3.1.2.Besiyerleri

Araştırmada kullanılan besiyeri ve kimyasal maddeler Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri

Besiyeri	Kullanım Amacı
Yeast Malt Extract Agar (YMA)	Maya izolasyonu, saflaştırılması, çeşitli amaçlarla mayaların aktive edilmesi
Yeast Malt Extract Broth (YMEB)	Mayaların karotenoid miktarını belirleme
Potato dextrose Agar (PDA)	Maya stok kültürü hazırlama
Yeast Nitrogen Base Agar (YNBA)	Maya tanımlanması
Yeast Carbon Base Agar (YCBA)	Maya tanımlanması
Vitamin-Free Yeast Base Broth (VYBB)	Maya tanımlanması
Plate Count Agar (PCA)	Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı
Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBDA)	<i>Enterobacteriaceae</i> sayımı

3.1.3.Kimyasal Maddeler

Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Madde	Kullanım Amacı
Paraffin liquid (Merck, 107162)	Stok kültür hazırlama
Fast Blue B Salt (Fluka, 44660)	Mayaların tanımlanması
Dimethylsulfoxide (Merck, 1.16743)	Karotenoid ekstraksiyonu
Acetone (Merck, 1.00013)	Karotenoid ekstraksiyonu
Petroleum benzin (Merck, 1.00909)	Karotenoid ekstraksiyonu
1-methyl-3-nitro-1nitrosoquandine (Aldrich, 12,994-1)	Mutant kültür oluşturma
Lactic acid %90 (Merck, 1.00366)	Karotenoid ekstraksiyonu
Dichloromethan (Merck, 1.06050)	Karotenoid ekstraksiyonu
Ethylacetat (Merck, 1.00864)	Karotenoid ekstraksiyonu

3.1.4.Alet ve Ekipmanlar

Araştırmada kullanılan alet ve ekipmanlar Çizelge 3.4.'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Araştırmada Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Alet, Ekipman	Özelliği
Spektrofotometre	Shimadzu UV-1201
Karıştırıcı	Nüve NM 110, Heidolph 5411 (Germany), Elektro-Mag (Türkiye)
pH Metre	Nel pH890
Etüv	Heraeus (Germany)
Otoklav	VEB (Germany)
Blender	Blender Mode 32BL80(8011) (USD)
Terazi	Scaltec (Germany)
Santrifüjler	Heraeus Spatech Labofuge 200 (Germany), Eppendorf Centrifuge 581
Su Banyosu	Elektro-Mag (Türkiye)
Çalkalayıcı	AG CH 4103 Botmingen
İnkübatör	Chemap
Dondurarak Kurutucu	Heto FD8 marka
Ultraviyole Lambası	Camag
Rotary Evaporatör	Büchi
Hunter Lab	Minolta

3.1.5.Sucuk Üretiminde Kullanılan Hammaddeler

Sucuk üretiminde kullanılan dana eti ve koyun kuyruk yağı, çeşitli baharatlar, kürlleme tuzu ve askorbat İzmir Pınar Et ve Entegre Tesisi'nden temin edilmiştir.

3.2.Metot

Bu araştırmada çeşitli materyallerden 100 adet kırmızı koloni oluşturan maya suşu izole edilmiş ve tanımlamaları yapılmıştır. Daha sonra tanımlanan maya suşlarının oluşturduğu toplam karotenoid miktarları belirlenmiştir. Yüksek karotenoid üreten ve kolonileri diğerlerine göre daha koyu kırmızı renkli olan 10 farklı izolatın ürettikleri karotenoid miktarlarını artırmak amacı ile 1-methyl-3-nitro-nitrosoguanidin (MNNG) ve UV ile muamele edilerek maya mutantları elde edilmiş ve mutant mayaların karotenoid miktarları belirlenmiştir. Daha sonra mutant maya

ortam pH'sı ve karbon kaynakları farklı kullanılan ortamlara, farklı inokülasyon oranlarında ilave edilerek karotenoid üretimi karşılaştırılmıştır. Araştırma sonunda yüksek karotenoid üreten mutant maya sucuk üretiminde renk maddesi olarak kullanılmıştır. Mutant maya fermentörde geliştirilerek sucuk üretiminde kullanılmak üzere karotenoid ekstrakte edilmiştir. Çalışmanın aşamaları Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırmanın İşlem Akış Aşamaları

3.2.1.Maya Suşlarının İzolasyonu ve Saflaştırılması

Maya izolasyonunda kullanılacak materyal 90 ml'lik peptonlu fizyolojik tuzlu su içine aktararak seyreltme işlemi yapılmıştır. Daha sonra seyreltilen her bir örnekten yayma ekim yöntemine göre Yeast-Malt Extract Agar (YMA)'a ekim yapılarak, 25°C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda

kırmızı renkli koloni oluşturan maya suşları öze yardımıyla alınarak ve tekrardan YMA üzerine tek koloni düşürme tekniğiyle saflaştırılmıştır.

3.2.2.Maya Suşlarının Stok Kültürlerinin Hazırlanması

Saflaştırılan maya suşlarının, sonraki çalışmalarda kullanmak amacıyla stok kültürleri hazırlanmıştır. Maya suşları Potato Dextrose Agar (PDA) içeren maya yatık agara sürme ekim yapılarak, 25°C'de 48 saat inkübe edilmişlerdir. Daha sonra gelişimleri tamamlanan suşların üzeri steril sıvı parafin ile kaplandıktan sonra +5°C'de muhafaza edilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.3.Maya Suşlarının Tanımlanması

Çeşitli materyallerden izole edilerek saflaştırılan maya suşlarının, morfolojik ve fizyolojik özellikleri değerlendirilmiş ve Barnett ve ark., (1990)'ı tarafından verilen *Basidiomyceteous* mayaları tanımlama anahtarından yararlanılmıştır (EK 1). Maya suşlarını tanımlamada kullanılan karbon kaynakları Çizelge 3.5., azot kaynakları Çizelge 3.6.'da ve yapılan diğer testler ise Çizelge 3.7.'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Maya Suşlarını Tanımlamada Kullanılan Karbon Kaynakları (Barnett ve ark., 1990)

C2-D-Galaktoz	C22-Nişasta
C3-L-Sorboz	C24_Eritritol
C6-D-Ksiloz	C29-D-Mannitol
C7-L-Arabinoz	C30-Galaktitol
C8-D-Arabinoz	C34-5-Keto D-Glukonat
C9-L-Ramnoz	C36-D-Gulukuronat
C10-Sukroz	C37-D-Galakturonat
C17-Melibioz	C40-Sitrat
C18-Raffinoz	C42-Ethanol
C20-Melezitoz	

Çizelge 3.6. Maya Suşlarını Tanımlamada Kullanılan Azot Kaynakları (Barnett ve ark., 1990)

N1-Nitrat
N3-Etilamin
N5-Kadaverin
N8-Glukozamin

Çizelge 3.7. Maya Suşlarını Tanımlamada Kullanılan Diğer Testler (Barnett ve ark., 1990)

T1-25°C'de gelişim
T3-35°C'de gelişim
T4-37°C'de gelişim
V5- Tiamin'siz gelişim
V10-PABA(p-amino benzoat)'sız gelişim
O2-%0,1 Sikloheksimitte gelişim
M1-Nişasta kullanımı
M4-Diazonium Blue B reaksiyonu

3.2.3.1.Maya Suşlarının Farklı Karbon Kaynağında Gelişimlerinin Belirlenmesi

Maya izolatları, Çizelge 3.1.'de verilen karbon kaynaklarından her biri ayrı ayrı ilave edilerek hazırlanan Yeast Nitrogen Base Agar (YNBA) besiyerine ekilerek, 25°C'de 1 hafta inkübasyona bırakıldıktan sonra gelişimleri değerlendirilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.3.2. Maya Suşlarının Farklı Azot Kaynağında Gelişimlerinin Belirlenmesi

Maya izolatları, Çizelge 3.1.'de verilen azot kaynaklarından her bir azot kaynağı ayrı ayrı ilave edilerek hazırlanan Yeast Carbon Base Agar (YCBA) besiyerine ekilerek, 25 °C'de 1 hafta inkübasyona bırakıldıktan sonra gelişimleri değerlendirilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.3.3.Maya Suşlarının Farklı Sıcaklıklarda Gelişimlerinin Belirlenmesi

Maya izolatları, Yeast Malt Extract Agar (YMA)'a ekilerek 25°C, 35°C, 37°C'de inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra gelişimleri değerlendirilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.3.4.Maya Suşlarının Tiamin ve PABA'sız Ortamda Gelişimlerinin Belirlenmesi

Maya izolatlarının, Vitamin-free Yeast Base'de tiamin ve PABA (p-amino benzoat) içermeyen ortamda gelişimleri değerlendirilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.3.5.Maya Suşlarının Sikloheksimitte Gelişimlerinin Belirlenmesi

Maya izolatlarının, %0,1 sikloheksimit içeren Yeast Nitrogen Base (YNB) besiyerinde 25 °C'de 1 hafta inkübasyona bırakıldıktan sonra gelişimi değerlendirilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.3.6.Maya Suşlarının Nişasta Kullanım Özelliklerinin Belirlenmesi

Her bir maya izolatu, Yeast Malt Extract Agar (YMA) besiyerine ekilmiş ve 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen maya kolonileri üzerine lugol iyot çözeltisi damlatılmıştır. Koloni renginin mavi veya yeşile dönüşmesi pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.3.7.Maya Suşlarının Diazonium Blue B Reaksiyonlarının Belirlenmesi

Yeast Malt Extract Agar (YMA)'a ekilen maya suşları 25°C'de 10 gün süre ile inkübasyon sonunda aynı kültürler 55°C'de birkaç saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda gelişen maya kolonileri üzerine diazonium blue B (DBB) çözeltisi damlatılmıştır. Oda koşullarında 2 dakika içinde maya kolonisinin renginin kırmızı olması, pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Barnett ve ark., 1990).

3.2.4. Maya Suşlarının Toplam Karotenoid Miktarlarının Belirlenmesi

Stok kültürden öze yardımıyla alınan maya suşu tek koloni düşürme tekniğiyle Yeast-Malt Extract Agar (YMA) besiyerine ekilmiş ve 25°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tek bir maya kolonisi alınarak 5ml'lik Yeast-Malt Extract Broth (YMB) besiyerine ekilmiş ve 25°C'de 24 saat tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen maya kültüründen 1 ml, 5ml Yeast Extract Broth (YEB)'a inokule edildikten sonra, 25°C'de 10 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 1ml maya kültürü, boş bir cam tübe alınarak 5000xg'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj işlemi sonunda süpernatant dökülmüştür. Ardından maya peleti üzerine 1ml %9'luk NaCl çözeltisi ilave edilmiş ve tekrar 5000xg'de 10 dakika santrifüj uygulanarak hücresi yıkanmıştır. Santrifüj işleminden sonra maya hücresi üzerine sırasıyla 1'er mililitre dimetilsülfoksit, aseton, petrol eteri ve %20'lik NaCl çözeltisi ilave edilmiştir. Karıştırma işlemi sonunda üstte toplanan petrol eteri katmanı ayrı bir tüpe alınarak spektrofotometrede 485 nm dalga boyunda ölçüm yapılmış ve aşağıda verilen formül ile toplam karotenoid miktarı hesaplanmıştır. (Simpson ve ark. 1964;Frengova ve ark., 1994;Bhosale ve Gadre, 2001a)

$$\text{Toplam karotenoid } (\mu\text{g/ml}) = \frac{(A_{485}) \times D \times V}{0,268}$$

A_{485} :Absorbans değeri

D :Spektrofotometre öncesi yapılan dilüsyon oranı

V :Petrol eteri hacmi

0,268 :Toplam karotenoid için spesifik absorpsiyon katsayısı (Bkz. önceki çalışmalar Çizelge 2.12.)

Litredeki miktarı bulmak için elde edilen sonuçlar 1000 ile çarpılarak toplam karotenoid miktarı mg/L olarak hesaplanmıştır.

3.2.5. Mutant Maya Suşlarının Elde Edilmesi

İzole edilen maya suşlarından koyu kırmızı renkli ve yüksek karotenoid ürettiği belirlenen 10 adet maya seçilmiştir. Bu seçilen suşlarının toplam karotenoid miktarını yükseltmek için ultraviyole ışını (UV) ve 1-methyl-3-nitro-nitrosoguanidin (MNNG) kullanılarak mutant mayalar elde edilmeye çalışılmıştır. Mutasyon işlemi sonunda ana kültürden daha koyu kırmızı renk veren mutant mayalar seçilmiştir. Mutasyon işlemi, sırasıyla; UV ve MNNG mutasyonu, MNNG+UV ve MNNG+UV+MNNG mutasyonu şeklinde yapılmıştır. Ayrıca mutant mayaların da stok kültürleri hazırlanmıştır (Barnett ve ark., 1990).

3.2.5.1. 1-Methyl-3-Nitro-Nitrosoguanidin (MNNG) Mutasyonu

5ml Yeast Extract Broth'a ekilen maya suşu 25°C'de 3 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 5000xg'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmış ve süpernatant döküldükten sonra maya hücreleri %0.9'luk NaCl ile yıkanmıştır. Yıkanan maya hücreleri üzerine 4 ml %0.9'luk NaCl çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra cam tüpteki MNNG miktarı 1µg/ml olacak şekilde %0,0005'lik MNNG çözeltisinden 1ml eklenmiştir. Ardından tüpler 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. 30 dakika bekleme süresi sonunda maya hücrelerine 5000xg'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmış ve üstte bulunan süpernatant dökülmüştür. Maya hücrelerinde MNNG kalıntısı bırakmamak için maya hücreleri %0.9'luk NaCl ile 5 kez santrifüj uygulaması ile yıkanmıştır. Daha sonra maya hücreleri 9 ml'lik NaCl çözeltisi kullanılarak 10^{-3} 'e kadar seyreltilmiş ve Yeast Malt Extract Agar içeren petrilere yayma ekim yöntemiyle ekilmiştir. Ekim yapılan petriler 25°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda daha koyu renkli maya suşları seçilmiştir (Girard ve ark., 1994, Bon ve ark., 1997).

3.2.5.1. Ultraviyole (UV) Mutasyonu

MNNG ile mutasyon işleminde, Yeast Malt Extract Agar içeren petrilere ekim yapıldıktan sonra, UV lambası altında 30 saniye bekletilmiş ve 25°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda daha koyu renkli maya suşları seçilmiştir (Girard ve ark., 1994, Bon ve ark., 1997).

3.2.6. Mutant Mayaların Toplam Karotenoid Miktarlarının Belirlenmesi

Mutant maya suşlarının toplam karotenoid miktarlarının belirlenmesinde 3.2.4.'de belirtilen yöntem kullanılmıştır.

3.2.7. Farklı Gelişme Koşullarının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Yüksek karotenoid oluşturan mutant mayanın farklı inokülasyon oranı, farklı pH ve farklı karbon kaynağında oluşturduğu toplam karotenoid miktarı saptanmıştır.

3.2.7.1. Farklı İnokülasyon Oranlarının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Stok kültürden öze yardımıyla alınan maya suşu tek koloni düşürme tekniğiyle Yeast-Malt Extract Agar (YMA) besiyerine ekilmiş ve 25°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tek bir maya kolonisi alınarak 5ml'lik Yeast-Malt Extract Broth (YMB) besiyerine ekilmiş ve 25°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen maya kültüründen %1, %2, %4 ve %6 inokülasyon oranında, 5ml'lik Yeast Extract Broth (YEB)'a ekilmiş ve tekrar 25°C'de 10 gün inkübe edilmiştir (Govindaswamy ve ark., 1999; Okagbue ve Lewis, 1985). İnkübasyon sonunda maya kültüründe toplam karotenoid miktarı 3.2.4.'de belirtilen yöntem kullanılarak saptanmıştır.

3.2.7.2. pH'nın Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Tek bir maya kolonisi alınarak 5ml'lik Yeast-Malt Extract Broth (YMB) besiyerine ekilmiş ve 24 saat 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. pH değerleri 4.5, 4.7, 4.9, 5.0, 5.2, 5.3, 5.5 olarak ayarlanan 5ml Yeast Malt Extract Broth (YEB)'a gelişen maya kültürlerinden %2 oranında aşılama yapılarak 25°C'de 10 gün inkübe edilmiştir (Okagbue ve Lewis, 1985; Martin ve ark., 1993b). İnkübasyon süresi sonunda maya kültüründe toplam karotenoid miktarı 3.2.4.'de belirtilen yöntem kullanılarak saptanmıştır.

3.2.7.3. Karbon Kaynağının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Farklı karbon kaynağı olarak D-ksiloz, etanol, glukoz, gliserol ve D-mannitol eklenerek hazırlanan Yeast Malt Exstrakt Broth besiyerine ekilen mutant maya 25°C'de 10 gün inkübasyona bırakılmıştır (Lin ve Demain 1991; Meyer ve Preez, 1993). İnkübasyon süresi sonunda maya kültüründe toplam karotenoid miktarı 3.2.4.'de belirtilen yöntem kullanılarak saptanmıştır.

3.2.8. Sucuk Üretiminde Kullanılan Karotenoidlerin Elde Edilmesi

Sucuk üretiminde kullanılan karotenoidlerin elde edilmesi amacıyla, öncelikle mutant maya fermentörde geliştirilmiş ve elde edilen kültürden karotenoidler ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen karotenoid zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutulmuş olarak sucuk üretiminde kullanılmıştır.

3.2.8.1.Fermentörde Mayanın Geliştirilmesi

Çalışmada üretilen Türk sucuğunda doğal bir renklendirici olarak kullanılan karotenoidin elde edilmesi için yüksek oranda mutant maya fermentörde geliştirilmiştir. Mutant stok mayadan bir öze dolusu alınarak 50ml'lik Yeast Malt

Extract Broth'a ekilmiş ve 25°C'de 1 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda %2 oranında maya kültürü 1L Yeast Malt Extract Broth'a ekim yapılarak 28°C'de 48 saat çalkalayıcılı inkübatörde (150 rpm) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun sonunda gelişen mutant kültürden %2 oranında, fermentörde bulunan 10L Yeast Malt Extract Broth'a ekim yapılmıştır. Fermentör ortamında maya suşu 1.3m³/s hava akış hızında, 150 rpm'de ve 25°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda geliştirilen kültür 10000xg 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj işleminden sonra süpertanant atılarak maya peleti bir ortamda toplanmıştır. Bu çalışma ODTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.2).



Resim 3.1.Mutant Mayanın Fermentörde Gelişimi

3.2.8.2. Mayadan Karotenoid Extraksiyonu

Santrifüj işlemi ile toplanan maya peletinden 50ml örnek alınarak blendere aktarılmıştır. Üzerine 10ml %90'lık laktik asit ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Üzerine 50 ml dichloromethan:etilasetat (90:1) karışımı eklenmiş ve düşük devirde karıştırılmıştır. Karışımın üzerine 50 ml petrol eteri ilave edilerek tekrardan düşük devirde karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Karıştırma işlemi sonunda karotenoidlerin toplandığı petrol eteri ayrılmıştır. Bu işlem maya peleti renksizleşene kadar tekrarlanmıştır (Çizelge 3.3). Karotenoid miktarını belirlemek amacıyla toplanan petrol eterinden 1ml alınarak 485 nm'de absorbansı belirlenmiştir. Petrol eterini uçurmak için rotary evaporatörde 50°C'de işleme tabi tutulmuş ve ardından azot gazı altında kurutulmuştur.



Resim 3.2. Fermentörde Geliştirilen Maya Kültüründen Karotenoid Extraksiyonu

3.2.8.3. Karotenoidin Türk Sucuğunda Renk Maddesi Olarak Kullanımı İçin Yapılan İşlemler

Türk Sucuğunda renk maddesi olarak kullanmak için ekstrakte edilen karotenoidler 100 ml'lik zeytinyağ içinde çözündürülerek ve toz formda olmak üzere

iki şekilde kullanılmıştır. Karotenoidlerin toz formunda olabilmesi için dondurarak kurutma işlemi yapılmıştır (Çizelge 3.4). Bu amaçla, elde edilen karotenoid ekstraktı 2'şer ml renkli cam şişelere aktarılmış ve dondurarak kurutma işlemi yapılncaya kadar -20°C 'de saklanmıştır. Dondurarak kurutma işlemi ODTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü Temel İşlemler Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



a) b)
Resim 3.3. Türk Sucuğunda Renk Maddesi Olarak Kullanılan Karotenoid Ekstraktı
a)Zeytinyağında Çözündürülmüş b)Dondurarak Kurutulmuş

3.2.9.Türk Sucuğu Üretimi

Sucuk üretimi Öztan, (1993)'e göre 3 tekerrür olarak yapılmıştır. 100 kg sucuk hamuru için kullanılan hammaddeler ve katkı maddeleri sırasıyla Çizelge 3.8.'de Çizelge 3.9.'da verilmiştir. 1 kg sucuk hamuruna eklenecek nitrit (nitritli kütleme tuzu) ve karotenoid miktarları Çizelge 3.10.'da görülmektedir.

Çizelge 3.8.Türk Sucuğu Yapımında Kullanılan Hammaddeler (Öztan, 1993)

Hammadde	(100kg için)
Siğir but tranç	25kg
Siğir ön kol	30kg
Dana kaburga, göğüs, boyun	30kg
Koyun kuyruk	15kg

Çizelge 3.9.Türk Sucuğu Yapımında Kullanılan Katkı Maddeleri (Öztan, 1993)

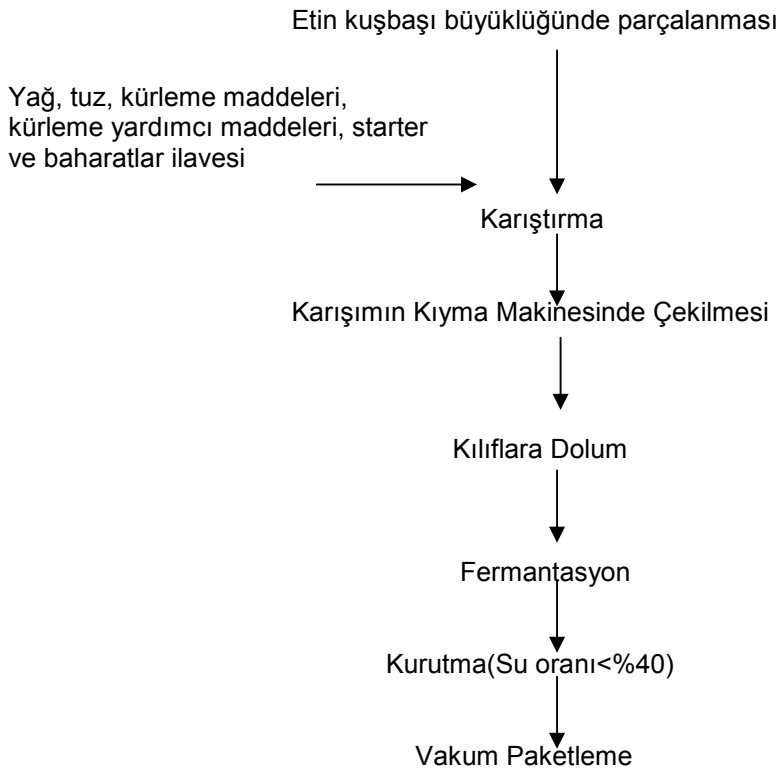
Hammadde	(100kg için)
Askorbat	0.500kg
Toz şeker	0.500kg
Sarımsak	0.600kg
Karabiber	0.200kg
Akbiber	0.200kg
Yenibahar	0.300kg
Kimyon	0.300kg
Biberiye	0.100kg

Çizelge 3.10.Türk Sucuğu Üretiminde Kullanılan Nitrit ve Karotenoid Miktarları (kg ürün için)

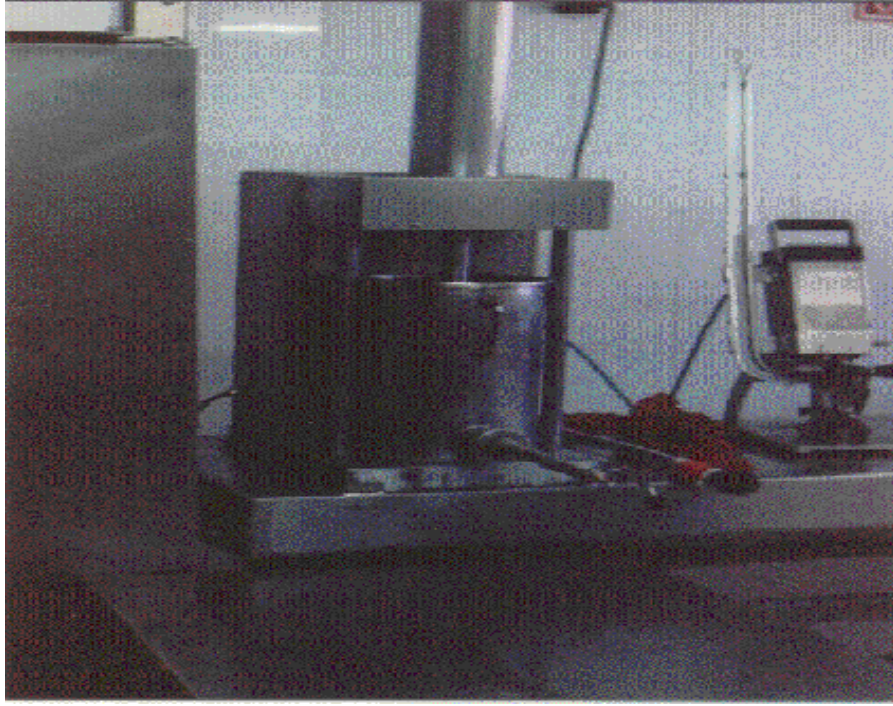
Sucuk	Nitrit Miktarı (ppm)	Karotenoid Miktarı (mg)
00(kontrol	150	Yok
01(kontrol)	100	Yok
02(kontrol)	80	Yok
03(kontrol	50	Yok
A1	100	%0,1
A2	80	%0,1
A3	50	%0,1
B1	100	%0,5
B2	80	%0,5
B3	50	%0,5
C1	100	%1
C2	80	%1
C3	50	%1

Türk sucuğu üretimi Pınar Et Entegre Tesislerinde gerçekleştirilmiştir. Toplam 26 kg sucuk üretilmiştir. Bunun için sığır but tranç, 6,5 kg, sığır ön kol 7,8 kg, dana kaburga, göğüs, boyun, 7,8 kg ve koyun kuyruk, 3,9 hazırlanmıştır. Daha sonra etler 13 mm'lik ayadan çekilmiş ve 13 eşit parçaya (1,7 kg) ayrılmıştır. Her birinin üzerine 13 mm'lik ayadan çekilmiş 300 g kuyruk yağı eklenmiş ve homojen olarak dağıtılmıştır. 2 kg olarak hazırlanan her bir sucuk denemesi üzerine Çizelge 3.9'da verilenlere göre hesaplanan sarımsak ve baharatlar ayrı bir ortamda tartılmıştır. Çizelge 3.10'a göre nitrit içeren kütleme maddesi ve karotenoid

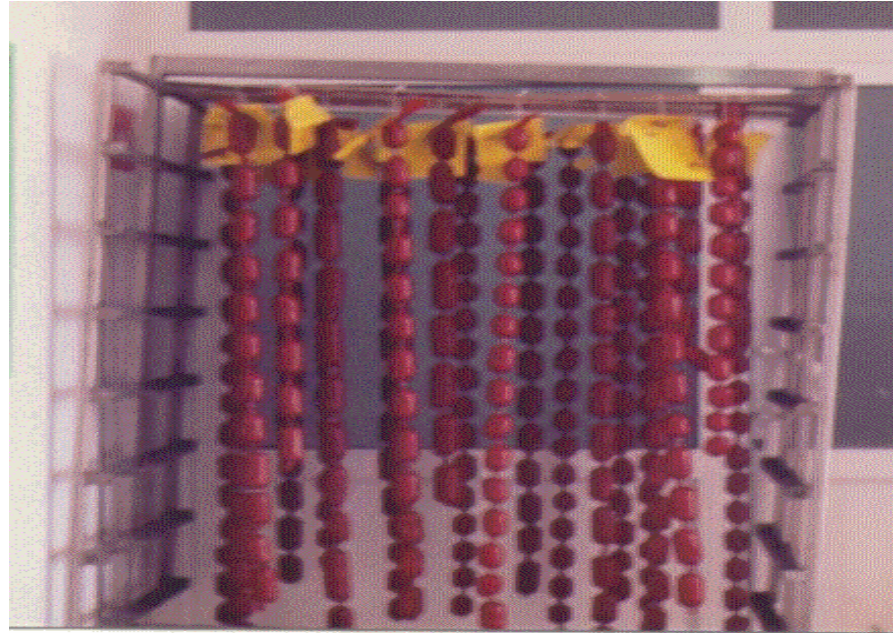
hesaplanmıştır. Sarmısak ezilmeden bütün olarak karışım üzerine eklenmiştir. 2kg'lık sucuk hamuru için ayrı bir ortamda tartılarak hazırlanan baharat karışımı üzerine kürlleme tuzu, starter kültür (*Lactobacillus sake*, *Staphylococcus carnosus* karışık kültür) (Gewürzmüller LS25) ve karotenoid ilave edilerek karıştırıldıktan sonra hazırlanan baharat karışımı et ve yağ karışımı üzerine ilave edilerek homojen olarak karıştırılmıştır. Karışım 3 mm'lik ayadan çekilmiş ve 3 cm çaplı yapay kollojen kılıflara doldurulmuştur. Sucuk hamuru doldurulan kılıflar 10-15cm klipslenmiştir. Daha sonra sucuklar su ile yıkanmış ve 14-15°C'de 12 saat bekletildikten sonra olgunlaşma odalarına alınmıştır. Türk Sucuğunda üretiminde önce zeytinyağında çözündürülmüş olarak hazırlanan karotenoid kullanılmış, daha sonra farklı bir zamanda tekrar aynı şekilde üretim yapılarak, dondurarak kurutulmuş karotenoidler kullanılmıştır. Şekil 3.5.'de sucuk üretim aşamaları verilmiştir. Şekil 3.6 ve Şekil 3.7.'de sırasıyla sucuk hamurunun kılıflara dolumunda kullanılan alet ve askılarda hazırlanmış sucuklar görülmektedir.



Şekil 3.2.Sucuk Üretim Aşamaları



Resim 3.4.Sucuk Dolumunda Kullanılan Alet



Resim 3.5. Askılarda Hazırlanmış Sucuk Örnekleri

Sucuk örneklerinin fermentasyonu için uygulanan sıcaklık, nem, hava akış hızı ve süre ile ilgili koşullar Çizelge 3.11.'de verilmiştir. Sucuklar olgunlaşma odalarında nem oranı % 40'ın altına düşünceye kadar bekletilmişlerdir.

Çizelge 3.11. Sucukların Olgunlaşma Süresince Uygulanan Sıcaklık, Nem, Hava Akış Hızı ve Süre

Süre	Sıcaklık	Nem	Hava Akış Hızı	pH
15-36 saat	27-28 °C	%96	1m ³ /sn	5.4-5.5'e düşene kadar
24-48 saat	20 °C	%83	1m ³ /sn	5.1-5.0'a düşene kadar
5-6 gün	18°C	%77	0.1-0.5m ³ /sn	-

3.2.9.1.Türk Sucuğunda Yapılan Analizler

Sucuk örneklerinde, fermentasyonun başlangıcında ve 30. günde pH, nem oranı, renk ölçümü ve mikrobiyolojik analiz yapılmıştır. Ayrıca son üründe duyu analizi ile ürünün renk açısından kabul edilebilirliği araştırılmıştır.

3.2.9.1.(1).pH Değerinin Belirlenmesi

Katı gıdalar için kullanılan özel pH metre ile sucuk örneklerinde fermentasyonun birinci ve 30. günlerinde pH ölçümleri yapılmıştır (İnal, 1992).

3.2.8.2.(2). Nem Oranı

Sucuklarda fermentasyonun birinci ve 30. günlerinde nem oranı belirlenmiştir. Darası alınmış alüminyum folyo kaba 5 g sucuk örneği tartılmış ve 105°C'de etüvde sabit ağırlığa gelene kadar (5 saat) kurutularak bekletilmiştir. Nem oranı aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır (İnal, 1992).

$$\% \text{ Nem} = \frac{G2-G1}{G1-G} \times 100$$

G : Alüminyum folyonun darası

G1 : Alüminyum folyonun darası + sucuk örneğinin miktarı

G2 : Alüminyum folyo ve örneğin kuruduktan sonra belirlenen ağırlık

3.2.8.2.(3).Renk Analizi

Sucuktan tam kesit alınarak HunterLab spektrofotometre kullanılarak L^*, a^* ve b^* değerleri açıklık/koyuluk, kırmızılık ve sarılık göstergesi olarak fermentasyonun birinci ve 30. günlerinde ölçümleri yapılmıştır (Bloukas ve ark., 1999).

3.2.8.2.(4).Duyusal Analiz

Sucuk örneklerinde fermentasyonun bittiği 30. gününde 10 kişilik panelistin sucuk yüzey ve kesit rengine göre sucukları sıralamaları istenmiştir. Renk açısından en yüksek tercih edilen sucuk örneğine 10'dan 0'a kadar puanlamaları istenmiştir (Üren ve Babayiğit, 1996). Duyusal değerlendirme için hazırlanan form Şekil 3.8.'de verilmiştir.

Ad Soyadı:.....													
Tarih :.....													
<u>SIRALAMA</u>													
Sucukları renk tercihinize göre 10'dan 0'a kadar puanlayınız.													
	01	02	03	04	A1	A2	A4	B1	B2	B3	C1	C2	C3
I													
II													
III													

Şekil 3.3. Duyusal Değerlendirme Formu (Üren ve Babayiğit, 1996)

3.2.8.2.(5). Mikrobiyolojik Analizler

Sucuk örneklerinde fermentasyonun birinci ve 30. gününde Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı ve *Enterobacteriaceae* sayımı yapılmıştır.

3.2.8.2.(5).(a). Toplam Aerob Mezofilik Bakteri Sayımı

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı İnal (1992)'e göre yapılmıştır. 10g sucuk örneği 90ml dilüsyon sıvısında seyreltilerek, Plate Count Agar (PCA)'a yayma ekim yöntemine göre ekim yapılmıştır. 30°C'de 48 saat inkübasyon sonunda gelişen koloniler değerlendirilmiştir.

3.2.8.2.(6).(b). *Enterobacteriaceae* Sayımı

Enterobacteriaceae sayımı için ise Violet Red Bile Dextrose Agar (VRBD)'a ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda besiyerinde gelişen kırmızı renkli koloniler sayılmıştır (Anon, 1989).

3.2.9. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma 3 tekerrür olarak yapılmıştır. Farklı nitrit ve farklı karotenoid miktarı ile üretilen sucuklarda belirlenen sonuçlar varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan farklılıklarda Turkey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Analizlerde SPSS 10.0 paket programı kullanılmıştır.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada çeşitli materyallerden kırmızı renkli koloniye sahip olan 100 farklı maya suşu izole edilmiştir. İzole edilen maya suşlarının türlerini belirlemek amacıyla tanımlamaları yapılmış ve maya suşlarının oluşturduğu toplam karotenoid miktarları belirlenmiştir. Daha sonra 1-methyl-3-nitro-nitrosoguanidin (MNNG) ve ultraviyole lambası (UV) kullanılarak yüksek miktarda karotenoid üreten 10 maya suşunun mutantları elde edilmiş ve ürettikleri karotenoid miktarı saptanmıştır. En fazla karotenoid üreten mutant maya suşunun, oluşturduğu karotenoid miktarını artırmak amacıyla farklı inokülasyon oranı, farklı pH ve farklı karbon kaynağında geliştirilerek, ürettiği toplam karotenoid miktarı saptanmıştır. Mutant maya türünün yüksek karotenoid ürettiği gelişim koşulları belirlenerek, bu koşullar fermentörde mutant mayanın gelişiminde kullanılmıştır. Fermentörde geliştirilen mutant maya kültüründen karotenoid ekstrakte edilerek, zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutulmuş olmak üzere iki ayrı formda Türk sucuğunda renk maddesi olarak kullanılmıştır. Sucuğun fermantasyon süresince, pH değeri, nem oranı, renk özelliği (L, a*, b* değeri), toplam aerobik mezofilik bakteri ve *Enterobacteriaceae* sayımları gibi bazı özelliklerinin yanı sıra son üründe duyuşsal özelliği değerlendirilmiştir.

4.1.Maya Suşlarının Tanımlanması

Çeşitli materyallerden izole edilerek saflaştırılan maya suşlarının morfolojik ve fizyolojik özellikleri değerlendirilerek, *Basidiomyceteous* mayaları tanımlama anahtarından yararlanılmıştır (Ek 1). Saflaştırılan maya suşlarının morfolojik özellikleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Çizelge 4.2.'de ise çeşitli karbon ve azot kaynağı kullanımı ve bazı fizikokimyasal özellikleri verilmiştir.

Çizelge 4.1.Maya Suşlarının Morfolojik Özellikleri

No	Hücre şekli	Hücre büyüklüğü (μ)	Çoğalma şekli	Zincir	Yalancı misel	1)Zar oluşumu, 2)Sediment yapı
S1	Oval, yuvarlak	Uzunluk :8-10 En: 5, Çap: 5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S2	Oval, yuvarlak	Uzunluk:7-10 En: 4 Çap: 4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar,	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S3	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7-10 En: 4 Çap: 4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S4	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7-8 En: 4-5, Çap:5	Tomurcuklanma, monopolar,	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S5	Oval, yuvarlak	Uzunluk :8-10 En: 5, Çap:5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S6	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7-9 En:4-5, Çap:5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S7	Oval, yuvarlak	Uzunluk :6-7 En:4, Çap: 4-5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S8	Oval, yuvarlak	Uzunluk :8 En:5, Çap: 4-5	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S9	Oval, yuvarlak	Uzunluk :8 En: 4-5, Çap:5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S10	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En: 4, Çap: 5	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S11	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En: 3, Çap: 5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S12	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7-8 En: 4, Çap: 5	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S13	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7-8 En:4-5, Çap:5	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S14	Oval	Uzunluk :7 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S15	Oval	Uzunluk :5-7 En:3-4,	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S16	Oval	Uzunluk :6-9 En:4-5,	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S17	Oval	Uzunluk :6-7 En:3,	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S18	Oval	Uzunluk :7-8 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var

Çizelge 4.1.'in Devamı

No	Hücre şekli	Hücre büyüklüğü (μ)	Çoğalma şekli	Zincir	Yalancı misel	1)Zar oluşumu, 2)Sediment yapı
S19	Oval, yuvarlak	Uzunluk :5-9 En:3-5, Çap:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S20	Oval	Uzunluk :7 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S21	Oval, yuvarlak	Uzunluk :5 En:4, Çap:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S22	Oval	Uzunluk :6-10 En:3	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S23	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En:4, Çap:5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S24	Oval	Uzunluk :7-10 En:3-4,	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S25	Oval	Uzunluk :7-9 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S26	Oval	Uzunluk :7-8 En:4-5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S27	Oval	Uzunluk :7 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S28	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En:4-5, Çap:6	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S29	Oval, yuvarlak	Uzunluk :6 En:4-5, Çap:4-5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S30	Oval	Uzunluk :6-5 En:3-4,	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S31	Oval	Uzunluk :7-9 En: 4-5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S32	Oval	Uzunluk:7 En: 4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar,	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S33	Oval	Uzunluk : 5-7 En: 3-5	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S34	Oval	Uzunluk :7 En: 4	Tomurcuklanma, monopolar,	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S35	Oval	Uzunluk :7-8 En: 4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S36	Oval	Uzunluk :5-6 En:3μ,	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S37	Oval	Uzunluk :4 En:3	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S38	Oval	Uzunluk :8 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S39	Oval	Uzunluk :7 En: 4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S40	Oval, yuvarlak	Uzunluk : 6-7 En: 5, Çap: 5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var

Çizelge 4.1.'in Devamı

No	Hücre şekli	Hücre büyüklüğü (μ)	Çoğalma Şekli	Zincir	Yalancı Misel	1)Zar oluşumu, 2)Sediment yapı
S41	Oval	Uzunluk :8 En: 3-4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S42	Oval	Uzunluk :6-8 En: 3	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S43	Oval, yuvarlak	Uzunluk :10 En:6, Çap:6	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S44	Oval	Uzunluk : 7-8 En:4-5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S45	Oval	Uzunluk :5-7 En:4-5,	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S46	Oval	Uzunluk :6-7 En:5,	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar,	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S47	Oval	Uzunluk :7 En:4,	Tomurcuklanma, monopolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S48	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7-10 En:4, Çap:4	Tomurcuklanma, monopolar,	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S49	Oval, yuvarlak	Uzunluk :8 En:5, Çap:5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S50	Oval	Uzunluk :7 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S51	Oval	Uzunluk :7 En:3-4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S52	Oval	Uzunluk :8-9 En:5	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S53	Oval	Uzunluk :8 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S54	Oval	Uzunluk :7-10 En:4-5,	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S55	Oval, yuvarlak	Uzunluk :6-8 En:5, Çap:5	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S56	Oval	Uzunluk :6-8 En:4	Tomurcuklanma, monopolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S57	Oval, yuvarlak	Uzunluk : 6-8 En:4, Çap:5 6	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S58	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En:4, Çap:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S59	Oval	Uzunluk :7 En:4	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S60	Oval	Uzunluk :8 En:4,	Tomurcuklanma, monopolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S61	Oval	Uzunluk :8 En:4	Tomurcuklanma, monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S61	Oval	Uzunluk :8 En:4,	Tomurcuklanma, monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var

Çizelge 4.1.'in Devamı

No	Hücre şekli	Hücre büyüklüğü (μ)	Çoğalma Şekli	Zincir	Yalancı misel	1)Zar oluşumu, 2)Sediment Yapı
S61	Oval, yuvarlak	Uzunluk :8 En:4-5, Çap:5-6	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S62	Oval, yuvarlak	Uzunluk:6-8 En: 4 Çap: 5	Tomurcuklanma , monopolar,	Var	Var	1)Yok 2)Var
S63	Oval	Uzunluk :8 En: 4,	Tomurcuklanma monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S64	Oval	Uzunluk :6-8 En: 3	Tomurcuklanma , monopolar,	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S65	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En: 4, Çap:4	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S66	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En:4-5, Çap:6	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S67	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En:4, Çap:5	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S68	Oval	Uzunluk :5 En:4	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S69	Oval	Uzunluk :7 En: 4	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Var	Var	1)Yok 2)Var
S70	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En: 4, Çap: 5	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S71	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En: 3, Çap: 5	Tomurcuklanma monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S72	Oval, yuvarlak	Uzunluk :6-8 En: 4, Çap: 5	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S73	Oval, yuvarlak	Uzunluk :9-10 En:5, Çap:5-6	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S74	Oval, yuvarlak	Uzunluk : 6 En:4, Çap:5	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S75	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En:4, Çap:4-6	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S76	Oval	Uzunluk :8 En:4	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S77	Oval	Uzunluk :8 En:4	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S78	Oval	Uzunluk :8 En:4	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S79	Oval	Uzunluk :6-8 En:4	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S80	Oval, yuvarlak	Uzunluk :6-9 En:4 Çap:5-6	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S81	Oval	Uzunluk : 6-8 En:4	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var

Çizelge 4.1.'in Devamı

No	Hücre şekli	Hücre büyüklüğü (μ)	Çoğala şekli	Zincir	Yalancı misel	1)Zar oluşuu, 2)sediment yapı
S82	Oval, yuvarlak	Uzunluk :6-7 En:4, Çap:5	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S83	Oval	Uzunluk :7 En:4	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S84	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7-9 En:5-6,	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S85	Oval, yuvarlak	Uzunluk :8 En:4, Çap:5-6	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S86	Oval	Uzunluk :7 En:4	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S87	Oval, yuvarlak	Uzunluk :8 En:4, Çap:4-5	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S88	Oval, yuvarlak	Uzunluk :6 En:4	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S89	Oval	Uzunluk :7-8 En:4μ	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S90	Oval, yuvarlak	Uzunluk :10 En:4, Çap:5μ	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S91	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7-8 En: 4, Çap:5	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S92	Oval, yuvarlak	Uzunluk:7 En: 4, Çap:5	Tomurcuklanma , monopolar,	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S93	Oval, yuvarlak	Uzunluk : 5-7 En: 3, Çap:5	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S94	Oval, yuvarlak	Uzunluk : 6-7 En: 4, Çap:5	Tomurcuklanma , monopolar,	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S95	Oval, yuvarlak	Uzunluk :6-7 En: 4, Çap:5	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S96	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En:4, Çap: 5	Tomurcuklanma , monopolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S97	Oval, yuvarlak	Uzunluk :7 En:4, Çap: 5	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Yok	Yok	1)Yok 2)Var
S98	Oval	Uzunluk :8-9 En:3μ-4	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S99	Oval	Uzunluk :7 En: 4	Tomurcuklanma , monopolar, dipolar, ultipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var
S100	Oval, yuvarlak	Uzunluk : 7-9 En: 4, Çap: 5	Tomurcuklanma monopolar, dipolar	Var	Yok	1)Yok 2)Var

Çizelge 4.2. Maya Suşlarının Assimilasyon ve Bazı Fizikokimyasal Test Sonuçları

	Suş No																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
C2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C9	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
C10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C18	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
C20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C29	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C30	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-
C34	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
C36	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
C37	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
C40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N1	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
N3	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
N5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O2	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 4.2'nin Devamı

	Suş No																			
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
C2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	D	+
C6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C9	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
C10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
C17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C18	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
C20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
C22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C29	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C30	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	D	+
C34	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
C36	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
C37	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
C40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
C42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
N1	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
N3	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
N5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
N8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
V10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
T4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
O2	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 4.2'nin Devamı

	Suş No																			
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
C2	D	+	-	+	+	D	D	-	-	D	+	+	+	+	-	+	-	+	D	D
C3	-	D	D	+	+	D	-	D	D	D	+	+	+	+	D	D	-	+	D	D
C6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	D	+	+	+
C7	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
C8	D	+	D	D	+	D	D	D	D	D	+	D	D	+	D	+	-	D	+	D
C9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C10	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
C17	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
C18	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	D	D	-	-	-	-	D	-	-
C20	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+
C22	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
C24	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
C29	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	D	+	+	+
C30	+	D	-	D	+	-	+	-	-	-	+	D	D	+	-	D	-	D	-	-
C34	+	-	-	D	-	+	+	-	-	+	-	D	D	-	-	-	-	D	-	+
C36	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+
C37	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+
C40	D	-	-	+	+	+	D	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
C42	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	D	+	-	+
N1	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
N3	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
N5	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
N8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V5	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
V10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T3	W	-	-	-	-	-	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O2	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 4.2'nin Devamı

	Suş No																			
	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
C2	D	+	+	+	-	D	-	+	D	+	+	-	D	+	D	D	+	D	D	D
C3	-	D	D	+	-	D	-	+	D	+	+	-	-	D	D	+	-	+	+	+
C6	+	+	+	+	D	+	D	+	+	+	+	D	+	+	+	-	+	-	-	-
C7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-
C8	D	+	+	+	-	+	-	+	D	+	D	-	D	+	D	-	-	-	-	-
C9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C10	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
C17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	D	-	D	D	D
C20	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
C22	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	D	-	D	D	D
C24	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+
C29	+	+	+	+	D	+	D	+	+	+	+	D	+	+	+	+	+	+	+	+
C30	+	D	D	+	-	-	-	+	-	+	D	-	-	D	-	-	-	-	-	-
C34	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	D	-	+	-	+	-	+	-	-	-
C36	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
C37	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
C40	D	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	D	-	+	+	+	+	+	+
C42	+	-	-	+	D	-	D	+	+	+	+	D	+	-	+	-	-	-	-	-
N1	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
N3	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
N5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
N8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V5	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
V10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T3	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	W	-	-	-	+	-	-	-
T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O2	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Çizelge 4.2'nin Devamı

	Suş No																			
	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
C2	+	-	+	+	D	D	-	+	+	D	D	+	+	-	+	D	+	D	-	-
C3	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
C6	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
C7	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
C8	-	D	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	D	D
C9	-	D	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	D	D
C10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C17	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
C18	-	+	-	-	D	D	+	-	-	D	D	-	-	+	-	D	-	D	+	+
C20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C22	-	+	-	-	D	D	+	-	-	D	D	-	-	+	-	D	-	D	+	+
C24	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
C29	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C34	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-
C36	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C37	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C40	+	D	+	+	+	+	D	+	+	+	+	+	+	D	+	+	+	+	D	D
C42	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
N1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N3	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+
N5	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
N8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V10	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
T1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T3	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-
T4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Barnett ve ark. (1990)'a göre tanımlanan maya türleri ve izolasyonda kodlanan suş numaraları Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3.Tanımlanan Maya Türü, Suş Numaraları ve İzole Edildiği Kaynaklar

Maya türü	Suş Numaraları	İzole Edildiği Kaynaklar
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 14, 15, 19, 20, 22, 26, 27, 28, 29, 30, 34, 35	Maydanoz, Siyah turp, Armut, Tere otu, Isırgan otu, Ağaç yaprağı (geniş yapraklı), Ispanak, Karnıbahar, Dereotu, Brokoli, Marol, Patates, Kırmızı biber, Lahana, Toprak, Armut
<i>Rhodotorula minuta</i>	6, 12, 18, 21, 23, 31, 32	Toprak, Armut, Isırgan otu, Maydanoz, Patates, Brokoli
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	7, 8, 13, 16, 17, 24, 25, 33	Toprak, Isırgan otu, Maydanoz, Dereotu, Armut, Brokoli
<i>Rhodotorula araucariae</i>	41, 47, 61, 73	Domates, Maydanoz, Siyah turp
<i>Rhodotorula armeniaca</i>	39, 42, 56, 62, 63, 74	Isırgan otu, Karnabahar, Ağaç yaprağı (geniş yapraklı), Isırgan otu, Dereotu
<i>Rhodotorula bacarum</i>	43, 48, 49, 55,	Maydanoz, Toprak, Patates, Armut
<i>Rhodotorula bogoriensis</i>	46, 50, 60, 69, 75	Patates, Maydanoz, Dereotu, Patlıcan
<i>Rhodotorula fujisanensis</i>	70	Patates
<i>Rhodotorula graminis</i>	36, 37, 38, 40, 45, 51, 54, 64, 68	Maydanoz, Patates, Toprak, Otsu bitki, Turp, Patlıcan,
<i>Rhodotorula hasegawae</i>	59, 66	Toprak, Odunsu bitki
<i>Rhodotorula muscorum</i>	44, 52, 53, 58, 71	Armut, Dereotu, Turp, Toprak, Domates
<i>Rhodotorula phylloplana</i>	57, 65, 67, 72,	Otsu bitkiler, Zeytin, Yeşil biber, Havuç
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	77, 81, 83, 84, 88, 89, 92, 93, 95, 97	Brokoli, Patates, Maydanoz, Lahana, Brokoli, Toprak, Dereotu, Karnabahar, Tere
<i>Rhodotorula hordea</i>	76, 78, 79, 80, 85, 86, 90, 91, 96, 98,	Lahana, Otsu bitki (geniş yapraklı), Kırmızı biber, Toprak, Maydanoz, Otsu bitki, Ispanak, Kabak
<i>Rhodotorula lactosa</i>	82, 87, 94, 99, 100	Brokoli, Toprak, Marul Maydanoz

Çizelge 4.3.'de de görüldüğü gibi, çeşitli ortamlardan izole edilen kırmızı-pembe renkli maya suşlarının *Rhodotorula* sp. cinsi mayalar olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan maya türlerinin %20'si *Rhodotorula glutinis*, %10'u *Rhodotorula aurantiaca*, %10'u *Rhodotorula hordea*, %9'u *Rhodotorula graminis*, %8'i *Rhodotorula mucilaginosa*, 7'si *Rhodotorula minuta*, %6'sı *Rhodotorula armeniaca*, %5'i *Rhodotorula bogoriensis*, %5'i *Rhodotorula lactosa*, %5'i *Rhodotorula muscorum*, %4'ü *Rhodotorula araucariae*, %4'ü *Rhodotorula bacarum*, %4'ü *Rhodotorula phylloplana*, %2'si *Rhodotorula hasegawae*, %1'i *Rhodotorula fujisanensis* olarak bulunmuştur.

Rhodotorula glutinis'in bulunduğu kaynakların başında su, meyve fabrikaları atığı, hava, toprak, meyveler, ağaç yaprakları, salatalık turşusu, insan ve diğer memeli hayvanlar ve deri gelmektedir (Barnett ve ark.,1990). Araştırmada da, toprak, armut, ağaç yaprağı (geniş yapraklı) kaynaklarının yanı sıra, maydanoz, siyah turp, tere otu, ıspanak, karnabahar, dereotu, brokoli, marol, patates, kırmızı biber, lahanadan da *Rhodotorula glutinis* izole edilmiştir. Yapılan çeşitli izolasyon çalışmalarında *Rhodotorula glutinis*'in toprak (Walker, 1973;Vital ve ark., 2002; Goto ve ark.,1987; Rezende ve ark.,1999), ağaç (Venturini ve ark., 2002; Cagnon ve ark., 1999), su kaynakları (Nguyen ve ark., 2001; Romero ve ark., 1998) ile yağ rafinerisi ve diğer endüstrilerin atıkları (Romero ve ark., 2002), çay tarlası (Kawai ve ark., 2000), balık (Vázquez-Juárez ve ark., 1994), süt ve peynir ürünleri (Welthagen ve Viljoen, 1998; Fleet ve Mian, 1987) gibi farklı kaynaklardan izole edildiği belirtilmiştir.

Rhodotorula minuta'nın bulunduğu en önemli kaynaklar hava, deniz, peynir, salatalık turşusu, insan ve diğer memeli hayvanlar ve karides gibi deniz ürünleridir (Barnett ve ark., 1990). Bu araştırmada da *R. minuta*, toprak, armut, ısırgan otu, maydanoz, patates, brokoliden izole edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda *R. minuta*, peynir (Viljoen ve ark., 2003), su kaynakları (Libkind ve ark., 2004), toprak (Falih, 1998; Vital ve ark., 2002), çiçek (Sorlini ve ark., 1998), şeker kamışı (Souza Liberal ve ark., 2005), armut (Chand-Goyal ve Spotts, 1996), ağaç (Li ve ark., 1995) gibi kaynaklardan izole edilmiştir.

Rhodotorula mucilaginos'nın bulunduğu kaynakları ise su, toprak, hava, meyve fabrikaları atığı, bira, tereyağ, malt şerbeti, reçel, meyve kelebeklerinin larvaları, kertenkeleler, bir çeşit mantar türü (toadstool), kertenkele, insan ve diğer memeli hayvanlar ve tütündür (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada da toprak ve armutun yanı sıra, ısırgan otu, maydanoz, dereotu ve brokoliden *R. mucilaginosa* izole edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda *R. mucilaginosa*'nın sudan (Almeida, 2005), meyvelerden (Trindade ve ark., 2002; Deak ve Beuchat, 1993) izole edilmesinin yanı sıra yağ rafinerisi ve diğer endüstrilerin atıklarından (Romero ve ark., 2002), fermente süt ürünü (*suusac*) (Lore ve ark., 2005), peynirden (Viljoen ve ark., 2003), sucuktan (Gardini ve ark., 2001; Osei Abunyewa ve ark., 2000; Wolter ve ark., 2000), topraktan (Vital ve ark., 2002), uranyum mineral yığınınından (Silóniz ve ark., 2002), mantar kabuğundan (Villa-Carvajal ve ark., 2004), tavuk etinden (Laubscher ve ark., 2000) ve yoğurt (Rohm ve ark., 1990) gibi farklı kaynaklardan da izole edildiği belirtilmiştir.

Rhodotorula araucariae'nin bulunduğu kaynaklar olarak sadece ağaç çürükleri belirtilmiştir (Barnett ve ark., 1990). Ancak bu araştırmada domates, maydanoz, siyah turp gibi farklı kaynaklardan da *R. araucariae* izole edilmiştir. Ayrıca, yapılan çeşitli izolasyon çalışmalarında da toprak (Cardenas ve ark., 2001), şeker kamışı (Azeredo ve ark. (1998) gibi materyallerden de *R. araucariae* izole edilmiştir.

Rhodotorula armeniaca'nın bulunduğu kaynak olarak ağaç yaprağı belirtilmiştir (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada da ağaç yaprağının (geniş yapraklı) yanı sıra, ısırgan otu, karnabahar, ısırgan otu ve dereotu gibi farklı kaynaklardan *R. armeniaca* izole edilmiştir.

Rhodotorula bacarum'un bulunduğu kaynak olarak siyah kuş üzümü belirtilmiştir (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada ise maydanoz, toprak, patates ve armut gibi farklı kaynaklardan *R. bacarum* izole edilmiştir. Chi ve Zhao (2003)'da farklı bir kaynak olarak yapraktan izole etmişlerdir.

Rhodotorula bogoriensis'in bulunduğu kaynak olarak sadece ağaç yaprakları olarak belirtilmiştir (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada ise patates, maydanoz, dereotu ve patlıcan gibi farklı kaynaklardan *R. bogoriensis* izole edilmiştir.

Rhodotorula fujisanensis'in bulunduğu en önemli kaynaklar yabani üzüm, yapraklar ve hayvan gübresidir (Barnett ve ark., 1990). Ancak araştırmada farklı bir kaynak olarak patatesten *R. fujisanensis* izole edilmiştir. Chand-Goyal ve Spotts, (1996) farklı bir kaynak olarak armuttan izole edildiğini belirtmiştir.

Rhodotorula graminis'in bulunduğu kaynakların başında su, çimen, turunçgil ağaçları yaprakları, kakao, küçük meyveleri (çilek, kiraz, vs.), petrol gelmektedir (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada ise otsu bitki, maydanoz, patates, toprak, turp ve patlıcandan *R. graminis* izole edilmiştir. Çeşitli araştırmalarda da *R. graminis*'in köknarı yaprakları ve döküntüleri (Hobbie ve ark., 2003), tropikal meyvelerden dondurulmuş pulpları (Trindade ve ark., 2002) gibi farklı kaynaklardan izole edilmiştir.

Rhodotorula hasegawae'nin bulunduğu kaynak olarak sadece ekmek mayası atığı belirtilmiştir (Barnett ve ark., 1990) Araştırmada ise toprak ve odunsu bitki gibi farklı kaynaklardan *R. hasegawae* izole edilmiştir.

Rhodotorula muscorum'un bulunduğu kaynaklar ise ağaç kökleri ve çürümüş yosun atıkları olarak belirtilmiştir (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada ise armut, dereotu, turp, toprak ve domates gibi farklı kaynaklardan *R. muscorum* izole edilmiştir.

Rhodotorula phylloplana'nın bulunduğu kaynak olarak ağaç yaprağı belirtilmiştir (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada ise otsu bitkiler, zeytin, yeşil biber ve havuç gibi farklı kaynaklardan *R. phylloplana* izole edilmiştir.

Rhodotorula aurantiaca'nın bulunduğu en önemli kaynaklar hava, toprak, bira, insandır (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada ise toprak kaynağının yanı sıra brokoli, patates, maydanoz, lahana, brokoli, toprak, dereotu, karnabahar ve tere gibi farklı kaynaklardan da *R. aurantiaca* izole edilmiştir. Yapılan çeşitli araştırmalarda *R. aurantiaca*'in toprak (Vadkertiová R., Valenzuela ve ark., 2001; Slavikova ve Vadkertiova, 2000), armut (Chand-Goyal and Spotts (1996) ve antartik buzu (Sabri ve ark. 2001) gibi kaynaklardan izole edildiği belirtilmiştir.

Rhodotorula hordea'nin bulunduğu kaynak olarak sadece arpa yaprakları belirtilmiştir (Barnett ve ark., 1990). Araştırmada ise lahana, otsu bitki (geniş

yapraklı), kırmızı biber, toprak, maydanoz, otsu bitki, ıspanak, kabak gibi farklı kaynaklardan *R. hordea* izole edilmiştir.

Rhodotorula lactosa'nın bulunduğu kaynak olarak sadece hava olduğunu belirtmiştir. Araştırmada ise brokoli, toprak, marul ve maydanoz gibi farklı kaynaklardan *R. lactosa* izole edilmiştir.

4.2. Maya Suşlarının Toplam Karotenoid Oranlarının Belirlenmesi

Yapılan çalışmada tanımlanan *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula araucariae*, *Rhodotorula armeniaca*, *Rhodotorula bacarum*, *Rhodotorula bogoriensis*, *Rhodotorula fujisanensis*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodotorula hasegawae*, *Rhodotorula muscorum*, *Rhodotorula phylloplana*, *Rhodotorula aurantiaca*, *Rhodotorula hordea* ve *Rhodotorula lactosa* türlerinin 25°C'de 10 günlük inkübasyonu sonunda toplam karotenoid miktarları belirlenmiştir (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. Belirlenen Maya Türlerinin Ortalama Karotenoid Miktarı

Tür	Suş No	Karotenoid miktarı (mg/L)
<i>Rhodotorula araucariae</i>	41	1,00
	47	1,04
	61	1,67
	73	1,01
<i>Rhodotorula armeniaca</i>	39	1,13
	42	0,82
	56	1,56
	62	1,23
	63	1,59
	74	0,89
<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	77	0,95
	81	1,04
	83	1,32
	84	1,59
	88	1,57
	89	1,00
	92	0,98
	93	2,01
	95	1,94
	97	1,43
<i>Rhodotorula bacarum</i>	43	0,96
	48	1,23
	49	0,98
	55	0,86
<i>Rhodotorula bogoriensis</i>	46	1,01
	50	1,25
	60	0,43
	69	1,01
	75	1,45
<i>Rhodotorula fujisanensis</i>	70	0,94
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1	1,83
	10	2,45
	11	2,23
	14	2,90
	15	3,54
	19	2,54
	2	2,13
	20	2,76
	22	1,65
	26	3,13
	27	2,94
	28	2,82
	29	2,04
	3	2,55
	30	2,06
	34	1,86
	35	2,52
	4	2,02
	5	1,90
	9	2 12

Çizelge 4.4.'ün Devamı

Tür	Suş No	Karotenoid miktarı (mg/L)
<i>Rhodotorula graminis</i>	36	2,08
	37	1,85
	38	1,28
	40	1,09
	45	1,14
	51	1,57
	54	0,43
	64	1,87
<i>Rhodotorula hasegawae</i>	68	1,07
	59	1,22
<i>Rhodotorula hordea</i>	66	1,29
	76	1,87
	78	1,36
	79	1,58
	80	1,02
	85	1,23
	86	1,08
	90	2,05
	91	1,34
	96	1,65
	98	1,73
<i>Rhodotorula lactosa</i>	82	1,54
	87	1,21
	100	2,23
	94	1,76
	99	2,01
<i>Rhodotorula minuta</i>	12	2,21
	18	1,65
	21	2,67
	23	2,07
	31	2,75
	32	2,01
	6	1,14
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	13	1,54
	16	2,60
	17	0,89
	24	2,50
	25	2,64
	33	2,22
	7	2,45
	8	0,51
<i>Rhodotorula muscorum</i>	44	2,12
	52	1,46
	53	0,82
	58	0,95
	71	1,09
<i>Rhodotorula phylloplana</i>	57	1,11
	65	1,01
	67	1,13
	72	1,09

Çizelge 4.4.'de görüldüğü gibi tanımlanan maya türlerinin oluşturduğu toplam karotenoid miktarı 0,89-3,63 mg/L arasında belirlenmiştir. Araştırmada, en yüksek toplam karotenoid miktarı *Rhodotorula glutinis* (26) tarafından üretildiği saptanmıştır.

Mayaların ürettiği toplam karotenoid miktarı gelişim ortamında karbon ve azot kaynakları, ortam sıcaklığı, pH, oksijen miktarı karıştırma hızı gibi çeşitli ortam koşullarının etkisine göre değişmektedir (Johnson ve Lewis, 1979; Okagbue ve Lewis, 1985). Ayrıca, mayanın daha yüksek hacimde ve kontrollü koşullarda geliştirilmesiyle karotenoid üretim miktarının artabileceği belirtilmiştir (Bhosale ve Gadre, 2001a).

Buzzini ve Martini (1999) *Rhodotorula glutinis*'in üzüm şırası, glikoz şurubu, pancar küspesi soya unu ekstraktı ve mısır unu ekstraktında karotenoid miktarını sırasıyla 5,95mg/L, 3,37mg/L, 1,80mg/L, 3,09mg/L, 4,24mg/L, 3,82mg/L, olarak belirlemiştir. Buzzini (2000) konsantre üzüm şırasında *Rhodotorula glutinis*'in toplam karotenoid miktarı 6,9mg/l, Buzzini (2001) *Rhodotorula glutinis*'in oluşturduğu toplam karotenoid miktarını 8,2 mg/L olarak belirlemişlerdir.

Yapığımız çalışmada *Rhodotorula* spp. 'nin ürettiği karotenoid miktarlarının, yapılan çeşitli araştırmaların bazılarına göre daha düşük belirlenmesinin nedeni olarak, mayanın düşük hacimdeki (5ml) besiyerinde geliştirilmesi ve gelişim sürecinde pH, oksijen, karbon ve azot kaynağı miktarı gibi çeşitli parametrelerde herhangi bir optimizasyon çalışması yapılmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3. Mutant Maya Suşlarının Elde Edilmesi

Araştırmada toplam karotenoid miktarı yüksek olarak belirlenen maya türleri *Rhodotorula glutinis* (15, 14, 19, 26, 27, 28), *Rhodotorula mucilaginosa* (16, 25), *Rhodotorula minuta* (23, 31), seçilerek ultraviyole ışını (UV) ve 1-metyl-3-nitro-nitrosoguanidin (MNNG) kullanılarak mutant maya suşları elde edilmiştir. Mutasyon işlemi sonunda ana kültürden daha koyu kırmızı renkli koloni oluşturanlar mutant maya suşu olarak seçilmiştir. Mutasyon işleminde ayrı ayrı UV ve MNNG

mutasyonu ve daha sonra sırası ile MNNG+UV ve MNNG+UV+MNNG mutasyonu uygulanmıştır.

Araştırmada MNNG mutasyonu uygulanan mayalarda koloni renklerinin UV mutasyonuna göre daha koyu kırmızı renkte ve daha büyük koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Şekil 4.1.'de UV ve MNNG mutasyonu uygulanan maya hücrelerinde renk değişimi görülmektedir.



a)



b)

Resim 4.1. a)UV mutasyonu b)MNNG mutasyonu

Retamales ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada da 1-methyl-3-nitro-nitrosoguanidin (MNNG) ve ultraviyole ışığı (UV) ile mutasyon işleminde *Phaffia rhodozyma*'nın mutasyonu için ultraviyole ışığının etkili olmadığı 1-methyl-3-nitro-nitrosoguanidin (MNNG)'nin ise yüksek etki gösterdiği bulunmuştur. An ve ark. (1989a), EMS ve MNNG mutajenleri kullanılarak *Phaffia rhodozyma*'nın mutant kültürlerini elde etmişler ve en iyi mutajen maddenin yine MNNG olduğunu belirtmişlerdir.

4.4. Mutant Maya Suşlarının Toplam Karotenoid Miktarlarının Saptanması

MNNG ve UV mutajenler kullanılarak *Rhodotorula glutinis* (15,14, 19, 26, 27, 28), *Rhodotorula mucilaginosa* (16, 25), *Rhodotorula minuta* (23, 31) maya türlerinin mutantlarında toplam karotenoid miktarı incelenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.5. Mutant Maya Suşlarının Toplam Karotenoid Miktarları

Tür	Toplam Karotenoid Miktarı mg/L			
	Ana kültür	UV	MNNG	MNNG+UV+MNNG
<i>Rhodotorula glutinis</i> (14)	2,90	2,81	3,79	3,25
<i>Rhodotorula glutinis</i> (15)	3,54	3,02	3,59	3,71
<i>Rhodotorula glutinis</i> (19)	2,54	2,72	3,29	3,61
<i>Rhodotorula glutinis</i> (26)	3,13	3,13	3,79	3,54
<i>Rhodotorula glutinis</i> (27)	2,64	2,93	3,60	3,89
<i>Rhodotorula glutinis</i> (28)	2,94	2,77	3,82	3,15
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (16)	2,60	2,53	3,95	3,94
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (25)	2,54	2,62	2,19	3,08
<i>Rhodotorula minuta</i> (23)	2,07	2,87	3,98	3,90
<i>Rhodotorula minuta</i> (31)	2,75	2,67	2,76	3,05

Araştırmada en yüksek oranda toplam karotenoid miktarı MNNG+UV+MNNG uygulanan *Rhodotorula mucilaginosa* 16'nın mutant kültüründe 3,94mg/L olarak belirlenmiştir. Ana kültüre göre 0,65 katı oranda toplam karotenoid miktarı artmıştır.

Bhosole ve Gadre (2001a) *Rhodotorula glutinis*'in 1-metyl-3-nitro-nitrosoguanidin ve UV mutasyonu ile elde mutant kültüründe en yüksek karotenoid üretimi 100ml besiyerinde 14 mg/L, 14L besiyerinde bulunan fermentörde gelişiminde ise 185mg/L belirlediklerini açıklamışlardır. Ayrıca fermentörde gelişim süresince çözünür oksijen ve nitrojen kaynakları gelişim ortamına verilmiştir

Bhosole ve Gadre (2001b) *Rhodotorula glutinis* 1-metyl-3-nitro-nitrosoguanidin ve UV mutasyonu ile elde mutant kültürün 100ml ortamında toplam karotenoid miktarı 66 mg/L olarak, ana kültürde ise toplam karotenoid miktarı 2.2 mg/L belirlemişlerdir. Mutant kültür farklı karbon ve azot kaynaklarında ve tuzlar eklenen ortamda en yüksek toplam karotenoid miktarı 100ml ortamında 66 mg/L belirlemişlerdir.

Bhosole ve Gadre (2001c) *Rhodotorula glutinis* NCIM 3353'den elde edilen mutant kültürün ana kültüre göre 76 kat daha yüksek beta-karoten oluşturduğunu belirlediklerini açıklamışlardır. Mutant kültür gelişim ortamı olarak deniz suyu kullanımında toplam karotenoid miktarı 86 mg/L bulduklarını,

Bhosale ve. Gadre (2002) mutant 32 *Rhodotorula glutinis*'in 30°C'de 125 ± 2 mg/L 20 °C'de 250 ± 7 mg/L beta karotenoid oluşturduğu açıklamışlardır.

Araştırmada mutant mayanın ürettiği toplam karotenoid miktarı Bhosole ve Gadre, (2001a), Bhosole ve Gadre, (2001b), Bhosole ve Gadre, (2001c) ve Bhosole ve Gadre, (2002)'de elde edilen sonuçlara göre daha düşüktür. Ancak yapılan bu araştırmalarda hem mutant mayanın gelişim ortamı hacmi daha yüksek, hem de gelişim ortamına farklı bileşenler ilave edilmiştir.

4.4.1. Farklı Gelişme Koşullarının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisi

Mutant mayanın farklı inokülasyonlarda, farklı pH ve farklı karbon kaynağında oluşturduğu toplam karotenoid miktarı saptanmıştır.

4.4.1.1. Farklı İnokülasyon Oranlarının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisi

Rhodotorula mucilaginosa 16 mutant kültürünün %1, %2, %4, %6 inokülasyon oranları sonucu ürettikleri karotenoid miktarları belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı İnokülasyonlarda Mutant Mayanın Ürettiği Toplam Karotenoid Miktarları

İnokülasyon Oranı	Toplam Karotenoid
%1	2,91mg/L
%2	3,04 mg/L
%4	2,81 mg/L
%6	2,95 mg/L

Yapılan çalışmada %2 oranda inokülasyonda toplam karotenoid miktarı en yüksek bulunmuştur. Çizelge 4.6’da da görüldüğü gibi inokülasyon oranı yükseldiğinde, toplam karotenoid miktarı düşmüştür. Bunun nedeni, hücre kültürünün artmasıyla ortamdaki oksijen miktarının azalmasıyla açıklanabilir.

Benzer sonucu, Govindaswamy ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada bulmuşlardır. Araştırmada *Rhodotorula gracilis*’in %10, %6, %2 inokülasyon oranında toplam karotenoid miktarında değişimini belirlemişlerdir ve %2 inokülasyon oranında en yüksek karotenoid miktarı elde etmişlerdir. Okagbue ve Lewis (1985) ise, *Bacillus circulans* WL-12 ve *Phaffia rhodozyma* karışık kültürünün astaksantin oluşumu üzerinde etkisini inceledikleri çalışmada, inokülasyon oranının (0, 5:1, 1:1, 2:1, 4:1) astaksantin ekstraksiyonu üzerine etkisini de araştırmışlar ve inokülasyon oranı yükseldikçe ekstrakte edilen astaksantin miktarı azaldığını belirlemişlerdir.

4.4.1.2. pH’nın Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisi

Rhodotorula mucilaginosa 16 mutant kültürünün pH 4,5, 4,7, 4,9, 5,0, 5,3, 5,5, 6,0, 6,5’da toplam karotenoid oluşumu üzerinde etkisi incelenmiş ve belirlenen toplam karotenoid miktarları Çizelge 4.7.’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı pH Ortamlarında Mutant Mayanın Ürettiği Toplam Karotenoid Miktarları

pH değeri	Toplam Karotenoid
4.5	2,95 mg/L
4.7	2,65 mg/L
4.9	2,07 mg/L
5.0	2,89 mg/L
5.2	3,24 mg/L
5.3	3,47 mg/L
5.5	3,83 mg/L
6.0	3,81 mg/L
6.5	3,52 mg/L

Araştırmada, gelişim ortamının pH değerinin oluşan karotenoid miktarı üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Yüksek karotenoid oluşumu pH 5.5 ve 6.0'da bulunmuştur.

Okagbue ve Lewis (1985) *Bacillus circulans* WL-12 ve *Phaffia rhodozyma* karışık kültürünün astaksantin oluşumu üzerinde farklı pH değerinin (6,0, 6,5, 6,8, 7, 0, 7,4, 7,8) astaksantin miktarına etkisini araştırmışlar ve astaksantin üretimi için en uygun pH 6,8-7,4 arasında belirlemişlerdir. Martin ve ark. (1993b) farklı atık maddeleri *Phaffia rhodozyma*'da gelişim ortamı olarak kullanmışlar ve ortam pH'sının 4, 5, 6, 7, 8'de astaksantin oluşumunu araştırmışlar ve en yüksek karotenoid oluşumu pH 7'de belirlemişlerdir. Her iki araştırmada da en fazla karotenoid üretiminin yüksek pH'larda belirlenmesi, maya türlerinin farklılığından kaynaklandığı belirtilmiştir.

Benzer sonuç, Martin ve ark. (1993a) tarafından yapılan araştırmada bulunmuştur. Çalışmada, *Rhodotorula rubra*'nın farklı pH değerinde toplam karotenoid miktarını incelemişler ve toplam karotenoid oluşumu için optimum pH=5 belirlediklerini açıklamışlardır.

4.4.1.3. Farklı Karbon Kaynağının Mutant Mayanın Karotenoid Üretimi Üzerine Etkisi

Araştırmada, karbon kaynağı olarak glukoz, D-ksiloz, etanol, gliserol ve D-mannitol kullanılarak, *Rhodotorula mucilaginosa* 16 mutant kültürünün toplam karotenoid miktarları belirlenmiştir (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8 Farklı Karbon Kaynağında Mutant Mayanın Toplam Karotenoid Miktarları

Karbon Kaynağı	Toplam Karotenoid
Glukoz	4,59 mg/l
D-mannitol	3,28 mg/l
D-ksiloz	3,05 mg/l
Etanol	2,40 mg/l
Gliserol	2,31 mg/l

Araştırmada toplam karotenoid miktarı en yüksek glikoz kullanılan gelişim ortamında belirlenmiş, en düşük ise gliserol kullanılan gelişim ortamında bulunmuştur. Önceki yapılan çalışmalarda *Rhodotorula* spp. ile çalışmaya rastlanmamıştır.

Bon ve ark. (1997) *Phaffia rhodozyma* NRRL Y-17269 mayasından elde edilen mutant kültürler glukoz, maltoz, ksiloz gelişimini incelemişlerdir. Araştırma sonunda mutant kültürün gelişim ortamında bulunan şekerlerin değişimi ile karotenoid miktarındaki azalmada %100-%50 arasında etkili olduğu belirlenmiştir.

Parajo ve ark. (1997) gelişim ortamında karbon kaynağı olarak ksiloz kullanımının *Phaffia rhodozyma*'da karotenoid oluşumu üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmada 160 saat inkübasyon süresi sonunda *Phaffia rhodozyma* 20,3g/l ve 41,7g/l ksiloz içeren gelişim ortamında belirlenen karotenoid miktarı sırasıyla 2,5mg/l ve 2,85 mg/l belirlediklerini açıklamışlardır.

Vazquez ve ark. (1997) *Phaffia rhodozyma*'nın farklı karbon kaynağında (glikoz, sukroz ve ksiloz) ürettiği karotenoid miktarını incelemişlerdir. *Phaffia rhodozyma*'nın ürettiği en yüksek karotenoid miktarı (3,60mg/l) ksiloz içeren gelişim ortamında belirlediklerini açıklamışlardır.

4.6.Türk Sucuğu Üretimi

Araştırmada, farklı miktarlarda nitrit ve karotenoid kullanılarak Türk Sucuğu üretimi gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen karotenoidler zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutulmuş olarak sucuk hamuruna ilave edilmiştir.

100ppm, 80ppm ve 50ppm nitrit kullanılarak üretilen sucuklarda %0,1, %0,5 ve %1 oranlarında karotenoid ilavesinin sucuktaki pH, %nem, renk, toplam aerobik mezofilik bakteri ve *Enterobacteriaceae* sayılarındaki değişimler incelenmiştir.

4.6.1. Sucuk Örneklerinin pH Değerleri

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların pH değerleri Çizelge 4.9.'da, ilk gün ve 30. gün analizlerinin varyans analiz tablosu Ek 2 ve Ek 3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.9 Farklı Miktarla Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların pH Değeri

	Zeytinyağında Çözündürülmüş		Dondurarak Kurutulmuş	
	0.gün	30.gün	0.gün	30.gün
OO(Kontrol)	6,34±0,09	4,93±0,12ab	5,91±0,04	4,82±0,08ab
O1(Kontrol)	6,27±0,05	4,94±0,10ab	6,00±0,12	4,83±0,09ab
O2(Kontrol)	6,29±0,08	4,93±0,10ab	6,10±0,11	4,81±0,07ab
O3(Kontrol)	6,40±0,04	4,99±0,08ab	5,91±0,04	4,80±0,05ab
A1	6,17±0,05	4,95±0,10ab	5,90±0,05	4,85±0,07ab
A2	6,30±0,07	4,95±0,10ab	5,90±0,08	4,87±0,06ab
A3	6,29±0,04	4,94±0,08ab	5,91±0,06	4,85±0,05ab
B1	6,22±0,09	4,72±0,09ab	5,91±0,03	4,92±0,09ab
B2	6,25±0,15	4,76±0,09b	5,90±0,04	4,80±0,05b
B3	6,20±0,07	4,91±0,11a	5,90±0,05	4,99±0,07a
C1	6,21±0,04	4,83±0,13ab	5,88±0,07	4,94±0,10ab
C2	6,23±0,08	4,80±0,07b	5,91±0,06	4,80±0,05b
C3	6,20±0,05	4,84±0,13ab	5,91±0,04	4,80±0,05ab

O1(kontrol):150 ppm nitrit, O2(kontrol):100 ppm nitrit, O3(kontrol):80 ppm nitrit, O4(kontrol):50 ppm nitrit, A1:100 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A2:80 ppm nitritve %0,1 karotenoid, A3:50 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, B1:100 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B2:80 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B3:50 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, C1:100 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C2:80 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C3:50 ppm nitrit ve %1karotenoid

Farklı harfler * $\alpha=0,05$ güven sınırında önemli farklılıkları gösterir

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların 30. günde belirlenen pH değeri üzerinde farklı miktarlarda nitrit ve karotenoid kullanımı %5 güven sınırında önemli düzeyde farklı olduğu

belirlenmiştir. Araştırmada zeytinyağda çözündürülmüş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda pH değeri ortalamaları ilk gün 6,17-6,40, 30. günde ise 4,72-4,99 olarak belirlenmiştir. Dondurarak kurutulmuş karotenoidler kullanılarak üretilen sucuklarda pH değeri ortalamaları ilk gün 5,88-6,10, 30. günde ise 4,80-4,99 olarak belirlenmiştir.

Sucukta, fermentasyon süresince gelişen laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asitten dolayı tüm örneklerde fermentasyon sonunda pH değerleri düşmüştür.

Yapılan araştırmada kullanılan farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda, hammaddenin aynı olması nedeniyle birinci gün pH değerleri arasında istatistiksel açıdan farklı olmadığı, ancak 30. gün pH değeri üzerinde %5 güven sınırında önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiş, ancak farklı miktarda nitrit ve karoten kullanımı ile pH değeri değişimi arasında bir ilişki bulunamamıştır. Zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutulmuş karotenoidler kullanılarak üretilen sucukların ilk günkü pH değerlerinde %1 önem düzeyinde farklılık belirlenmiştir. Ancak, bu farklılık sucuk üretiminin farklı zamanlarda yapılması nedeniyle kullanılan hammaddelerin (et, yağ vs.) farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Bozkurt ve Erkmen (2004) tarafından yapılan araştırmada da, farklı miktarda nitrat-nitrit kullanılarak üretilen sucukların 45 gün depolanmasından sonra belirlenen pH değeri değişimi ile sucuklarda kullanılan nitrit miktarı arasında bir ilişki belirlenememiştir. Ancak, Ockerman ve Sun (2005) tarafından yapılan bir başka çalışmada 75ppm ve 150ppm nitrit kullanılarak sucuk üretimi yapılmış ve pH değerleri belirlenmiştir. 150ppm nitrit kullanılarak üretilen sucukların pH değerinin, 75ppm nitrit kullanılarak üretilen sucuklara göre önemli derecede yüksek olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Düşük nitrit miktarında daha düşük pH değerinin belirlenmesi, laktik asit bakterilerinin düşük miktarda nitrit kullanılarak üretilen sucuklarda daha iyi gelişebilmesine bağlanmıştır. Ancak sucuk örneklerinin depolama sürecinde laktik asit bakterileri sayısının birbirine yakın olmasıyla pH değerindeki farklılık ortadan kalkabilmektedir.

4.6.2.Sucuk Örneklerinin Nem Oranı

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların nem oranları Çizelge 4.10.'da, fermentasyonun ilk gün ve 30. gün analizlerinin varyans analiz tablosu ise Ek 4 ve Ek 5'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Farklı Miktarla Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucuklarda Belirlenen Nem Oranları (%)

	Zeytinyağında Çözündürülmüş		Dondurarak Kurutulmuş	
	0.gün	30.gün	0.gün	30.gün
OO(Kontrol)	51,59±1,79	35,26±2,15abcd	59,56±2,32abc	31,78±2,12abcd
O1(Kontrol)	51,73±1,9	27,90±1,76d	58,60±0,84	32,67±2,16d
O2(Kontrol)	51,35±1,13	29,47±2,26 bcd	58,29±1,16	36,23±1,27bcd
O3(Kontrol)	52,24±0,98	27,60±2,68cd	57,33±1,88	35,24±1,41cd
A1	51,85±1,23	32,57±1,92abcd	56,41±3,99	35,24±1,78abcd
A2	52,48±1,00	35,28±1,07ab	57,41±1,19	36,50±1,53ab
A3	51,79±1,29	29,29±2,15cd	57,26±1,39	33,04±1,65cd
B1	52,04±1,90	32,54±2,58abc	57,42±2,11	37,60±1,76abc
B2	51,70±1,74	32,80±2,12abc	58,53±0,77	36,84±1,22abc
B3	52,05±2,06	31,58±1,33abcd	57,78±1,48	36,81±2,01abcd
C1	51,55±0,90	37,38±1,02ab	56,48±1,23	35,41±2,16ab
C2	51,60±0,86	39,20±1,02 a	57,94±0,84	35,36±2,12a
C3	52,42±1,78	36,83±1,61ab	58,51±3,13	36,00±3,13ab

O1(kontrol):150 ppm nitrit, O2(kontrol):100 ppm nitrit, O3(kontrol):80 ppm nitrit, O4(kontrol):50 ppm nitrit, A1:100 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A2:80 ppm nitritve %0,1 karotenoid, A3:50 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, B1:100 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B2:80 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B3:50 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, C1:100 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C2:80 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C3:50 ppm nitrit ve %1karotenoid

Farklı harfler * $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli farklılıkları gösterir

Çizelge 4.10.'da görüldüğü gibi sucuk örneklerinin fermentasyonun ilk gününde belirlenen nem oranı üzerinde farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımının ilk gün örneklerinde %1 güven sınırında önemli düzeyde farklı olmadığı, 30. gün örneklerinde ise %1 güven sınırında önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir. Ancak, pH sonuçlarında olduğu gibi, farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımı ile sucuklardaki nem oranı değerlerindeki değişim arasında bir

ilişki belirlenmemiştir. Araştırmada zeytinyağında çözündürülmüş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda nem oranı ortalamaları fermentasyonun ilk günü %51,35-52,48, 30. günde ise %27,60-35,26 belirlenmiştir. Dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda nem oranı değerleri ortalamaları fermentasyonun ilk günü %56,41-58,60, 30. günde %31,78-36,84 olarak belirlenmiştir. Zeytinyağında çözündürülerek ve dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklardaki ilk gün ve 30. gün nem oranı değerlerinde %1 önem düzeyinde farklılık belirlenmiştir. Bu farklılığın da yine pH değişiminde olduğu gibi üretimin farklı zamanlarda olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Fernández ve ark. (1995), başlangıç nem oranı % 60 belirlenen sucuk örneklerinin olgunlaşma sonunda nem oranlarının %40-45'e düştüğünü gözlemişlerdir. Chasco ve ark. (1996), İspanya'da yerel fabrikadan toplanan sucuk örneklerinde % nem oranını, sucuk hamurunda 56,26, fermentasyon sonunda 56,63, 2. hafta sonunda 50,06, 4. hafta sonunda ise 39,49 belirlemişlerdir. Bover-Cid ve ark. (2001), sucukta nem oranını araştırmışlar ve örneklerdeki nem oranını, birinci gün %62,28-62,92, 21.gün ise %32,97-46,03 olarak bulmuşlardır. Çolak ve Uğur (2002) yaptıkları çalışmada, fermente sucuklardaki nem oranını başlangıcında %49,0, sonunda ise %42,3 olarak belirlemişlerdir.

4.6.3.Renk Analiz Sonuçları

HunterLab spektrofotometre kullanılarak sucuk gövdesi kesitinde L^* , a^* ve b^* değerleri açıklık/koyuluk, kırmızılık ve sarılık göstergesi olarak ölçümü yapılmıştır.

4.6.3.1. Sucuk Örneklerinde L (Açıklık/Koyuluk) Değeri Sonuçları

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların L (açıklık/koyuluk) değeri Çizelge 4.11'de, birinci ve 30. gün analizlerinin varyans analiz tablosu Ek 6 ve Ek 7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucuklarda Belirlenen L Değeri

	Zeytinyağında Çözündürülmüş		Dondurarak Kurutulmuş	
	0.gün	30.gün	0.gün	30.gün
OO(Kontrol)	50,82±1,86c	46,43±2,08b	53,02±3,17c	45,46±2,75b
O1(Kontrol)	51,98±2,22bc	46,86±2,55ab	53,84±2,82bc	47,21±2,56ab
O2(Kontrol)	54,03±1,11abc	48,98±2,98ab	55,98±3,27abc	49,45±1,90ab
O3(Kontrol)	55,05±1,93abc	49,99±3,06ab	56,06±2,71abc	48,80±3,31ab
A1	51,67±2,14bc	45,77±3,10b	53,87±2,90bc	46,29±3,44b
A2	52,95±2,95abc	47,06±1,81ab	54,74±3,19abc	46,96±2,23ab
A3	54,83±2,76abc	47,00±3,48ab	55,86±3,95abc	47,36±3,00ab
B1	53,38±2,15abc	48,67±1,95ab	54,43±2,36abc	47,43±3,02ab
B2	53,84±1,16abc	49,62±3,40ab	56,03±3,70abc	48,85±2,77ab
B3	54,88±2,48ab	48,40±3,40ab	56,88±2,93ab	49,00±2,82ab
C1	56,60±2,64a	50,40±2,35ab	57,07±3,18a	48,87±2,92ab
C2	56,03±1,79a	49,68±2,34ab	57,90±3,02a	48,90±3,97ab
C3	56,90±0,68a	51,22±2,04a	57,82±3,95a	49,54±3,84a

O1(kontrol):150 ppm nitrit, O2(kontrol):100 ppm nitrit, O3(kontrol):80 ppm nitrit, O4(kontrol):50 ppm nitrit, A1:100 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A2:80 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A3:50 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, B1:100 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B2:80 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B3:50 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, C1:100 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C2:80 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C3:50 ppm nitrit ve %1 karotenoid

0.gün farklı harfler * $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli farklılıkları gösterir

30.gün farklı harfler * $\alpha=0,05$ güven sınırında önemli farklılıkları gösterir

Araştırmada zeytinyağında çözündürülmüş karotenoidler kullanılarak üretilen sucuklarda L değeri ortalamaları birinci gün 50,82±1,86-56,90±0,68, 30. günde ise 45,77±3,10-51,22±2,04 belirlenmiştir. Dondurarak kurutulmuş karotenoidler kullanılarak üretilen sucuklarda L değeri ortalamaları birinci gün 53,02±3,17-57,90±3,02, 30. günde ise 45,46±2,75-49,54±3,84 belirlenmiştir.

Çizelge 4.11.'de görüldüğü gibi zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda L değerinin başlangıç sucuk örneklerine göre 30. günde daha düşük belirlenmesi, sucukların 30. günde başlangıca göre daha koyu renkte olduğunu göstermektedir. Chasco ve ark. (1996) tarafında yapılan bir araştırmada sucuğun işlem süresince renk değişimini incelemiş ve sucuk hamurunda L değerini 44,71, fermentasyon sonunda 43,46 ve 4 hafta kurutma sonunda 45,07 bulduklarını belirtmişlerdir. L değerinin fermentasyon süresince % 3

azaldığını ve daha sonra kurutma süresince başlangıç değerine ulaştığını açıklamışlardır. Ayrıca, karotenoidlerin sucukta farklı kullanımında sucukların başlangıç L değerinin istatistiksel olarak önemli olduğunun belirlenmesiyle, sucuk örneklerinde karotenoidlerin farklı kullanımı sucukların koyuluğunu etkileyebileceği bulunmuştur. Ancak, kullanılan hammadde farklılığı da, farklı karotenoid kullanılarak üretilen sucukların L değerini değiştirebilmektedir. Birinci gün en yüksek L değeri 50ppm/kg nitrit ve %5 karotenoid kullanılarak üretilen C3 sucuk örneğinde belirlenmiştir. En düşük L değeri ise 150 ppm/kg nitrit kullanılarak üretilen OO sucuk örneklerinde saptanmıştır.

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımı sucukların başlangıç ($p<0,01$) ve 30. gün ($p<0,05$) L değeri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Birinci gün en yüksek L değeri 50ppm/kg nitrit ve %5 karotenoid kullanılarak üretilen C3 sucuk örneğinde belirlenmiştir. En düşük L değeri ise 150 ppm/kg nitrit kullanılarak üretilen OO sucuk örneklerinde saptanmıştır. Yüksek miktarda nitrat kullanımında oluşan kahve-kırmızı renk nedeniyle sucuk renginin koyuluk oranının arttığı, karotenoid kullanımında ve düşük miktarda nitrit kullanımında ise sucuk renginin koyuluk oranının azaldığı bulunmuştur.

Üren ve Babayiğit (1996), Türk sucuğunun renk özelliklerini araştırmışlar ve 11 farklı sucuk örneğinin L değerini 35,87-45,92 belirlemişlerdir. Ansorena ve ark. (1997), İspanya’da üretilen 33 fermente sucuk örneğinde ortalama L^* değerini 40,75 olarak saptamışlardır. Chasco ve ark. (1996), İspanya’da yerel fabrikadan toplanan 13 sucuk örneğinde üretim süresince renk değişimini araştırmışlar ve sucuk hamurunda L^* değerini 44,71, 4. hafta sonunda ise L^* 45,07 belirlediklerini açıklamışlardır. Gimeno ve ark. (2000), İspanya’da üretilen fermente sucukların renk değerlerini araştırmışlar ve L^* değeri 46,87-54,29 bulmuşlardır.

4.6.3.2. Sucuk Örneklerinde a^* (Kırmızılık) Değeri Sonuçları

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda belirlenen a^* değeri Çizelge 4.12’de, birinci ve 30. gün analizlerinin varyans analiz tablosu Ek 8 ve Ek 9’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.12.Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucuklarda Belirlenen a* Değeri

	Zeytinyağında Çözündürülmüş		Dondurarak Kurutulmuş	
	0.gün	30.gün	0.gün	30.gün
OO(Kontrol)	13,60±1,21ab	12,50±0,98ab	16,38±1,66ab	15,43±1,72ab
O1(Kontrol)	13,10±1,20ab	12,80±1,47ab	15,06±1,31ab	13,73±1,81ab
O2(Kontrol)	12,90±2,03ab	12,70±0,89ab	15,00±1,16ab	13,59±1,65ab
O3(Kontrol)	12,30±1,45b	11,90±1,61b	14,96±2,07b	13,29±1,94b
A1	13,50±0,70ab	13,03±1,16b	15,18±2,01ab	14,68±1,60b
A2	13,40±1,43ab	13,00±1,21ab	15,36±1,07ab	13,83±1,26ab
A3	13,20±0,77ab	12,10±1,31b	14,99±1,88ab	13,53±1,49b
B1	14,20±1,35ab	13,70±1,05ab	16,29±2,08ab	14,77±1,51ab
B2	13,90±1,28ab	13,60±1,12ab	16,20±1,67ab	14,80±2,09ab
B3	13,70±1,65ab	12,80±1,69ab	15,73±1,40ab	14,00±2,25ab
C1	13,90±1,01a	14,20±1,31a	17,75±2,10a	15,96±1,46a
C2	14,40±1,47a	14,10±1,03a	17,20±2,44a	15,60±1,39a
C3	13,80±1,28ab	13,80±1,88ab	17,38±1,39ab	15,66±1,21ab

O1(kontrol):150 ppm nitrit, O2(kontrol):100 ppm nitrit, O3(kontrol):80 ppm nitrit, O4(kontrol):50 ppm nitrit, A1:100 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A2:80 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A3:50 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, B1:100 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B2:80 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B3:50 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, C1:100 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C2:80 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C3:50 ppm nitrit ve %1 karotenoid

0.gün farklı harfler * $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli farklılıkları gösterir

30.gün farklı harfler * $\alpha=0,05$ güven sınırında önemli farklılıkları gösterir

Araştırmada L değeri ortalamalarının zeytinyağında çözündürülmüş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda birinci gün 12,30±14,40±1,47, 30. günde ise 11,90±1,61-14,20±1,31 belirlenmiştir. L değeri ortalamaları dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda ise birinci gün 14,96±2,07-17,75±2,10, 30. günde 13,29±1,94-15,96±1,46 belirlenmiştir.

Ekstrakte edilen karotenoidin, zeytinyağında ve dondurarak kurutulmuş olarak kullanımı %1 güven sınırında sucukların a* değeri üzerinde önemli düzeyde farklı olarak belirlenmiştir. Ayrıca, farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda da a* değeri %1 güven sınırında önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir. Araştırmada zeytinyağda çözündürülmüş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda 30. günde en yüksek a* değeri ortalaması %1 karotenoid ve 100ppm nitrit kullanılan C1 sucuk örneğinde 14,6 olarak belirlenmiştir. Dondurarak

kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda en yüksek a^* değeri ortalama yine C1 örneğinde 15,66 olarak belirlenmiştir. 150 ppm nitrit kullanılarak üretilen kontrol grubu sucukta ise a^* değeri zeytinyağda çözündürülmüş karotenoid kullanılan örneklerde 13,9, dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılan örneklerde de 15,48 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.12.'de görüldüğü gibi a değeri, başlangıçtaki örneklerle göre 30. günde daha düşük belirlenmesi, sucukların 30. günde başlangıca göre daha düşük kırmızılıkta olduğunu ifade etmektedir. Chasco ve ark. (1996) tarafında yapılan araştırmada da kırmızılığı % 20 oranında azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca, kırmızılık değerinde azalma, başlangıç sucuk hamurunun kırmızı renkli oksimiyoglobinin okside olarak kahve-kırmızı renkli metmyoglobin ve diğer reaksiyon ürünleri oluşmasına bağlanmaktadır.

Karotenoidlerin sucukta farklı formda kullanımı ile ilgili yapılan değerlendirmede, sucukların başlangıç ve 30. gün a^* değerinin istatistiksel olarak ($p<0,01$) önemli bulunmuştur. Sucukta kullanılan karotenoid formunun yanı sıra farklı hammaddelerin kullanılmış sucukların a^* değerini etkilemiş olacağı düşünülmektedir.

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımının sucukların başlangıç a^* değeri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak ($p<0,05$) önemli bulunmuştur. İlk gün ve 30. gün en yüksek a^* değeri 100ppm/kg nitrit ve %5 karotenoid kullanılarak üretilen C1 sucuk örneğinde belirlenmiştir. En düşük a^* değeri ise 50ppm/kg nitrit kullanılarak üretilen O4 sucuk örneğinde saptanmıştır. Nitrit kullanımının azalması ile sucuk kırmızılığının düştüğü, yüksek miktarda nitrit ve yüksek miktarda karotenoid kullanımında ise sucuk kırmızılığının yükseldiği belirlenmiştir.

Üren ve Babayiğit (1996), türk sucuğunun renk özelliklerini araştırmışlar ve 11 farklı sucuk örneğinin a^* değerini 6,86-14,14 belirlemişlerdir. Ansorena ve ark. (1997), İspanya'da üretilen 33 fermente sucuk örneğinde ortalama a^* değeri 17,06 olarak saptamışlardır. Chasco ve ark. (1996), İspanya'da yerel fabrikadan toplanan 13 sucuk örneğinde üretim süresince renk değişimini araştırmışlar ve sucuk hamurunda a^* değerini 21,71, 4. hafta sonunda ise a^* 17,61 belirlediklerini açıklamışlardır. a^* değerinin fermentasyon süresince düştüğünü açıklamışlardır.

Gimeno ve ark. (2000), İspanya’da üretilen fermente sucukların renk değerlerini araştırmışlar ve a* değeri 16,85-23,21 bulmuşlardır.

4.6.3.3. Sucuk Örneklerinde b* (Sarılık) Değeri

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların b* değeri ise sırasıyla Çizelge 4.13.’de, birinci ve 30. gün analizlerinin varyans analiz tablosu Ek 10 ve Ek 11’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.13. Farklı Miktarla Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucuklarda Belirlenen b* Değeri

	Zeytinyağında Çözündürülmüş		Dondurarak Kurutulmuş	
	0.gün	30.gün	0.gün	30.gün
OO(Kontrol)	12,47±1,20c	8,11±1,21c	29,45±6,18c	17,81±5,32c
O1(Kontrol)	12,63±0,63c	8,40±1,44c	28,67±4,37c	18,80±4,65c
O2(Kontrol)	12,67±0,69c	8,71±0,66c	28,98±6,30c	18,24±2,75c
O3(Kontrol)	13,40±1,29abc	8,88±1,12bc	32,20±2,81abc	23,10±2,44bc
A1	12,72±1,49bc	8,63±1,36c	30,96±3,44bc	18,94±8,94c
A2	12,97±1,04bc	8,68±1,17c	31,10±3,83bc	20,72±5,50c
A3	13,28±1,26bc	9,02±1,30c	31,12±2,79bc	20,96±3,52c
B1	14,13±1,53abc	9,43±1,26bc	34,08±8,48abc	21,98±7,41bc
B2	14,07±1,37abc	9,73±1,15abc	34,27±3,47abc	24,16±4,37abc
B3	13,78±0,94abc	9,63±1,43abc	37,15±5,30abc	26,11±4,28abc
C1	14,67±1,63abc	10,64±1,28abc	34,61±3,38abc	25,07±5,06abc
C2	14,45±1,47a	10,73±1,28ab	39,47±3,63a	30,69±6,44ab
C3	14,45±1,08ab	11,58±0,70a	37,96±5,12ab	31,37±7,36a

O1(kontrol):150 ppm nitrit, O2(kontrol):100 ppm nitrit, O3(kontrol):80 ppm nitrit, O4(kontrol):50 ppm nitrit, A1:100 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A2:80 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A3:50 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, B1:100 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B2:80 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B3:50 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, C1:100 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C2:80 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C3:50 ppm nitrit ve %1karotenoid

Farklı harfler *α=0,01güven sınırında önemli farklılıkları gösterir

Araştırmada b* değeri ortalamaları, zeytinyağında çözündürülmüş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda birinci gün 12,72±1,4-14,67±1,63, 30. günde ise 8,63±1,36-11,58±0,70 belirlenmiştir. b* değeri ortalamaları dondurarak kurutulmuş

karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda birinci gün $39,47 \pm 3,6$ - $30,96 \pm 3,44$, 30. günde ise $18,94 \pm 8,94$ - $31,37 \pm 7,36$ belirlenmiştir.

Çizelge 4.13.'de görüldüğü gibi farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların b^* değeri başlangıç sucuk örneklerine göre 30. günde daha düşük belirlenmesi, sucukların 30. günde başlangıca göre daha sarı renkte olduğunu ifade etmektedir. Chasco ve ark. (1996) tarafında yapılan bir araştırmada da b^* değerinin fermentasyon süresince % 44 oranında azaldığını açıklamışlardır.

Karotenoidlerin sucukta farklı formda kullanımında sucukların başlangıç ve 30. gün b^* değerinin istatistiksel olarak önemli bulunmasıyla, sucuk örneklerinde karotenoidlerin farklı formda kullanımı sucukların sarılığını etkileyebileceği bulunmuştur. Ancak, kullanılan hammadde farklılığı da, farklı karotenoid kullanılarak üretilen sucukların b^* değerini değiştirebilmesi söz konusudur.

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımı sucukların başlangıç ve 30. gün b^* değeri ($p < 0,05$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. O. örneklerinde en yüksek b^* değeri C3 (50ppm nitrit+%1 karotenoid) ve C2 (80ppm nitrit+%1 karotenoid) kullanılan sucuk örneklerinde belirlenmiştir. En düşük sarılık değeri ise kontrol örneklerinde OO (150ppm nitrit), O1 (100ppm nitrit) ve O3 (80ppm nitrit) saptanmıştır. Sucuklarda sarılık renginin, karotenoid miktarının artması ve nitrit miktarının azalması ile yükseldiği belirlenmiştir.

Üren ve Babayiğit (1996), Türk sucuğunun renk özelliklerini araştırmışlar ve 11 farklı sucuk örneğinin b^* değeri 10,14-17,62 belirlemişlerdir. Ansorena ve ark. (1997), İspanya'da üretilen 33 fermente sucuk örneğinde ortalama b^* değeri 12,20 olarak saptamışlardır. Chasco ve ark. (1996), İspanya'da yerel fabrikadan toplanan 13 sucuk örneğinde üretim süresince renk değişimini araştırmışlar ve sucuk hamurunda b^* değerini 7,82, 4. hafta sonunda ise b^* 6,11 belirlediklerini açıklamışlardır. b^* değerinin fermentasyon süresince %44 oranında azaldığını belirtmişlerdir. Gimeno ve ark. (2000), İspanya'da üretilen fermente sucukların renk değerlerini araştırmışlar ve b^* değeri 10,63-17,65 bulmuşlardır.

4.6.4.Duyusal Analiz

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda 10 kişilik panelist tarafından duyu analizi yapılmıştır. Panelistler, renk tercihlerine göre sucukları 10 ile 0 arasında puanlamışlardır. 30. gün belirlenen duyu renk puanları Çizelge 4.14.'de,, 30.gün analizlerinin varyans analiz tablosu Ek 12'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. Farklı Miktarla Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların Duyu Renk Puanları

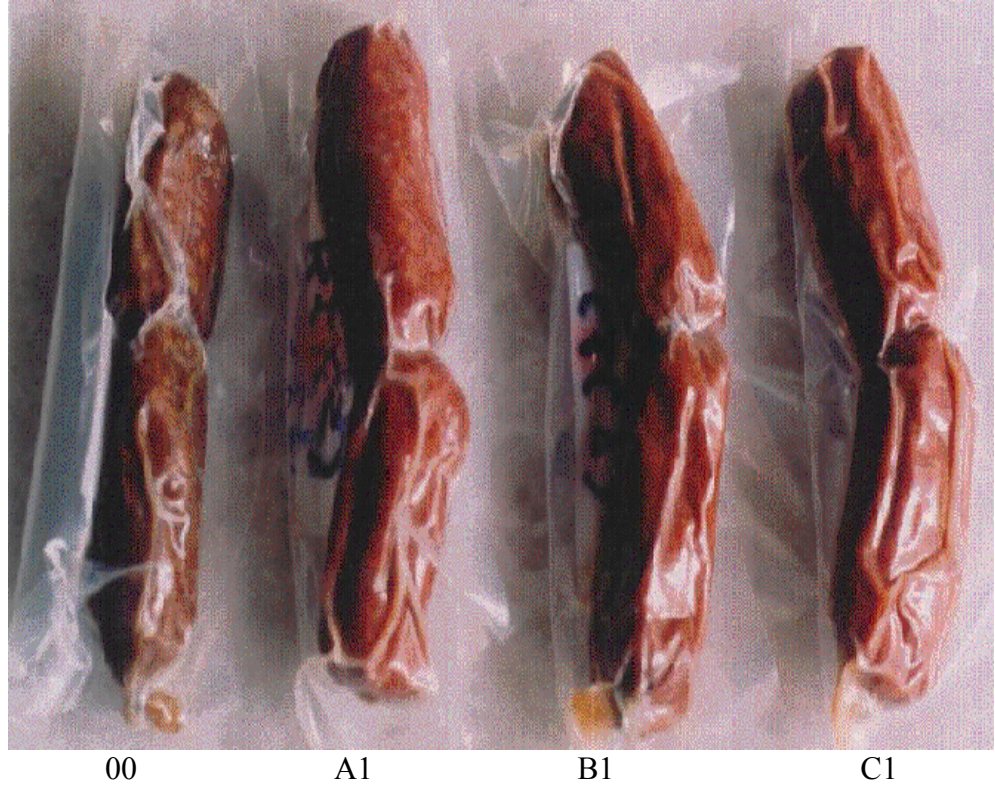
	Zeytinyağında Çözündürülmüş	Dondurarak Kurutulmuş
OO(Kontrol)	8,20±1,87a	7,5±0,9a
O1(Kontrol)	7,10±1,29ab	6,5±1,1ab
O2(Kontrol)	7,30±1,42ab	6,6±1,3ab
O3(Kontrol)	7,00±1,63b	5,4±1,2b
A1	7,70±1,25a	7,0±0,9a
A2	7,70±1,34ab	6,5±1,3ab
A3	7,80±1,03a	6,6±1,1a
B1	8,20±1,81a	7,0±0,7a
B2	7,90±0,88a	6,6±1,0a
B3	7,70±1,64ab	6,5±0,8ab
C1	8,30±1,42a	7,1±0,9a
C2	7,60±1,78a	6,8±1,2a
C3	7,60±1,71ab	7,1±0,9ab

O1(kontrol):150 ppm nitrit, O2(kontrol):100 ppm nitrit, O3(kontrol):80 ppm nitrit, O4(kontrol):50 ppm nitrit, A1:100 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A2:80 ppm nitritve %0,1 karotenoid, A3:50 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, B1:100 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B2:80 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B3:50 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, C1:100 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C2:80 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C3:50 ppm nitrit ve %1karotenoid

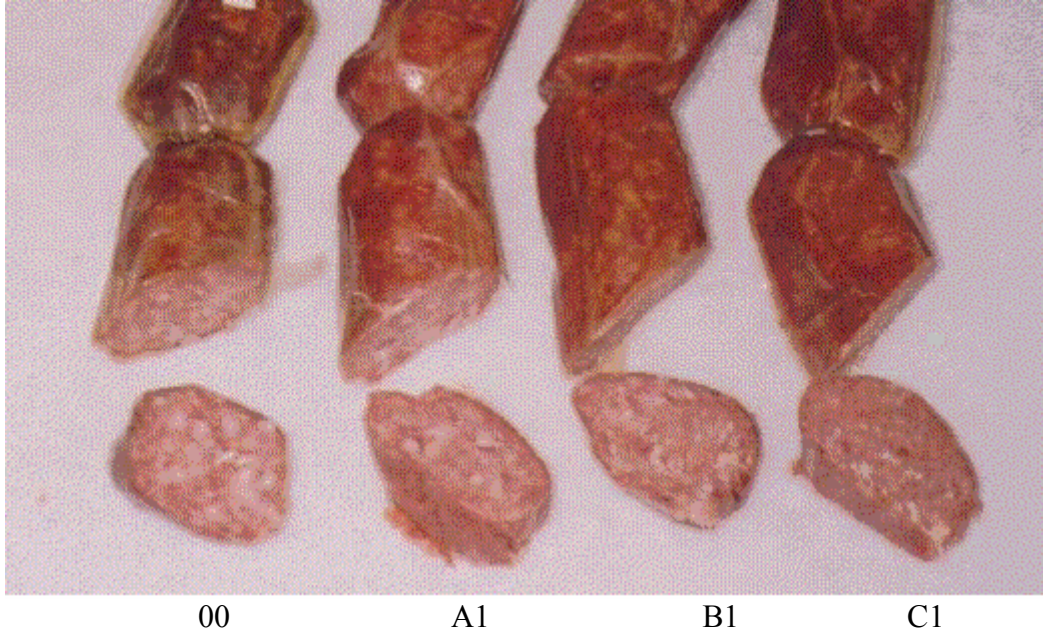
Çizelge.4.14'de görüldüğü gibi farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların duyu renk puanları arasındaki istatistiksel fark ($p<0,01$) önemli bulunmuştur. 150ppm nitrit kullanılarak üretilen OO kontrol sucuk örneği ile, A1 (100 ppm nitrit+%0,1 karoten), A3 (50 ppm nitrit+%0,1karoten), B1 (100ppm nitrit+%0,5 karoten), B2 (80ppm nitrit+%0,1 karoten), C1 (100ppm nitrit+%1 karoten) ve C2 (80 ppm nitrit+%1 karoten) panelistler tarafından aynı oranda tercih edilmiştir. Ancak, 50 ppm/kg nitrit kullanılarak üretilen kontrol grubu

sucuk örneği (O4) rengi açısından %1 güven sınırında panelistler tarafından daha düşük oranda tercih edilmiştir. Şekil 4.1 ve 4.2.'de sucuk örnekleri görülmektedir.

Ayrıca, zeytinyağında çözünmüş ve dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucukların duyusal renk puanları istatistiksel olarak ($p<0,01$) önemli bulunmuştur. Zeytinyağında çözündürülmüş olarak karotenoid kullanılarak üretilen sucuklar biraz daha yüksek duyusal renk puanı almıştır. Bunun nedeni olarak da zeytinyağında çözündürülmüş olarak karotenoid kullanılmasında daha iyi çözünürlüğün ve dağılımın sağlandığı düşünülmüştür.



Resim 4.2.Vakum Paketlenmiş Sucuk Örnekleri



Resim 4.3.Sucuk Örneklerinin Kesiti

4.6.5. Sucuk Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Sucuk örneklerinin hijyenik kontrolü amacıyla toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı ve *Enterobacteriaceae* sayımı yapılmıştır.

4.6.5.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayım Sonuçları

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı Çizelge 4.15.'de, birinci ve 30. gün analizlerinin varyans analiz tablosu Ek 13 ve Ek 14'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.15. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı (log kob/g)

	Zeytinyağında Çözündürülmüş		Dondurarak Kurutulmuş	
	0.gün	30.gün	0.gün	30.gün
OO(Kontrol)	7,29±0,19	3,77±0,43	7,07±0,23	4,21±0,80
O1(Kontrol)	7,00±0,49	6,69±0,22	6,94±0,31	6,27±0,29
O2(Kontrol)	7,17±0,65	6,64±0,88	7,28±0,42	6,64±0,73
O3(Kontrol)	7,46±0,58	7,03±0,96	7,39±0,37	6,89±0,16
A1	7,05±0,73	6,40±0,55	6,82±0,15	6,16±0,18
A2	7,58±0,46	6,71±0,89	6,52±0,47	6,24±0,46
A3	7,66±0,42	6,64±0,57	7,15±0,67	6,81±0,16
B1	7,25±0,12	6,91±0,40	7,14±0,19	6,63±0,32
B2	7,28±0,05	6,88±0,40	7,22±0,44	6,40±0,50
B3	7,32±0,56	6,65±0,41	7,38±0,61	6,50±0,53
C1	7,08±0,55	6,49±0,51	7,28±0,52	6,36±0,46
C2	7,27±0,93	6,52±0,46	7,15±0,65	6,15±0,83
C3	7,51±0,48	6,60±0,49	6,91±0,17	6,25±0,55

O1(kontrol):150 ppm nitrit, O2(kontrol):100 ppm nitrit, O3(kontrol):80 ppm nitrit, O4(kontrol):50 ppm nitrit, A1:100 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A2:80 ppm nitritve %0,1 karotenoid, A3:50 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, B1:100 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B2:80 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B3:50 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, C1:100 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C2:80 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C3:50 ppm nitrit ve %1karotenoid

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımında sucuk örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında istatistiksel ($p<0,05$) olarak önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Çizelge 4.15.'de görüldüğü gibi, sucuk örneklerinde birinci gün

toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı $6,52 \pm 0,47$ - $7,66 \pm 0,42$ log kob/g, 30. günde ise $6,15 \pm 0,83$ - $7,03 \pm 0,96$ log kob/g bulunmuştur.

Sucuk örneklerinin 30. gün toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı başlangıç sucuk örneklerine göre daha düşük saptanmıştır. Ancak birinci gün ve 30. gün toplam aerobik mezofilik bakteri sayımları istatistiksel olarak ($p > 0,05$) önemli bulunmamıştır. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısındaki değişimin az olmasının nedeni, sucuklarda laktik asit bakterilerinin gelişimine ve üretim ve fermentasyon sırasında herhangi bir mikrobiyel bulaşının olmamasına bağlayabiliriz. Zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda da aerobik mezofilik bakteri sayımları istatistiksel olarak ($p > 0,05$) önemli bulunmamıştır.

Bozkurt ve Erkmen (2004), nitrat kullanılarak ürettikleri sucukların toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını birinci günde 7,54 log kob/g belirlemişler, 45. günde ise 6,18-6,78 log kob/g olarak saptamışlardır. Çolak ve Uğur (2002) ise, fermente sucuklarda toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını fermentasyonun ilk günü 7,05 log kob/g bulduklarını, fermentasyonun sonunda ise bu çalışmanın aksine toplam aerobik mezofilik bakteri sayısını 8,31 log kob/g olarak belirleyerek artış olduğunu gözlemişlerdir.

4.6.5.2. *Enterobacteriaceae* Sayım Sonuçları

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların *Enterobacteriaceae* sayım sonuçları Çizelge 4.16.'da, birinci ve 30.gün analizlerinin varyans analiz tablosu ise Ek 15 ve Ek 16'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.16. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların *Enterobacteriaceae* Sayımı (log kob/g)

	Zeytinyağında Çözündürülmüş		Dondurarak Kurutulmuş	
	0.gün	30.gün	0.gün	30.gün
OO(Kontrol)	4,62±0,59	<1,00b	5,05±0,38	<1,00b
O1(Kontrol)	3,48±0,48	<1,00b	4,75±0,43	<1,00b
O2(Kontrol)	3,89±0,35	<1,00b	4,89±0,34	<1,00b
O3(Kontrol)	4,09±0,39	<1,00b	5,18±0,64	<1,00b
A1	4,27±0,66	<1,00b	4,61±0,45	<1,00b
A2	4,59±0,43	<1,00b	4,96±0,26	<1,00b
A3	4,55±0,27	1,26±0,07a	4,89±0,35	<1,00a
B1	4,67±0,33	<1,00b	4,65±0,36	<1,00b
B2	3,90±0,33	<1,00b	4,92±0,33	<1,00b
B3	5,04±0,79	1,63±0,06a	4,71±0,38	<1,00a
C1	4,37±0,93	<1,00b	4,71±0,34	<1,00b
C2	3,63±0,55	<1,00b	5,12±0,71	<1,00b
C3	4,46±1,44	1,72±0,12ab	4,87±0,89	<1,00ab

O1(kontrol):150 ppm nitrit, O2(kontrol):100 ppm nitrit, O3(kontrol):80 ppm nitrit, O4(kontrol):50 ppm nitrit, A1:100 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A2:80 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, A3:50 ppm nitrit ve %0,1 karotenoid, B1:100 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B2:80 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, B3:50 ppm nitrit ve %0,5 karotenoid, C1:100 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C2:80 ppm nitrit ve %1 karotenoid, C3:50 ppm nitrit ve %1 karotenoid

Sucukların birinci gün örneklerinde, farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımında *Enterobacteriaceae* sayısında istatistiksel ($p<0,05$) olarak önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Çizelge 4.15.'de görüldüğü gibi, birinci gün sucuk örneklerinde *Enterobacteriaceae* sayısı $3,63\pm0,55$ - $5,18\pm0,64$ log kob/g belirlenmiştir. 30 günde ise sadece A3, B3 ve C3 sucuk örneklerinin *Enterobacteriaceae* sayısının istatistiksel ($p<0,0$) olarak önemli bir fark olduğu saptanmıştır. 50ppm nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen bu sucuk örneklerinde (A3, B3, C3) *Enterobacteriaceae* bakterilerin canlılığını sürdürdüğünü belirlenmiş, diğer sucuk örneklerinde ise *Enterobacteriaceae*'ya rastlanmamıştır (<1 log kob/g).

Sucuk örneklerinin 30. gün *Enterobacteriaceae* sayımı başlangıç sucuk örneklerine göre daha düşük saptanarak, istatistiksel olarak ($p<0,05$) önemli bulunmuştur. Bir örnek hariç diğer tüm sucuk örneklerde *Enterobacteriaceae*'ya rastlanmaması, önemli ölçüde sucuklarda laktik asit bakterilerinin gelişimi ile ortam

asitliğinin artmasına bağlıdır. Ayrıca, olgunlaşma sırasında pH'nın düşmesinin yanı sıra a_w aktivitesindeki düşüş nedeni ile tuz konsantrasyonunun artması *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin gelişimini inhibe etmektedir (Çolak ve Uğur, 2002). Zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda *Enterobacteriaceae* sayısı istatistiksel olarak ($p<0,05$) önemli bulunmamıştır.

Hernandez-Jover ve ark. (1997), farklı starter kültür kullanılarak üretilen fermente sucuklarda olgunlaşma süresince *Enterobacteriaceae* sayımlarının azaldığını belirlemişlerdir. Bover-Cid ve ark. (1999), *Enterobacteriaceae* sayımı başlangıçta $1,13\pm0,04$ log kob/g, olgunlaşmanın 21. gününde ise <1 log kob/g olarak saptamışlardır. Bover-Cid ve ark. (2001), *Enterobacteriaceae* sayımını starter kültür kullanılmayan örneklerde birinci gün 2,35 log kob/g, 21. gün 3,57 log kob/g, starter kültür kullanılan örneklerde ise, birinci gün 3,05-3,37 log kob/g, 21.gün <1 log kob/g belirlemişlerdir. Cocolin ve ark. (2001), *Enterobacteriaceae* ve fekal enterokok sayımları olgunlaşma süresince düştüğünü saptamışlardır. Çolak ve Uğur (2002), fermente sucuklarda *Enterobacteriaceae* sayısı fermantasyondan önce, 4,86 log kob/g olarak bulduklarını, sucukların olgunlaşma sonunda ise 1,27 log kob/g, olarak belirlediklerini açıklamışlardır. Galgano ve ark. (2003), artisan sucuklarının olgunlaşma esnasında *Enterobacteriaceae* gelişimini araştırmışlardır. Araştırma sonunda *Enterobacteriaceae* sayımları başlangıçta 10^3 - 10^4 kob/g belirlemişler, ancak 7. gün fermantasyon süresi sonunda *Enterobacteriaceae* bulunmadığını belirtmişlerdir. Ayhan ve ark. (1999), Türk sucuğunda *Enterobacteriaceae* sayısını, birinci gün 3,20 log kob/g, 30. gün ise, 2,05-4,83 log kob/g belirlediklerini açıklamışlardır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, çeşitli ortamlardan izole edilen kırmızı-pembe renkli maya suşları tanımlanmış ve ürettikleri toplam karotenoid miktarları incelenmiştir. Daha sonra yüksek karotenoid üreten maya türleri seçilerek, karotenoid miktarını artırmak amacı ile MNNG ve UV kullanılarak mutant mayaları elde edilmiş ve bu mayaların ürettiği karotenoid miktarları saptanmıştır. Mutant mayanın ürettiği karotenoid miktarını artırmak amacıyla bu kez gelişim koşullarının optimizasyonuna yönelik olarak farklı inokülasyon oranı, farklı pH ve farklı karbon kaynağında ürettiği toplam karotenoid miktarları belirlenmiştir.

Mutant maya sucuk üretiminde kullanılacak olan karotenoidin eldesi için fermentörde geliştirilerek karotenoid ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen karotenoid ise zeytinyağında çözündürülmüş ve dondurarak kurutulmuş olmak üzere iki farklı formda Türk sucuğu üretiminde renk maddesi olarak kullanılmıştır.

Çeşitli ortamlardan izole edilen 100 maya suşu, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula minuta*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula araucariae*, *Rhodotorula armeniaca*, *Rhodotorula bacarum*, *Rhodotorula bogoriensi*, *Rhodotorula fujisanensis*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodotorula hasegawae*, *Rhodotorula muscorum*, *Rhodotorula phylloplana*, *Rhodotorula aurantiaca*, *Rhodotorula hordea*, *Rhodotorula lactosa* olarak tanımlanmıştır. İzole edilen maya Maya türlerinin %20'si *Rhodotorula glutinis* olarak tanımlanmıştır.

Maya türlerinin ortalama toplam karotenoid miktarları 0,89-3,63 mg/L belirlenmiştir. *Rhodotorula glutinis* 26'nın en yüksek toplam karotenoid miktarını ürettiği bulunmuştur.

Diğer suşlara göre yüksek karotenoid üreten *Rhodotorula glutinis* (15, 14, 19, 26,27, 28), *Rhodotorula mucilaginosa* (16, 25) ve *Rhodotorula minuta* (23, 31) suşlarından MNNG ve UV mutajenleri kullanılarak mutant mayalar elde edilmiştir.

Mutasyon işleminde, MNNG mutasyonunda elde edilen mutant mayaların, UV mutasyonunda elde edilen mutant mayalara göre daha yüksek miktarda toplam karotenoid oluşturduğu ve daha koyu kırmızı renkte olduğu saptanmıştır. Yüksek miktarda karotenoid üretmesi ve daha koyu kırmızı koloni rengi nedenleriyle mutant

Rhodotorula mucilaginosa 16 Türk sucuğunda renk maddesi olarak kullanılmak üzere seçilmiştir.

Rhodotorula mucilaginosa 16 mutant mayasının gelişme koşullarının optimizasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda ise, %2 inokülasyon oranında, pH 5,5-6,0 ve glikoz kullanımı sonucu en fazla toplam karotenoid üretimi elde edilmiştir.

Farklı miktarda nitrit (100ppm, 80ppm ve 50ppm) ve karotenoid (%0,1, %0,5 ve %1) kullanılarak üretilen Türk sucuğunda pH değeri, % nem, renk ölçümleri (L, a*, b*değeri), toplam aerobik mezofilik bakteri ve *Enterobacteriaceae* sayımlarının yanı sıra duyuusal renk analizleri gerçekleştirilmiştir.

pH değeri ortalamaları, zeytinyağda çözündürülen karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda birinci gün 6,17-6,40, 30. günde 4,72-4,99 olarak belirlenmiştir. Dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda ise birinci gün 5,88-6,10, 30. günde 4,80-4,99 olarak belirlenmiştir. Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda, birinci gün pH değerleri arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı belirlenmiş, ancak 30. gün pH değeri üzerinde %5 güven sınırında önemli düzeyde fark belirlenmiş, ancak farklı miktarda nitrit ve karoten kullanımı ile pH değeri değişimi arasında bir ilişki belirlenmemiştir.

Sucuklarda nem oranı ortalamaları zeytinyağda çözündürülmüş karotenoid kullanılarak üretilen örneklerde birinci gün 51,35-52,48, 30. günde 27,60-35,26 olarak belirlenmiştir. Dondurarak kurutulmuş karotenoid kullanılarak üretilen sucuklarda nem oranı ortalamaları birinci gün 56,41-58,60, 30. günde 31,78-36,84 olarak belirlenmiştir. Sucuk örneklerinin nem oranı üzerine farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımının birinci gün örneklerde %1 güven sınırında önemli düzeyde fark olmadığı, 30. gün örneklerde ise %1 güven sınırında önemli düzeyde fark belirlenmiştir. Ancak, pH sonuçlarında olduğu gibi, farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımı ile sucukların nem oranlarındaki değişim arasında bir ilişki belirlenmemiştir.

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımında sucukların başlangıç ($p<0,01$) ve 30. gün ($p<0,05$) L değeri istatistiksel olarak önemli belirlenmiştir. En yüksek L değeri 50ppm/kg nitrit ve %5 karotenoid kullanılarak üretilen C3 sucuk örneğinde belirlenmiştir. En düşük L değeri ise 150 ppm/kg nitrit kullanılarak

üretileen OO sucuk örneklerinde saptanmıştır. Yüksek miktarda nitrit kullanımında oluşaan kahve-kırmızı renk nedeniyle sucuk renginin koyuluk oranının arttığı, karotenoid kullanımında ve düşük miktarda nitrit kullanımında ise sucuk renginin koyuluk oranının azaldığı bulunmuştur.

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımı sucukların başlangıç ve 30.gün a* değeri istatistiksel olarak ($p<0,05$) önemli belirlenmiştir ilk gün ve 30. gün en yüksek a* değeri 100ppm/kg nitrit ve %5 karotenoid kullanılarak üretilen C1 sucuk örneğinde belirlenmiştir. En düşük a* değeri ise 50 ppm/kg nitrit kullanılarak üretilen O4 (kontrol) sucuk örneklerinde saptanmıştır. Nitrit kullanımının azalması ile sucuk kırmızılığının düştüğü, yüksek miktarda nitrit ve yüksek miktarda karotenoid kullanımında ise sucuk kırmızılığının yükseldiğı belirlenmiştir.

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımı sucukların başlangıç ve 30. gün b* değeri ($p<0,05$) istatistiksel olarak önemli belirlenmiştir. Örneklerinde en yüksek b* değeri C3 (50ppm nitrit+%1 karotenoid) ve C2 (80ppm nitrit+%1 karotenoid) kullanılan sucuk örneklerinde belirlenmiştir. En düşük sarılık değeri ise kontrol örneklerinde OO (150ppm nitrit), O1 (100ppm nitrit) ve O3 (80ppm nitrit) saptanmıştır. Sucuklarda sarılık renginin, karotenoid miktarının artması ve nitrit miktarının azalması ile yükseldiğı belirlenmiştir.

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanılarak üretilen sucukların duyusal renk puanları istatistiksel olarak ($p<0,01$) önemli bulunmuştur. 150ppm nitrit kullanılarak üretilen OO kontrol sucuk örneğı ile, A1 (100ppm nitrit+%0,1karoten), A3 (50ppm nitrit+%0,1karoten), B1 (100ppm nitrit+%0,5 karoten), B2 (80ppm nitrit+%0,1 karoten), C1 (100ppm nitrit+%1 karoten) ve C2 (80ppm nitrit+%1 karoten) istatistiksel açıdan ($p<0,01$) aynı oranda tercih edilmiştir. Ancak, 50ppm/kg nitrit kullanılarak üretilen kontrol grubu sucuk örneğı (O4) rengi açısından %1 güven sınırında panelistler tarafından daha düşük oranda tercih edilmiştir.

Farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımında sucuk örneklerinin birinci ve 30. gün toplam aerobik mezofilik bakteri sayısında istatistiksel ($p<0,05$) olarak önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Birinci gün sucuk örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı $6,52\pm0,47$ - $7,66\pm0,42$ log kob/g, 30 gün sucuk örneklerinde

belirlenen toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı $6,15 \pm 0,83 - 7,03 \pm 0,96$ log kob/g bulunmuştur.

Birinci gün örneklerinde farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımında sucuk örneklerinin *Enterobacteriaceae* sayısında istatistiksel ($p < 0,05$) olarak önemli bir farklılık belirlenmemiştir. Birinci gün sucuk örneklerinde sayısı $3,63 \pm 0,55 - 5,18 \pm 0,64$ log kob/g olarak belirlenmiştir. 30. gün sucuk örneklerinde ise farklı miktarda nitrit ve karotenoid kullanımında sucuk örneklerinin istatistiksel ($p < 0,0$) olarak önemli oranda farklı olduğu saptanmıştır. 50ppm nitrit ve karotenoid kullanılan sucuk örneklerinde (A3,B3, C3) *Enterobacteriaceae* bakterilerin canlılığını sürdürdüğü, diğer sucuk örneklerinde ise *Enterobacteriaceae* sayımı belirlenmemiştir (< 1 log kob/g).

Sonuç olarak karotenoidlerin elde edilmesinde doğal bir kaynak olarak mayaların kullanılabileceği ve çeşitli faktörlerle (inokülasyon oranı, pH, karbon kaynağı, mutajenler) mayaların ürettiği karotenoid miktarının artırılabilceği belirlenmiştir.

Mayalardan elde edilen karotenoidin Türk sucuğunda renk maddesi olarak kullanılmasıyla, sucuklarda kırmızılık artmıştır. Ayrıca, duyuşal değerdendirmede de 150ppm nitrit içeren ve karotenoid kullanılmayan sucuklarla, düşük miktarda nitrit ve farklı miktarlarda karotenoid içeren sucuklar aynı oranda tercih edilmiştir. Bu da, mayalardan elde edilen karotenoidin az miktarda nitrit ilavesi ile üretilecek olan Türk sucuklarında renk kalitesini iyileştirmek amacı ile kullanılabileceğini göstermektedir. Türk sucuğundan daha açık renkte olan diğer et ürünlerinde de bu çalışmanın tekrarlanması yararlı olacaktır.

Mayanın ürettiği karotenoid miktarını arttırmak amacı ile bu çalışmada sınırlı düzeyde yapılan gelişme koşulları ile ilgili optimizasyon çalışmaları da genişletilerek tekrarlanmalıdır.

Ayrıca, karotenoidin renk maddesi olarak kullanılabiliirliği farklı gıdalarda da araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- ABOUDI, A.R., AYOUB, A.S., 1987. The Significance of Yeasts and Molds Isolated from Meat Produced in Mosul [Iraq]. Zagazig Veterinary Journal (Egypt), 15(2), 154-165s.
- ACHEAMPONG, E.A., MARTIN, A.M., 1995. Kinetic Studies on the Yeast *Phaffia rhodozyma*. Journal of Basic Microbiology, 35(3), 147-155s.
- AGARWAL, K., MUKHERJEE, A., SHARMA, A., 1993. In vivo cytogenetic studies on male mice exposed to Ponceau 4R and beta-carotene. Cytobios, 74(296), 23-28s.
- AHN, G.H., 1996. Astaxanthin Production from the Red Yeast *Phaffia rhodozyma*. Microorganisms and Industry, 22(2), 128-136s.
- AKIBA, Y., SATO, K., TAKAHASHI, K., MATSUSHITA, K., KOMIYAMA, H., TSUNEKAWA, H., NAGAO, H., 2001. Meat Color Modification in Broiler Chickens by Feeding Yeast *Phaffia rhodozyma* Containing High Concentration of Astaxantin, J. Appl. Poult. Res., 10, 154-161s.
- ALKIN, E., 2003. Et Ürünlerinde Nitrat, Nitrit ve Nitrozaminler. <http://izmir-who.org/kutuphane.asp?talep=konu&id=129>
- ALMEIDA-JOÃO, M.G.C.F. 2005. Yeast Community Survey in The Tagus Estuary. FEMS Microbiology Ecology, 53(2), 295-303s.
- ALTUĞ, T., 2001. Gıda Katkı Maddeleri. Meta Basım, Bornova, İzmir, 281s.
- AN, G.H., JANG, B.G., CHO, M.H., 2001. Cultivation of the Carotenoid-Hyperproducing Mutant 2A2N of the Red Yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous* (*Phaffia rhodozyma*) with Molasses. Journal of Bioscience and Bioengineering, 92, 2, 121-125s.
- AN, G.H., SCHUMAN, D.B., JOHNSON, E.A., 1989. Isolation of *Phaffia rhodozyma* Mutants with Increased Astaxantin Content, Applied and Environment Microbiology, 55(1), 116-124s.
- ANDRES, C., 1987. Natural Color System, Systems Overcome Potential Deficiencies of Natural Products. Food Processing, 2, 46-50s.
- ANONYMOUS, 1989. Et ve Et Mamülleri-*Enterobakterilerin* Aranması ve Sayımı. TS 7726.

- ANONYMOUS, 1991. Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, 7.6.1991 Gün ve 20541 Sayılı Resmi Gazete. Başbakanlık Basımevi, Ankara.
- ANONYMOUS, 2000. Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği. Tebliğ No 2000-4/23960.
- ANONYMOUS, 2002a. Türk Gıda Kodeksi Gıdalarda Kullanılan Renklendiriciler Tebliği (Tebliğ No:2002/ 55), Resmi Gazete: 25.8.2002-24857.
- ANONYMOUS, 2002b. Gıda Maddelerinde Kullanılan Renklendiricilerin Saflık Kriterleri Tebliği, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği 24722
- ANONYMOUS, 2002c. TS 1070 Türk Sucuğu.
- ANSORENA, D., DE PEÑA, M.P., ASTÍASARÁN, I., BELLO, J., 1997. Colour Evaluation of Chorizo de Pamplona, a Spanish Dry Fermented Sausage: Comparison Between the CIE L* a* b* and the Hunter Lab Systems with Illuminants D65 and C. Meat Science, 46(4), 313-318s.
- ASTORG, P., 1997. Food Carotenoids and Cancer Prevention: An Overview of Current Research. Trend in Food science and Technology, 12(8), 406-413s.
- AVILA, A., GARCIA-HERNANDEZ, F., SANTOS, E., 1983. Fermentation of an Aqueous Extract of Mexican Beets *Beta vulgaris* to Obtain Red Colorants. Journal of Japanese Society of Food Science and Technology, 30 (5) 270-275s.
- AYHAN, K., KOLSARICI, N., ÖZKAN G., A., 1999. The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish Soudjoucks. Meat Science, 53,(3), 183-188s.
- AZEREDO, L.A.I., GOMES, E.A.T., MENDONÇA-HAGLER, L.C., HAGLER, A.N., 1998. Yeast Communities Associated with Sugarcane in Campos, Rio De Janeiro, Brazil 205. Internatl Microbiol,1, 205–208s.
- BAĞDATLIOĞLU, N., DEMİRBÜKER, B., 1999. Gıda İşlemede Karotenoidlerde Meydana Gelen Gelişmeler. Gıda, 9, 48-51s.
- BARNETT, J.A., PAYNE, R.W., YARROW, D., 1990. Yeasts Characteristics and Identification, Cambridge University Press, Cambridge, London, New York, 887s.

- BHOSOLE, P., GADRE, R.V., 2001a. Optimization of Carotenoid Production from Hyper-Producing *Rhodotorula glutinis* Mutant 32 by a Factorial Approach. Letters in Applied Microbiology, 33, 12-16s.
- BHOSOLE, P., GADRE, R.V., 2001b. β -Carotene Production in Sugarcane Molasses by a *Rhodotorula glutinis* Mutant. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 26, 327-332s.
- BHOSOLE, P., GADRE, R.V., 2001c. Production of β -Carotene by a Mutant of *Rhodotorula glutinis*. Applied Microbiology and Biotechnology, 55, 423-427s.
- BHOSALE, P., GADRE, R.V., 2001d. Production of Beta-carotene by a *Rhodotorula glutinis* Mutant in Sea Water Medium. Bioresource Technology, 76(1), 53-55s.
- BHOSALE, P. GADRE, R.V. 2002. Manipulation of Temperature and Illumination Conditions for Enhanced β -carotene Production by Mutant 32 of *Rhodotorula glutinis*. Letters in Applied Microbiology, 34, 349–353s.
- BLOUKAS, J.G., ARVANITOYANNIS, I.S., SIOPI, A.A., 1999. Effect of Natural Colourants and Nitrites on Colour Attributes of Frankfurters. Meat Science, 52, 257-265
- BOLTON, W., BOOTH, E., DEWAR, W.A., WELLS, J.W., 1971. Fucoxanthin as an Egg-Yolk Colorant. Journal of the Science of Food and Agriculture, 22(7)349-353s.
- BON, J.A., LEATHERS, T.D. JAYASWAL, R.K., 1997. Isolation of Astaxanthin Overproducing Mutants of *Phaffia rhodozyma*, Biotechnology Letters, 19(2), 109-112s.
- BOSMA, T. L., DOLE, J.M., MANESS, N.O. 2003. Optimizing Marigold (*Tagetes erecta* L.) Petal and Pigment Yield, Crop. Sci., 43, 2118-2124s.
- BOVER-CID, S., IZQUIERDO-PULIDO, M., VIDAL-CAROU, M.C., 1999. Effect of Proteolytic Starter Cultures of *Staphylococcus* spp. on Biogenic Amine Formation During the Ripening of Dry Fermented Sausage. International Journal of Food Microbiology, 46, 95-104s.
- BOVER-CID, S., IZQUIERDO-PULIDO, M., 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, 3, 367-373s.
- BOZKURT, H., ERKMEN, O., 2004. Effect of Nitrate/nitrite on the Quality of Sausage (Sucuk) During Ripening and Storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 279-286s.
- BUCKENHUSKES, H.J., ELZOGHBI, M.S., SHEHATA, H.A., 1998. Color Optimization Of Egyptian Fresh Beef Sausage By Natural Colorants, Fleischwirtschaft Tom 78 (1), 68-71s.
- BUZZINI, P., MARTINI, A., GAETANI, M., TURCHETTI, B., PAGNONI, U.M., DAVOLI, P., 1995. Optimization of Carotenoids Production by *Rhodotorula glutinis* DBVPG 7021 as a Function of Trace Element Concentration by Means of Response Surface Analysis. Enzyme and Microbial Technology, 36, 687-692.
- BUZZINI, P., MARTINI, A., 1999. Production of Carotenoids by Strains of *Rhodotorula glutinis* Cultured in Raw Materials of Agro-Industrial Origin. Bioresource Technology, 71, 41-44s.
- BUZZINI, P., 2000. An Optimization Study of Carotenoid Production by *Rhodotorula glutinis* DBVPG 3853 from Substrates Containing Concentrated Rectified Grape Must as the Sole Carbohydrate Source. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 24 (1), 41-45s.
- BUZZINI, P. 2001. Batch and Fed-batch Carotenoid Production by *Rhodotorula glutinis*±*Debaryomyces castellii* Co-cultures in Corn Syrup. Journal of Applied Microbiology, 90, 843-847s.
- CAGNON, R., MARSAIOLI, A.J., RIALTO, V.B., PILLIG, R.A MANFLO., P., EGUCHI, S.Y. 1999. Microbial Screening for the Enantiospecific Production of Alkyl Esters of 4-Chloro-3-Hydroxybutanoic Acid Chemosphere. 38(10), 2243-2246s.
- CALLEWAERT, R., HUGAS, M., L. VUYST 2000. Competitiveness and Bacteriocin Production of *Enterococci* in the Production of Spanish-Style Dry Fermented Sausages International. Journal of Food Microbiology, 57, 33–42s.

- CALO, P., VELAZQUEZ, J.B., SIEIRO, C., BLANCO, P., LONGO, E., VILLA, T.G., 1995. Analysis of Astaxanthin and Other Carotenoid from Several *Phaffia rhodozyma* Mutants. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 43, 1396-1399s.
- CARDENAS, F., ALVAREZ, E., CASTRO-ALVAREZ, M., SANCHEZ-MONTERO J.M., VALMASEDA, M., ELSON, S.W., SINISTERRA, J., 2001. Screening and Catalytic Activity in Organic Synthesis of Novel Fungal and Yeast Lipases. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 14(4-6), 111-123s.
- CEMEROĞLU, B., KARADENİZ, F., 2001. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi,
- CHAND-GOYAL, T., SPOTTS, RA., 1996. Enumeration of Bacterial and Yeast Colonists of Apple Fruits and Identification of Epiphytic Yeasts on Pear Fruits in The Pacific Northwest United States. *Microbiol. Res.* 151(4), 427-432.
- CHASCO, J., LIZASO, G., BERIAIN, M.J., 1996. Cured Colour Development during Sausage Processing, *Meat Science*, 44(3), 203-211s.
- CHAUDHRY, Y., 2003. Carotenoids-Natural Food Colors and Health Benefits, Symposium 12, Interaction of Natural Colors with Other Ingredients, 7(19), 1-11s.
- CHEN, B., LIU, Z., 1999. Study on Biosynthesis of Carotenoid Using *Rhodotorula* sp.8. *Journal of Tsinghua University*, 39(10), 101-103s.
- CHEN, H.-M., MEYERS, S.P., 1983. Ensilage Treatment of Crawfish Waste for Improvement of Astaxantin Pigment Extraction. *Journal of Food Science*. 48, 1516-1520, 1555s.
- CHEN, M., JOHNS, M.R., 1993. Effect of pH and Nitrojen Source on Pigment Production by *Monascus purpureus*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 40, 132-138s.
- CHENA, Q., MOUA, S., HOUA, X., RIVIELLOB J.M., NIA, Z., 1998. Determination of Eight Synthetic Food Colorants in Drinks by High-Performance Ion Chromatography, *Journal of Chromatography*, 827(1), 73-81s

- CHI, Z., ZHAO, S., 2003. Optimization of Medium and Cultivation Conditions for Pullulan Production by A New Pullulan-Producing Yeast Strain. *Enzyme and Microbial Technology*. 33(2-3), 206-211s.
- CHUMPOLKULWONG, N., KAKIZONO, T., NAGAI, SHIRO, NISHIO, N., 1997. Increased Astaxanthin Production by *Phaffia rhodozyma* Mutants Isolated as Resistant to diphenylamine. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 83(5), 429-434s.
- COCOLIN, L., MANZANO, M., AGGIO, D., CANTONI, C., COMI, G., 2001. A Novel Polymerase Chain Reaction (PCR)-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) for the Identification of Micrococcaceae strains Involved in Meat Fermentation. Its Application to Naturally Fermented Italian Sausages. *Meat Science*, 57, 59-64s.
- COMI, G., D'AUBERT, S., CANTONI, C., 1982. Alternations in Fruit Yogurt. *Latte (Italy)*, 7(7-8), 543-546s.
- COSTA, I., MARTELLI, H.L., DA SILVA, I.M. POMEROY, D., 1987. Production of β -Carotene by a *Rhodotorula* Strain, *Biotechnology Letters*, 9(5), 373-375s.
- CRUZ, J.M., PARAJO, J.C., 1998. Improved Astaxanthin Production by *Phaffia rhodozyma* Growing on Enzymatic Wood Hydrolysates Containing Glucose and Cellobiose, *Food Chemistry*, 63(4), 479-484s.
- ÇOLAK, H., UĞUR, M., 2002. Farklı Muhafaza Sıcaklığı ve Süresinin Fermente Sucuklarda Biyojen Aminlerin oluşumu Üzerine Etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 26, 779-784s.
- ÇON, A.H., DOĞU, M., GÖKALP, H.Y., 2002. Afyon İlindeki Yüksek Kapasiteli Et İşletmelerinde Üretilen Sucukların Örneklerinin Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Periyodik Olarak Belirlenmesi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 26, 11-16s.
- DE ARAUJO, F.V., SOARES, C.A.G., HAGLER, A.N., MENDONCA-HAGLER, L.C., 1995. Ascomycetous Yeast Communities of Marine Invertebrates in A Southeast Brazilian Mangrove Ecosystem. 68(2), 91-99s.
- DEAK, T., BEUCHAT, L.R., 1993. Yeasts Associated with Fruit Juice Concentrates. *Journal of Food Protection*, 56(9), 777-782s.

- DELGADO-VARGAS, F., JIMENEZ, A.R., PAREDES-LOPEZ, O., 2000. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing and Stability. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 40(3), 173-289s.
- DEMİRAĞ, K., UYSAL, V., 2001. Renklendiriciler, T. Altuğ (editör), Gıda Katkı Maddeleri, 176-200s.
- DEMİRER A. 1974. Şekerdeki Boyaların İnce Tabaka Kromatografisi ile Tanımlanmaları Üzerine Araştırmalar. A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi. 21: 145s.
- DENİZCİ, A., 1990. *Phaffia rhodozyma* NRRLY-10921 Mayası ile Astaksantin Pigmentinin Üretimi ile İlgili Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 50s.
- DIKE, A.O., LATTNER, F., ZOLLITSCH, W., 1992. The Supplementation of Layers' Feed with the Yeast *Phaffia rhodozyma*-as Pigment Carrier, Archiv für Geflügelkunde, 5, 205-209s.
- DURNEV, A.D., TIURINA, L.S., GUSEVA, N.V., ORESHCHENKO, A.V., SEREDENIN, S.B., 1997. Mutagen-Modifying Effects of Beta-Carotene in Vivo. Genetika, 33(5), 717-720s.
- ELBE, J.H.V, KLEMENT, J.T., AMUNDSON, C.H., CASSENS, R.G., LINDSAY, R.C., 1974. Evaluation of Betalain Pigments as Sausage Colorants. Journal of Food Science, 39 (1) 128-132s.
- ERKKILÄ, S., 2001. Bioprotective and Probiotic Meat Starter Cultures for the Fermentation of Dry Sausage. Academic Dissertation, University of Helsinki Department of Food Technology 49s.
- ERKKILÄ, S., VENALAINEN, M., HIELM, S., PETAJA, E., PUOLANNE, E., MATTILA-SANDHOLM, T., 2000. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Dry Sausage Fermented by Probiotic Lactic Acid Bacteria, Journal of the Science of Food and Agriculture, 80:2101-2104s.
- FABRE, C.E., SANTERRE, A.L., LORET, M.O., BABERIAN, R., PAREILLEUX, A., GOMA, G., BLANC, P.J., 1993. Production and Food Applications of the Red Pigments of *Monascus ruber*, Journal of Food Science, 58(5), 1099-1110s.

- FALIH, A.M., 1998. Comparative Toxicity of Heavy Metals to Some Yeasts Isolated from Saudi Arabian Soil. *Bioresource Technology*, 64(3), 193-198s.
- FANG, T.J., CHENG, Y.S., 1993. Improvement of Astaxanthin Production by *Phaffia rhodozyma* through Mutation and Optimization of Culture Condition, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 75(6), 466-469s.
- FELL, J.W., BOEKHOUT, T., FONSECA, A., SAMPAIO, J.P., 2000. Basidiomycetous Yeasts in The Mycota -Volume VII, Part B.: 3-35. Systematics and Evolution Editor: McLaughlin DJ, McLaughlin EG, Lemke PA Springer-Verlag
- FERNÁNDEZ, M., HOZ, L. DE LA DÍAZ, O., CAMBERO, M.I., ORDÓÑEZ, J.A., 1995. Effect of the Pancreatic Lipase on the Ripening of Dry-Fermented Sausages-Part 1. Microbial, Physico-Chemical and Lipolytic Changes, *Meat Science*, 40, 159-170s.
- FERNANDEZ, M., ORDONEZ, J.A., BRUNA, J.M., HERRANZ, B., HOZ, L., 2000. Accelerated Ripening of Dry Fermented Sausage. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 201-209s.
- FLEET, G.H., MIAN, M.A., 1987. The Occurrence and Growth of Yeasts in Dairy Products. *International Journal of Food Microbiology*, 4(2), 145-155s.
- FONTANA, J.D., GUIMARAES, M.F., MARTINS, N.T., FONTANA, C.A., BARON, M., WYMAN, C.E., DAVISON, B.H., 1996a. Culture of the Astaxanthinogenic Yeast *Phaffia rhodozyma* in Low Cost Media, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 57(58), 413-422s.
- FONTANA, J.D., CZECZUGA, B., BONFIM, T.M.B., CHOCIAŁ, M.B., OLIVEIRA, B.H., GUIMARAES, M.F., BARON, M., 1996b. Bioproduction of Carotenoids: The Comparative Use of Raw Sugarcane Juice and Depolymerized Bagasse by *Phaffia rhodozyma*. *Bioresource Technology*, 58, 121-125s.
- FONTANA, J.D., CHOCIAL, M.B., BARON, M., GUIMARAES, M.F., MARASCHIN, M., ULHOA, C., FLORENCIO, J.A., BONFIM, T.M.B., DAVISON, B.H., FINKELSTEIN, M., WYMAN, C.E., 1997. Astaxanthinogenesis in the Yeast *Phaffia rhodozyma*: Optimization of Low

- Cost Culture Media and Yeast Cell Wall Lysis, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 63(65), 305-314s.
- FRENGOVA, G., SIMOVA, E., BESHKOVA, D., 1997. Caroteno Protein and Exopolysaccharide Production by co-cultures of *Rhodotorula glutinis* and *Lactobacillus helveticus*, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 18(4), 272-277s.
- FRENGOVA, G., SIMOVA, E., PAVLOVA, K., BESHKOVA, D., GRIGOROVA, D., 1994. Formation of Carotenoids by *Rhodotorula glutinis* in Whey Ultrafiltrate, *Biotechnology & Bioengineering*, 44(8), 888-894s.
- GALGANO, F., FAVATI, F., SCHIRONE, M., MARTUSCELLI, M., CRUDELE, M.A., 2003. Influence of Indigenous Starter Cultures on the Free Fatty Acids Content During Ripening in Artisan Sausages Produced in the Basilicata Region. *Food Technology and Biotechnology*, 47(3), 253-258s.
- GARDINÌ, F., SUZZI, G., LOMBARDI, A., GALGANO, F., CRUDELE, M.A., ANDRIGHETTO, C., SCHIRONE, M., TOFALO, R., 2001. A Survey of Yeasts in Traditional Sausages of Southern Italy. *FEMS Yeast Research*, 1(2), 161-167s.
- GAVRILOV, A.S., KISELEVA, A.I., MATUSHKINA, S.A., KORDYUKOVA, N.P., FEOFILOVA, E.P., 1996. Industrial Production of Lycopene by a Microbiological Method, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 32(5), 492-494s.
- GENÇ, M., 1999. Gıdalarda Doğal Renklendiricilerin Avantajları. *Gıda*, 10, 26-27s.
- GIMENO, O., ANSORENA, D., ASTIASARÂN I., BELLO, J., 2000. Characterization of Chorizo de Pamplona: Instrumental Measurements of Colour and Texture *Food Chemistry* 69, 195-200s.
- GIMENO, O., ASTIASARAN, I., 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, 23-29s.

- GIRARD, P., FALCONNIER, B., BRICOUT, J., VLADESCU, B., 1994. β -Carotene Producing Mutants of *Phaffia rhodozyma*, Applied Microbiol Biotechnology, 41(2), 183-191s.
- GONZÁLEZ-FANDOSA, M.E., SIERRA M., GARCÍA-LOPEZ, M.L., GARCÍA-FERNÁNDEZ M.C, OTERO A. 1999. The Influence of Manufacturing and Drying Conditions on the Survival and Toxinogenesis of *Staphylococcus aureus* in Two Spanish Dry Sausages (Chorizo and Salchichón). Meat Science, 52, 411-419s.
- GOTO, S., SUGIYAMA, J., HAMAMOTO, M., KOMAGATA, K., 1987. Saitoella, a New Anamorph Genus in the Cryptococcaceae to Accommodate two Himalayan Yeast Isolates Formerly Identified as *Rhodotorula glutinis*, Journal General applied Microbiology, 33, 75-85s.
- GOVINDASWAMY, V., VASUDEVAN, V., DÍVAKAR, S. 1999. Optimisation of Growth Parameters for the Production of Carotenoids by *Rhodotorula gracilis*. Z. Lebensm. Unters. Forsch. A., 208, 121–124s.
- GÖKALP, H.Y., 1985. N-Nitroso Bileşikleri, Kanserojenik etkileri, Çeşitli Gıdaların N- Nitrosamin İçerikleri ve Çeşitli Kaynaklardan Bünyeye alınan N-Nitrosamin Miktarı. Gıda Dergisi, 9(6), 317-323s.
- GU, W.L., AN, G.H., JOHNSON, E.A., 1997. Ethanol Increases Carotenoid Production in *Phaffia rhodozyma*, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 19(2), 114-117s.
- HAAN, A.-DE, BURKE, RM., BONT, JAM-DE, 1991. Microbial Production of Food Colorants, Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent, 56(4b), 1655-1660s.
- HAARD, N.F., 1988. Astaxantin Formation by the Yeast *Phaffia rhodozyma* on Molasses, Biotechnology Letters, 10(9), 609-614s.
- HARI, R.P.K., PATEL, T., MARTIN, A., 1992. A new strain of *Rhodotorula rubra* Isolated from Yoghurt, Journal of Industrial Microbiology, 11(1), 43-51s.
- HELAL, E. G.E., 2001. Progressive Effects of the Interaction of Sodium nitrite and Sunset Yellow on Different Physiological Parameters in Albino. The Egyptian Journal of Hospital Medicine, 1(2), 23 – 46s.

- HENRY, B.S., 1980. Colours- Alternatives to Synthetics. Food Processing Industry, 11, 46-47s.
- HERNANDEZ-JOVER, T., IZQUIERDO-PULIDO, M., VECIANA-NOGUES, T., MARINE-FONT, A., CARMEN VIDAL-CAROU, M., 1997. Effect of Starter Cultures on Biogenic Amine Formation During Fermented Sausage Production. Journal of Food Protection , 60(7), 825-830s.
- HOBBIE, E.A., WATRUD, L.S., MAGGARD, S., SHIROYAMA, T., RYGIEWICZ, P.T., 2003. Carbohydrate Use and Assimilation by Litter and Soil Fungi Assessed by Carbon Isotopes and BIOLOG® Assays. Soil Biology and Biochemistry, 35(10), 1385-1392s.
- HUGAS, M., MONFORT, J.M., 1997. Bacterial Starter Cultures for Meat Fermentation. Food Chemistry, 59(4), 547-554s.
- IBANEZ, C., QUINTANILLA, L., CID, C., ISTIASARAN, I., BELLO, J., 1996. Dry-Fermented Sausages Elaborated with *Lactobacillus plantarum*-*Staphylococcus carnosus* Part I: Effect of Partial Replacement of NaCl with KCl on the Stability and the Nitrosation Process, Meat Science, 44(4), 227-234s.
- IMADA, K., OHSHIMA, M., YOSHIDA, T., YASUDA, S., YOSHINO, S., 1983. Evaluation of Neopurpuratin, a Purplish Red Substance Produced by Microorganisms, as Food Colours. Journal of Japanese Society of Food Science and Technology, 30(5), 270-275s.
- INGEMANSSON, T., PETTERSSON, A., KAUFMANN, P., 1993. Lipid Hydrolysis and Oxidation Related to Astaxanthin Content in Light and Dark Muscle of Frozen Stored Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Food Science, 58(3), 513-518s.
- İNAL T., 1992. Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset, İstanbul, 764s.
- JOHNSON, E.A., LEWIS, M.J., 1979. Astaxanthin Formation by the Yeast *Phaffia rhodozyma*. Journal of General Microbiology, 115, 173-183s.
- KAJIWARA, S., FRASER, P.D., KONDO, K. MISAWA, N., 1997. Expression Of An Exogenous Isopentenyl Diphosphate Isomerase Gene Enhances Isoprenoid Biosynthesis in *Escherichia coli* Biochem. J., 324, 421-426s.

- KALYONCU A., YURTTAGÜL M. 1995. Ankara Piyasasında Satılan Çeşitli Dondurma, Şekerleme ve Pasta Süslerine Katılan Sentetik Gıda Boyalarının Kantitatif Olarak Araştırılması. *Beslenme ve Diyet Dergisi*. 24(2):279s.
- KARAALİ, A., ÖZÇELİK, B., 1993. Gıda Katkısı Olarak Doğal ve Sentetik Boyalar, *Gıda*, 18(6), 389-396s.
- KAWAI, F., ZHANG, D. SUGIMOTO, M., 2000. Isolation and Characterization of Acid- and Al-Tolerant Microorganisms. *FemsMicrobiology Letters*, 189(2), 143-147s.
- KENNEDY, N., SMITH, C.P., MCWHINNEY, P. 1997. Faulty Sausage Production Causing Methaemoglobinaemia, *Arch. Dis. Child.*;76,367-368s.
- KONDO, T., 1995. Violacein Production During *Chromobacterium violaceum* and *Janthinobacterium* sp. Fermentation. Japanese Patent 95-00573.
- KRUMPHANZL, V., PELECHOVA, J., DRY, J., 1971. Adaptation of Yeast of Genus *Rhodotorula* on n-Alkanen, *Sbornik vysoke Skoly Chemicko Technologickev Praze*, 31, 63-74s.
- LAUBSCHER, W. D. F., VILJOEN B. C., ALBERTYN, J., 2000. The Yeast Flora Occuring in the Trachea of Broiler Chicken. *Food Technol. Biotechnol.* 38 (1) 77–80
- LEWIS, M.J., RAGOT, N., BERLANT, M.C., MIRANDA, M., 1990. Selection of Astaxanthin-Overproduction Mutants of *Phaffia rhodozyma* with β -Ionone, *Applied and Environmental Microbiology*, 9, 2944-2945s.
- LI, H., VEENENDAAL, E., SHUKOR, N.A.A., COBBİNAH, J.R., LEİFERT, C. 1995. Populations on The Tropical Timber Tree Species *Milicia Excelsa* *Letters in Applied Microbiology*, 21(5), 322-326s.
- LIBKIND, D., PÉREZ, P., SOMMARUGA, R., DIÉGUEZ, M.C., FERRARO, M., BRIZZIO, S., ZAGARESE, H., BROOCK, M., 2004. Constitutive and UV-Inducible Synthesis of Photoprotective Compounds (Carotenoids and Mycosporines) By Freshwater Yeasts, *Photochemical and Photobiological Sciences*, 3(3), 281-286s.
- LIETZ, G., HENRY, C.J.K., MULOKOZI, G., MUGYABUSO, J.K.L., BALLART, A., NDOSSI, G.D., LORRI, W., TOMKINS, A., 2001. Comparison Of The

- Effects Of Supplemental Red Palm Oil And Sunflower Oil On Maternal Vitamin A Status¹ *American Journal Of Clinical Nutrition*, Vol. 74, No. 4, 501-509s.
- LIN, T.F., DEMAINE, A.L., 1991. Effect of Nutrition of *Monascus* sp. on Formation of Red Pigments, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36, 70-75s.
- LITTLE C.L.; MONSEY H.A.; NICHOLS G.L. ; DE LOUVOIS J. 1998. The Microbiological Quality of Ready-to-eat Dried and Fermented Meat and Meat Products. *International Journal of Environmental Health Research* 8(4), 277-284
- LORE, T.A., MBUGUA, S.K., WANGO, J., 2005. Enumeration and Identification of Microflora in *Suusac*, A Kenyan Traditional Fermented Camel Milk Product. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, 38(2), 125-130s.
- LOREZ, T., 1998. A Review of the Carotenoid, Astaxanthin, as a Pigment Source and Vitamin for Cultured *Penaeus* Prawn.
- LUCKE, F.K., 2000. Utilization of Microbes to Process and Preserve Meat. *Meat Science* 56, 105-115s
- MAHATTANATAVEE, K., KULPRECHA, S., 1991. Production of β -Carotene by *Rhodotorula* sp. Y1621, *Microbial Utilization of Renewable Resources*, 7, 295-300s.
- MALGALITH, P.Z., 1992. *Pigment Microbiology*, Chapman & Hall, London, 152s.
- MARTIN, A.M., LU, C., PATEL, T.R., 1993a. Growth Parameters for the Yeast *Rhodotorula rubra* Grown in Peat Extracts, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 76(4), 321-325s.
- MARTIN, A.M., ACHEAMPONG, E., PATEL, T.R., 1993b. Production of Astaxanthin by *Phaffia rhodozyma* Using Peat Hydrolysates as Substrate. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 58, 223-230s.
- MEYER ,P.S., DU PREEZ J.C., 1993. Effect of Acetic Acid on Astaxanthin Production by *Phaffia rhodozyma*. *Biotechnology Letters*, 15(9), 919-924s.
- MEYER ,P.S., DU PREEZ J.C., 1994. Effect of Culture Conditions on Astaxanthin Production by a Mutant of *Phaffia rhodozyma* in Batch and Chemostat Culture, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 40, 780-785s.

- MIKE, D., 2005. Have You Heard The Buzz About Tomatoes? You Won't Believe What is Coming Next <http://www.lycored.com/press2.html>
- MISAWA, N., SHIMADA, H., 1998. Metabolic Engineering for the Production of Carotenoids in Non-carotenogenic Bacteria and Yeasts, *Journal of Biotechnology*, 59(3), 169-181s.
- MIURA Y.; KONDO K.; SAITO T.; SHIMADA H.; FRASER P.D.; MISAWA N. 1998. Production of the Carotenoids Lycopene, β -carotene, and Astaxanthin in the Food Yeast *Candida Utilis*, *Applied and Environmental Microbiology*, 64(4), 1226-1229s.
- MONTEL, M.C., REITZ, J., TALON, R., BERDAGUE, J.L., ROUSSET-AKRIM, S., 1996. Biochemical Activities of Micrococcaceae and Their Effect on the Aromatic Profiles and Odours of a Dry Sausage Model. *Food Microbiology*, 13, 489-499s.
- NAGAHAMA, T., HAMAMOTO, M., NAKASE, T., HORIKOSHI, K., 2001. *Rhodotorula lamellibrachii* sp. nov., a New Yeast Species from a Tubeworm Collected at the Deep-sea Floor in Sagami Bay and Its Phylogenetic Analysis. *Antonie van Leeuwenhoek*, 80(3-4), 317 – 323s.
- NGUYEN, V.A.T., SENOO, K., MISHIMA, T., HISAMATSU, M., 2001. Multiple Tolerance of *Rhodotorula glutinis* R-1 to Acid, Aluminum Ion and Manganese Ion, and its Unusual Ability of Neutralizing Acidic Medium. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 92(4), 366-371s.
- NOVEIR, M., R., DOGAN, H. B., HALKMAN, A., K., 2000. A Note on *Escherichia coli* O157:H7 Serotype in Turkish Meat. *Meat Science*, 56(4), 331-335s.
- OCKERMAN, H.W., SUN, Y.M. 2005. Effect of Different Garlic Products on Chinese-Style Sausage. http://ohioline.osu.edu/sc172/sc172_8.html
- OKAGBUE, R.N.; LEWIS, M.J., 1985. Influence of Mixed Culture Conditions on Yeast-Wall Hydrolytic Activity of *Bacillus circulans* WL-12 and on Extractability of Astaxanthin from the Yeast *Phaffia rhodozyma*, *Journal of applied Bacteriology*, 59, 243-255s.

- OSEI ABUNYEW, A.A., LAING, E., HUGO, A., VILJOEN, B.C., 2000. The Population Change of Yeasts in Commercial Salami, Food Microbiology, 17(4), 429-438s.
- OZAWA, M., TAKAHASHI, M., 1994. Isolation of a Carotenogenesis Suppressing Substance in Yeast Extract for *Rhodotorula* Yeast, Bulletin of the Faculty of Agriculture, Meiji University, 100, 53-59s.
- ÖZTAN, A., 1993. Et Bilimi ve Teknolojisi, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, Yayın No:19, Ankara, 263s.
- ÖZTAN, A., 2003. Et Bilimi ve Teknolojisi. Filiz Matbaacılık, Ankara, 485s.
- ÖZTAN, A., VURAL, H., 1991. Sosis Üretiminde Nitrosomyoglobin ve Kalıntı Nitrit Miktarını Etkileyen Faktörler. Gıda, 16(2), 117-121s.
- PARAJO, J.C., SANTOS, V., VAZQUEZ, M., 1997. Production of Carotenoids by *Xanthophyllomyces dendrorhous*(*Phaffia rhodozyma*) Growing on Enzymatic Hydrolysates of Prehydrolysed, Wood, Food Chemistry, 60(3), 347-355s.
- PARAJO, J.C., VAZQUEZ, M., SANTOS, V., 1998. Production of Carotenoids by *Phaffia rhodozyma* Growing on Media Made from Hemicellulosic Hydrolysates of Eucalyptus Globulus Wood, Biotechnology and Bioengineering, 59(4), 501-506s.
- PERRIER, V., DUBREUCQ, E., GALZY, P., 1995. Fatty Acid and Carotenoid Composition of *Rhodotorua* Strains, Archives of Microbiology, 164(3), 173-179s.
- PRASAD, P.K.K, BHAT, G.S., RAO, D.S., 1993. The “ Colour Crisis” in the Food Industry and the Search for “Safe” Natural Colourants, Indian Dairyman, 45(8), 352-356s.
- RAMIREZ, C., GONZALEZ, C., GUTIERREZ, C., 1981. *Rhodotorula matritense* sp. nov., Isolated from Powdered Red Pepper (*Capsicum frutescens* L.). Mycopathologia (Netherlands), 74(3), 173-175s.
- RAMIREZ, J., NUNEZ, M.L., VALDIVIA, R., 2000. Increased Astaxanthin Production by a *Phaffia rhodozyma* Mutant Grown on Date Juice from *Yucca fillifera*. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 24, 187–190s.

- RASAN, C., ÖZTAN, A., 2000. Değişik Oranlarda Nitrit ve *Monascus* Kullanımının Sosislerde Renk Kalitesi ve Ürün Sağlığı Üzerine Etkileri, Gıda Mühendisliği Dergisi, 3(8),12-14s.
- RAY, F.K., 2004. Meat Curing. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources Oklahoma State University, 3994-1, 3994-4s.
- REED, G., NAGODAWITHANA, T.W., 1991. Yeast Technology, Van Nostrand Reinhold, New York, 446s.
- RETAMALES ve ark., 1998. Producing Mutants of *Phaffia rhodozyma*, Applied Microbiol Biotechnology, 41(2), 183-191s.
- REYNDERS, M.B., RAWLINGS, D.E., HARRISON, S.T.L., 1996. Studies on the Growth, Modelling and Pigment Production by the Yeast *Phaffia rhodozyma* During Fed-Batch Cultivation, Biotechnology Letters, 18(69), 649-654s.
- REZENDE, R.P., DIAS, J.C.T., ROSA, C.A., CARAZZA, F., LINARDI, V.R., 1999. Utilization of Nitriles by Yeasts Isolated from a Brazilian Gold Mine. Journal of General and Applied Microbiology, 45(4), 185-192s
- ROCK, C.L., 1997. Carotenoids: Biology and Treatment. Pharmacology Ther., 75(3), 185-197,
- RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., 1997. Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods, Universidade Estadual de Campinas, Brazil, PhD thesis, 79s.
- ROHM, H., LECHNER, F., LEHNER, M., 1990. Microflora of Austrian Natural-Set Yogurt. Journal of Food Protection, 53(6), 478-480s.
- ROMERO, M.C., CAZAU, M.C., GIORGIERI, S., ARAMBARRI, A.M. 1998. Phenanthrene Degradation by Microorganisms Isolated from a Contaminated Stream. Environmental Pollution, 101(3), 355-359s.
- ROMERO, M.C., HAMMER, E., CAZAU, M.C., ARAMBARRI, A.M., 2002. Isolation and Characterization of Biaryllic Structure-Degrading Yeasts: Hydroxylation Potential of Dibenzofuran. Environmental Pollution. 118(3), 379-382s.

- RYU, B.H., LEE, B.H., PARK, B.G., KİM, H.S., KIM, H.S., KIM, D.S., LEE, J.H.,, 1989. Production of Red Pigment by Mutants of *Monascus anka*, Korean-Journal of Food Science and Technology; 21(1), 31-36s.
- SABRI, A., BARE, G., JACQUES, P., JABRANE, A., ONGENA, M., VAN HEUGEN, J.C., DEVREESE, B., THONART, P., 2001. Influence of Moderate Temperatures on Myristoyl-CoA Metabolism and Acyl-CoA Thioesterase Activity in the Psychrophilic Antarctic Yeast *Rhodotorula Aurantiaca*. J. Biol. Chem., 276(16), 12691-12769s.
- SAKAKI, H., NAKANISHI, T., TADA, A., MIKI, W., KOMEMUSHI, S., 2001. Activation of Torularhodin Prouction by *Rhodotorula glutinis* Using Weak White Light Irradiation. Journal of Bioscience and Bioengineering, 92(3), 294-297s.
- SAKAKI, H., NOCHIDE, H., KOMEMUSHI, S., MIKI, W., 2002. Effect of active Oxygen Species on the Procutivity of Torularhodin by *Rhodotorula glutinis* No.21. Journal of Bioscience and Bioengineering, 93(3), 338-340s.
- SALDAMLI, I., UYGUN, Ü., 2004. Gıda Katkı Maddeleri ve Kanser. <http://www.un.org.tr/who/nutrition/gidakatkimadde.htm>
- SANDHU, D.K., JOSHI, V.K., 1997. Development of Appel Pomace Based Medium;Optimizing Pigment Production by *Rhodotorua* and its Characterization, Advanced in Food Science, 19(1/2),31-34s.
- SANTAMARIA, R. I., REYES-DUARTE, M.D., BÁRZANA, E., FERNANDO, D., GAMA, F.M., MOTA, M. LÓPEZ-MUNGUÍA, A. 2000. Selective Enzyme-Mediated Extraction of Capsaicinoids and Carotenoids from Chili Guajillo Puya (*Capsicum annuum* L.) Using Ethanol as Solvent.. *Agric. Food Chem.*, 48 (7), 3063 –3067s.
- SARPKAYA, E., 2000. Çeşitli Kaynaklardan Elde Edilen Sucukların Mikrobiyolojik Olarak İncelenmesi. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Enstitü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans, 39s.
- SHEO H. J., 1981. A Study on the Development of Food Dye from Gardenia Fructus. Korean-Journal-of-Nutrition, 14(1), 26-33s.

- SHIH, C.T., HANG, Y.D., 1996. Production of Carotenoids by *Rhodotorua rubra* from Sauerkraut Brine, *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 29(5/69, 570-572s.
- SILÓNIZ, M.I., PAYO, E.M., CALLEJO, M.A., MARQUINA, D., PEINADO, J.M., 2002. Environmental Adaptation Factors of Two Yeasts Isolated From the Leachate of A Uranium Mineral Heap. *FEMS Microbiology Letters*, 210(2, 7), 233-237s.
- SIMPSON, K.L., NAKAYAMA, T.O.M., CHICHESTER, C.O., 1964. Biosynthesis of Yeast Carotenoids. *Journal of Bacteriology*, 88(6), 1688-1694s.
- SLAVIKOVA, E., VADKERTIOVA, R., 2000. The Occurrence of Yeasts in the Forest Soils. *Journal of Basic Microbiology*, 40(3), 207-212s.
- SO, S., KIM, Y.K., PARK, D.K., YUN Y.R., SO, S., KIM, Y.K., PARK, D.K., YUN, Y.R., 1997. Make-up Cosmetic Compositions Containing Powdered *Phaffia* Yeast. United States Patent, 5,674,506
- SOMASHEKAR, D., JOSEPH, R., 2000. Inverse Relationship Between Carotenoid and Lipid Formation in *Rhodotorula gracilis* According to the C/N Ration of the Growth Medium. *Word Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16, 491-493s.
- SORLINI, C., ZANARDINI, E., ALBO, S., PRADERIO, G., CARIATI, F., BRUNI, S. 1994. Research on Chromatic Alterations of Marbles from The Fountain of Villa Litta (Linate, Milan). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 33(2), 153-164s.
- SOUZA-LIBERAL, A.T., FILHO, E.A.S., MORAIS, J.O.F., SIMÕES, D.A., MORAIS, M.A., 2005. Contaminant Yeast Detection in Industrial Ethanol Fermentation Must By Rdna-PCR, *Letters in Applied Microbiology*, 40, 19–23s.
- SOYUTEMİZ, G.E., ÖZENİR, A., 1996. Bursa'da Tüketilen Sucuk, Salam, Sosis ve Pastırmalardaki Kalıntı Nitrat ve Nitrit Miktarlarının Saptanması, *Gıda Dergisi*, 21(6), 471-476s.

- STABNIKOVA, E.V., SLYUSARENKO, T.P., GRINBERG, T.A., 1975. Cultivation of Carotene Producing Yeast on Molasses Substrates, *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii, Pishchevaya Tekhnologiya*, 1, 85-89s.
- STUMPEL, G., 1996. Examination of changes in chemical, physical and sensory properties of Cochineal-, Betaken- and alpha-Carotene-coloured sausages facing the new EC-Directive 94/36/EC, Abstract Der Dissertation Von Stümpel, Gerlinde.
- TERESHINA, V.M., FEOFILOVA, E.P., MEMORSKAYA, A.S., VAKULOVA, L.A., TERENCEV, P.B., 1996. Effect of Azines on Lycopene Formation in the Mycelial Fungus *Blakeslea trispora*, *Industrial of Microbiology*, 32(4), 388-390s.
- TINOI, J., RAKRIYATHAM, N., DEMING, R.L., 2005. Simplex Optimization of Carotenoid Production by *Rhodotorula glutinis* Using Hydrolyzed Mung Bean Waste Flour as Substrate. *Process Biochemistry*, 40, 2551-2557s.
- TOPSOY H., DEMİRER A., BOZKURT M. 1991. Bazı Şekerli Gıdalara Katılan Sentetik Organik Gıda Boyalarının Miktar Tayini. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 48(1):21,
- TOYOMIZU, M., SATO, K., TARODA, H., KATO, T., AKIBA, Y., 2001. Effects of dietary *Spirulina* on meat colour in muscle of broiler chickens. *British Poultry Science*, 42(2) 197-202s.
- TRINDADE, R.C., RESENDE, M.A., SILVA, C.M., ROSA, C.A., 2002. Yeasts Associated with Fresh and Frozen Pulps of Brazilian Tropical Fruits. *Systematic and Applied Microbiology*, 25(2), 294-300s.
- ULUTAN, F., SULTAN, N., DAVUTOGLU, E., USTA, D., 1998. Outbreak of Food Poisoning Caused by *Salmonella typhimurium*. *Mikrobiyol. Bul.*, 22(2), 95-100s.
- URAL, A., 1983. Gıdalarda Renk ve Kalite İlişkisi. *Gıda Dergisi*, 8(1), 21-27s.
- URETA, R.M., Real, T.B., VALENZUELA, A.M.Z., BARBEITIA, G.C., RAMÍREZ, M.V.F., TAPIA, M.I., 2004. Elaboration, partial characterization, and sensorial evaluation of texturized soy sausage, 2004 IFT Annual Meeting, July 12-16 - Las Vegas, NV

- ÜNLÜTÜRK, A., 1998. Mikrobiyal Gelişmenin İnhibisyonu, A.Ünlütürk ve F.Turantaş (Editör), Gıda Mikrobiyolojisi, 173-227s.
- ÜREN, A., BABAYİĞİT, D., 1996. Determination of Turkish-Type Fermented Sausage color by Reflectance Method, Food Chemistry, 57(4), 561-567s.
- ÜREN, A., BABAYİĞİT, D., 1997. Color Parameter of Turkish-Type Fermented Sausage During Fermentation and Ripening. Meat Science, 45, 539-549s.
- VADKERTIOVÁ R., SLÁVIKOVÁ E., 2005. Biodiversity of Yeasts in The Terrestrial Ecosystems. Institute of Chemistry, SAS, Dúbravská Cesta 9, 845 38 Bratislava
- VALENZUELA, E., LEIVA, S., GODOY, R., 2001. Variación Estacional Potencial Enzimático De Microhongos Asociados Con La Descomposición De Hojarasca De *Nothofagus Pumilio*. Rev. Chil. Hist. Nat., Dic., 74(4), 737-749s.
- VANDAMME, E.J., 1992. Production of Vitamins, Coenzymes and Related Biochemicals by Biotechnological Processes, Journal of Chemical Technical Biotechnology, 53, 313-327s.
- VANDAMME, E.J., 1993. Production of Vitamins and Related Biofactors via Microorganisms, Agro-Food Industry Hi Tech, 9/10, 29-31s.
- VANETTI, M.C.D., 1992. Aquarone-E Riboflavin Excretion by *Pachysolen Tannophilus* grown in Synthetic Medium Supplemented with D-xylose. World J. Microbiol. Biotechnol., 8(2), 190-191s.
- VÁZQUEZ-JUÁREZ, R., ANDLID, T., GUSTAFSSON, L., 1994. Cell Surface Hydrophobicity and its Relation to Adhesion of Yeasts Isolated From Fish Gut. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2(1-3), 199-208s.
- VAZQUEZ, M., SANTOS, V., PARAJO, J.C., 1997. Effect of the Carbon Source on the Carotenoid Profiles of *Phaffia rhodozyma* Strain, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 19(4), 263-268s.
- VAZQUEZ, M., SANTOS, V., PARAJO, J.C., 1998. Fed-Batch Cultures of *Phaffia rhodozyma* in Xylose Containing Media Made from Wood Hydrolysates, Food Biotechnology, 12(1-2), 43-55s.

- VEIGA-CRESPO, P., BLASCO, L., SANTOS, F.R. POZA, M., VILLA1,T.G., 2005. Influence of Culture Conditions of *Gordonia Jacobaea* MV-26 on Canthaxanthin Production. *International Microbiology*, 8, 55-58s.
- VENTURINI, M.E., ORIA, R., BLANCO, D., 2002. Microflora of Two Varieties of Sweet Cherries: Burlat And Sweetheart. *Food Microbiology*, 19(1), 15-21s.
- VILJOEN, B.C. ve GREYLING, T., 1995. Yeast Associated With Ceddar and Gouda Making. *International Journal of Food Microbiology*, 28, 79-88s.
- VILJOEN, B.C., KHOURY, A. R., HATTINGH, A., 2003. Seasonal Diversity of Yeasts Associated with White-Surface Mould-Ripened Cheeses. *Food Research International*, 36(3), 275-283s.
- VILLA-CARVAJAL, M., COQUE, J.J.R., ÁLVAREZ-RODRIGUEZ, M.L., URUBURU, F., BELLOCH, C. 2004. Polyphasic Identification of Yeasts Isolated From Bark of Cork Oak During The Manufacturing Process of Cork Stoppers. *FEMS Yeast Research*, 4(7), 745-750s.
- VITAL, M.J.S.; ABRANCHES, J., HAGLER, A.N., MENDONÇA-HAGLER, L.C., 2002. Mycocinogenic Yeasts Isolated From Amazon Soils of The Maracá Ecological Station, Roraima-Brazil. *J. Microbiol.* 33(3), 230-235s.
- VOLPE, T., 1976. Cranberry Juice Concentrate as a Red Food Coloring. *Food-Product-Development*; 10(9) 13-14s.
- VURAL, H., ÖZTAN, A., 1991. Et Ürünlerinde Nitrosamin Oluşumunun Laktik Asit Bakterileri Kullanımıyla Önlenmesi, *Gıda Dergisi*, 16(4),237-240s.
- WALKER, N. 1973. Metabolism of Chlorophenols By *Rhodotorula glutinis*. *Soil Biology and Biochemistry*. 5(5), 525-530s.
- WANG, F.S., 2000. Effects of Three Preservative Agents on the Shelf Life of Vacuum Packaged Chinese-Style Sausage Stored at 20°C, *Meat Science* 56, 67-71s.
- WANG, W., YU, L., ZHOU, P., 2005. Effect of Different Fungal Elicitors on Growth, Total Carotenoid and Astaxantin Formation by *Xanthophyllomyces dendrorhous*. *Bioresource Technology*, 1-5

- WELTHAGEN, J.J., VILJOEN, B.C., 1998. Yeast Profile in Gouda Cheese during Processing and Ripening. *International Journal of Food Microbiology* 41, 185–194s.
- WOLTER, H., LAING E., VILJOEN C.B., 2000. Isolation and Identification of Yeasts Associated with Intermediate Moisture Meats. *Food Technol. Biotechnol.* 38 (1) 69–75s.
- YAMANE, Y., HIGASHIDA, K., NAKASHIMADA, Y., KAKIZONO, T., NISHIO, N., 1997a. Astaxantin Production by *Phaffia rhodozyma* Enhanced in Fed-Batch Culture with Glucose and Ethanol Feeding. *Biotechnology Letters*, 19(11), 1109-1111s.
- YAMANE, Y.I., HIGASHIDA, K., NAKASHIMADA, Y., KAKIZONO, T., NISHIO, N., 1997b. Influence of Oxygen and Glucose on Primary Metabolism and Astaxanthin Production by *Phaffia rhodozyma* in Batch and Fed- Batch Cultures: Kinetic and Stoichiometric Analysis, *Applied and Environmental Microbiology*, 63(11), 4471-4478s.
- YENTÜR, G., KARAKAYA, A.E., 1985. Kullanımı Yasaklanan Aromatik Azo Yapısındaki Gıda Boyalarının Bazı Gıda Maddelerinde Araştırılması. *Gıda*. 10(6): 371s.
- YENTÜR, G., YAMAN, M., BAYHAN, A., 1998. Bazı Gıda Maddelerine Katılan Sentetik Boyaların Miktarlarının Araştırılması, *Gıda*, 23(3), 195-199s.
- YILDIRIM, Y., 1984. Et Endüstrisi. *Bursa*, 657s.
- ZALACAIN, I., ZAPELENA, M.J., PENA, M., ASTIASARAN, I., BELLO, J., 1997. Use of Lipase from *Rhizomucor miehei* in Dry Fermented Sausages Elaboration: Microbial, Chemical and Sensory Analysis. *Meat Science*, 45(1), 99-105s.
- ZAPELENA, 1998. Color Optimization Of Sausage By Natural Colorants, *Fleischwirtschaft* Tom 78 (1), 68-71s.
- ZHANG, H., ZHAN, J., SU, K., ZHANG, Y., 2005. A Kind of Potential Food Additive Produced by *Streptomyces Coelicolor*: Characteristics of Blue Pigment and Identification of a Novel Compound, λ -Actinorhodin. *Food Chemistry*, 1-5s.

Internet Kaynakları

http://www.doremus.com.br/receita/ltoscana_in.asp

<http://www.fehd.gov.hk/safefood/report/lapmei/report.html#8>

<http://www.saglikvakfi.org.tr/k29a.asp?newsid=-1406266036&pg=1>

<http://www.legislation.hmso.gov>

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Çukurova Üniversitesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Lisan programına başlayıp, 1994 yılında mezun oldum. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğretime başladım. 1995 yılı ocak ayında Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümünde araştırma görevlisi olarak göreve başladım. 1998 yılında Yüksek Lisans öğretime tamamlayarak, aynı Enstitüde doktora öğretime başladım 1999 yılında YÖK'ün 35. Maddesi gereğince Ç.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü'nde doktora öğretime tamamlamak üzere görevlendirildim. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

EK ÇİZELGE DİZİNİ

Ek 1. Mayaları Tanımlamada Kullanılan Anahtar

772

8: The keys

Key No. 9: Basidiomycetous yeasts

Key involving physiological tests and microscopical description

Yeasts in Key No. 9

- | | | |
|--|---|--|
| 7 <i>Bensingtonia intermedia</i> | 236 <i>Cryptococcus wrightiensis</i> | 488 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> |
| 8 <i>Bensingtonia miscanthi</i> | 237 <i>Cystofilobasidium bisporidii</i> | 489 <i>Rhodotorula muscorum</i> |
| 9 <i>Bensingtonia naganoensis</i> | 238 <i>Cystofilobasidium capitatum</i> | 490 <i>Rhodotorula nothofagi</i> |
| 10 <i>Bensingtonia subrosea</i> | 239 <i>Cystofilobasidium infirmo-miniatum</i> | 491 <i>Rhodotorula phillyla</i> |
| 11 <i>Bensingtonia yamatoana</i> | 271 <i>Fellomyces fuzhouensis</i> | 492 <i>Rhodotorula phylloplana</i> |
| 12 <i>Bensingtonia yuccicola</i> | 272 <i>Fellomyces nectarii</i> | 493 <i>Rhodotorula pilatii</i> |
| 14 <i>Bullera alba</i> | 273 <i>Fellomyces penicillatus</i> | 494 <i>Rhodotorula pustula</i> |
| 15 <i>Bullera armeniaca</i> | 274 <i>Fellomyces polyborus</i> | 495 <i>Rhodotorula sonckii</i> |
| 16 <i>Bullera crocea</i> | 275 <i>Fibulobasidium inconspicuum</i> | 507 <i>Saitoella complicata</i> |
| 17 <i>Bullera dendrophila</i> | 276 <i>Filobasidiella neoformans</i> | 508 <i>Sarcinosporon inkin</i> |
| 18 <i>Bullera dextrii</i> | 277 <i>Filobasidium capsuligenum</i> | 513 <i>Sporidiobolus johnsonii</i> |
| 19 <i>Bullera globospora</i> | 278 <i>Filobasidium floriforme</i> | 514 <i>Sporidiobolus microsporus</i> |
| 21 <i>Bullera megalospora</i> | 279 <i>Filobasidium uniguttulatum</i> | 515 <i>Sporidiobolus paraseus</i> |
| 22 <i>Bullera oryzae</i> | 300 <i>Holtermannia corniformis</i> | 516 <i>Sporidiobolus ruineniae</i> |
| 23 <i>Bullera piricola</i> | 325 <i>Leucosporidium antarcticum</i> | 517 <i>Sporidiobolus salmonicolor</i> |
| 24 <i>Bullera pseudoalba</i> | 326 <i>Leucosporidium fellii</i> | 518 <i>Sporobolomyces albo-rubescens</i> |
| 25 <i>Bullera punicea</i> | 327 <i>Leucosporidium lari-marini</i> | 519 <i>Sporobolomyces antarcticus</i> |
| 26 <i>Bullera sinensis</i> | 328 <i>Leucosporidium scottii</i> | 520 <i>Sporobolomyces elongatus</i> |
| 27 <i>Bullera singularis</i> | 343 <i>Mrakia frigida</i> | 521 <i>Sporobolomyces falcatus</i> |
| 28 <i>Bullera variabilis</i> | 344 <i>Mrakia gelida</i> | 522 <i>Sporobolomyces foliicola</i> |
| 195 <i>Chionosphaera apobasidialis</i> | 345 <i>Mrakia nivalis</i> | 523 <i>Sporobolomyces gracilis</i> |
| 199 <i>Cryptococcus albidus</i> | 346 <i>Mrakia stokesii</i> | 524 <i>Sporobolomyces griseoflavus</i> |
| 200 <i>Cryptococcus amyloentus</i> | 358 <i>Phaffia rhodozyma</i> | 525 <i>Sporobolomyces holsticus</i> |
| 201 <i>Cryptococcus aquaticus</i> | 454 <i>Rhodospiridium dacryoidum</i> | 526 <i>Sporobolomyces inosiphilus</i> |
| 202 <i>Cryptococcus asgardensis</i> | 455 <i>Rhodospiridium diobovatum</i> | 527 <i>Sporobolomyces kluyveri-niellii</i> |
| 203 <i>Cryptococcus ater</i> | 456 <i>Rhodospiridium fluviatile</i> | 528 <i>Sporobolomyces oryzicola</i> |
| 204 <i>Cryptococcus baldrensis</i> | 457 <i>Rhodospiridium kratochvilovae</i> | 529 <i>Sporobolomyces phylladus</i> |
| 205 <i>Cryptococcus bhutanensis</i> | 458 <i>Rhodospiridium malvinellum</i> | 530 <i>Sporobolomyces phyllomatis</i> |
| 206 <i>Cryptococcus consortionis</i> | 459 <i>Rhodospiridium paludigenum</i> | 531 <i>Sporobolomyces roseus</i> |
| 207 <i>Cryptococcus curiosus</i> | 460 <i>Rhodospiridium sphaerocarpum</i> | 532 <i>Sporobolomyces salicinus</i> |
| 208 <i>Cryptococcus curvatus</i> | 461 <i>Rhodospiridium toruloides</i> | 533 <i>Sporobolomyces sasicola</i> |
| 209 <i>Cryptococcus dimennae</i> | 462 <i>Rhodotorula acheniorum</i> | 534 <i>Sporobolomyces subbrunneus</i> |
| 210 <i>Cryptococcus elinovii</i> | 463 <i>Rhodotorula acuta</i> | 535 <i>Sporobolomyces tsugae</i> |
| 211 <i>Cryptococcus feraegula</i> | 464 <i>Rhodotorula araucariae</i> | 536 <i>Sporobolomyces weijmannii</i> |
| 212 <i>Cryptococcus flavus</i> | 465 <i>Rhodotorula armeniaca</i> | 541 <i>Sterigmatomyces elviae</i> |
| 213 <i>Cryptococcus friedmannii</i> | 466 <i>Rhodotorula aurantiaca</i> | 542 <i>Sterigmatomyces halophilus</i> |
| 214 <i>Cryptococcus fuscescens</i> | 467 <i>Rhodotorula auriculariae</i> | 543 <i>Sterigmatomyces wingfieldii</i> |
| 215 <i>Cryptococcus gastricus</i> | 468 <i>Rhodotorula bacarum</i> | 544 <i>Sterigmatosporidium polymorphum</i> |
| 216 <i>Cryptococcus hempflingii</i> | 469 <i>Rhodotorula bogoriensis</i> | 549 <i>Tremella aurantia</i> |
| 217 <i>Cryptococcus heveanensis</i> | 470 <i>Rhodotorula buffonii</i> | 550 <i>Tremella brasiliensis</i> |
| 218 <i>Cryptococcus himalaeyensis</i> | 471 <i>Rhodotorula diffuens</i> | 551 <i>Tremella coalescens</i> |
| 219 <i>Cryptococcus huempii</i> | 472 <i>Rhodotorula dulciaminis</i> | 552 <i>Tremella encephala</i> |
| 220 <i>Cryptococcus humicolus</i> | 473 <i>Rhodotorula foliorum</i> | 553 <i>Tremella foliacea</i> |
| 221 <i>Cryptococcus hungaricus</i> | 474 <i>Rhodotorula fragaria</i> | 554 <i>Tremella fuciformis</i> |
| 222 <i>Cryptococcus kuetzingii</i> | 475 <i>Rhodotorula fujisanensis</i> | 555 <i>Tremella globospora</i> |
| 223 <i>Cryptococcus laurentii</i> | 476 <i>Rhodotorula fuitronensis</i> | 556 <i>Tremella mesenterica</i> |
| 224 <i>Cryptococcus lupi</i> | 477 <i>Rhodotorula glutinis</i> | 557 <i>Tremella samoensis</i> |
| 225 <i>Cryptococcus luteolus</i> | 478 <i>Rhodotorula graminis</i> | 558 <i>Tremella subanomala</i> |
| 226 <i>Cryptococcus macerans</i> | 479 <i>Rhodotorula hasegawae</i> | 560 <i>Trichosporon aquatile</i> |
| 227 <i>Cryptococcus magnus</i> | 480 <i>Rhodotorula hinnulea</i> | 561 <i>Trichosporon beemeri</i> |
| 228 <i>Cryptococcus marinus</i> | 481 <i>Rhodotorula hordea</i> | 562 <i>Trichosporon beigelii</i> |
| 229 <i>Cryptococcus podzolicus</i> | 482 <i>Rhodotorula hylaphila</i> | 563 <i>Trichosporon brassicae</i> |
| 230 <i>Cryptococcus skinneri</i> | 483 <i>Rhodotorula ingensiosa</i> | 564 <i>Trichosporon dulcicum</i> |
| 231 <i>Cryptococcus socialis</i> | 484 <i>Rhodotorula javanica</i> | 565 <i>Trichosporon loubieri</i> |
| 232 <i>Cryptococcus terreus</i> | 485 <i>Rhodotorula lactosa</i> | 566 <i>Trichosporon luettiae</i> |
| 233 <i>Cryptococcus tsukubaensis</i> | 486 <i>Rhodotorula lignophila</i> | 567 <i>Trichosporon pullulans</i> |
| 234 <i>Cryptococcus tyrolensis</i> | 487 <i>Rhodotorula minuta</i> | 568 <i>Trichosporon sporotrichoides</i> |
| 235 <i>Cryptococcus vishniacii</i> | | |

Ek 1.'in Devami

Key No. 9: basidiomycetous yeasts		
5 in Key No. 9	C29 D-Mannitol growth	T1 Growth at 25°C
6 D-Galactose growth	C30 Galactitol growth	T3 Growth at 35°C
7 L-Sorbose growth	C34 5-Keto-D-gluconate growth	T4 Growth at 37°C
8 D-Xylose growth	C36 D-Glucuronate growth	O2 0.1% Cycloheximide growth
9 L-Arabinose growth	C37 D-Galacturonate growth	M1 Starch formation
10 D-Arabinose growth	C40 Citrate growth	M4 Diazonium Blue B reaction
11 L-Rhamnose growth	C42 Ethanol growth	E1 Pink colonies
12 Sucrose growth	N1 Nitrate growth	E3 Lemon-shaped cells
13 Melibiose growth	N3 Ethylamine growth	E4 Buds on stalks
14 Lactose growth	N5 Cadaverine growth	E5 Splitting cells
15 Raffinose growth	N8 Glucosamine growth	E6 Filamentous
16 Melezitose growth	V5 Growth w/o Thiamin	E9 Arthroconidia
17 Starch growth	V10 Growth w/o PABA	E10 Ballistoconidia
18 Erythritol growth		
number of different tests 39		
Key No. 9		
	Negative	Posi
1 Nitrate growth	2	
2 Ethanol growth	3	
3 Melezitose growth	4	
4 Sucrose growth	5	
5 Starch formation	6	
6 Ethylamine growth	7	
7 D-Galactose growth	<i>Sporobolomyces gracilis</i>	<i>Rhodotorula armeni</i>
8 Erythritol growth	9	<i>Sterigmatomyces halopi</i>
9 Starch growth	<i>Rhodospiridium dacryoidum</i>	<i>Chionosphaera apobasidi</i>
10 D-Mannitol growth	<i>Cryptococcus consortiumis</i>	
11 L-Rhamnose growth	12	<i>Tremella folia</i>
12 Citrate growth	<i>Tremella brasiliensis</i>	
	<i>Tremella mesenterica</i>	
13 Starch growth	14	<i>Chionosphaera apobasidi</i>
14 0.1% Cycloheximide growth	<i>Tremella brasiliensis</i>	<i>Tremella coalesc</i>
15 Lactose growth	16	
16 Starch formation	17	
17 Raffinose growth	<i>Rhodospiridium dacryoidum</i>	
18 Growth w/o PABA	<i>Sporobolomyces sasicola</i>	<i>Rhodotorula mucilaginis</i>
19 Ballistoconidia	20	
20 D-Mannitol growth	<i>Cryptococcus consortiumis</i>	<i>Tremella folia</i>
21 L-Arabinose growth	<i>Bensingtonia miscanthi</i>	<i>Bullera globos</i>
22 D-Galactose growth	23	
23 Citrate growth	24	
24 Ethylamine growth	<i>Bensingtonia subrosea</i>	<i>Sporobolomyces sasi</i>
25 L-Arabinose growth	<i>Bensingtonia miscanthi</i>	<i>Cryptococcus</i>
26 Growth w/o Thiamin	27	
27 Glucosamine (nitrogen) growth	<i>Cryptococcus magnus</i>	<i>Cryptococcus curv</i>
28 Growth w/o Thiamin	29	<i>Cryptococcus</i>
29 Starch formation	31	<i>Cryptococcus curv</i>
30 Ballistoconidia	32	
31 Erythritol growth	33	
32 Raffinose growth	34	
33 Starch growth	35	<i>Chionosphaera apobasidi</i>
34 L-Arabinose growth	<i>Rhodospiridium dacryoidum</i>	<i>Rhodotorula mi</i>
35 Lactose growth	37	
36 D-Glucuronate growth	<i>Rhodotorula minuta</i>	
	<i>Rhodotorula mucilaginis</i>	
37 Pink colonies	<i>Filobasidium uniguttulatum</i>	<i>Rhodotorula mi</i>
38 Growth w/o Thiamin	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Cryptococcus curv</i>
39 D-Galacturonate growth	41	<i>Fellomyces polyb</i>
40 Melibiose growth	<i>Cryptococcus curvatus</i>	<i>Cryptococcus fi</i>
41 Melibiose growth	43	
42 L-Arabinose growth	44	
43 Raffinose growth	45	<i>Sporidiobolus pararo</i>
		<i>Sporobolomyces ro</i>
44 Cadaverine growth	<i>Bensingtonia yamatoana</i>	<i>Sporidiobolus pararo</i>
45 D-Glucuronate growth	47	<i>Sporobolomyces oryz</i>

Ek 1.'in Devami

8: The keys

	Negative	Positive
growth	<i>Sporobolomyces elongatus</i>	<i>Sporidiobolus pararoseus</i>
ose growth	<i>Bullera variabilis</i>	<i>Bullera parva</i>
itol growth	50	50
e growth	51	51
nitol growth	52	52
ose growth	53	53
se growth	<i>Cryptococcus socialis</i>	<i>Filobasidium uniguttulatum</i>
h at 25°C	<i>Cryptococcus hempfungii</i>	
	<i>Cryptococcus vishniacii</i>	
intous	<i>Bullera alba</i>	<i>Bullera variabilis</i>
binose growth	57	57
urionate growth	58	58
ie growth	<i>Chionosphaera apobasidialis</i>	<i>Phaffia rhodocarpa</i>
ose growth	<i>Filobasidium uniguttulatum</i>	<i>Bullera variabilis</i>
oonidia	61	61
erine growth	<i>Tremella foliacea</i>	<i>Cryptococcus lunatus</i>
	<i>Tremella subanomala</i>	
iose growth	63	63
samine (nitrogen) growth	27	<i>Cryptococcus</i>
mnose growth	<i>Bullera piricola</i>	<i>Bullera</i>
oonidia	66	66
se growth	67	67
iose growth	68	68
samine (nitrogen) growth	<i>Tremella foliacea</i>	<i>Fellomyces penicillatus</i>
samine growth	70	<i>Cryptococcus lunatus</i>
samine (nitrogen) growth	<i>Cryptococcus hungaricus</i>	<i>Fellomyces penicillatus</i>
samine growth	72	72
on stalks	<i>Cryptococcus hungaricus</i>	
	<i>Cryptococcus laurentii</i>	
ientous	<i>Fellomyces polysthorus</i>	<i>Fellomyces penicillatus</i>
iose growth	75	<i>Cryptococcus laurentii</i>
samine (nitrogen) growth	<i>Cryptococcus curvatus</i>	<i>Cryptococcus</i>
h growth	77	77
verine growth	78	78
iose growth	<i>Bullera armeniaca</i>	<i>Bullera</i>
cycloheximide growth	<i>Bullera alba</i>	<i>Bullera</i>
entous	79	79
nitol growth	82	82
nitol growth	83	83
ose growth	84	84
iverine growth	85	85
amnose growth	86	86
ite growth	87	87
ch formation	88	88
amine growth	<i>Rhodotorula hylophila</i>	<i>Rhodospiridium dactyoidum</i>
rbose growth	90	90
alacturonate growth	9	9
amine growth	<i>Tremella brasiliensis</i>	<i>Rhodospiridium dactyoidum</i>
wth w/o PABA	<i>Rhodospiridium dactyoidum</i>	<i>Cryptococcus skinneri</i>
		<i>Tremella foliacea</i>
iose growth	94	94
ezitose growth	95	95
ttling cells	96	96
lucuronate growth	<i>Chionosphaera apobasidialis</i>	<i>Filobasidium capsuligerum</i>
ch growth	<i>Bensingtonia intermedia</i>	<i>Trichosporon brassicae</i>
alactose growth	<i>Trichosporon lutetiae</i>	
ate growth	<i>Cryptococcus gastricus</i>	
ilucuronate growth	<i>Chionosphaera apobasidialis</i>	<i>Rhodotorula bogori</i>
ialactose growth	102	102
abinose growth	<i>Rhodotorula lignophila</i>	<i>Bullera singulata</i>
ttling cells	<i>Cryptococcus gastricus</i>	<i>Trichosporon beticola</i>
iose growth	105	105
finose growth	106	106
abinose growth	107	107
daverine growth	108	108
abinose growth	109	109
owth w/o PABA	<i>Rhodospiridium dactyoidum</i>	<i>Bensingtonia yamatensis</i>
amentous	<i>Rhodotorula auriculariae</i>	

Ek 1.'in Devami

	Negative	Positive
owth w/o PABA.....	<i>Rhodospiridium dacryoidum</i>	<i>Tremella foliacea</i>
rch formation.....	 113	 114
ilucuronate growth.....	<i>Sporidiobolus paraseus</i>	<i>Sporobolomyces weijmanii</i>
hamnose growth.....	<i>Filobasidium capsuligenum</i>	<i>Holtermannia corniformis</i>
hamnose growth.....	 116	 122
lezitose growth.....	 117	 119
funnitol growth.....	<i>Trichosporon aquatile</i>	 118
orbose growth.....	<i>Filobasidium capsuligenum</i>	<i>Trichosporon brassicae</i>
k colonies.....	 120	 121
dannitol growth.....	<i>Trichosporon aquatile</i>	<i>Filobasidiella neoformans</i>
rch growth.....	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Sporidiobolus paraseus</i>
rch growth.....	 123	 124
rch formation.....	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Tremella foliacea</i>
		<i>Tremella subanomala</i>
owth w/o Thiamin.....	 125	<i>Holtermannia corniformis</i>
owth at 35°C.....	<i>Tremella foliacea</i>	<i>Filobasidiella neoformans</i>
Glucuronate growth.....	 127	 130
lilistocnidia.....	 128	 129
rch growth.....	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Phaffia rhodozyma</i>
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	
owth at 35°C.....	<i>Sporidiobolus paraseus</i>	<i>Sporobolomyces aiibo-rubescens</i>
	<i>Sporobolomyces roseus</i>	
rch growth.....	 131	 133
ik colonies.....	 132	<i>Rhodotorula minuta</i>
Arabinose growth.....	<i>Filobasidium uniguttulatum</i>	<i>Tremella subanomala</i>
Arabinose growth.....	 134	 136
owth at 35°C.....	 135	<i>Filobasidiella neoformans</i>
ik colonies.....	<i>Filobasidium uniguttulatum</i>	<i>Bullera megalospora</i>
owth at 35°C.....	<i>Sterigmatosporidium polymorphum</i>	<i>Filobasidiella neoformans</i>
litting cells.....	 138	 144
ucosamine (nitrogen) growth.....	 139	 143
elibiose growth.....	 140	 142
owth w/o Thiamin.....	 141	<i>Cryptococcus curvatus</i>
rch growth.....	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Sterigmatosporidium polymorphum</i>
Rhamnose growth.....	<i>Bullera piricola</i>	<i>Sterigmatosporidium polymorphum</i>
trate growth.....	<i>Tremella aurantia</i>	<i>Tremella encephala</i>
elibiose growth.....	 145	 147
Galactose growth.....	<i>Trichosporon dulcitum</i>	 146
mon-shaped cells.....	<i>Trichosporon beigeli</i>	<i>Trichosporon aquatile</i>
rthrocnidia.....	<i>Trichosporon sporotrichoides</i>	<i>Trichosporon beigeli</i>
		<i>Trichosporon loubieri</i>
actose growth.....	 149	 166
leiezitose growth.....	 150	 154
-Glucuronate growth.....	 151	 153
acrose growth.....	 152	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
owth w/o Thiamin.....	<i>Rhodotorula fujisanensis</i>	<i>Rhodotorula nothofagi</i>
	<i>Rhodotorula fuironensis</i>	
-Rhamnose growth.....	<i>Filobasidium capsuligenum</i>	<i>Cryptococcus skinneri</i>
		<i>Tremella foliacea</i>
affinose growth.....	 155	 160
tarch formation.....	 156	 158
tarch growth.....	 157	<i>Filobasidiella neoformans</i>
allistocnidia.....	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Sporobolomyces phylomat</i>
-Rhamnose growth.....	 159	 12-
-Galacturonate growth.....	<i>Tremella globospora</i>	<i>Filobasidiella neoformans</i>
tarch growth.....	 161	 16-
tarch formation.....	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Cryptococcus hungaricu</i>
	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	
itrate growth.....	 163	 16-
cadaverine growth.....	<i>Cryptococcus hungaricus</i>	<i>Fibulobasidium inconspicuun</i>
rowth at 35°C.....	 165	<i>Filobasidiella neoformans</i>
ink colonies.....	<i>Sterigmatosporidium polymorphum</i>	<i>Cryptococcus hungaricu</i>
Melibiose growth.....	 167	 17-
cadaverine growth.....	 168	 17-
Buds on stalks.....	 169	 17-
Glucosamine (nitrogen) growth.....	 170	<i>Tremella encephal</i>
Starch formation.....	<i>Rhodotorula minuta</i>	 17
Raffinose growth.....	<i>Bullera dendrophila</i>	<i>Cryptococcus hungaricu</i>
Growth at 35°C.....	<i>Sterigmatosporidium polymorphum</i>	<i>Fellomyces fuchouensis</i>

Ek 1.'nin Devamı

8: The keys

	Negative	Positive
itous	174	174
umine (nitrogen) growth	175	175
ose growth	<i>Cryptococcus dimennae</i>	<i>Fibulobasidium inconspicuum</i>
turonate growth	<i>Rhodotorula minuta</i>	<i>Cryptococcus curvatus</i>
ose growth	<i>Trichosporon dulcitum</i>	176
l w/o Thiamin	<i>Trichosporon beigelii</i>	177
amine (nitrogen) growth	180	178
g cells	181	179
n stalks	182	180
conidia	<i>Cryptococcus hungaricus</i>	<i>Bullera picea</i>
	<i>Cryptococcus laurentii</i>	181
l w/o Thiamin	184	182
formation	185	183
cturonate growth	<i>Trichosporon beigelii</i>	<i>Bullera pseudococcinea</i>
g cells	<i>Cryptococcus laurentii</i>	<i>Trichosporon beigelii</i>
	<i>Tremella encephala</i>	184
nitol growth	<i>Cryptococcus podzolicus</i>	<i>Cryptococcus laurentii</i>
nnose growth	189	185
se growth	190	186
e growth	191	187
uronate growth	192	188
formation	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	<i>Tremella brasiliensis</i>
	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	<i>Tremella mesenterica</i>
erine growth	195	<i>Trichosporon beigelii</i>
ig cells	159	189
e growth	146	<i>Tremella samolens</i>
h w/o Thiamin	198	<i>Sarcinosporon</i>
ose growth	199	190
ctose growth	<i>Rhodotorula dulcissima</i>	191
h at 37°C	<i>Rhodotorula acuta</i>	<i>Sterigmatomyces</i>
on stalks	202	<i>Cryptococcus curvatus</i>
ih w/o Thiamin	<i>Trichosporon beigelii</i>	<i>Sterigmatomyces</i>
on stalks	204	192
se growth	205	<i>Tremella fuciformis</i>
samine (nitrogen) growth	<i>Cryptococcus hungaricus</i>	<i>Filobasidiella neoformans</i>
th at 35°C	<i>Cryptococcus hungaricus</i>	193
erine growth	208	<i>Cryptococcus curvatus</i>
th w/o Thiamin	<i>Tremella fuciformis</i>	<i>Trichosporon beigelii</i>
ng cells	210	194
se growth	211	195
iose growth	212	196
ose growth	125	197
samine (nitrogen) growth	164	<i>Cryptococcus</i>
verine growth	<i>Cryptococcus luteolus</i>	198
h growth	<i>Fibulobasidium inconspicuum</i>	<i>Filobasidiella neoformans</i>
ie growth	217	199
verine growth	218	200
on stalks	<i>Cryptococcus amyloletus</i>	<i>Cryptococcus hungaricus</i>
h formation	<i>Sterigmatomyces wingfieldii</i>	<i>Sterigmatosporidium polymorphum</i>
zitose growth	221	<i>Bullera</i>
aoconidia		<i>Bullera</i>
	<i>Cryptococcus luteolus</i>	<i>Cryptococcus amyloletus</i>
h growth	223	201
verine growth	224	202
on stalks	<i>Cryptococcus flavus</i>	<i>Cryptococcus hungaricus</i>
h formation	226	<i>Cryptococcus laurentii</i>
biose growth	178	203
ilacturonate growth	<i>Fibulobasidium inconspicuum</i>	<i>Cryptococcus heveae</i>
ite growth	<i>Cryptococcus humicolus</i>	<i>Trichosporon beigelii</i>
ting cells	<i>Cryptococcus laurentii</i>	<i>Trichosporon beigelii</i>
	230	204
inose growth	231	205
nol growth	232	206
zitolose growth	233	207
samine growth	234	208
istoconidia	235	209
ylose growth		210

Key No. 9. basidiomycetous yeasts			777
	Negative	Positive	
235 D-Galactose growth	236	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	
236 Cadaverine growth	237	<i>Rhodotorula sonckii</i>	
237 Growth w/o PABA	<i>Fellomyces nectarii</i>	<i>Leucosporidium antarcticum</i>	
238 Starch formation	239	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	
239 Erythritol growth	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	
	<i>Rhodotorula sonckii</i>		
240 D-Mannitol growth	<i>Cryptococcus fuscescens</i>	<i>Cryptococcus terreus</i>	
241 Galactitol growth	242	<i>Sporobolomyces kluyveri-niellii</i>	
242 D-Galactose growth	243	246	
243 Growth w/o Thiamin	244	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>	
244 Starch formation	245	<i>Bensingtonia miscanthi</i>	
245 D-Xylose growth	<i>Sporobolomyces subbrunneus</i>	<i>Sporobolomyces foliicola</i>	
246 0.1% Cycloheximide growth	247	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>	
247 Citrate growth	<i>Sporobolomyces foliicola</i>	<i>Bensingtonia yuccicola</i>	
248 Lactose growth	249	<i>Cryptococcus himalayensis</i>	
		<i>Cryptococcus terreus</i>	
249 D-Glucuronate growth	<i>Rhodospiridium malvinellum</i>	250	
250 L-Arabinose growth	<i>Leucosporidium fellii</i>	<i>Cryptococcus feraeugula</i>	
251 Cadaverine growth	252	258	
252 Ballistoconidia	253	256	
253 Erythritol growth	254	255	
254 Growth at 25°C	<i>Cryptococcus vishniacii</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>	
		<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	
255 D-Xylose growth	<i>Rhodotorula hordea</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>	
256 Lactose growth	257	<i>Sporobolomyces isugae</i>	
257 Growth w/o Thiamin	<i>Sporobolomyces foliicola</i>	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>	
258 Sucrose growth	259	261	
259 D-Galactose growth	260	<i>Cryptococcus elinovii</i>	
		<i>Cryptococcus terreus</i>	
260 D-Mannitol growth	<i>Cryptococcus friedmannii</i>	<i>Rhodotorula buffonii</i>	
261 D-Mannitol growth	<i>Cryptococcus friedmannii</i>	262	
262 Growth w/o PABA	<i>Rhodotorula lactosa</i>	263	
263 Pink colonies	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Rhodotorula hasegawae</i>	
264 Sucrose growth	265	280	
265 L-Rhamnose growth	266	278	
266 D-Galacturonate growth	267	271	
267 Growth w/o Thiamin	268	270	
268 Erythritol growth	269	<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	
269 Cadaverine growth	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	<i>Rhodotorula pustula</i>	
270 0.1% Cycloheximide growth	<i>Rhodotorula araucariae</i>	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>	
271 Cadaverine growth	272	273	
272 Ballistoconidia	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	<i>Sporobolomyces falcatus</i>	
	<i>Rhodotorula foliorum</i>		
273 Lactose growth	274	277	
274 Melezitose growth	275	<i>Rhodotorula buffonii</i>	
275 L-Sorbose growth	276	<i>Rhodotorula pustula</i>	
276 Citrate growth	<i>Leucosporidium antarcticum</i>	<i>Rhodotorula foliorum</i>	
277 Starch formation	<i>Rhodotorula foliorum</i>	<i>Cryptococcus terreus</i>	
278 D-Galacturonate growth	279	<i>Cryptococcus elinovii</i>	
		<i>Cryptococcus terreus</i>	
279 Lactose growth	<i>Rhodospiridium malvinellum</i>	<i>Cryptococcus huempfi</i>	
280 Growth w/o Thiamin	281	289	
281 Growth w/o PABA	282	285	
282 D-Xylose growth	283	284	
283 Citrate growth	<i>Sporobolomyces phylladus</i>	<i>Sporobolomyces inositolophilus</i>	
284 Melezitose growth	<i>Rhodospiridium malvinellum</i>	<i>Rhodotorula lactosa</i>	
285 Ballistoconidia	286	287	
286 D-Glucuronate growth	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>	
	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Rhodotorula aurantiaca</i>	
287 D-Galactose growth	288	<i>Sporobolomyces griseoflavus</i>	
288 Lactose growth	<i>Sporobolomyces phylladus</i>	<i>Sporobolomyces isugae</i>	
289 0.1% Cycloheximide growth	290	292	
290 Pink colonies	291	<i>Rhodospiridium toruloides</i>	
		<i>Rhodotorula glutinis</i>	
291 Erythritol growth	<i>Rhodotorula pilatii</i>	<i>Rhodotorula diffuens</i>	
292 Galactitol growth	293	296	
293 Starch growth	294	295	

	Negative	Positive
294 Filamentous	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>
295 Growth at 37°C	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>	<i>Sporobolomyces holstii</i>
296 Melezitose growth	<i>Sporidiobolus microsporus</i>	<i>Sporidiobolus johnsonii</i>
297 Melezitose growth	298	<i>Rhodotorula glutinis</i>
298 D-Glucuronate growth	299	300
299 Growth w/o Thiamin	301	302
300 Ballistoconidia	<i>Rhodospiridium malvinellum</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
301 Ethylamine growth	303	<i>Sporobolomyces salicis</i>
302 D-Galactose growth	<i>Sporobolomyces subbrunneus</i>	<i>Bensingtonia miscan</i>
303 Starch formation	<i>Rhodospiridium paludigenum</i>	
304 Ballistoconidia	<i>Rhodotorula graminis</i>	
305 Galactitol growth	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>	<i>Sporidiobolus microsporus</i>
306 D-Galactose growth	307	<i>Sporidiobolus rufo</i>
307 D-Xylose growth	<i>Sporobolomyces subbrunneus</i>	<i>Cryptococcus kuetzingii</i>
308 D-Galacturonate growth	309	
309 Citrate growth	<i>Cryptococcus curiosus</i>	<i>Mrakia frigida</i>
310 Erythritol growth	<i>Rhodotorula javanica</i>	<i>Mrakia nivalis</i>
311 D-Glucuronate growth	312	<i>Trichosporon pulchellum</i>
312 D-Arabinose growth	313	
313 Ethylamine growth	314	
314 Ballistoconidia	315	
315 Erythritol growth	316	
316 Growth at 25°C	<i>Cryptococcus lupi</i>	
317 Lemon-shaped cells	<i>Rhodospiridium toruloides</i>	<i>Rhodotorula bacarum</i>
318 Growth w/o Thiamin	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Rhodotorula phyllospora</i>
319 0.1% Cycloheximide growth	<i>Rhodotorula bacarum</i>	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>
320 Ballistoconidia	<i>Sporobolomyces roseus</i>	
321 5-Keto-D-gluconate growth	321	
322 Growth w/o Thiamin	322	
323 Pink colonies	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Rhodospiridium toruloides</i>
324 D-Galacturonate growth	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>
325 Growth w/o Thiamin	<i>Rhodotorula himmulea</i>	<i>Leucosporidium scottii</i>
326 Erythritol growth	326	
327 Ethylamine growth	327	
328 L-Arabinose growth	328	
329 Ballistoconidia	329	<i>Sporobolomyces roseus</i>
330 Lemon-shaped cells	<i>Rhodospiridium sphaerocarpum</i>	<i>Rhodotorula bacarum</i>
331 5-Keto-D-gluconate growth	<i>Rhodotorula glutinis</i>	
332 Ballistoconidia	332	<i>Sporobolomyces roseus</i>
333 D-Galacturonate growth	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Leucosporidium scottii</i>
334 D-Galactose growth	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Rhodotorula acheniorum</i>
335 D-Galacturonate growth	<i>Sporobolomyces roseus</i>	
336 0.1% Cycloheximide growth	<i>Rhodotorula bacarum</i>	
337 Growth at 35°C	336	
338 Diazonium Blue B reaction	337	
339 Cadaverine growth	338	
340 Ballistoconidia	<i>Saitoella complicata</i>	<i>Rhodospiridium toruloides</i>
341 Starch growth	<i>Rhodospiridium fluviale</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>
342 5-Keto-D-gluconate growth	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Sporidiobolus salmonicolor</i>
343 0.1% Cycloheximide growth	<i>Rhodospiridium diobovatum</i>	
344 Pink colonies	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Rhodospiridium kratochvilii</i>
345 D-Mannitol growth	<i>Leucosporidium scottii</i>	<i>Rhodospiridium diobovatum</i>
346 Ethanol growth	346	<i>Rhodotorula glutinis</i>
347 L-Rhamnose growth	347	<i>Rhodospiridium diobovatum</i>
348 L-Arabinose growth	348	
349 Pink colonies	349	
	<i>Cryptococcus hemphillii</i>	<i>Cryptococcus wrightii</i>
	<i>Cryptococcus vishniacii</i>	

Ek 1.'in Devamı

	Negative	Positive
350 Diazonium Blue B reaction	<i>Cryptococcus lupi</i>	351
	<i>Cryptococcus tyrolensis</i>	
	<i>Cryptococcus vishniacii</i>	
351 Pink colonies	<i>Cryptococcus baldrensis</i>	<i>Cryptococcus wrightensis</i>
	<i>Cryptococcus lupi</i>	
	<i>Cryptococcus vishniacii</i>	
352 D-Galactose growth	353	<i>Filobasidium floriforme</i>
353 L-Arabinose growth	<i>Cryptococcus hemphlingii</i>	<i>Cryptococcus asgardensis</i>
	<i>Cryptococcus vishniacii</i>	<i>Cryptococcus vishniacii</i>
354 L-Rhamnose growth	355	357
355 Erythritol growth	356	<i>Cryptococcus isukubaensis</i>
356 Pink colonies	<i>Cryptococcus lupi</i>	<i>Cryptococcus wrightensis</i>
357 Melibiose growth	<i>Filobasidium floriforme</i>	<i>Mrakia gelida</i>
358 Melibiose growth	359	371
359 Ethylamine growth	360	361
360 D-Arabinose growth	361	361
361 Pink colonies	362	361
362 L-Arabinose growth	<i>Rhodotorula ingeniosa</i>	361
363 Glucosamine (nitrogen) growth	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Mrakia stokesii</i>
364 D-Xylose growth	<i>Bullera punicea</i>	<i>Bullera megalospora</i>
365 Growth at 25°C	<i>Cystofilobasidium capitatum</i>	361
366 Pink colonies	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Cryptococcus macerans</i>
367 Starch formation	368	371
368 Starch growth	369	371
369 L-Arabinose growth	<i>Leucosporidium scottii</i>	371
	<i>Rhodotorula muscorum</i>	
370 D-Galacturonate growth	371	<i>Cryptococcus albidus</i>
		<i>Leucosporidium scottii</i>
371 Growth w/o Thiamin	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Rhodotorula fragilis</i>
372 Growth w/o PABA	<i>Rhodotorula lactosa</i>	371
373 Pink colonies	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Cystofilobasidium bisporum</i>
374 Growth at 25°C	375	371
375 Pink colonies	<i>Cystofilobasidium capitatum</i>	<i>Cystofilobasidium capitatum</i>
	<i>Leucosporidium lari-marini</i>	<i>Cystofilobasidium infirmo-miniatum</i>
376 Pink colonies	377	<i>Cystofilobasidium bisporum</i>
		<i>Cystofilobasidium infirmo-miniatum</i>
377 Glucosamine (nitrogen) growth	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Filobasidium floriforme</i>
	<i>Cryptococcus bhutanensis</i>	
378 Erythritol growth	379	3
379 L-Sorbose growth	380	3
380 Growth w/o PABA	381	3
381 D-Galacturonate growth	<i>Besingtonia naganoensis</i>	<i>Rhodotorula lactosa</i>
382 Filamentous	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Bullera pirica</i>
383 Growth at 25°C	384	2
384 L-Rhamnose growth	<i>Cryptococcus aquaticus</i>	<i>Mrakia gelida</i>
385 Ballistoconidia	373	<i>Bullera pirica</i>
386 Splitting cells	387	<i>Trichosporon pullulans</i>
387 5-Keto-D-gluconate growth	388	
388 Filamentous	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Sporobolomyces antarcticus</i>

Ek 2. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

0.Gün pH Değeri Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan Değeri	FÖnemlilik
Sucuk Örneği	,319	12	2,657E-02	,735	,716
	5,171	143	3,616E-02		
Toplam	5,490	155			
Karotenoid	4,287	1	4,287	548,627	,000
Kullanım Şekli*	1,203	154	7,814E-03		
Toplam	5,490	155			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

Ek 3. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

30.Gün pH Değeri Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan Değeri	FÖnemlilik
Sucuk Örnekleri*	,327	12	2,724E-02	2,693	,003
	1,447	143	1,012E-02		
Toplam	1,774	155			
Karotenoid	3,540E-02	1	3,540E-02	3,136	,079
Kullanım Şekli	1,739	154	1,129E-02		
Toplam	1,774	155			

* $\alpha=0,05$ güven sınırında önemli

Ek 4 . Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

0.Gün % Nem Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri	32,105	12	2,675	,202	,998
	1882,871	142	13,260		
Toplam	1914,976	154			
Karotenoid	1391,662	1	1391,662	406,876	,000
Kullanım Şekli*	523,314	153	3,420		
Toplam	1914,976	154			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

Ek 5. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

30.Gün % Nem Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri*	672,410	12	56,034	5,762	,000
	1380,823	142	9,724		
Toplam	2053,233	154			
Karotenoid	201,542	1	201,542	16,653	,000
Kullanım Şekli*	1851,691	153	12,103		
Toplam	2053,233	154			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

Ek 6 . Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

0.Gün L Değeri Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri*	421,718	12	35,143	4,765	,000
Karotenoid	97,375	1	97,375	13,203	,000
Kullanım Şekli*					
Hata	1047,293	142	7,375		
Toplam	471127,392	156			
Düzeltilmiş Toplam	1566,387	155			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

Ek 7 . Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

30.Gün L Değeri Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri*	301,281	12	25,107	2,933	,001
Karotenoid	14,269	1	14,269	1,667	,199
Kullanım Şekli*					
Hata	1215,463	142	8,560		
Toplam	363424,520	156			
Düzeltilmiş Toplam	1531,013	155			

* $\alpha=0,05$ güven sınırında önemli

Ek 8. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

0.Gün a* Değeri Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri**	77,317	12	6,443	2,741	,002
Karotenoid	230,364	1	230,364	98,004	,000
Kullanım Şekli*					
Hata	333,778	142	2,351		
Toplam	34553,190	156			
Düzeltilmiş Toplam	641,459	155			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

* $\alpha=0,05$ güven sınırında önemli

Ek 9. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

30.Gün a* Değeri Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri**	84,271	12	7,023	3,306	,000
	375,464	142	2,644		
Toplam	458,767	154			
Karotenoid	75,979	1	75,979	35,772	,000
Kullanım Şekli*					
Hata	299,484	141	2,124		
Toplam	29913,521	155			
Düzeltilmiş Toplam	458,767	154			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

Ek 10. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

0.Gün b* Değeri Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri**	642,547	12	53,546	3,996	,000
Karotenoid Kullanım Şekli*	14922,520	1	14922,520	1113,656	,000
Hata	1902,740	142	13,400		
Toplam	102137,679	156			
Düzeltilmiş Toplam	17467,807	155			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

Ek 11. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

30.Gün b* Değeri Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri*	1064,778	12	88,731	4,969	,000
Karotenoid Kullanım Şekli*	7132,476	1	7132,476	399,389	,000
Hata	2535,900	142	17,858		
Toplam	51457,971	156			
Düzeltilmiş Toplam	10733,154	155			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

Ek 12. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

30.Gün Duyusal Analiz Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri*	99,729	12	8,311	2,690	,001
Karotenoid Kullanım Şekli**	171,270	1	171,270	55,443	,000
Hata	2366,243	766	3,089		
Toplam	43599,750	780			
Düzeltilmiş Toplam	2637,242	779			

* $\alpha=0,05$ güven sınırında önemli

** $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli

Ek 13. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

0.Gün Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri	1,083	12	9,022E-02	,361	,972
Karotenoid	5,982E-02	1	5,982E-02	,239	,627
Kullanım Şekli					
Hata	16,017	64	,250		
Toplam	4058,951	78			
Düzeltilmiş Toplam	17,159	77			

Ek 14 . Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

30.Gün Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri	13,895	12	1,158	1,926	,047
Karotenoid	2,718	1	2,718	4,521	,037
Kullanım Şekli					
Hata	38,471	64	,601		
Toplam	3212,189	78			
Düzeltilmiş Toplam	55,084	77			

Ek 15. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

0.Gün *Enterobacteriaceae* sayım Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri	6,141	12	,512	1,230	,283
Karotenoid	,118	1	,118	,283	,597
Kullanım Şekli					
Hata	26,626	64	,416		
Toplam	1663,278	78			
Düzeltilmiş Toplam	32,885	77			

Ek 16. Farklı Miktarda Nitrit ve Karotenoid Kullanılarak Üretilen Sucukların

30.Gün *Enterobacteriaceae* sayım Varyans Analizi

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Kareler Derecesi	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Önemlilik
Sucuk Örnekleri*	1,174	12	9,787E-02	4,525	,000
Karotenoid	,137	1	,137	6,338	,014
Kullanım Şekli					
Hata	1,384	64	2,163E-02		
Toplam	90,655	78			
Düzeltilmiş Toplam	2,696	77			

* $\alpha=0,01$ güven sınırında önemli