

**T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUK BENZERİ ET ÜRÜNÜNÜN KALİTESİNİN
İYİLEŞTİRİLMESİNDE ENKAPSÜLE STARTER KÜLTÜR KULLANIMI**



TUĞÇA BİLENLER

**DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

ŞUBAT 2017

**T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUK BENZERİ ET ÜRÜNÜNÜN KALİTESİNİN
İYİLEŞTİRİLMESİNDE ENKAPSÜLE STARTER KÜLTÜR KULLANIMI**

TUĞÇA BİLENLER

**DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

ŞUBAT 2017

Onay Sayfası

Tezin Başlığı: Isıl İşlem Görmüş Sucuk Benzeri Et Ürününün Kalitesinin İyileştirilmesinde Enkapsüle Starter Kültür Kullanımı

Hazırlayan: Tuğça BİLENLER

Sınav Tarihi: 17.02.2017

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Halil VURAL
Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. İhsan KARABULUT
(Danışman)
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. A. Adnan HAYALOĞLU
İnönü Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. İncilay GÖKBULUT
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Halil İbrahim ADIGÜZEL
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Doktora Tezi olarak sunduğum "Isıl İşlem Görmüş Sucuk Benzeri Et Ürününün Kalitesinin İyileştirilmesinde Enkapsüle Starter Kültür Kullanımı" başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Tuğça BİLENLER

ÖZET

Doktora Tezi

ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ SUCUK BENZERİ ET ÜRÜNÜNÜN KALİTESİNİN İYİLEŞTİRİLMESİNDE ENKAPSÜLE STARTER KÜLTÜR KULLANIMI

Tuğça BİLENLER

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

193 + xi sayfa

2017

Danışman: Prof. Dr. İhsan KARABULUT

Sucuk üretimi esnasında uygulanan ısıtma işlemi temel amaç gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların yaklaşık 68-70°C'de 15-20 dakikada yok edilmesidir. Ancak söz konusu işlem ile ürün güvenilirliğinin artırılmasının yanı sıra, istenilen bakteri sayısında gerçekleşen azalma nedeniyle ürünün fiziksel, kimyasal ve duyu özelliklerinde önemli kayıplar yaşanmaktadır. Starter kültürlerin enkapsülasyonu ile ısıtma işlemi sonrası canlılıkları korunabilir. Isıtma işlemi uygulanarak üretilen sucuklarda serbest ve enkapsüle starter kültür kullanımı konu alan çalışma sayısı yetersizdir. Bu çalışmanın amacı aljinat-nişasta karışımı ile emülsiyon yöntemi kullanılarak mikroenkapsüle edilen *Staphylococcus xylosum* ve *Lactobacillus plantarum* 'un etkinlik, yüzey morfolojisi ve salınım profilini incelemek ve ısıtma işlemi ve fermentasyon sucukların mikrobiyolojik ve fizyokimyasal karakteristikleri üzerine enkapsüle starter kültür kullanımının etkisini saptamaktır. Analizler 0. gün (üretimden önce), 14. gün (üretimden sonra) ve buzdolabında (4°C) gerçekleştirilen depolama periyodunun 30. ve 45. günlerinde gerçekleştirilmiştir.

Fermente örneklerin nem, a_w , kalıntı nitrit, Lipit oksidasyonu (TBA), pH değerlerinin ısıtma işlemi örneklerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Üretim periyodu sonunda (14 gün) enkapsül formda kültür kullanımının fermentasyon örnekleri arasında (kalıntı nitrit ve TBA değerleri hariç) farklılığa neden olmadığı, ancak ısıtma işlemi örneklerinin nem a_w , kalıntı nitrit, titrasyon asitliği sonuçlarının enkapsüle kültür kullanımından etkilendiği belirlenmiştir. Isıtma işlemi etkisi ile serbest ve enkapsül formda gerçekleşen azalma oranının Laktik asit bakterileri için 4.18 ve 1.27 log kob/g, Mikrokok-Stafilokok için sırası ile 3.36 ve 1.19 log kob/g olarak belirlenmiştir. En yüksek canlı hücre sayısının enkapsül formda kültür içeren örneklerde olduğu tespit edilmiştir. Fermentasyon örneklerinde daha yüksek miktarlarda olmakla birlikte, tüm örneklerde biyogen amin olarak putresin, histamin, kadaverin, spermidin, tiramin ve spermin belirlenmiştir. Fermentasyon ve kuruma süresi sonunda, enkapsül formda starter kültür kullanımı ile serbest forma kıyasla daha düşük miktarlarda tiramin (sırası ile 70.15 ve 87.99 mg/kg KM) ve spermin (sırası ile 82.06 ve 93.45 mg/kg KM) tespit edilmiştir.

Fermente örneklerde uçucu bileşiklerin çeşit ve miktarının ısıtma işlemi örneklerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Enkapsüle edilmiş starter kültür kullanımının serbest forma kıyasla tüm uçucu bileşiklerde (ester bileşikleri hariç) yaşanan kaybı azalttığı belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda (45. gün) serbest ve enkapsüle starter kültür içeren örnekler arasında taktürel ve duyu özellikler bakımından önemli farklılık bulunmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, starter kültürlerin mikroenkapsülasyonu fermentasyon ve ısıtma işlemi sucuklarında spesifik sucuk karakteristiklerinin devam ettirilmesi ve fermentasyonun düzenlenmesinde yeni bir teknik olarak araştırılmaktadır. Elde edilen sonuçlar, aljinat-nişasta temelli enkapsülasyon tekniği ile starter kültür içeren mikroenkapsüllerin olumsuz koşullarda stabilitelerinin artırıldığını ifade etmektedir. Isıtma işlemi gören sucuk üretiminde, enkapsüle starter kültür kullanımı ile üretim öncesi, süresi ve sonrasında kültürlerin canlı kalması sağlanmış ve serbest kültür kullanılan örneklere kıyasla, son ürüne sağlık ve güvenlik bakımından üstünlükler sağlayan daha düşük kalıntı nitrit miktarı, daha yüksek asitlik gelişimi ve uçucu bileşik miktarı elde edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Sucuk, Isıtma İşlem, Fermentasyon, Enkapsül, Starter Kültür, Mikrobiyal Kalite, Biyogen Amin, Uçucu Bileşikler.

ABSTRACT

Ph.D.Thesis

THE USE OF ENCAPSULATED STARTER CULTURE FOR IMPROVING THE QUALITY OF THE HEAT TREATED SAUSAGE LIKE PRODUCT

Tuğça BİLENLER

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

193 + xi pages

2017

Supervisor: Prof. Dr. İhsan KARABULUT

The main target in heat treatment during sucuk production is elimination of the foodborne pathogen bacteria at approximately 68-70°C for 15-30 min. However, problems in physical, chemical and sensory quality as well as product safety may arise during production and storage due to the significant reduction of desirable bacteria. Encapsulation thus may protect the viability of starter cultures from heat treatment. Studies using free or encapsulated starter cultures in heat treated sucuks are still scarce. In this context, the purpose of the present study was to evaluate morphological properties, survival rate and release behavior of starter cultures of *L. plantarum* and *S. xylosus*, microencapsulated using an emulsion method with the alginate-starch mixture, and also to monitor the effects of addition of these encapsulated starter cultures on physicochemical and microbiological characteristics of heat treated and fermented sucuks. Analyses were carried out at days 0 (befor production), 14 (after production), 30 and 45 during refrigerated storage (4°C).

Moisture, aw, residual nitrite, TBA and pH values of fermented sucuks were lower than those of heat treated samples. Encapsulated starter cultures did not create significant differences on physicochemical properties of fermented sucuk at the end of manufacturing period (14 days), except for TBA and residual nitrite value. However moisture, aw, residual nitrite value and titratable acidity value were affected with encapsulated starter cultures in heat treated sucuk. Compared to initial counts (7 log CFU/g sucuk), reduction rates of Lactic acid bacteria in heat treated samples at day 0 were 1.28 log unit for encapsulated sample and 4.81 log unit for free sample, while the reduction for Micrococcus-Staphylococcus in encapsulated and free samples were determined as 1.20 log unit and 3.37 log unit, respectively. The highest number of viable cell was determined in the sample containing encapsulated starter culture.

Biogenic amines such as, putrescine, histamine, cadaverine, spermidine, tyramine and spermine were detected in all samples, but in higher quantity in fermented sucuks. Compared to free starter cultures inoculated sucuks, encapsulated starter cultures inoculated ones have lower level of tyramine (87.99 and 70.15 mg/kgDW, respectively) and spermine (93.45 and 82.06 mg/kg DW). The number and quantity of volatile compounds was higher in fermented sucuks than those of heat treated sucuks ones. All the volatile compounds except esters were less reduced by utilization of encapsulated starter cultures compared to free starter culture inoculation in the production of heat treated sucuks. There are no significant changes in textural and sensorial attributes between the free and encapsulated starter culture inoculated sucuks after 45 days storage.

In conclusion, microencapsulation of starter cultures was investigated as an emerging technique to regulate fermentation processes and to maintain specific product characteristics of fermented and heat treated sucuks. The results revealed that alginate-starch based encapsulation technique enhanced the stability of microcapsules containing starter cultures in adverse conditions. Utilization of encapsulated starter cultures in the production of heat treated sucuks ensured their viability before, during and after production (both fermentation and heat treatment), and resulted in lower residual nitrite content, higher acidity generation and volatile compounds in comparison to the free cultures, which could offer health and safety benefits for the ultimate product.

KEYWORDS: Sausage, Heat Treatment, Fermentation, Encapsulation, Starter Culture, Microbial Quality, Biogenic Amine, Volatile Compounds.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında bilgi ve tecrübesi ile yol gösteren, karşılaştığım her zorlukta engin hoşgörüsü ile desteğini esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. İhsan KARABULUT'a;

Bilgi ve desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Kezban CANDOĞAN'a;

Tez izleme Komite üyesi, çalışmada kullanılan starter kültür temininde ve istatistik değerlendirmede yardımcı olan Sayın Prof. Dr. A. Adnan HAYALOĞLU'na;

Tez izleme Komite üyesi, tekstür analizinde yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. İncilay GÖKBULUT'a;

Tez çalışmasının laboratuvar aşamalarında yardımlarını eksik etmeyen sevgili arkadaşım Sayın Arş. Grv. Kübra ŞİŞLIOĞLU'na;

Hayatım boyunca beni destekleyen ve hep yanımda olan kardeşim Tuğba TOPALOĞLU'na, kuzenim Murat AKIN'a ve aileme,

Bu çalışmayı İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu 2015/36 nolu proje ile maddi olarak destekleyen ve olanak sağlayan İnönü Üniversitesi Rektörlüğü'ne

en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	ÖZET	i
	ABSTRACT	ii
	TEŞEKKÜR	iii
	İÇİNDEKİLER	iv
	ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
	ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
	SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1.	GİRİŞ	1
2.	KURAMSAL TEMELLER	5
3.	MATERYAL ve METOT	35
3.1.	Materyal.....	35
3.1.1.	Starter kültür, et, yağ, baharat ve kılıf	35
3.1.2.	Besiyerleri, dilüsyon sıvıları	35
3.1.3.	Diğer kimyasallar ve çözeltiler	35
3.2.	Metot.....	36
3.2.1.	Mikroenkapsüllerin hazırlanması	36
3.2.1.1.	Aljinat-niştasta enkapsüllerinin hazırlanması	36
3.2.1.2.	Pektin-niştasta enkapsüllerinin hazırlanması	37
3.2.2.	Enkapsüllerin karakterizasyon testleri	38
3.2.2.1.	Aljinat-niştasta enkapsüllerin etkinlik testi	38
3.2.2.2.	Pektin-niştasta enkapsüllerin etkinlik testi	39
3.2.3.	Morfolojik yapı	39
3.2.4.	Salınım testi	39
3.3.	Isıl İşlem Gören/Fermente Sucuk Benzeri Et Ürünü Üretimi	40
3.4.	Örnek Alma	44
3.5.	Analizler	44
3.5.1.	Nem miktarı ve su aktivitesi (a_w).....	44
3.5.2.	Kül miktarı	44
3.5.3.	Yağ miktarı	44
3.5.4.	Protein miktarı	45
3.5.5.	pH ve titrasyon asitliği	45
3.5.6.	Lipit oksidasyonunun (TBA) belirlenmesi	45
3.5.7.	Kalıntı nitrit miktarı	46
3.5.8.	Renk ölçümü.....	47
3.5.8.	Mikrobiyolojik analiz	47
3.5.9.	GC/MS ile uçucu bileşiklerin belirlenmesi	48
3.5.9.	Biyojen amin analizi	49
3.5.10.	Tekstür profil analizi.....	50
3.5.11.	Duyusal analiz	51
3.5.12.	İstatistiksel analizler	51
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	53
4.1.	Enkapsül Üretim ve Karakterizasyonu	53
4.1.1.	Aljinat-Niştasta enkapsüllerinin etkinlik değerleri	53
4.1.2.	Pektin-niştasta enkapsüllerinin etkinlik değerleri	54
4.1.3.	Morfolojik yapılar.....	56
4.1.4.	Aljinat-Niştasta enkapsüllerin salınım profili	59
4.2.	Isıl İşlem Gören/Fermente Sucuk Benzeri Et Ürününün Analizleri	60
4.2.1.	Nem ve su aktivitesi değerleri	60
4.2.2.	Kül miktarı.....	65
4.2.3.	Yağ miktarı	67
4.2.4.	Protein miktarı	68
4.2.5.	pH ve titrasyon asitliği miktarı	70
4.2.6.	Lipit oksidasyon (TBA) değeri	78
4.2.7.	Kalıntı nitrit miktarı	80
4.2.8.	Renk ölçümü.....	82
4.2.9.	Mikrobiyolojik analiz	88
4.2.9.1.	Toplam aerofil mezofil bakteri (TAMB) sayısı	88

4.2.9.2.	Laktik asit bakterileri	95
4.2.9.3.	Mikrokok- Stafilokok (M-S) değişimi	95
4.2.9.4.	Maya ve Küf sayısı	99
4.2.9.5.	Koliform bakteri sayısı	100
4.2.10.	Sucuk �rneklerinin uçucu bileşikleri	102
4.2.10.1.	Sülfür bileşikleri	106
4.2.10.2.	Terpen bileşikleri	109
4.2.10.3.	Alkol bileşikleri	114
4.2.10.4.	Ester bileşikleri	119
4.2.10.5.	Aldehit bileşikleri	121
4.2.10.6.	Keton bileşikleri	125
4.2.10.7.	Asit bileşikleri	129
4.2.10.8.	Diğer uçucu bileşikler	131
4.2.11.	Sucuk �rneklerinin biyojen amin iğerikleri	134
4.2.11.1.	Putresin miktarı	134
4.2.11.2.	Histamin miktarı	137
4.2.11.3.	Kadaverin miktarı	139
4.2.11.4.	Spermidin miktarı	141
4.2.11.5.	Tiramin miktarı	143
4.2.11.6.	Spermin miktarı	145
4.2.12.	Sucuk �rneklerinin tekstür analizi	148
4.2.12.1.	Sertlik (Hardness, N)	148
4.2.12.2.	Elastikiyet (Springiness, mm)	150
4.2.12.3.	Yapışkanlık (Gumminess, N)	152
4.2.12.4.	Çiğnenebilirlik (Chewiness)	153
4.2.13.	Duyusal analizler	154
4.2.13.1.	Çiğ sucuklarda duysal analizler	154
4.2.13.1.1.	Renk	156
4.2.13.1.2.	Koku	157
4.2.13.1.3.	Kesit yüzey görünümü (KYG)	158
4.2.13.1.4.	Genel kabul edilebilirlik (GK)	159
4.2.13.2.	Pişmiş sucuklarda duysal analizler	160
4.2.13.2.1.	Tat ve uçucu	160
4.2.13.2.2.	Koku	162
4.2.13.2.3.	Tekstür	163
5.	SONUÇ ve �NER�LER	165
6.	KAYNAKLAR	169
	EKLER	186
	�ZGE�M�ş	192

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Et ve et ürünlerinde gerçekleşen lipoliz ve uçucu bileşenlerinin oluşum reaksiyonları.	10
Şekil 2.2.	Lipit oksidasyon mekanizması.....	10
Şekil 2.3.	Fermentasyon sırasında hem pimentinde meydana gelen değişimler	12
Şekil 2.4.	Starter kültür olarak kullanılan laktobasillerin metabolik aktiviteleri	15
Şekil 2.5.	Starter kültür olarak kullanılan stafilokokların metabolik aktiviteleri	16
Şekil 2.6.	Aljinatın β -D-manuronik asit (M) ve α -L- guluronik asit (G) monomerleri ve blok tipleri.....	18
Şekil 2.7.	Aljinat jel oluşumunda "egg box" modeli.....	18
Şekil 2.8.	Nişasta molekülünün kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.9.	Pektin kimyasal yapısı	20
Şekil 2.10.	Et ürünlerinde uçucu oluşumunda etkili olan biyokimyasal yollar.....	22
Şekil 4.1.	<i>L. plantarum</i> için kuru enkapsüllerin SEM görüntüsü.....	56
Şekil 4.2.	<i>S. xylosus</i> için kuru enkapsüllerin SEM görüntüsü.....	57
Şekil 4.3.	Kurutmadan önce <i>L. plantarum</i> enkapsüllerinin SEM görüntüsü	57
Şekil 4.4.	Kurutmadan önce <i>S. xylosus</i> enkapsüllerinin SEM görüntüsü.....	57
Şekil 4.5.	<i>S. xylosus</i> ve <i>L. plantarum</i> enkapsüllerin salınım değerleri.....	59
Şekil 4.6.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen nem miktarlarındaki değişim	62
Şekil 4.7.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen a_w miktarlarındaki değişim	64
Şekil 4.8.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen küllük miktarlarındaki değişim.....	66
Şekil 4.9.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen yağ miktarlarındaki değişim	68
Şekil 4.10.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen protein miktarlarındaki değişim.....	70
Şekil 4.11.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim aşamalarında belirlenen pH değişimleri.....	72
Şekil 4.12.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim ve depolama aşamalarında belirlenen pH değişimleri	75
Şekil 4.13.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim aşamalarında belirlenen titrasyon asitliği değişimi	76
Şekil 4.14.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen titrasyon asitliği değişimleri	77
Şekil 4.15.	Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında TBA miktarlarında gerçekleşen değişiklikler	79
Şekil 4.16.	Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen kalıntı nitrit miktarlarındaki değişim	80
Şekil 4.17.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen renk (L^*) değişimleri	84
Şekil 4.18.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen renk (a^*) değişimleri	86
Şekil 4.19.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen renk (b^*) değişimleri.....	87
Şekil 4.20.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim ve depolama aşamalarında TAMB sayısındaki değişim.....	93
Şekil 4.21.	Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim ve depolama aşamalarında LAB sayısındaki değişim	97
Şekil 4.22.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim ve depolama aşamalarında M-S sayısı.....	89
Şekil 4.23.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen maya-küf sayılarındaki değişim	100
Şekil 4.24.	Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen koliform sayılarındaki değişim	101
Şekil 4.25.	Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında putresin miktarlarındaki değişim	136
Şekil 4.26.	Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında histamin miktarlarındaki değişim.....	138

Şekil 4.27.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında kadaverin miktarlarındaki değişim.....	140
Şekil 4.28.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında spermidin miktarlarındaki değişim	142
Şekil 4.29.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında tiramin miktarlarındaki değişim.....	143
Şekil 4.30.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında spermin miktarlarındaki değişim	146
Şekil 4.31.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında sertlik miktarlarındaki değişim	150
Şekil 4.32.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında elastikiyet miktarlarındaki değişim.....	151
Şekil 4.33.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında yapışkanlık miktarlarındaki değişim.....	152
Şekil 4.34.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında çıgınebilirlik miktarlarındaki değişim	153
Şekil 4.35.	Çiğ fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen renk değişimleri	156
Şekil 4.36.	Çiğ fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen koku değişimleri.....	157
Şekil 4.37.	Çiğ fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen KYG değişimleri.....	158
Şekil 4.38.	Çiğ fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen GK değişimleri.....	159
Şekil 4.39.	Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucukların depolama aşamaları sonunda pişirilmesi ile elde edilen tat ve uçucu puanları	162
Şekil 4.40.	Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucukların depolama aşamaları sonunda pişirilmesi ile elde edilen koku puanları	163
Şekil 4.41.	Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucukların depolama aşamaları sonunda pişirilmesi ile elde edilen tekstür puanları	163

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar	14
Çizelge 2.2.	Et ve et ürünlerinde bulunan biyogen aminler ve farmakolojik etkileri.....	27
Çizelge 3.1.	Aljinat-niştasta enkapsüllerinin hazırlanmasında kullanılan formülasyonlar.....	37
Çizelge 3.2.	Pektin-niştasta enkapsüllerinin hazırlanmasında kullanılan formülasyonlar.....	38
Çizelge 3.3.	Sucuk örneklerinin kodlamaları	40
Çizelge 3.4.	Sucuk üretim formülasyonu	41
Çizelge 4.1.	İki farklı starter kültürün farklı konsantrasyonlardaki aljinat-niştasta enkapsüllerinin etkinlik test sonuçları	54
Çizelge 4.2.	Starter kültürlerin farklı konsantrasyonlardaki pektin-niştasta enkapsüllerinin etkinlik test sonuçları	55
Çizelge 4.3.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında fizikokimyasal özellikleri.....	61
Çizelge 4.4.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin nem ve a_w değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları	65
Çizelge 4.5.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin kül, yağ ve protein miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları	66
Çizelge 4.6.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim aşamalarında pH değerleri.....	71
Çizelge 4.7.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerinin üretim ve depolama periyodunda belirlenen kimyasal özellikler	74
Çizelge 4.8.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları.....	78
Çizelge 4.9.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin TBA miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	80
Çizelge 4.10.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen renk değerleri.....	83
Çizelge 4.11.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin renk (L^* , a^* , b^*) değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları	88
Çizelge 4.12.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim ve depolama aşamalarında mikrobiyoloji sonuçları (log kob/g)	90
Çizelge 4.13.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin TAMB sayılarına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	93
Çizelge 4.14.	Enkapsül formda bulunan LAB ve M-S'in üretim ve depolama aşamalarında salınım oranları	98
Çizelge 4.15.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin starter kültür miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	91
Çizelge 4.16.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin maya-küf sayılarına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	100
Çizelge 4.17.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen uçucu bileşikler	104
Çizelge 4.18.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen sülfür bileşikler.....	107
Çizelge 4.19.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen terpen bileşikler.....	110
Çizelge 4.20.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen alkol bileşikler	115
Çizelge 4.21.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen ester bileşikler	120
Çizelge 4.22.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen aldehit bileşikler	122
Çizelge 4.23.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen keton bileşikler	127
Çizelge 4.24.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen asit bileşikler	130
Çizelge 4.25.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen diğer uçucu bileşikler	133

Çizelge 4.26.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen biyogen amin miktarları (mg/kg KM)	135
Çizelge 4.27.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin biyogen amin miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	148
Çizelge 4.28.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen tekstür analiz sonuçları.....	149
Çizelge 4.29.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin tekstür özelliklerine ilişkin varyans analiz sonuçları	154
Çizelge 4.30.	Çiğ fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen duyu değerlendirmeye puanları.....	155
Çizelge 4.31.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin çiğ formda duyu panel değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları.....	160
Çizelge 4.32.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamaları sonunda pişirilmesi ile elde edilen duyu değerlendirmeye puanları.....	161
Çizelge 4.33.	Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin pişmiş formda duyu panel değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları	164



EKLER

EK 1. Çiğ sucuk duyusal değerlendirme formu	186
EK 2. Pişmiş sucuk duyusal değerlendirme formu.....	187
EK 3. Kalıntı nitrit miktarına ait kalibrasyon grafiği	188
EK 4. TBA değerine ait kalibrasyon grafiği.....	189
EK 5 Biyojen amin standart karışımına ait kalibrasyon grafiği.....	190
EK 6. Biyojen amin standart karışımına (A) ve sucuk örneğine (B) ait kromatogramlar.....	191



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ATTC	Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
BHI	Brain Heart Infusion
BPA	Baird Parker Agar
CLA	Konjuge linoleik asit
CNC	Apatojen koagülaz negatif kok
EMB	Eosin Methylen Blue
GCC	Gram pozitif katalaz pozitif kok
GRAS	Genel olarak güvenilir kabul edilen
LAB	Laktik asit bakterisi
LST	Lauryl Sulfate Tryptose
MDA	Malondialdehit
MRS	De Man Rogosa Sharpe
M-S	Mikrokok- Stafilokok
PBS	Fosfat tampon tuzu
PCA	Plate Count Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
TBA	Tiyobarbutirik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TEP	1,1,3,3-tetraetoksi Propan
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TAMB	Toplam aerofil mezofil bakteri

1.GİRİŞ

İnsan beslenmesinde yüksek biyolojik değere sahip gıdaların yeri son derece önemlidir. Bu nedenle beslenme alışkanlığında et tüketimi yeterli ve dengeli beslenmenin ölçütü olarak kabul edilmektedir. İçerdiği bileşenler nedeni ile değerli bir besin kaynağı olan et, taze olarak tüketiminin yanı sıra çeşitli teknolojik uygulamaların ardından işlenmiş mamuller olarak da tüketilmektedir. Et ürünlerinin üretimi farklı nedenlere dayanmaktadır. Bunların başında dayanıklılığı arttırmak, farklı lezzet ve uçucu kazandırmak ve etten daha etkin faydalanmak olarak sıralanabilir [1-3].

Et ürünleri Türkiye'nin de aralarında bulunduğu dünyanın pek çok ülkesinde farklı üretim teknikleri ile farklı tiplerde üretilen ve yaygın tüketilen ürünlerdir. Dünya çapında 1000'in üzerinde olan et ürünü çeşidinin yanı sıra, Türkiye'de en yaygın tüketilen et ürününün sucuk olduğu bilinmektedir [4]. Sucuk üretim şekli bölge ve kişi bazında değişiklik taşımakla birlikte farklı oranda et, yağ, çeşitli baharatlar, kürleme ajanları, tuz, şeker ve starter kültürden oluşan bileşimin hamur haline getirilmesi, kılıflara doldurulması, şekil verilmesi (kangal ya da baton) sonrasında belirli koşullarda fermentasyon ve kurutma sürecinin ardından geleneksel fermente sucuk üretimi gerçekleştirilmektedir [4, 5]. Ancak son yıllarda ülkemizde geleneksel sucuk üretimi azalmış, endüstriyel anlamda üretim süresinin kısaltılması, sucuğa talebin artması ve üretim maliyetlerini azaltılması gibi ekonomik nedenlerden dolayı kılıflara doldurulan sucuk hamuruna yaklaşık 70 °C'lerde 10-20 dk süren ısıtma işlemi uygulanması yaygınlaşmıştır. Isıtma işleminin aynı zamanda koruma yöntemi olarak kullanımı ile üründe istenmeyen mikroorganizma gelişimi engellenmektedir. Ayrıca ısıtma işlemi esnasında protein denatürasyonu ve su kaybı söz konusu olacağı için sucuğun daha sıkı ve sert yapı kazanımı ile ısıtma işlemi uygulanması sucuk üretimi gittikçe yaygınlaşmaktadır [6, 7]. Isıtma işlemi uygulanması ile elde edilen sucukların geleneksel üretime kıyasla bazı üstünlükleri bulunmasına rağmen, geleneksel fermente sucuğun önemli karakteristiklerinden olan ve tüketici tercihinde etkisi bulunan tat, uçucu ve koku gelişmesinde eksiklikler bulunduğu bildirilmiştir. Hem geleneksel hem de ısıtma işlemi görmüş sucuklarda son ürünün duyusal, mikrobiyolojik ve biyokimyasal özellikleri farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar ürünün tadında, kokusunda, uçucusunda, lezzetinde, renginde ve tekstüründe kendini hissettirmektedir. Söz konusu farklılıkların nedeni üründe gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonlar başlığında

toplanan endojen ve ekzojen enzimlerin görev aldığı glikoliz, lipoliz, proteoliz reaksiyonlarıdır [9]. Uygulanan ısı işlem ile patojen ve bozulmalara neden olan mikroorganizmaların inhibisyonlarının yanı sıra, fermentasyonu sağlayan starter kültürlerin de hasar gördüğü belirtilmiştir [9]. Sucuk üretiminde starter kültür kullanımı ile spontane fermentasyonda karşılaşılan standart özellikte olmayan ürün elde edilmesini önlemek amaçlanmıştır. Ayrıca üretimde starter kültür kullanımı ile daha kontrollü fermentasyon süreci sağlanmakta; bunun sonucunda daha kısa sürede, güvenilirliğinden emin olunan ve standart kalitede ürün üretimi mümkün olmaktadır [10-12]. Formülasyonunda starter kültür kullanılan ve ısı işlem uygulaması ile üretilen sucuklarda hedeflenen kalite kriterlerindeki başarı oranının düşük olduğu bildirilmiştir. Et ürünlerinde üretim proseslerinin yeni teknolojiler ile desteklenmesi ile starter kültür hasarı mümkün olduğunca azaltılabilmekte böylece elde edilen ürünün fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi yükseltilmektedir. Bu amaca yönelik olarak yeni teknik ve uygulamalardan olan enkapsülasyon teknolojisi ile sucuk üretiminde starter olarak kullanılan mikroorganizmaların enkapsülasyonunun önemli avantajlar sağladığı bildirilmiştir [13-17].

Enkapsülasyon tekniği belirli koşullar altında ince film tabakaları ya da polimer kapsüller yardımı ile küçük katı partiküllerin, sıvı damlacıkların ya da gazların tutuklanmasına dayanan ve kontrollü bir salınım sağlayan fiziksel bir tutuklama yöntemi olarak tanımlanmaktadır [18, 19]. Farklı alanlarda oldukça geniş uygulama alanı bulunan bu tekniğin et endüstrisinde kullanımı elde edilen ürünlerin kalitesinde fark edilebilir iyileşmeler sağlamaktadır. Bu bağlamda, starter kültür olarak kullanılan mikroorganizma etrafında farklı nitelikte ve genel olarak güvenilirliği kabul edilenler (GRAS) listesinde bulunan kabuk materyalleri kullanılarak bir fiziksel bariyer oluşturulmaktadır. Üretim tekniği kullanılan kabuk materyaline bağlı olmakla birlikte, gıda sektörü için emülsiyon, ekstrüzyon ve sprey kurutma öne çıkmaktadır. Enkapsül içerisinde tutulan mikroorganizma hem üretim koşullarının (ısı, basınç, kurutma vb.) hem de kullanılacağı gıda koşullarının (nem, su aktivitesi, asitlik gelişimi, tuz konsantrasyonu, kürlenme ajanları vb.) olumsuz etkilerinden korunmaktadır [20-23].

Et ürünlerinde karşılaşılabilecek ortak olumsuz niteliklerden birisi de kullanılan starter kültürlerin çeşidi ve metabolik aktivitesine ya da ürünün ve üretim ortamının özelliklerine bağlı olarak biyojen amin oluşma ihtimalidir. Biyojen amin olarak adlandırılan organik bileşikler doğal olarak sucuk yapısında bulunabildiği gibi

sonradan mikroorganizmaların dekarboksilaz aktivitesi sonucunda ya da aldehit ve ketonların deaminasyonu ile oluşabilmektedir. Biyojen amin oluşumunun gerçekleştiği gıdaların başında fermente ürünler gelmekte, bunların arasında peynir, şarap ve fermente soslar öne çıkmaktadır. Geleneksel yolla üretilen sucuk, hem kullanılan bakteriyel kültürler hem de üretim aşamalarındaki ortam koşulları bakımından biyojen amin oluşumuna elverişli bir üründür. Ancak, ısı işlem gören ürünlerde biyojen amin oluşum durumu henüz belirsizdir [24-27]. Fermente sucukta ve diğer gıdalarda biyojen amin varlığı toksikolojik riskleri beraberinde getirmekte ve ayrıca kontaminasyon indikatörü olarak kullanımları nedeni ile üretim koşullarında hijyen ve sanitasyon koşulları hakkında da fikir vermektedir [28]. Geleneksel fermente sucuklarda en yaygın tespit edilen biyojen aminler tiramin, histamin, fenilalanin, triptamin, putresin, spermidin, spermin ve kadaverindir [29, 30].

Sucuk kalite parametrelerinden bir tanesi ürünün uçucu bileşik profilidir. Sucuk uçucu bileşikleri üretim ve olgunlaşma süresince, yapısında doğal olarak gerçekleşen reaksiyonlar sonucu açığa çıkan yapılardan oluşmaktadır. Sucuk yapımında kullanılan et, yağ, tuz, baharatlar uçucu bileşiklerin oluşumunda rol almakta, ancak daha kuvvetli etkileyen faktörler fermentasyon ve olgunlaşma süresince gerçekleşen karbonhidrat metabolizması, lipoliz, proteoliz sonucu oluşan uçucu ve uçucu olmayan reaksiyon ürünleridir [31-33]. Karbonhidrat metabolizması ile uçucu bileşikler üzerinde büyük etkisi olan yüksek miktarda laktik asit, düşük miktarda da asetat, etanol ve aseton oluşmakta ve uçucu bileşikler üzerinde etkili olmaktadır [33, 34]. Sucukta endojen ve ekzojen lipaz yardımı ile gerçekleşen lipoliz reaksiyonları ile trigliseritlerden sırası ile digliserit, monogliserit, serbest yağ asitleri ve gliserin oluşmaktadır. Özellikle serbest yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda alkanlar, alkenler, metil ketonlar, aldehitler, alkoller ve alifatik bileşikler oluşmakta ve üründe uçucu bileşikler gelişmektedir [35]. Proteolitik aktivite kas proteazları, ekzopeptidazlar ve kullanılan starter kültürlerin proteazları ile gerçekleşmekte ve bunun sonucunda proteinlerden peptidler ve serbest amino asitler oluşmakta, serbest amino asitler dekarboksilasyon, deaminasyon ve transaminasyon ile kimyasal değişikliklere uğrayarak uçucu bileşik profilinde etkili olan ürünlere dönüşmektedir [35, 36].

Bu çalışma ile, sucuk üretiminde kullanılacak starter kültürleri (*Lactobacillus plantarum* ve *Staphylococcus xylosus*) enkapsül formda üretime dahil etmek ve

böylece starter kültürlerin ısıtılma işlemi sırasında zarar görmelerini engelleyerek ısıtılma işlemi görmüş sucuklarda fermentasyon koşullarının devam etmesini sağlayarak gıda güvenliği yüksek, yüksek teknolojik değere sahip ürün elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu hedef doğrultusunda enkapsül kabuk materyali olarak aljinat-nişasta ve pektin-nişasta kullanılmıştır. Elde edilen sucuklar iki gruba ayrılmış ilk grup fermentasyon ve olgunlaştırma sürecine ikinci grup ise ısıtılma işlem yöntemlerine tabi tutulmuş ve üretim aşaması tamamlanmıştır. Serbest ve enkapsül formda starter kültür içeren ve kültür içermeyen (kontrol) farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinin kalite kriterleri üzerine söz konusu uygulamaların etkisini belirlemek amacıyla kimyasal (nem, a_w , kül, protein, yağ, pH, titrasyon asitliği, lipid oksidasyonu, kalıntı nitrit miktarı, uçucu profili, biyojen amin miktarı ve çeşidi), fiziksel (tekstür, renk), mikrobiyolojik (laktik asit bakterileri (LAB), Mikrokok-Stafilokok (M-S), toplam aerofil mezofil bakteri (TAMB), maya-küf ve koliform grubu) ve duyu özellikleri incelenmiştir.

2.KURAMSAL TEMELLER

Dengeli gıda tüketimi konusunda yapılan araştırma verilerine göre artan dünya nüfusuna bağlı olarak küresel et talebinin de artacağı ve bu talebin yeterince karşılanamayacağı öngörülmektedir. 2050 yılına kadar özellikle kırmızı et başta olmak üzere et tüketiminin %200 artacağı tahmin edilmektedir [37-39]. Yüksek biyolojik değerlikte protein kaynağı olması nedeniyle, insan diyetinde oldukça önemli bir yere sahip olan et besin piramidinde protein grubunda yer almaktadır [40, 41].

Et proteini esansiyel amino asit içeriği bakımından önemlidir, çünkü her hangi bir gıdanın besin değeri birkaç önemli amino asidin varlığı ve miktarı ile derecelendirilmektedir. Bu bağlamda tüm esansiyel amino asitlerin mevcudiyeti dışında taurin, glutamik asit ve glutamin varlığı etin besin değerini yükseltmektedir. Ayrıca et metabolik ihtiyaçların karşılanması için gerekli olan farklı besin bileşenlerini yeterli miktarda içeren bir gıdadır. Besin kompozisyonunun ikinci sırasında vitamin ve mineraller yer almaktadır. Günlük 100 gram kırmızı et tüketimi ile pantotenik asit (vitamin B5), piridoksin (vitamin B6), niasin, riboflavin bakımından tavsiye edilen günlük alım miktarının %25'i, vitamin B12'nin üçte ikisi karşılanmaktadır. Et yüksek yarayışlılıkta demir, çinko, manganez ve selenyum kaynağı olarak önemli bir yere sahiptir. Toplam yağ içeriği bakımından kırmızı et türleri arasında (koyun, keçi, dana ve inek) farklı oranlar söz konusudur. İnsan beslenmesinde kırmızı etin önemi düşünülünce, kırmızı etin içerdiği yağın yağ asit kompozisyonu önem taşımaktadır. Kırmızı etin yağsız kısımlarında doymuş yağ asit miktarı, toplam yağ asitlerinde %40, kırmızı etin yağlı kısımlarında bu değer %48 civarında bulunmaktadır [40-43].

Etin besin değerini oluşturan majör bileşenlerin yanı sıra yapısında bulunan minör bileşenler etin hem fonksiyonel gıda grubunda bulunmasını sağlamakta hem de biyoaktif üstünlükler kazandırarak nutrasötik etkinin nedeni olmaktadır. Bir ya da daha fazla hastalık riskini azaltan, önleyen veya tedavi edebilen, yeteri kadar besleyici olmasının yanı sıra fizyolojik performansı iyileştiren, insan vücuduna faydalı olduğu belirlenen, gıdaların doğal bileşeni olarak bulunan kimyasallara nutrasötikler denilmektedir. Literatürde tam tanımı olmasa da nutrasötiklerin icra ettikleri etkilere fonksiyonallite, bu özelliklere sahip gıdalara fonksiyonel gıdalar denilmektedir. Et temelli biyoaktif madde grubunda dikkat çeken bileşenler arasında konjuge linoleik asit (CLA), histidil dipeptitler (karnosin, anserin,) L-karnitin, glutation, taurin ve kreatin sahip oldukları fizyolojik etkileri nedeniyle yer almaktadırlar. Rumen

bakterileri izomeraz enzimlerini kullanarak linoleik asidi CLA'e dönüştürmektedir. CLA oktadekadienoik asidin pozisyonel ve geometrik izomerlerinden oluşmaktadır. Antikarsinojenik aktiviteye sahip olmasının yanı sıra, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde ve obezitenin kontrolünde rol oynamaktadır. Histidil dipeptitler iskelet kas dokusunda bulunan antioksidatif aktiviteye sahip olan hayvansal kaynaklı antioksidanlardır. Hem karnosinin hem de anserinin antioksidan olarak çalışma mekanizması bakır gibi metaller ile çelat oluşturma yetenekleri temelindedir. Ayrıca bu antioksidatif peptitler çeşitli hastalıkları önlemede ve oksidatif strese bağlı yaşlanmaya karşı da mücadele etmektedirler. Ette bulunan bir diğer nutrasötik olan L-karnitin kolesterol seviyesinin düşürülmesinden sorumludur [43-45]. Sağlık ve beslenme arasındaki ilişkinin giderek önem kazanması fizyolojik fonksiyon ve sağlık üzerine biyoaktif gıda bileşenlerinin etkisi konusunda yeni anlayışların oluşmasına neden olmuştur. Bu farkındalık hem tüketiciyi hem de üretici etkilemiş, oluşan farkındalık etkisi tüketicinin daha sağlıklı daha fazla fonksiyona sahip ürün tüketmesi doğrultusunda bir eğilim başlatmıştır. Söz konusu akımda fonksiyonel gıdalar önem kazanmış, üreticileri daha sağlıklı ürün üretmeye teşvik etmiştir.

Et gibi kolay bozulabilir gıdaların korunmasında aranan yolların başında çeşitli et ürünlerinin üretilmesi yer almaktadır. Etlerin işlenmesi prehistorik çağlara kadar uzanmaktadır. M.Ö. 850 yıllarında etin dumanlanarak ve tuzlanarak dayanıklılığın artırıldığı bildirilmektedir [36]. Et ürünleri ise ete tuzlama, kürlleme, parçalama, fermentasyon, emülsifikasyon, dumanlama ve pişirme işlemlerinden bir ya da birkaç tanesinin uygulanması ile elde edilmektedir. Et ürünleri ilk olarak etin dayanıklılık süresini arttırmak amacıyla üretilmiş ise de soğutma ve dondurma teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak günümüzde et ve et ürünleri üretiminde amaç; etlerin muhafaza edilmesinden çok ete üstün organoleptik nitelikler kazandırmak, değişik hayvan türlerine ait etlerin bitkisel proteinlerin ve çeşitli katkı maddelerinin et ürünleri yapımında kullanılması ile ürün çeşidinin ve fonksiyonallitesinin artırılmak ve bunları daha da ekonomik olarak üretmeye yönelmektir.

İnsanların damak zevkleri, beslenme alışkanlıkları, yöresel veya bölgesel iklim farklılıkları, kullanılan hammaddeler ve çeşni verici maddelerin değişiklikleri nedeni ile günümüzde sayıları 1300'ün üzerinde olan çeşitli et ürünü formülasyonu bulunmaktadır. Et ürünlerinin farklılığı; üretimleri sırasında uygulanan çeşitli fiziksel ve kimyasal temel işlemlerden ileri gelmektedir. Üretimde kullanılan hammadde ve

katkı maddeleri, etin blok halinde ya da parçalanmış olması, parçalandıktan sonra karşım haline getirilen hamurun az veya çok kuterlenmiş olması, kuterlenen hamura kürlenmiş parça et veya diğer katkı maddelerinin karıştırılması, hamurun doldurulduğu bağırsak veya kılıfların kalibreleri, ürünün aldığı renk gibi değişik faktörler et ürünlerinin çeşitliliğini arttırmaktadır. Ülkemizde en yaygın tüketilen et ürünleri arasında; sucuk, salam, sosis, pastırma ve kavurma yer almaktadır [34, 37, 46, 47].

Türk Gıda Kodeksi (TGK) Et Ürünleri Tebliği'ne göre et ürünleri "Taze et, hazırlanmış et karışımları (pişmemiş köfte, döner, çiğ köfte, şinitzel v.b.) tebliğ kapsamındaki ürünler dışında; sadece soğutma veya dondurma işleminden geçen etlerden hazırlanan, kesit yüzeyleri taze etin karakteristik özelliklerini göstermeyecek şekilde işleminden geçen ürünler" olarak tanımlanmaktadır. Etin hammadde olarak kullanıldığı ürünlerin çeşidine ve özelliklerine etin teknolojik özellikleri ve tüketici istekleri yön vermektedir. Tüketici istekleri başında üretilecek ürünün sağlık açısından olumsuz etkisi bulunmaması, besin değeri yüksek, fonksiyonallitesi artırılmış bir ürün elde edilmesi ve keyifle tüketilecekleri ürün olması yer almaktadır [36,48].

Yüzyıllar boyunca dünyanın farklı ülkelerinde ve her ülkenin kendine özgü karakteristikleri ile farklı tiplerde üretilen et ürünlerinin başında "sausage" (sosis) yer almaktadır. Farklı sosislerin en fazla çeşitte üretildiği ülkelerin başında İtalya, Almanya ve İspanya yer almaktadır [49]. Kuru fermente sosislerin bir türü olan sucuk ülkemizde geleneksel olarak, kültürel zenginliklerimiz temelinde üretilen, oldukça yaygın tüketilen popüler bir et ürünüdür [50-53].

Türkiye'de sucuk belirli bir sistem ve yönteme göre üretilmemekle birlikte [54] yöntemsel açıdan incelendiğinde geleneksel ve endüstriyel olmak üzere iki farklı yöntem dikkat çekmektedir. Yöntemler arasındaki farklılık starter kültür kullanımına dayanmaktadır. Geleneksel üretimde starter kültür ilavesi yapılmamakta, fermentasyonun kendisinden ya da çevresinden bulaşan yararlı mikroorganizmaların faaliyeti ile gerçekleştirilmekte iken; endüstriyel üretimde ürüne bilinçli olarak starter kültür ilavesi yapılmaktadır [4, 11, 55].

Ayrıca sucuk üretiminde ısıl işlem ya da fermentasyon süreçleri de farklılık oluşturmaktadır. Fermentasyon ve kurutma (olgunlaştırma) prosesinden geçen sucuk fermente sucuk olarak adlandırılmaktadır. TGK Et ve Et Ürünleri Tebliği'nde fermente sucuk tanımı "büyükbaş ve küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının kıyılarak

lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve kuruma işlemleri uygulanarak nem oranı %40 ve altına düşürülmüş, kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıtılmış işlem uygulanmamış fermente et ürünü" şeklindedir [48]. Isıtılmış işlem uygulanan sucuk daha kısa sürede satışa sunulmakta bu yeni ürüne "ısıtılmış işlem görmüş sucuk" denilmekte ve bu yeni ürün yarı kuru sucuk olarak nitelendirilmektedir. Isıtılmış işlem görmüş sucuk üretiminde ısıtılmış işlem uygulamasında merkez nokta sıcaklığı 70°C ve uygulama süresi 20 dk olacak şekilde çalışılmaktadır [53]. TKG Et ve Et Ürünleri Tebliği'nde tanımı "büyükbaş ve /veya küçükbaş hayvan etlerinin ve yağlarının veya kanatlı hayvan etleri ve yağlarının kıyılarak lezzet vericiler ile karıştırıldıktan sonra doğal veya yapay kılıflara doldurularak belirli koşullarda fermentasyon ve kurutma işlemi uygulanarak nem oranı %50'nin altına düşürülmüş, kesit yüzeyi mozaik görünümünde olan ısıtılmış işlem uygulanmış et ürünü" şeklindedir [48]. Sucuk üretiminde ısıtılmış işlem; iyi bir yapı, kalıcı renk, mikrobiyolojik açıdan istenmeyen mikroorganizmaların inhibe edildiği ve işletme açısından kısa sürede satışa hazır hale getirilmiş ürün üretmek amaçları doğrultusunda uygulama alanı bulmaktadır. Isıtılmış işlem uygulanarak üretilen sucuğun geleneksel üretime kıyasla değinilen avantajlarına rağmen, sucuğun kendine özgü tat, koku ve uçucusunun gelişmemesi gibi önemli dezavantajlar taşıdığı da bildirilmiştir [9, 56, 57].

Sucuk üretimi temel hatları ile iki aşamadan oluşmaktadır; birinci aşama her iki sucuk tipi (fermente ve ısıtılmış işlem görmüş sucuk) için ortak olan formülasyon aşamasıdır. Formülasyon aşamasında et, yağ ve tuz karıştırılmakta, daha sonra baharat, starter kültürler ve kütleme ajanları (nitrat ve nitrit) eklenerek sucuk hamuru elde edilmektedir. Bu aşamada kas lifleri kırılmakta ve içerik sucuk bileşenlerinden tuz ile etkileşime girmektedir. Bu etkileşim sonucunda tuz sahip olduğu elektrostatik etki ile yağ partiküllerin çevresinde protein filmi oluşmasını ve protein-protein, protein-yag etkileşimi sağlamaktadır. Bu reaksiyonlar sucukta istenilen tekstürel karakteristik için son derece önemlidir. Formülasyon aşaması elde edilen sucuk hamurunun doğal ya da yapay kılıflara doldurulması ile tamamlanmaktadır [4, 5, 8, 11, 58]. İkinci aşama fermentasyon basamağıdır, ısıtılmış işlem gören sucuklarda bu aşama fermente sucuklara kıyasla çok daha kısa sürede tamamlanmaktadır. Fermentasyon aşamasında iki önemli mikrobiyolojik reaksiyon gerçekleşmektedir; ilk sırada LAB'nin metabolik faaliyetleri sonucunda pH değerinin düşmesi, ikinci sırada ise nitrat nitrit redüktaz aktivitesine

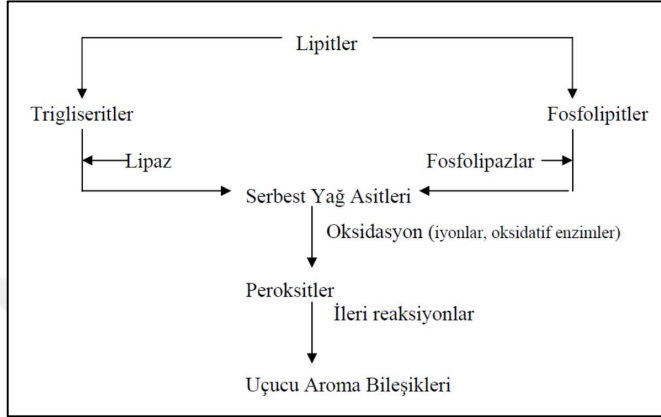
sahip olan mikrokok ve stafilokokların metabolik aktivitesi sonucunda nitrik oksit oluşumudur. Ayrıca sucukta uçucu ve tekstür karakteri bu aşamada gerçekleşen fiziksel, mikrobiyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda oluşmaktadır [4, 59].

Sucuk üretiminde temel hammadde et ve yağdır. Sucuk üretiminde kullanılacak etin pH değeri 5.4-5.8 arasında olmalıdır. Düşen pH derecesine bağlı olarak etin su tutma özelliği azalmakta ve izoelektrik noktada en düşük seviyeye ulaşmaktadır. pH'sı düşük olan etlerde kuruma ve renk oluşumu daha çabuk şekillenmektedir bu nedenle sucuk üretiminde pH 5.90 değeri, kritik pH olarak belirlenmektedir. Kullanılacak etin kemiklerinden ve aşırı yağından uzaklaştırılması gereklidir. Ayrıca üretimde mikroorganizma yükü düşük olan et tercih edilmedir [35, 46]. Et protein bakımından yüksek değerlere sahip olmasına rağmen kolay fermente olabilir karbonhidrat (glukoz, glukoz-6-fosfat ve türevleri) miktarı %0.3'ü aşmamaktadır. Fermente olabilir karbonhidrat miktarı, kesim esnasında etteki glikojen miktarına bağlı olduğundan, geniş bir varyasyon göstermektedir. Aynı durum, laktik asit miktarı ve pH için de geçerlidir. Post-mortem glikoliz sürecinden sonra, pH değeri 5.90'ın üzerinde olan etler aside hassas bakteriler için çok iyi çoğalma imkanları sağlamakta ve bu etlerde fermente olabilir karbonhidrat noksanlığı nedeniyle, amino asit parçalanması daha erken bir zamanda oluşmaktadır. Bu nedenle dry-firm-dark et (DFD) daha kısa sürede bozulmaktadır. Diğer yandan, DFD etin su tutma kapasitesinin de daha yüksek olduğu dikkate alındığında, bu tip etlerin fermente et ürünleri üretiminde kullanılmaması veya kullanılmasının zorunlu olması halinde toplam etteki miktarının fazla olmaması gerektiği sonucu ortaya çıkmaktadır. Sucuk üretiminde soğutulmuş veya dondurulmuş et kullanılabilir. Sucuklarda iyi bir kesit yüzeyi elde etmek için etin ve yağın en azından soğutulmuş (0°C ile 4°C arasında) olması gerekmektedir [36, 46, 59, 60].

Sucuk üretiminde yağ olarak kabuk ve kuyruk yağı kullanılmaktadır. Yağ mevcudiyeti sucukta istenilen renk, uçucu ve kıvam oluşumunun elde edilmesi için son derece önemlidir. Ayrıca mevcut yağ miktarı sucuğa gereken yumuşaklık ve kurumayı sağlayan kanalların oluşumunu etkilemektedir. Teknolojik olarak proses süresince makinelerin sağlıklı çalışması bakımından üretimde kullanılacak yağın donmuş formda olması gerekmektedir.

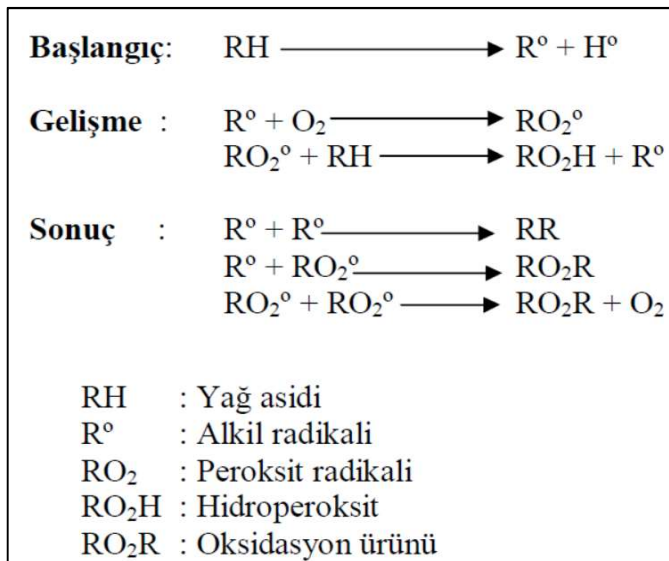
Sucuğun ana bileşenlerinden biri olan lipitler hidroliz ve oksidasyon olmak üzere iki farklı değişim sürecine maruz kalabilmektedir. Lipaz ve fosfolipaz enzimleri

sırası ile lipit ve fosfolipitlerin hidroliz reaksiyonlarının gerçekleşmesini sağlamaktadır. Endojen ve mikrobiyal kaynaklı lipazların fermente et ürünlerinin yapısında bulunan lipitlere etki etmesi sonucunda üründe digliserit, monogliserit, serbest yağ asidi ve gliserol açığa çıkmakta ve böylece ürün kendine özgü uçucu ve tat karakteristiğini kazanmaktadır [58, 61]. Şekil 2.1’de et ve et ürünlerinde lipoliz ile açığa çıkan uçucu bileşenlerinin oluşum reaksiyonları verilmiştir.



Şekil 2.1. Et ve et ürünlerinde gerçekleşen lipoliz ve uçucu bileşenlerinin oluşum reaksiyonları [62]

Serbest yağ asitleri çeşitli faktörlerin (ısı, ışık, oksijen, çeşitli radikaller ve oksidatif enzimler) etkisi sonucunda oksidasyona uğramaktadır. Lipit oksidasyonu, serbest radikallerin reaksiyonları ile çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olarak tanımlanmaktadır. Et ürünlerinde kalite kaybına neden olan lipit oksidasyonu başlangıç, gelişme ve sonuç aşamalarından oluşmaktadır (Şekil 2.2).



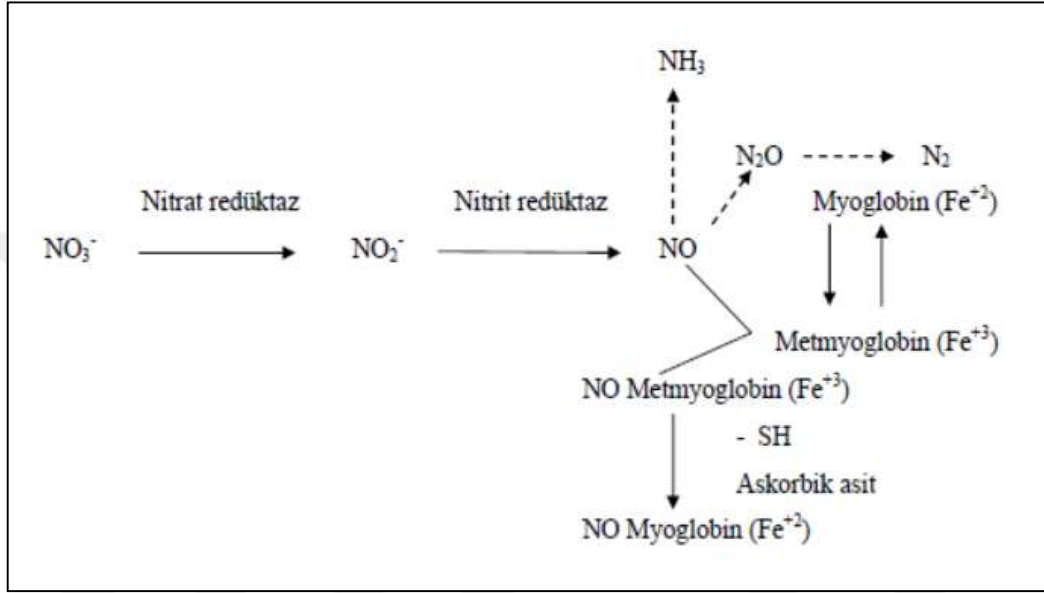
Şekil 2.2. Lipit oksidasyon mekanizması [63]

Oluşumun başlangıç aşamasında çift bağa komşu olan karbon atomuna bağlı kararsız yapıda hidrojen içeren doymamış yağ asidi çeşitli faktörlerin (oksijen, ısı, ışık, ağır metaller) etkisi sonucunda hidrojenini kaybederek serbest radikale (R^*) parçalanmaktadır. Bu aşama yapıda bulunan yağ asidindeki çift bağ sayısı arttıkça daha kolay gerçekleşmektedir. Yeterli miktarda serbest radikal oluşmasının ardından R^* ile oksijen arasında gerçekleşen reaksiyon ile zincir reaksiyonu ilerlemekte ve peroksit radikalleri (RO_2^*) oluşmaktadır. Peroksit radikali alkil radikali ve serbest yağ asidine kıyasla daha yüksek oksitlenme özelliği taşımaktadır. Reaksiyonun ilerlemesi ile oluşan peroksit radikalleri reaksiyona girmeyen yağ asidi moleküllerinin α -metilenik gruplarındaki hidrojen atomları ile reaksiyona girerek hidroperoksitleri (RO_2H) ve yeni serbest radikalleri (R^*) oluşturmakta ve bu serbest radikaller de oksijen ile reaksiyona girmekte ve reaksiyon döngüsü tekrar etmektedir. İki serbest radikal reaksiyona girmekte ve son aşama gerçekleşmektedir. Son aşamada ürüne istenmeyen tat ve koku veren aldehitler, ketonlar, alkoller, asitler ve hidrokarbonlar gibi oksidasyon ürünleri oluşmaktadır [61, 63]. Düşük erime noktalı yağlar yüksek oranda doymamış yağ asitleri içerdikleri için oksidatif acılaşmaya neden olmaktadır. Bu nedenle sucuk üretiminde kullanılan yağların yüksek erime noktasına sahip olması ve doymamış yağ asitlerinin az miktarda olması çok önemlidir [36].

Üretimde farklı katkı maddeleri ve baharatlar kullanılmaktadır. Tuz, yaklaşık %2-3'lük oran ile en fazla kullanılan bileşendir. Tuz üründe farklı fonksiyonlar sergilemektedir. Bakteriostatik etkisi, su aktivitesini düşürerek mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmesi, tuzda çözünür nitelikli et proteinlerini çözündürerek emülsiyonun oluşmasına yardımcı olması, sucuk hamurunun su tutma kapasitesini arttırması, ürüne özgü karakteristik tadın ve kıvamın ortaya çıkmasını sağlaması söz konusu fonksiyonlar arasındadır [14, 36].

Et ve et ürünlerinin kürlenmesinde nitrat ve nitrit en yaygın kullanılan kürlenme ajanlarıdır. Nitrat ve nitritin et ürünlerindeki başlıca fonksiyonları; tüketici tarafından arzu edilen parlak kırmızı rengin oluşmasını sağlamak, et ürünlerine özgü uçucunun oluşumuna katkıda bulunmak, gıda zehirlenmesine neden olan *Clostridium botulinum*'un çoğalması ve toksin üretmesini önlemek, et ürünlerinde oksidatif ransiditeyi yavaşlatmak ve önlemektir. TKG Katkı Maddeleri Yönetmeliği'ne göre nitrat/nitrit miktarları kürlenmiş et ürünlerinde sırası ile 300 ve 150 mg/kg ile sınırlandırılmıştır [28, 36, 48].

Miyoglobin, metmiyoglobin, oksimiyoglobin ve nitrozomiyoglobin et ürünlerinde renk gelişimine katkıda bulunmaktadır. Karakteristik sucuk rengi et pigmentleri ile sucuğa katılan nitrat ve nirtitin redüksiyonunda oluşan ürünlerle etkileşimi sonucunda oluşmaktadır (Şekil 2.3). Proses koşulları, sucuğun içerdiği yağ miktarı, askorbat gibi ilave edilen katkı maddeleri sucukta renk stabilitesini etkilemektedir [64].



Şekil 2.3. Fermentasyon sırasında hem pimentinde meydana gelen değişimler [8]

Şeker, sucuk üretiminde %0.4-1.0 oranında kullanılan bir diğer bileşendir. Sucuk üretiminde şeker ve şeker kombinasyonları kullanılmaktadır. Ürünün son asitliği kullanılan şeker oranından etkilemektedir; gereğinden fazla şeker son pH değerini gerekenden fazla düşürmekte ya da üründe şeker tadı hissedilmekte iken gereğinden az şeker kullanımı istenilen pH derecelerine düşüşü engellemektedir [36, 46].

Ülkemizde sucuk üretiminde farklı çeşit ve oranlarda baharatlar kullanılmaktadır. Kullanılan baharat çeşidi ve miktarı üretimin gerçekleştiği bölgeye ve pazar taleplerine bağlı olarak değişmektedir. Kullanılan baharatlar arasında kırmızı biber (%0.6-1), kara biber (%0.3-0.7), kimyon (%0.6-1.5) yeni bahar (%0.3-0.6) ve sarımsak (%0.4-1) yer almaktadır [36, 46].

Endüstriyel sucuk üretiminde starter kültür kullanımı son derece önemlidir. Starter kültürler bakteri, küf ve mayaların saf veya karışık olarak hazırlanması ile elde

edilen; kullanıldıkları ürünlerde kendi metabolizma ürünleri vasıtası ile görünüş, uçucu bileşikler ve kıvam bakımından olumlu değişikliklere neden olan ve aynı zamanda da konserve edici etkiye sahip olan canlı mikroorganizmalardır. Sucuk başta olmak üzere fermente et ürünlerinde kullanılan starter kültürlerin taşınması gereken bir takım özellikler bulunmaktadır. Söz konusu özellikler arasında kullanılan starter kültürün sağlığa zararsız olması, toksin üretmemesi, enfeksiyonlara neden olmaması, et substratına uyum göstermesi, biyolojik olarak saf olması, hücre sayısının bilinmesi, fermentasyon ve depolama koşullarında istenmeyen mikroorganizmalardan daha fazla çoğalması, belirli tuz konsantrasyonlarında da çoğalmaya devam edebilmesi, düşük ve yüksek sıcaklıklarda metabolik aktivitesini sürdürmesi ve üründe istenen değişiklikleri gerçekleştirebilmesi yer almaktadır. Sucuk üretiminde teknolojik ve besin kalitesinden emin olmak, değişkenliliği azaltmak, organoleptik karakteristikleri geliştirmek, fermentasyon prosesini kontrol etmek, son üründe kalıntı nitrat ve nitrit miktarının düşük seviyelerde tutmak, patojen ve bozulmaya neden olan mikrofloranın gelişimini engelleyerek daha güvenli ürün elde etmek, elde edilen ürünün stabilite ve raf ömrünü arttırmak ve istenilen kalite kriterleri bakımından (renk, dilimlenebilirlik, sertlik, yapışkanlık) yüksek değerlere sahip üretim amaçlamaktadır. Bu hedefleri gerçekleştirmenin geleneksel üretimde kullanılan spontane fermentasyon ile mümkün olmadığı bilinmektedir. Bu gerekçeler doğrultusunda fermente ürün üretiminde starter kültür kullanımı önemlidir [11, 12, 34, 36, 58, 65].

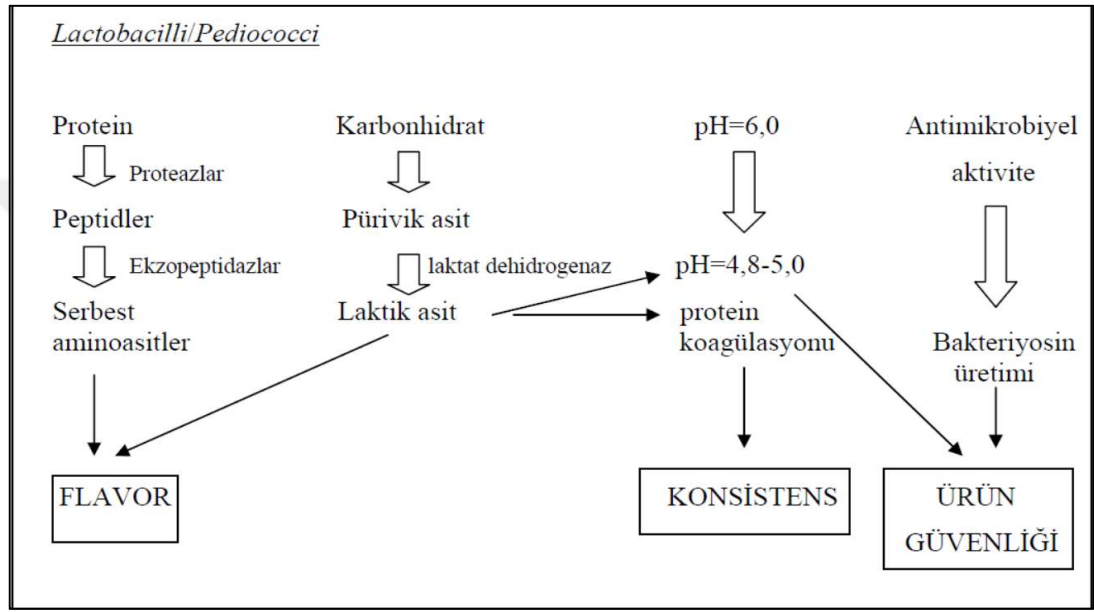
Et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizma grubu içerisinde Laktik Asit Bakterileri (LAB), homofermentatif laktobasiller, pediokoklar, Gram (+) katalaz pozitif koklar (GCC), apatojen koagülaz negatif stafilokoklar (CNS) yer almaktadır. Et ve et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizma çeşitleri Çizelge 2.1’de verilmiştir. Sucuk hamuruna inoküle edilen starter kültür miktarı $10^6 - 10^8$ kob/g düzeyindedir [36, 46].

Çizelge 2.1. Et ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar [56]

Mikroorganizma grupları	Türler	Çalışma mekanizması ve ette meydana gelen değişiklikler
LAB	<i>Lactobacillus curvatus</i>	Laktik asit üretimi İstenmeyen mikroorganizma gelişiminin engellenmesi, Gıdalarda renk reaksiyonlarının ivme kazanması,(kürleme işleminin bütünü olarak), Kuruma sürecinin ivme kazanması, Koku ve uçucu gelişimi
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	
	<i>Lactobacillus casei</i>	
	<i>Lactobacillus alimentarius</i>	
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	
	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
Gram pozitif koklar	<i>Lactococcus lactis</i>	Nitrat ve nitrit redüksiyonu, Mevcut oksijenin tüketilmesi, Peroksitlerin dekompozisyonu, Lipoliz, Renk stabilizasyonu, Ransiditenin geciktirilmesi, Koku ve uçucu gelişimi
	<i>Staphylococcus carnosus</i>	
	<i>Staphylococcus xylosum</i>	
Mayalar	<i>Micrococcus arians</i>	Mevcut oksijenin tüketilmesi, Peroksit dekompozisyonu, Renk stabilizasyonu, Ransiditenin geciktirilmesi, Koku ve uçucu gelişimi
	<i>Debaryomyces hansenii</i>	
Küfler	<i>Candida famata</i>	Mevcut oksijenin tüketilmesi, Peroksitlerin dekompozisyonu, Proteoliz, Lipoliz, Koku ve uçucu gelişimi
	<i>Penicillium nalgiovense</i>	
	<i>Penicillium camamberti</i>	
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	

Endüstriyel sucuk üretiminde elde edilen ürünün istenilen kimyasal, mikrobiyolojik ve fiziksel kalite kriterlerine sahip olması için starter kültür olarak LAB kullanımının şart olduğu kabul edilmektedir. Şekil 2.4’de gösterildiği gibi, LAB gıdalardaki faaliyetleri sonucu karbonhidratlardan (heksozlardan) asit üretmi gerçekleştirebilen mikroorganizmalardır. LAB glikoz metabolizması sonucu ürettikleri son ürüne bağlı olarak homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterileri olarak iki gruba ayrılmaktadır. Homofermentatif LAB heksoz şekerlerinin parçalanması sonucu birinci derecede süt asidi (laktik asit) üretmektedir. Heterofermentatif olanlar ise şekerlerden süt asidine ilaveten asetik asit, etanol ve karbondioksit üretmektedirler. Heterofermentatif LAB gaz oluşturma yeteneklerinden dolayı et ürünlerinde tercih edilmemektedir [36]. LAB düşük sıcaklıklarda yaşayabilme ve safra tuzlarına dayanıklı olmalarının yanı sıra laktik asit akümüasyonu yaparak pH düşüşüne neden olmakta, böylece etin taşıdığı istenilmeyen patojen bakterilerin (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* gibi) gelişimini inhibe etmekte, bozulmaya sebep olan mikroorganizmaların neden olduğu istenilmeyen

değişiklikleri ya da abiyotik reaksiyonları önledikleri için ürünün raf ömrünü ve stabilitesini arttırmaktadırlar. Ayrıca LAB çözünebilir et proteinlerin koagülasyonuna neden olarak su bağlama kapasitelerini düşürmekte, böylece hem istenilen tekstürel özellikler hem de kuruma sağlanmaktadır [10, 66, 67]. LAB'ın kuvvetli proteolitik ve lipolitik özellikleri bulunmakla beraber; bazı et ürünlerinde zayıf peptidaz ve lipaz aktivitesi gösterebilirler. En yaygın kullanılan LAB arasında *L. sake*, *L. plantarum* ve *L. curvatus* yer almaktadır [36].

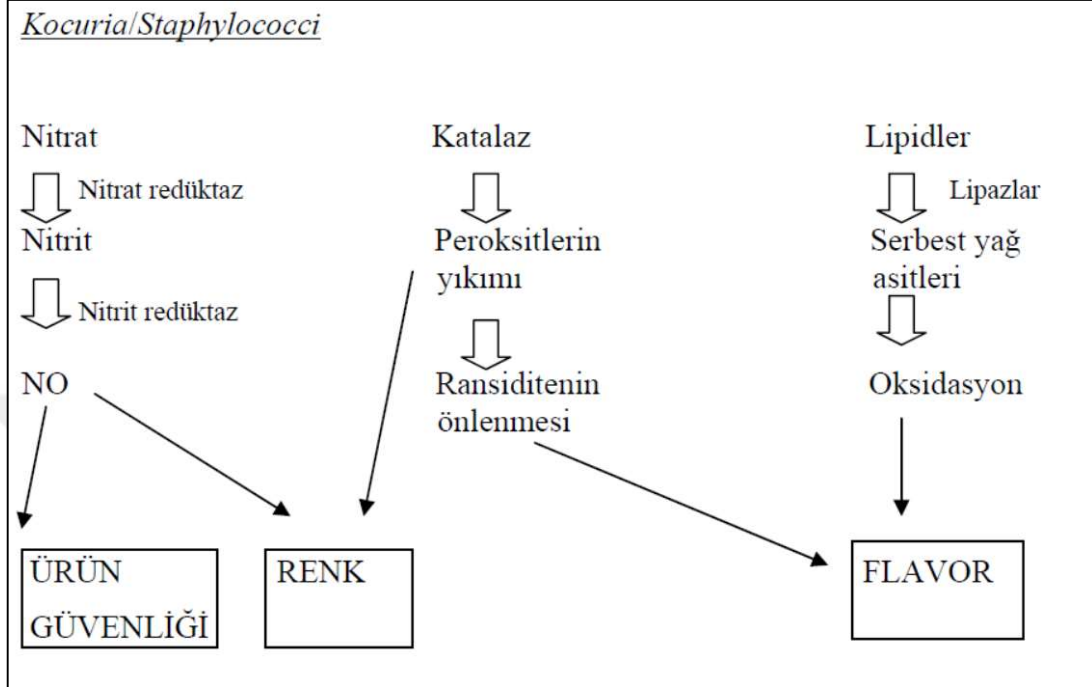


Şekil 2.4. Starter kültür olarak kullanılan laktobasillerin metabolik aktiviteleri [49]

Mikrokok ve stafilokoklar, Gram (+), kok şeklinde oksijen olmaksızın çok yavaş çoğalan ya da çoğalamayan, katalaz pozitif, koagülaz negatif, tuzu seven nitratı indirgeyen ve zayıf asit oluşturan bakterilerdir. Starter kültür olarak mikrokok familyasından en yaygın kullanılan türler *S. carnosus*, *S. xylosus* ve *M. varians*'dir. Mikrokok familyasında yer alan türler ürünün renk stabilizasyonunda, peroksitlerin dekompozisyonunda, nitratın redüksiyonunda ve sucukta uçucu bileşiklerin gelişimde önemli etkilere sahiptir. Stafilokoklar güçlü proteolitik ve lipolitik aktivite sergilemektedir. Yapılan çalışmalarda en iyi sucuk uçucusu *S. xylosus*'un starter olarak kullanıldığı örneklerde tespit edildiği bildirilmiştir [5, 50, 68].

Mikrokok ve stafilokokların sucuk üretiminde kullanılmalarının bir diğer avantajı, laktobasiller tarafından oluşturulan uygun pH'da spontane olarak NO oluşturmalarıdır (Şekil 2.5), nitekim söz konusu aktivite sonucunda sucuklar istenilen

kırmızı rengi kazanmaktadır. Ayrıca mikrokoklar lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile lezzete de katkıda bulunmaktadır. Özellikle mikrokokların sahip olduğu lipaz enzimi fermente et ürünlerinde lezzet oluşumunda önemli bir role sahiptir [4, 36, 46].



Şekil 2.5. Starter kültür olarak kullanılan stafilokokların metabolik aktiviteleri [49]

Starter kültürler liyofilize formda prosese dâhil edilmektedir. Liyofilizasyon prosesi sırasında hücrelerin zarar görmüş olma ihtimalleri nedeni ile rehidrasyonlarında lag faz uzayabilmekte ve fermentasyon aktivitelerinde düşüşler yaşanabilmektedir [69]. Sucukta kalite kriterleri yapıda bulunan starter kültür sayısı ve kültürlerin aktivite seviyesi ile yakından ilgilidir [70]. Sucuk olgunlaşma periyodunun ilk günlerinde LAB ve diğer starter kültürlerin ortama adaptasyonlarını tamamladığı ve sayılarının arttığı belirlenmiştir [69]. Sucuğun olgunlaşma periyodunun sonuna yaklaştıkça starter kültürlerin aktivitelerinin azaldığı yapılan farklı çalışmalar ile tespit edilmiştir. Fonksiyonel organizmaların kendilerinden beklenen aktiviteleri gerçekleştirebilmek için belirli bir sayıda ve belirli bir süre canlı kalmaları gerekmektedir [70, 71].

Sucuk üretiminde oluşan fermentasyon ortam koşulları (anaerobik çevre, belirli bir tuz konsantrasyonu, düşük sıcaklık ve pH), teknolojik işlemler (ısıl işlem uygulamaları, parçalama, kurutma) ve depolama koşulları kullanılan starter kültürün yaşama ve büyüme hızını etkilemektedir [10, 22, 65, 72]. Bu bağlamda sucuklarda

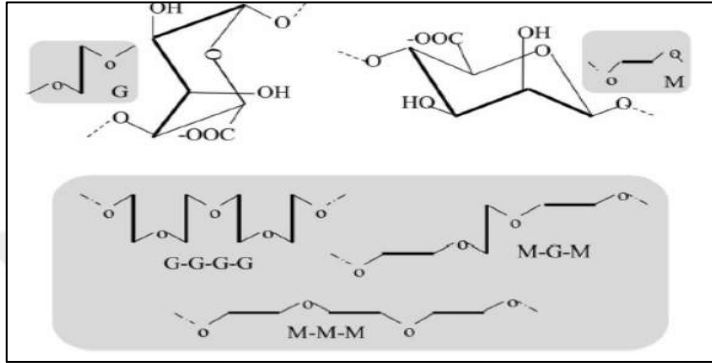
starter kültürlerin canlı kalma süre ve sayısını arttırmak önemlidir. Bu amaca yönelik olarak yeni teknik ve uygulamalarla sucuk üretiminde starter olarak kullanılacak mikroorganizmaların enkapsülasyonu önemli avantajlar sağlamaktadır. Enkapsülasyon tekniği, fonksiyonel organizmaların canlı kalma sürelerini arttırmak amacıyla son yıllarda üzerinde önemle durulan bir yöntemdir [13, 15, 17, 73-75].

Belirli koşullar altında ince film tabakaları ya da polimer kapsüller yardımı ile küçük katı partiküllerin, sıvı damlacıkların ya da gazların tutuklanmasına dayanan ve kontrollü bir salınım sağlayan fiziksel bir tutuklama yöntemi olarak tanımlanan [19, 76] enkapsülasyon teknolojisi pek çok amaç için uygulama alanı bulmaktadır. Fonksiyonel mikroorganizmaların çevresinde fiziksel bir bariyer oluşturarak olumsuz çevre koşullarına karşı mikroorganizma canlılığının korunması bu amaçlardan biridir. Bu yöntemde aktif mikroorganizma çevresinde çeşitli maddelerle koruyucu bir film veya kaplama tabakası oluşturulmaktadır. Mikroorganizma enkapsülasyonunda püskürterek kurutma, ekstrüzyon, emülsiyon, faz ayrımı ve koaservasyon gibi çeşitli yöntemler birlikte veya ayrı ayrı kullanılabilir [20, 72, 77, 78]. Enkapsüle edilen mikroorganizmaların olumsuz koşullarda canlı kalma oranının serbest formlarına kıyasla %80-95 arttığı belirlenmiştir [17]. Enkapsüle edilen bakterinin canlılığını koruması enkapsülün fiziko-kimyasal özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Kabuk materyalinin tipi ve konsantrasyonu, partikül boyutu, bakteri türü, başlangıç hücre sayısı bu değişkenliğili etkileyen önemli parametreler arasında yer almaktadır [79].

Bakterilerin enkapsülasyonunda kullanılacak kabuk materyallerinin taşınması gereken ortak özellikler arasında GRAS listesinde yer almaları, enkapsül oluşturma kapasitelerinin güçlü olması, enkapsülasyon prosesinin mümkün olan en az canlı hücre kaybı ile gerçekleştirilmesi, hücreyi kaplayarak olumsuz çevre koşullarına karşı bariyer oluşturmaları, ince, güçlü, yarı geçirgen bir karakterde olmaları yer almaktadır. Gıda sistemlerinde kullanılacak bakteri enkapsülasyonları için bu durum son derece önemlidir. Bu bağlamda tercih edilen kabuk materyaller arasında nişasta, pektin ve aljinat ilk sıralarda yer almaktadır [22, 80].

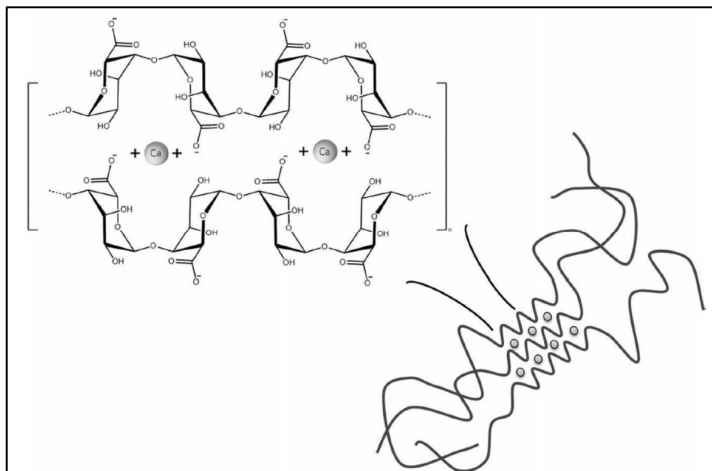
Sodyum aljinat hemen hemen tüm enkapsülasyon metotlarına uygun olması ve farklı kabuk materyalleri ile uyumlu kombinasyonlar sergilemesi, toksik olmaması, oluşturduğu enkapsüllerin mekanik olarak dayanıklı olması, porozitesinin yüksek olması, tuz ve çelatlayıcı ajanlara karşı toleransının olması nedeni ile kullanım avantajı

sunmaktadır. Şekil 2.6’da verildiği gibi sodyum aljinat β -D-manuronik asit (M) ve α -L-gluronik asit (G) birimlerinin 1,4 bağı ile bağlanması sonucu oluşan lineer, dallanmamış amorf polimerlerdir. Aljinat yapısında bulunan G ve M birimleri heterojen ya da homojen sekanslar olarak rastgele organize olabilir ve sodyum aljinat sekanslarının dağılımı ve kimyasal yapısı elde edildiği kaynağa bağlı olarak değişiklik göstermektedir.



Şekil 2.6. Aljinatın β -D-manuronik asit (M) ve α -L-gluronik asit (G) monomerleri ve blok tipleri [80]

Uygun koşullar altında sodyum aljinat Ca^{+2} , Ba^{+2} , Sr^{+2} gibi çift değerlikli kationlar ile hidrojel oluşturma yeteneğine sahiptir. Sodyum aljinatın yapı birimi olan gluronik asit blokları kationlar ile bir bağ kurmakta ve bunun sonucunda iyonik etkileşimler ile birbirini tutan aljinat filamentlerin ağı oluşmaktadır. Oluşan ağ yapısının modeli yumurta kutusunda yumurtalar modeli (eggs in an egg box) olarak tanımlanmıştır ve Şekil 2.7’de oluşum verilmiştir [20, 22, 72, 80].

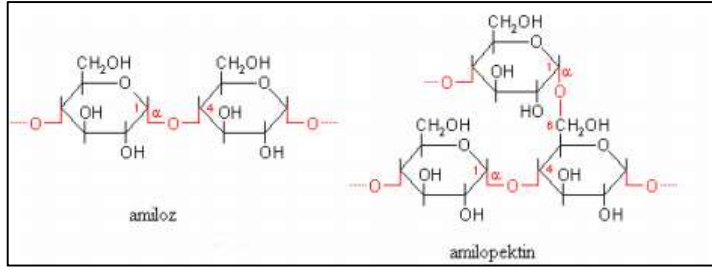


Şekil 2.7 Aljinat jel oluşumunda "Egg Box" modeli [90]

Aljinatin kabuk materyalı olarak kullanıldığı proseslerde taşıdığı pek çok üstünlüklere rağmen asidik çevrede stabilite sorunu yaşaması kullanımını zora sokmaktadır. Bu olumsuzluk aljinatin farklı kabuk materyalleri ile kombinasyonlar oluşturarak kullanımı ile aşılmaya çalışılmaktadır. Yapılan çalışmalarda aljinat beraberinde kullanılan kabuk materyallerinin başında nişasta yer almaktadır [81,82]. Nişasta ve aljinatin birlikte kullanıldığı enkapsülasyon prosesinde elde edilen enkapsüllerin hem mekanik hem de kimyasal stabilitelerinin arttırdığı belirlenmiştir [83].

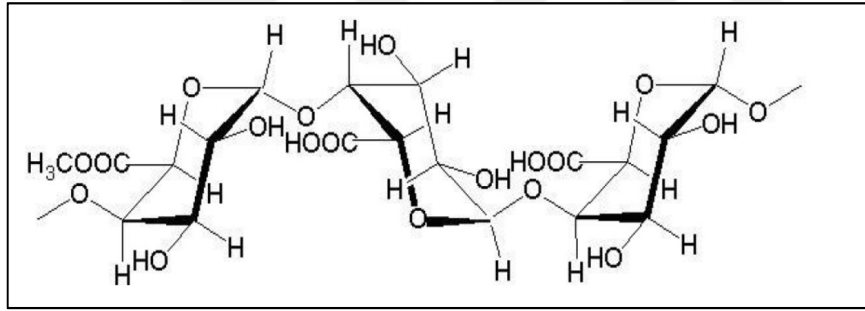
Nişasta tüm yeşil bitkilerin ürettiği α -D-glukoz birimlerinin glikozidik bağlar ile bağlanması sonucu oluşan polimerdir. Nişasta suda çözünmeyen granüller halde plastidlerde bulunmaktadır. Nişasta granülleri amiloz ve amilopektin birimlerinden oluşmaktadır ve kimyasal yapısı Şekil 2.8’de verilmiştir. Nişasta insan ve hayvan beslenmesinde temel olarak tüketilen bir gıda olmakla sınırlı kalmayıp, sahip olduğu fonksiyonel özellikler nedeniyle yiyecek ve içecek endüstrisi başta olmak üzere kâğıt, tekstil gibi farklı alanlarda geniş uygulama alanına sahiptir. Sahip olduğu fonksiyonel özellikler temelinde endüstride uygulama alanları bulmaktadır. Söz konusu özelliklerin arasında spesifik vizkozite, jel yapısı, donma-çözünme kararlılığı, berraklık, kristallik, renk, şişme ve şişmeye dayanıklılık yer almaktadır.

Günlük hayatta geniş uygulama alanı bulan nişasta yeni teknolojilerde de varlığı ile fark yaratmaktadır. Enkapsülasyon prosesinde tek başına ve kombinasyon formda kullanımı dikkat çekmektedir. Nişastanın kabuk materyal olarak tercih edilme nedenleri arasında biyoyumlu olması, fiyatının ucuz olması, enkapsül üretiminde diğer kabuk materyaller ile uyumlu kombinasyonlar oluşturması yer almaktadır. Literatürde nişastanın kabuk, mikroorganizmaların da merkez materyal olarak kullanıldığı çalışmalar incelendiğinde; enkapsül formda bulunan mikroorganizmaların olumsuz koşullarda canlı kalma oranlarının arttığı, fermentasyon yeteneklerinde herhangi bir kayıp yaşanmadığı belirlenmiştir [17, 81, 84].



Şekil 2.8. Nişasta molekülünün kimyasal yapısı [85]

Pektin bitkilerin hücre duvarı bileşenleri arasında önemli bir yere sahiptir ve pek çok biyolojik fonksiyonu yerine getirmektedir. Pektin hücre duvar büyümesinin kontrol edilmesinde taze meyvelerin duyusal, fiziksel ve karakteristik özelliklerinin oluşmasında ve mikroorganizma saldırılarına karşı savunma mekanizmasında rol oynamaktadır. Pektinin insan sağlığı ve beslenmesi üzerinde önemli fizyolojik ve besinsel etkileri bulunmaktadır. İnsanlar tarafından sindirilemediği için diyet lifi kaynağı olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2.9. Pektin kimyasal yapısı [85]

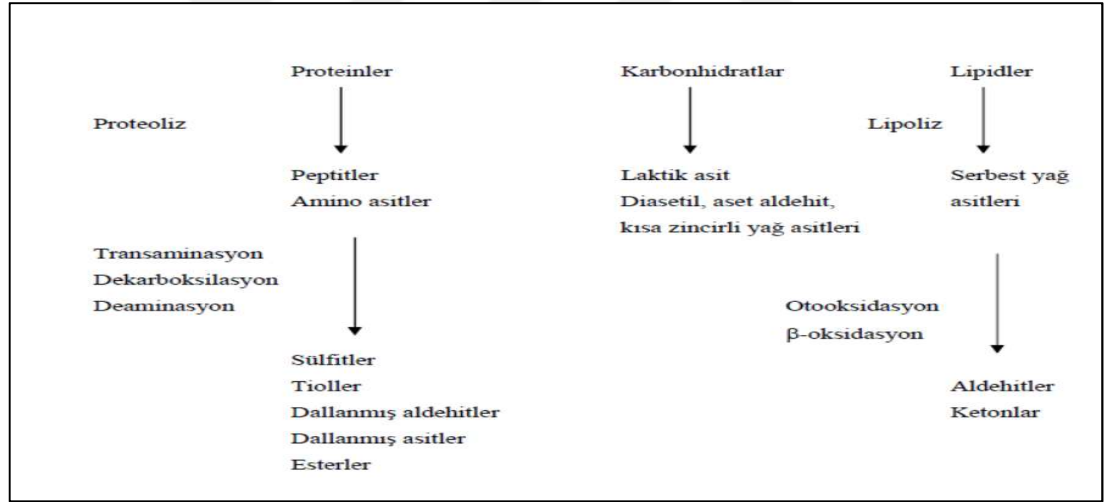
Şekil 2.9’da verildiği gibi; pektin molekülü D-galaktüronik asit birimlerinin α -1,4 glikozidik bağları ile bağlanması sonucu oluşan iskelete α -1,2 bağları ile L-ramnoz birimlerinin bağlanması sonucu oluşmaktadır. Pektik maddeler arasında farklılık oluşmasının nedeni sahip oldukları metil ester içeriği ya da esterleşme derecesi (DE) miktarıdır. DE, pektin molekülünde esterifiye olan D-galaktronik asit miktarının toplam D-galaktronik aside oranlanmasının 100 ile çarpılması ile tanımlanmaktadır [86]. Yüksek esterleşme derecesine sahip pektin (karboksil gruplarının yaklaşık %50 den fazlası metile edilmiştir), düşük esterleşme derecesine sahip pektin farklı reaksiyonlar ile jel oluşturmaktadır. Gıda sektöründe farklı amaçlar için oldukça geniş kullanım alanı bulunan pektinin enkapsül teknolojisinde de biyoyumlu, ucuz ve üretim metotlarına uygun olması nedeni ile kullanımı dikkat çekmektedir. Enkapsül

üretiminde yüksek ve düşük esterleşme derecesine sahip pektin kullanımı oluşan pektin jelinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkilemektedir. Yüksek esterleşme derecesine sahip pektin jel oluşturmak için şeker ve hidrojen varlığına ihtiyaç duymakta, düşük esterleşme derecesine sahip pektin jel oluşturmak için divalent iyonlara sahip çapraz bağlayıcılara ihtiyaç duymaktadır [87].

Emülsiyon yöntemi gıda endüstrisinde nispeten yeni, kolay uygulanabilir ve enkapsüle ettiği bakteriye yüksek yaşam şansı sunan bir enkapsülasyon tekniğidir. Bu teknik ile elde edilen enkapsüllerin boyutu ve homojenliği farklılıklar gösterebilmektedir. Bu farklılıkların en önemli nedenleri arasında emülsiyon oluştururken uygulanan karıştırma hızı ve su/yağ emülsiyon oranı yer almaktadır. Emülsiyon yönteminin prensibi sürekli ve sürekli olmayan faz arasındaki etkileşime dayanmaktadır; enkapsül üretiminde sürekli fazı oluşturan bitkisel yağ içerisine (büyük miktarda) mikroorganizma içeren hidrokolloid süspansiyonu (küçük miktarda) eklenmektedir. Bu karışım bir emülsüfiyer kullanılarak yağ içerisinde su emülsiyonu elde edilinceye kadar homojenize edilmektedir. Emülsiyon oluşması yağ içerisinde çözünmez formda jel enkapsüllerin oluşması demektir. Oluşan yapının sertleştirilmesi amacıyla ortama çapraz bağlayıcı ajan (kalsiyum klorür, CaCl_2) eklenmekte ve enkapsüllerin fiziksel olarak oluşumunun tamamlanması sağlanmaktadır [20, 22, 23]. Emülsiyon yönteminde üretilen enkapsül boyut aralığının 25 μm -2 mm arasında değiştiği, üretim maliyetinin düşük, kolay üretim akışına sahip olduğu, enkapsüllenen bakterinin yaşama şansının %80-95 arasında değiştiği bildirilmiştir [17].

Uçucu bileşikler pek çok gıda da olduğu gibi sucukta da önemli kalite ölçütüdür. Fermente ürünlerde uçucu bileşikler bir kaç faktörden etkilenmektedir ve bunların başında et, tuz, baharat gibi sucuk bileşenlerinin tipi, kalitesi ve elde edildiği kaynak, sucuk üretim süreci (fermentasyon süresi ve sıcaklığı) ve starter kültür çeşidi, starter kültürlerin metabolik aktivitesi (proteoliz, lipoliz, karbonhidrat metabolizması, bakteriyal metabolizmadan elde edilen uçucu bileşikler ve lipit otooksidasyonu) yer almaktadır. LAB olmayan starter kültürler nitrat, nitrit redüktaz, katalaz ve lipaz gibi birkaç aktiviteye sahip olmaları nedeniyle fermente ürünlerin duyu özelliklerine katkıda bulunmaktadır [31 32]. Sucuk uçucu bileşikleri seçilen starter kültürün çeşidine ve türün özelliklerine bağlı olarak farklı uçucu bileşikler içeren sucuk elde edilebilmektedir. Kullanılan starter kültürler çeşit olarak LAB ve mikrokokların farklı alt türleri olabilmektedir.

LAB'lerinin bazı üyeleri GRAS listesinde yer almaktadır. *Lactococcus* ve *Lactobacillus* cinsleri gıda sistemlerinde güvenle ve yaygın kullanılan LAB üyeleridir. LAB karbonhidratların fermentasyonu süresince şekerden pirüvat, pirüvattan da diasetil, aset aldehit, asetat, etanol gibi uçucu bileşenlerini üretmelerinin yanı sıra küçük bir miktar asetik asit ve yüksek miktarlarda laktik asit üretimini gerçekleştirmektedirler. LAB genellikle güçlü proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip olmamalarına rağmen bazı et ürünlerinde düşük miktarlarda peptidaz ve lipaz aktivitesi sergileyebilmektedirler [11, 35, 58, 65]. Sucukların uçucu profillerinin istenilen kriterlerde olması için LAB'nin yanı sıra Gram pozitif- katalaz pozitif kokların sucuk üretiminde starter kültür olarak kullanılması şarttır. Stafilokokların, özellikle *S.xylosus* ve *S. carnosus*'un güçlü proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip olduğu, bu bakterilerin amino asitleri (özellikle dallanmış zincire sahip olan lösin, izolösin ve valin) ve serbest yağ asitlerini çeşitli reaksiyonlar sonucunda spesifik uçucu bileşiklerine dönüştürdükleri bildirilmiştir [11, 58, 88].



Şekil 2.10. Et ürünlerinde uçucu oluşumunda etkili olan biyokimyasal yollar [57]

Şekil 2.10'da verildiği gibi; sucuk uçucu bileşikleri üzerine etki eden bileşikler uçucu olmayan (karbonhidratların fermentasyonu, proteolizis ve lipolizis) ve uçucu olan (alkanlar, alkenler, aldehitleri ketonlar, alkoller, uçucutik hidrokarbonlar, karboksilik asitler, esterler, terpenler, sülfür bileşikler, furanlar, pirazinler, aminler ve klorür bileşikler) olarak gruplandırılmaktadır. Tüm bu bileşenler sucukda bulunan farklı yapı bileşenlerden (karbonhidrat, yağ ve protein) biyokimyasal yollar ile elde edilmektedir [33, 34, 36].

Uçucu bileşik profilini geliştiren yollardan bir tanesi karbonhidratların biyokimyasal olarak kullanılmasıdır. Etin bileşiminde çok düşük miktarda (%1 civarında glikojen) karbonhidrat bulunduğu için fermentasyon boyunca yeterli miktarda laktik asit oluşumunun sağlanması amacıyla sucuk hamuruna bazı karbonhidratlar ilave edilmektedir. Sucuk hamurunda bulunan karbonhidratlar homofermantatif yol ile laktik asite dönüşmektedir, homofermantatif metabolik yol ve alternatif metabolik yollar ile az miktarda da olsa asetat, format, etanol ve asetoin oluşmaktadır. Laktik asidin oluşumuna bağlı olarak pH değerinin düşmesi ürünün tabiatında birden fazla etkiye bulunmaktadır. Bunların arasında; sucuk istenilmeyen bakterilerden korunmakta, istenilen renk elde edilmekte, oluşan metabolitler ile karakteristik uçucu elde edilmekte, su bağlama kapasitesinin düşmesi ve et proteinlerinin izo-elektrik nokta yaklaşması sonucu oluşan protein koagülasyonu ile sucuğun kesilebilir karakter kazanması yer almaktadır. Karbonhidrat metabolizasyonu ile sucukta uçucu olan ve olmayan bileşikler oluşmaktadır. Uçucu olmayan bileşikler arasında organik asit olarak laktat ve asetat önemli bileşenleri oluşturmaktadır. Uçucu olan bileşikler ise diasetil, asetoin, butanediol, asetaldehit, etanol ve asetik asit gibi düşük molekül ağırlıklı bileşikler meydana gelmektedir. Fermentasyon sırasında oluşan spesifik uçucu bileşikler kullanılan starter kültüre bağlıdır. Diasetil, asetoin veya butanediol sucuğa tereyağımsı veya yoğurdumsu lezzet vermektedir.

Lipoliz, et ürünlerinin uçucu bileşik profili üzerinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Lipaz ve fosfolipaz enzimleri vasıtası ile serbest yağ asitlerinin oluşması olayına lipoliz denilmektedir. Et ürünlerinde lipoliz reaksiyonu ya ham madde de doğal olarak bulunan ya da starter kültürden gelen lipolitik enzimler ile sucuk yağının hidroliz edilmesi ile gerçekleşmektedir, bu reaksiyon süresince sırası ile trigliserit, digliserit, monogliserit, polar lipid, serbest yağ asitleri ve gliserine ayrılmaktadır. Adipoz doku ve intermuskuler yağlar başlıca trigliseritlerden ibaret olmasına rağmen intramuskuler yağlar buna ilaveten çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin olan fosfolipitleri de içermektedir. Başlangıçta trigliseritlerin yıkılmasında kasta bulunan ve pH 5.0 civarında çok aktif olan endojen lipazlar ve yağ dokuda bulunan nötral lipazlar görev almaktadır. LAB'nın büyük bir kısmı trigliseritleri hidroliz edemez ancak mono ve digliseritlere etki etmektedir. Lipoliz sonucunda oluşan serbest yağ asitlerinin oksidasyonu ile alkanlar, alkenler, metil ketonlar, aldehitler, alkoller ve bazı furanik halkalar gibi dallanmış alifatik bileşikler oluşmakta ve ürünün uçucusunda

etkili olmaktadır. Sucuğa özgü uçucu büyük ölçüde lipolitik reaksiyonlar sonucu oluşan serbest yağ asitleri, alkoller ve özellikle karbonil bileşiklerinden kaynaklanmaktadır. Karbonil bileşiklerin çoğunluğunu formaldehit ve asetaldehit oluşturmaktadır, fakat sucuklarda esas lezzet çok az miktarda oluşan büyük moleküler yapıdaki karbonil bileşiklerinden (2-alkenals; 2,4 alkodienals) ileri gelmektedir.

Bakteriyal flora serbest yağ asitlerinin oksidasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bu esnada enzimatik olmayan reaksiyonlar da gerçekleşmektedir. Hijyenik olmayan koşullarda tekniğine uygun şekilde üretilmeyen sucuklarda oksijenin varlığı ısı, ışık ve bağıl nemin de etkisi ile mikroorganizmaların (bakteri, maya ve küf) üremeleri hızlanmakta bunun sonucu olarak hidrolitik ve oksidatif reaksiyonlar (hidrolitik ve oksidatif ransidite) da hızlanmaktadır. Oksidatif ransidite süresince daha önce hidrolitik ransidite sonucu oluşan serbest yağ asitleri, özellikle doymamış yağ asitleri sırasıyla önce hidroperoksitlere, karbon- mono ve dioksitlere ve suya kadar parçalanmaktadır. Aşırı derecede oksidatif ransidite sonucunda sucuklarda keskin ransid lezzet oluşumu ile birlikte bir bozulma gerçekleşmektedir [11, 36].

Sucuk uçucu bileşik profilinde proteolitik aktivitenin etkisi de son derece önemlidir. Miyofibriler ve sarkoplazmik proteinler fermentasyon süresince kas proteazları (katepsinler, kalpainler), ekzopeptidazlar (dipeptidilpeptidaz, alanil-, leucil- ve proglutamil-aminopeptidaz) ve starter proteazların etkisi sonucunda polipeptidlere, peptitlere ve aminoasitlere indirgenmektedir [11,36].

Proteinlerin yıkılması sonucu oluşan küçük peptitler tat ve uçucu bileşiklerin oluşumunda direkt veya indirekt olarak etkili olmaktadır. Proteoliz reaksiyonları sonucu oluşan amino asitlerin ve peptitlerin sucuk uçucu bileşiklerinden uçucu olmayanlar kısmında sınıflandırılmaktadır. Serbest aminoasitler dekarboksilasyon, deaminasyon ve transaminasyon gibi çeşitli kimyasal değişimlere uğrayarak ürünün uçucu bileşikler karakterinde aktif olarak rol oynamaktadırlar [11, 36].

Degradasyon reaksiyonları: Strecker degradasyonu gibi enzimatik olmayan reaksiyonlar ile amino asitlerin oksidatif deaminasyon-dokarboksilasyon reaksiyonları sonucunda aldehitler oluşmaktadır. Bunu sonucunda lösin, izolösin ve fenilalanin' den meydana gelen 3-metilbütanal, 2-metillbütanal ve fenil aset aldehit oluşmaktadır. Bu bileşenler fermente sucuklarda en önemli uçucu bileşenleridir. Ayrıca 2-metil-propanoik ve 2- ve 3- metil-butanoik asitler ve bunların türevleri de sucuk uçucusu

üzerinde etkilidir. Methionin, sistein ve sistin gibi sülfür içeren amino asitlerin Strecker degradasyonuna uğraması ile şekillenen sülfür bileşikleri düşük orandadır. Ancak az miktarda şekillenen ve düşük oranda oluşan bu sülfür bileşikleri et ürünlerinde uçucu bileşiklerinin oluşumunda oldukça etkilidir. İkinci olarak amino asitlerin enzimatik degradasyonu da gerçekleşmektedir. Tirosin ve triptofandan tirosine-fenol-liaz ve triptofan- indol- liaz vasıtası ile fenol ve indol oluşmaktadır ve söz konusu indol türevleri (3-metilindole (skatol) et ürünlerinde hoşça gitmeyen kokulara neden olmaktadır [36, 46, 89].

Deaminasyon: Amino asitlerin oksidatif deaminasyonu amonyak oluşturan bazı bakteriler tarafından meydana getirilmektedir. Glutamat dehidrogenaz ve alanin dehidrogenaz'dan sırası ile α -ketoglutarate, pirüvat, NAD^+ ve $NADP^+$ varlığında amonyak oluşmaktadır. Aminoasitlerin oksidatif olmayan deaminasyonu da oluşabilmektedir. Bu reaksiyonlarda görev alan enzimler deaminazlardır. Keto asitlerin dekarboksilasyonu ile aldehitler meydana gelmekte; aldehitler alkollere indirgenmekte veya oksidize olarak asit oluşturmaktadır [36, 46].

Dekarboksilasyon: Amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucunda biyojen aminler meydana gelmektedir. Tirosin triptofan ve fenilalanininden sırasıyla tiramin, triptamin ve feniletılamin oluşmaktadır. Benzer şekilde lisin, histidin ve ornitinden de kadaverin, histamin ve putresin meydana gelmektedir. Biyojen amin ürünün uçucu bileşik profilini olumsuz yönde etkilemesinin yanı sıra insan sağlığı yönünden de olumsuzluklara neden olmaktadır [46].

Biyolojik olarak aktif aminler bitkilerin, hayvanların ve mikroorganizmaların metabolik aktivitesi sonucunda oluşan ve parçalanan toksik olarak kabul edilen organik bileşiklerdir. Biyojen aminler pek çok gıdada (meyve, sebze, et, balık, çikolata ve süt gibi) doğal olarak bulunabileceği gibi, gıdalarda bulunan çeşitli mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri (substrat spesifik enzim olan dekarboksilaz enzimini içerenler) veya aldehit ve ketonların deaminasyonu sonucunda da üretilmektedirler. Bu mikroorganizmalar arasında *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*), *Pseudomonas spp*, *Enterococci* ve bazı LAB'leri yer almaktadır. Söz konusu mikroorganizmalar serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu ile biyojen amin oluşturmaktadır. Gıdanın sahip olduğu koşullar, (pH, NaCl konsantrasyonu, sıcaklığı, a_w seviyesi) üretiminde maruz kaldığı

teknolojik parametreler ve mevcut olan mikroorganizma çeşit ve türü oluşan biyojen amin miktarını ve çeşidini etkilemektedir. Biyojen aminler doğal antinutrisiyonel faktörlerdir. Biyojen aminlerin mevcudiyeti ile çeşitli gıda zehirlenmeleri ve farmakolojik reaksiyonlar yaşanmaktadır. Gıdalarda farklı kimyasal yapılara [(alifatik (putresin, spermin, spermidin ve kadaverin), uçucutik (tiramin), ya da heterosiklik (histamin)] sahip biyojen aminler bulunmaktadır [90-92]. Biyojen amin bakımından riskli gıdalar arasında balık ve balık ürünleri, peynir, şarap, bira ve fermente sucuk yer almaktadır. Genel anlamda gıda endüstrisi bakımından en önemli biyojen aminler; histamin, putresin, kadaverin, tiramin, triptamin, spermin, spermidin ve β -feniletilamindir. İnsan sağlığı ile ilgili olarak biyojen aminlerden kaynaklanan kaygının nedeni biyojen aminlerin bazı toksikolojik semptomlara neden olmalarıdır. Biyojen aminlerin neden olacağı toksikolojik olumsuzluğun yanı sıra biyojen aminler mikrobiyal kontaminasyon indikatörüdürler ve varlıkları ile konsantrasyonları gıda kalite parametresi (yetersiz pastörizasyon, zayıf hijyen ve sanitasyon standartları) olarak kullanılabilir [25, 26, 28, 93-96].

Sucuk örneklerinde teknolojik, fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik faktörlerin etkisi sonucunda farklı çeşit ve miktarlarda biyojen amin oluşumu ve akümüasyonu gerçekleşmektedir. Son üründe biyojen amin mevcudiyeti birinci derecede mikrobiyal ve endojen enzimlerin etkisi sonucunda gerçekleşmektedir. Ortamda bulunan mikroorganizmalar sucuk fermentasyonu koşullarında değişen hızlı pH düşüşüne karşı bir savunma mekanizması olarak bazik karakterdeki amin üretimini gerçekleştirmektedir. Dekarboksilaz enziminin çalışma pH derecesinin 4-5.5 olduğu bildirilmiştir, böylece asidik koşulların oluşumu ile biyojen amin çeşit ve miktarının artması beklenmektedir. Söz konusu artış enzimin substratına yani dekarboksilaz enziminin serbest amino aside ulaşmasına da bağlı olarak şekillenmektedir. Üründe gerçekleşen otolitik ya da bakteriyel proteoliz ve ısıtma işlem uygulaması sonucu denatürasyon amino asit akümüasyonunu arttırabilmekte, böylece biyojen amin oluşumunu uyarabilmektedir. Fakat fermentasyon ve olgunlaşma periyodunda dekarboksile edici enzimin aktivite seviyesi öncü maddelere erişebilirlikten çok daha önemlidir. Böylece ısıtma uygulamasının hem mikroorganizma ve enzime hem de endojen enzimlere olumsuz etkisinin olmaması önemlidir. Amin oluşumu için optimum ve maksimum sıcaklık değeri bakteri türlerine göre değişmektedir. Uygulanan ısıtma işlem normlarına bağlı olarak sucukta bulunan mikroorganizmalar

farklı seviyelerde biyojen amin akümülayonu sağlayabilmektedir [26, 97, 98]. Çizelge 2.2’de et ve et ürünlerinde bulunan biyojen amin çeşitlerinin farmakolojik etkileri verilmiştir.

Çizelge 2.2. Et ve et ürünlerinde bulunan biyojen aminler ve farmakolojik etkileri [28]

Biyogen Amin	Öncüsü	Farmakolojik Etki
Histamin	Histidin	Adrenalin ve noradrenalin salgılamaktadır Bağırsak, solunum yolu ve uterusun yumuşak kas dokularını uyarmaktadır Hem duyuşal hem de motor nöronlarını uyarmaktadır Gastrik asit salgısını kontrol etmektedir Periferel damarlara hasar vermektedir Kalp rahatsızlığı riskini arttırmaktadır
Tiramin	Tirosin	Gözyaşı salgılanmasına neden olmaktadır Solunum hızını arttırmaktadır Kan şeker seviyesini arttırmaktadır Sinir sisteminden noradrenalin salgılamaktadır Migrene neden olmaktadır
Putresin ve Kadaverin	Ornitin ve Lisin	Hipertansiyon Bradikardi (kalbin atım sayısının azalması) neden olmaktadır Tetanos (spazmodik sinir sistemi rahatsızlığı) neden olmaktadır Ekstremiteler (el ve ayaklar) in felç geçirmesine neden olmaktadır Diğer aminlerin toksisitesini arttırmaktadır
β - feniletülenamin	Fenilalanin	Sinir sisteminden noradrenalin salgılamaktadır Kan basıncını arttırmaktadır Migrene neden olmaktadır
Triptamin	Triptfan	Kan basıncını arttırmaktadır

Fermente sucukta bir kaç mikrobiyal popülayonun aktif büyümesinin yanı sıra, sucuğun fermentasyonu süresince gerçekleşen proteolitik proses ve asitliğin yükselmesi, ürün ortamını biyojen amin üretimine uygun hale getirmektedir. Böylece başta tiramin, histamin, fenilalanin, triptamin, putresin ve kadaverin olmak üzere biyojen amin akümülayonu gerçekleşmektedir. Ayrıca nitrit ve nitratın kütleme ajanı olarak kullanıldığı et ürünlerinde biyojen aminler ile ilişkili toksikolojik risk, karsinojenik nitroz-amin oluşma ihtimali nedeniyle çok daha yüksektir [30, 65, 99]. Fermentasyon süresince mikroorganizmanın üreteceği biyojen amin miktarının pH, tuz konsantrasyonu, sıcaklık ve kullanılan starter kültürün tipi gibi pek çok faktöre bağılı olarak değişebileceği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [25, 100]. Bakteriyel amino asit dekarboksilaz aktivite seviyesi genellikle asidik pH değerlerinde optimumdur. Laktik asit fermentasyonu nedeni ile sucuklarda pH düşmesi ve biyojen amin üretimi arasında bir korelasyon olduğu belirtilmektedir. Fakat amin oluşumu dekarboksile edici enzim içeren bakterilerin büyüme koşullarından daha çok büyüme

miktarına bağlıdır. Bir diğer anlatımla sucuk üretim prosesi boyunca hızlı ve ani pH düşüşü amin pozitif bakterilerin büyüme miktarını düşürmektedir. Dengeli pH azalması sucuğun istenilen kalite kriterlerinin oluşumu için şart olmasının yanında istenilmeyen biyojen amin oluşumu için de ortam koşullarını sağlamaktadır [26]. Sucuk prosesinde fermentasyon ve depolama süresince tuz/su oranı ve suyun miktarı mikrobiyal çoğalma için son derece önemlidir. Yüksek tuz konsantrasyonu bakterilerin membranında yer alan dekarboksilaz enziminin hasar görmesine neden olduğu, %3.5-5.5 arasında değişen oranlardaki tuz konsantrasyonunun histamin üretimini inhibe ettiği belirtilmiştir [26,97].

Sucukta bulunan biyojen amin miktar ve çeşidinin sıcaklıkla ilişkilendirilmesi söz konusudur; sıcaklık sucukta bulunan farklı mikroorganizmaların aktivitelerini farklı düzeylerde etkilemekte ve biyojen amin akümüülasyonunu farklı şekillerde yönlendirmektedir. Aslında bu değişkenliğin nedeni biyojen amin üretimi ile ilgili pek çok olay (bakteri büyüme kinetiği, hücre yoğunluğu, enzimatik aktivite düzeyi gibi) üzerinde sıcaklığın etkisinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Nispeten yüksek sıcaklık proteolitik ve dekarboksile edici reaksiyonlara ivme kazandırabilmekte, bunun sonucunda biyojen amin konsantrasyonu artmaktadır. Sıcaklığın 15°C olduğu koşullarda hatta depolama süresince mikrobiyal popülasyon durağan ya da ölüm fazına ulaşmış olsa bile mikrobiyal dekarboksilaz enzimi aktif kalabilmektedir [26, 99]. Bazı türleri dışında starter kültür olarak kullanılan LAB'lerinin toksijenik ya da patojenik etkilere sahip olduğu düşünülmemektedir. LAB'den laktobasillerin bazı türleri biyojen amin üretme potansiyelleri bakımından öne çıkmaktadır. Bunların arasında *L. buchneri*, *L. alimentarius*, *L. plantarum*, *L. curvatus* amin pozitif özellikleri nedeni ile yer almaktadır. Micrococcaceae familyasının mikrokokus ve stafilokokus cinslerinin de biyojen amin üretimini gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Özellikle *S. xylosus*, *S. carnosus* ve *S. pisci fermentans* türlerinin biyojen amin üretimini gerçekleştirdiği saptanmıştır [26, 100].

Fermente et ürünlerinde en yaygın rastlanan biyojen aminler arasında toksikolojik etkileri nedeniyle en çok araştırılan biyojen aminler histamin, spermin ve tiramindir. Putresin ve kadaverin bir diamindir ve sağlık açısından ele alındıklarında olumsuz bir etkileri bulunmamakla birlikte; sucukta bulunan nitrit ile reaksiyona girdiklerinde karsinojenik nitroz-aminlerin oluşmasına neden olmaktadır [67, 91, 99].

Literatürde farklı gıda ürünlerde starter kültürlerin enkapsüle edilmesi ile ürünün karakteristik özelliklerinde ve serbest hücre ile enkapsüllemiş hücre arasında gerçekleşen değişiklerin incelendiği çalışmalar yer almaktadır.

Sheu vd. [101] tarafından yapılan çalışmada *L. bulgaricus* hücreleri sodyum aljinatın farklı konsantrasyonları (%0.5 %1.5, %3, %6) kullanılarak emülsiyon yöntemi ile enkapsüle edilmiştir. Çalışmada elde edilen enkapsüllerin boyutuna bağlı olarak hücrelerin canlı kalma stabilitesi, serbest ve enkapsül formların dondurma üretiminde kullanımı ile canlı hücre sayısındaki değişiklik incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre enkapsül formda bulunan hücreler arasında -20°C’de canlı kalma oranının %6 aljinatın kullanıldığı enkapsülde en yüksek (yaklaşık %100) seviyede olduğu, serbest formda canlı hücre sayısının ise başlangıç değerin %4’ü kadar olduğu belirtilmiştir. Enkapsül ve serbest formda bulunan hücreler dondurma üretiminde kullanılmış ve -5°C ile -29°C’ye soğutma işlemleri sırasında ve depolama sonunda enkapsüllemiş hücrelerin %85-90’ının canlı kaldığı, serbest formdaki hücrelerin ise yaklaşık %40 oranında canlılıklarını koruyabildiği belirlenmiştir.

Khalil vd. [102] *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium infantis*’i aljinat ile enkapsüle ederek mayonez üretiminde kullanmışlardır. Çalışmada mayonez içerisinde kullanılan bakterilerin canlı kalma sürelerinin enkapsülasyon ile arttığı; serbest hücrelerin 2 hafta canlılığını koruduğu, buna karşın enkapsül formda *B.bifidum* 12 hafta, *B.infantis* ise 8 hafta canlı kaldığı bildirilmiştir. Mayonezin mikrobiyolojik kalitesinin de enkapsülasyon ile arttığı belirlenmiştir. Serbest hücre içeren grup ve kontrol grubunda küf ve maya gelişimi 6. haftadan sonra başladığı, enkapsül hücrelerin bulunduğu mayonezde mikrobiyal aktivitenin 12. haftadan sonra başladığı bildirilmiştir. Enkapsüllemiş formda hücre içeren mayonezde titre edilebilir asitlik diğer ürünlere kıyasla daha yüksek, tiyobarbitirik asitin daha düşük değerlere sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca mayonezin duyuşal karakterinin enkapsülasyon işlemi ile geliştiği tespit edilmiştir.

Probiyotik bakterileri aljinat ve nişasta kullanarak enkapsüle eden ve yoğurt üretiminde kullanan bir başka çalışmada ürünün asidifikasyon kinetiği incelenmiştir. Çalışmada enkapsülasyonun asit üretim hızını yavaşlattığı, ancak 8 hafta depolanan yoğurtta serbest ve enkapsül formda bulunan bakteriler arasında canlı hücre sayısı bakımından farklılık olduğu, enkapsüllemiş bakterilerin canlı kalma oranının 0.5 logaritmik birim arttırdığı bildirilmiştir [103].

Adhikari vd. [104] tarafından yapılan çalışmada yoğurt üretiminde probiyotik mikroorganizmalar olan *Bifidobacterium longum* B6 ve *B.longum* ATCC 15708 k-karagenan ile enkapsüle edilmiştir. Asitlik gelişimine karşı hassas olan bu mikroorganizmaların enkapsül ve serbest formu arasında yoğurt üretiminde kullanım farkı araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarında 30 gün depolanan yoğurtta serbest formda kullanılan bakterilerde *L.longum* B6'nın %78, *L.longum* ATCC 15708'in %70.5 oranında canlılığın azaldığı, enkapsül formda hücre içeren yoğurtta serbest forma kıyasla asetik asit içeriğinin daha düşük değerlerde bulunduğu, laktik asit içeriğinin ise serbest hücre içeren yoğurtta enkapsül formda hücre içeren ve hücre içermeyen yoğurda kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışma enkapsülasyon işlemi ile elde edilen enkapsül formun yoğurt üretiminde kullanılması ile bakterilerin aside karşı direnç kazanımlarının gerçekleştiğini vurgulamaktadır.

Aljinatin kabuk materyal olarak kullanıldığı bir başka çalışmada *Bifidobacterium*'un dokuz farklı türü enkapsüle edilmiş ve elde edilen enkapsül formdaki hücrelerin farklı ortamlarda canlı kalma süreleri incelenmiştir. Çalışmada mide koşullarında ve safra tuzu varlığında enkapsül ve serbest formda bulunan hücrelerin sayılarında benzer oranlarda azalma gerçekleştiği, buzdolabı koşullarında tutulan %2 yağ içeren süt içerisinde ise enkapsül formdaki mikroorganizma sayısının serbest forma nazaran daha fazla olduğunu bildirilmiştir [82].

Gardiner vd. [105] tarafından yapılan çalışmada Rifampisin dirençli probiyotik bakteri olan *Lactobacilli paracasei* NFBC 388 (Rif), %20 kuru madde içerecek şekilde rekonstitue süt ile sprey kurutma tekniği kullanılarak enkapsüle edilmiştir. Çalışmada kontrol (starter kültür içermeyen), 1. grup (serbest formda starter kültür içeren) ve 2. grup (enkapsül formda starter kültür içeren) olmak üzere 3 farklı cedar peynir üretilmiş ve peynirlerde canlı hücre sayısı değişimi incelenmiştir. Toplam 90 gün depolanan peynirlerin kontrol grubunda olgunlaşma dönemi sonunda starter olmayan laktobasil hücre sayısının 5 logaritmik koloni oluşturma birimi (log kob)/mL yükseldiği, 1 grupta serbest formda bulunan starter kültür hücre sayısının 2.5 log kob/mL düştüğü, 2 grupta enkapsül formda bulunan starter kültür hücre sayısının 0.5 log kob/mL arttığı belirtilmiştir.

Buğday proteini ve süt yağının kabuk materyali olarak kullanıldığı bir çalışmada emülsiyon ve sprey kurutma yöntemleri ile enkapsüle edilen iki farklı probiyotik bakteri (*Bifidobacterium brave* (BB R070) ve *Bifidobacterium longum* (BL

R023)) yoğurt üretiminde kullanılmış, ayrıca mide ve bağırsak koşullarının taklit edildiği ortamda enkapsülasyonun hücre canlılığını korumadaki etkisi incelenmiştir. Çalışmada buzdolabı koşullarında muhafaza edilen yoğurtta enkapsül formda bulunan hücrelerin serbest hücrelere kıyasla daha fazla sayıda (aralarında 2.6 log kob/mL'lik fark bulunduğu) olduğu bildirilmiştir. Mide ve bağırsak koşullarında yapılan test için de benzer şekilde, enkapsül formdaki hücrelerin canlılık oranının serbest forma kıyasla 2.7 log kob/mL arttığı tespit edilmiştir [106].

Emülsiyon ve ekstrüzyon teknolojisi kullanılarak *L. reuteri*'nin aljinat ile enkapsüle edildiği bir başka çalışmada, enkapsül ve serbest formda bulunan bakteriler sucuk üretiminde kullanılmış ve ürünün duyusal gelişimi, enkapsülasyon ile canlı hücre sayısındaki değişiklik incelenmiştir. Üretim sürecinin ardından serbest formda kullanılan *L.reuteri* sayısının 2.6 log azaldığı fakat enkapsül formdaki *L.reuteri*'de bu azalmanın sadece 0.5 log düzeyinde kaldığı belirtilmiştir. Kontrol grubunda, enkapsül ve serbest formda hücre içeren sucuk örneklerinde duyusal karakter bakımından herhangi bir farklılık oluşmadığı bildirilmiştir [107].

Kailasapathy vd. [108] tarafından yapılan çalışmada enkapsül üretiminde aljinat kabuk materyali olarak kullanılmış ve probiyotik bakterilerin enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Depolama süresi boyunca enkapsülasyonun yoğurdun renginde, uçucusunda, asitliğinde ve tadında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı, ancak tekstürel özelliklerinde önemli farklılıklara neden olduğu, ayrıca enkapsülasyon işlemi ile kullanılan bakterilerin canlı kalma oranlarında 1-2 log artış sağlandığı bildirilmiştir.

Muthukumarasamy ve Holley [109] yaptığı bir çalışmada kuru fermente sucuk üretiminde starter kültür olarak *Pediococcus pentosaceus* ve *Staphylococcus carnosus* ile birlikte serbest ve enkapsül formda *Lactobacillus reuteri* ve *Bifidobacterium longum* kullanmıştır. Çalışmada enkapsül formda kültür kullanımının canlı hücre sayısını arttırdığı (yaklaşık 2 log kob/g), ancak enkapsül formdaki hücrelerin istenmeyen mikroorganizmlar ile rekabet etme gücünde azalma gerçekleştiği bildirilmiştir.

Kaşar peyniri üretiminde enkapsül ve serbest formda *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* bakterileri starter kültür olarak kullanılmış ve 90 gün depolama süresi ile kaşar peynirinin mikrobiyal, biyokimyasal, organoleptik özellikleri incelenmiştir. Araştırma bulgularında enkapsülasyon teknolojisi ile canlı

hücre sayısında önemli bir artış tespit edildiği, enkapsül ve serbest formda kültür içeren örneklerin biyokimyasal ve organoleptik özellikleri arasında önemli bir farklılık belirlenmediği bildirilmiştir [110].

Aljinatın kabuk materyali olarak kullanıldığı bir çalışmada *Lactobacillus casei* (Lc-01) ve *Bifidobacterium lactis* (Bb-12) kültürleri enkapsüle edilmiş ve dondurma üretiminde kullanılmıştır. Çalışmada 180 gün depolama süresi sonunda serbest formda kullanılan kültürlerde yaklaşık 3 log birim azalma belirlenmiş, enkapsül formda kullanılan kültür sayısının ise %30 oranında arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca enkapsül formda bakteri kullanımı ile ürünün duyuşal karakterinde herhangi bir değişiklik gerçekleşmediği bildirilmiştir [111].

Özer vd. [112] tarafından yapılan çalışmada beyaz tuzlu peynirin olgunlaşması süresince probiyotik bakteri sayısındaki değişim ve duyuşal gelişimi bakımından serbest ve enkapsül formda probiyotik bakteri kullanımının farkı incelenmiştir. Çalışma sonuçlarında peynirin olgunlaşma süresince serbest formdaki bakteri sayısında yaklaşık 3 log azalma belirlenirken, enkapsül formda bu değer yaklaşık 1 log olarak bildirilmiştir. Tuzlu beyaz peynirin duyuşal karakterinde serbest ve enkapsül probiyotik bakteri formları arasında bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir.

Aljinat ve pektinin kabuk materyal olarak kullanıldığı bir çalışmada *Lactobacillus casei* enkapsüle edilmiş, hazırlanan enkapsüller hem karakterizasyon (kapsül çapı, küreselliği ve tekstürel özellikleri) hem de yoğurt ve mide-bağırsak koşullarının oluşturulduğu ortamlarda stabilite yönünden incelenmiştir. Çalışma sonuçlarında; enkapsül çapının kabuk materyal niteliğine ve prosesde kullanılan yöntemle bağlı olduğu, kabuk materyalinde pektin oranının artması ile enkapsül küreselliğinin arttığı, her iki ortam koşullarında da enkapsül formda kullanılan bakterinin canlı hücre sayısının serbest forma kıyasla daha yüksek olduğu, ayrıca kabuk materyal konsantrasyonunun artması ile enkapsül boyutundaki artışa paralel olarak canlılığını koruyan hücre sayısının da arttığı bildirilmiştir [113].

Pérez-Chabela vd. [21] tarafından yapılan çalışmada akasya gamı kullanarak sprey kurutma tekniği ile dört farklı LAB'si enkapsül edilmiş ve elde edilen enkapsül formdaki hücreler pişirilmiş et hamuruna karıştırılmıştır. Serbest ve enkapsül formda bakteriler ile üretilen ürün farklı karakteristik özellikleri bakımından incelenmiştir. +4°C'de depolanan tüm ürünlerin 1 ve 8. günlerde fizikokimyasal özellikleri (toplam

nem içeriği, pişirme stabilitesi), pH, renk, asitlik ve tekstür profil analizleri gerçekleştirilmiş ve 1, 4 ve 8. günlerde *Enterobacteria* miktarı belirlenmiştir. Enkapsül formda bakterilerin kullanıldığı ürünlerde toplam nem içeriği, a_w ve yağ salınımı bakımından serbest kültüre kıyasla bir artış belirlenmişken, pH ve asitlik değerleri bakımından bir farklılık belirlenmemiştir. Renk karakteri bakımından enkapsül formda hücre içeren ürünlerin parlaklık ve kırmızılık değerlerinde azalma, sarılık değerinde değişiklik belirlenmemiştir. Ürünün tekstürel karakterlerinden sertlik ve elastikiyetin inokülasyon tipine bağlı olmadığı fakat yapışkanlığın enkapsül formda hücre kullanımı ile azaldığı belirtilmiştir. Enkapsülasyon prosesi ile depolama süresi sonunda üründe LAB sayısının başlangıç değerinin üzerine çıktığı ancak *Enterobacteria* sayısının redüksiyona uğradığı bildirilmiştir, bu sonuç ile LAB olumsuz ortam koşullarından korunmak istediğinde enkapsülasyon prosesinin başarılı sonuçlar vereceği vurgulanmaktadır.

Kuru fermente sucuk üretiminde öğütülmüş buğday ile enkapsüle edilen *Lactobacillus casei* starter kültür olarak kullanılmış, serbest ve enkapsül formda kültür içeren sucuk örneklerinin mikrobiyal yükü ve fiziko-kimyasal karakteristikleri incelenmiştir. Çalışmada pH ve titrasyon asitliği bakımından enkapsül ve serbest formun farklılık göstermediği, fakat canlı hücre sayısı bakımından enkapsül formda kültür içeren örneğin daha yüksek sayıda bakteriye sahip olduğu belirtilmiştir [114].

Çedar peyniri üretiminde enkapsül formda starter kullanılmış ve enkapsülasyon işleminin peynir kalite kriterleri üzerinde etkisi incelenmiştir. Enkapsül formda kültür kullanımı ile peynir kompozisyonunda (yağ, protein, tuz) bir farklılık oluşmadığı, ancak tekstürel özelliklerde enkapsül ve serbest form arasında önemli farklılıklar olduğu, enkapsülasyon işleminin peynirin tekstürel kalitesini olumsuz etkilediği bildirilmiştir [115].

Amine vd. [116] tarafından yapılan çalışmada *Bifidobacterium longum* aljinat ile ekstrüzyon ve emülsiyon yöntemleri kullanarak enkapsüle edilmiştir. Enkapsül ve serbest formun, donmaya karşı stabilitesi ve çedar peyniri üretiminde kullanımı araştırılmıştır. Çedar peyniri üretiminde enkapsül ve serbest formda *B. longum* kullanımı ve 21 gün depolama süresi sonunda peynirde canlı kalan hücre sayısının kabuk materyaline ve yöntemine bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Donmaya karşı stabilitelerinde ekstrüzyon yöntemi enkapsüllerinin, çedar peyniri

depolama süresinde canlı hücre sayısı bakımından ise emülsiyon yöntemi enkapsüllerinin daha başarılı olduğu belirtilmiştir.

Yoğurt üretiminde pektin ve buğday proteini ile enkapsüle edilen *Lactobacillus acidophilus* LA-5 starter kültür olarak kullanılmış, enkapsülasyonun canlı mikroorganizma sayısı, genel görünüm, uçucu, lezzet, ve enkapsül tekstürel karakter ve serbest hücrelerin mide-bağırsak koşullarında canlı kalma oranları incelenmiştir. Çalışmada serbest kültür içeren yoğurtta canlı hücre oranı %10, enkapsül formda %62 olarak belirlenmiş, ürünün genel görünüm, uçucu, lezzet kriterlerinde enkapsül ve serbest kültür kullanımına bağlı olarak bir farklılık belirlenmediği, ancak enkapsül formda kültür içeren yoğurdun tekstürel özelliklerinin serbest forma kıyasla daha iyi olduğu bildirilmiştir [117].

Bu çalışmada, enkapsüle starter kültürlerin sucuk üretimine dahil edilmesi ve böylece üretim koşullarının olumsuz etkilerinden starter kültürlerin korunması sonucunda güvenilirliği yüksek, karakteristik özellikleri geliştirilmiş son ürün elde edilmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Starter kültür, et, yağ, baharat ve kılıf

Bu çalışmada starter kültür olarak *Staphylococcus xylosus* [(ATCC No: 29971), Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi (RSHM), Ankara] ve *Lactobacillus plantarum* [(ATCC No: 2331), Lab 315, Gıda Mühendisliği Bölümü, Malatya] kullanılmıştır.

Sucuk üretiminde kullanılan et, yağ, kürlenme ajanı (Sodyum nitrit) ve doğal kılıf üretimin yapılacağı Malet Malatya Et ve Et Ürünleri San. Tic. A.Ş. firmasından temin edilmiştir. Üretimde rigor mortis evresini tamamlamış sığır eti kullanılmıştır. Baharatlar (tuz, sarımsak tozu, sukroz, kırmızıbiber, karabiber, kimyon, yenibahar) Büyük Baharatçı (Battalgazi, Malatya) isimli yerel bir marketten temin edilmiştir.

3.1.2. Besiyerleri, dilüsyon sıvıları

Bakteri suşlarının aktifleştirilmesi ve mikrobiyolojik sayımların yapılması amacıyla farklı besiyerleri kullanılmıştır. Stok mikroorganizmaları aktifleştirmek amacıyla; *S. xylosus* için Brain Heart Infusion (BHI) broth (Merck, Darmstadt, Germany), *L. plantarum* için De Man Rogosa Sharpe (MRS) broth (Merck, Darmstadt, Germany), mikrobiyolojik sayım amacıyla; TAMB sayısı için Plate Count Agar (PCA; Lab M, England) maya ve küf için Potato Dextrose Agar (PDA; Lab M, England) starter kültür sayımında LAB için De Man Rogosa Sharpe (MRS) agar (Merck, Darmstadt, Germany), *S.xylosus* için Baird Parker (BPA) (Biomark, India), koliform grubu için Lauryl Sulphate Tryptose (LST) (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK), Eosin Methylene Blue (EMB) agar (Merck Darmstadt, Germany) kullanılmıştır.

Mikrobiyolojik ekimlerde dilüsyonların hazırlanmasında tamponlanmış peptonlu su (Lab M, England) kullanılmıştır.

3.1.3. Diğer kimyasallar ve çözeltiler

Çalışmada enkapsül üretiminde kabuk materyali olarak Sodyum aljinat (Sigma, USA), nişasta (Sigma, USA) ve esterifikasyon değeri (ED) 35 olan düşük metoksilli

pektin (Biokim, İzmir, Türkiye) ve emülsiyon ortamı oluşturmak amacıyla ticari ayçiçek yağı kullanılmıştır.

Ayrıca çalışma kapsamında kullanılan diğer kimyasallar; fosfat tampon tuzu (PBS), hidroklorik asit (HCl), amilaz enzimi, pektinaz enzimi, perklorik asit, dansil klorit, boraks, Tween 80, kalsiyum klorür (CaCl_2) histamin, tiramin, spermin, putresin, spermidin ve kadaverin (Sigma Aldrich, USA), tiyobarbutirik asit (TBA) reaktifi, trikloroasetik asit (TCA), griess, amonyum asetat, sodyum hidroksit (NaOH), sodyum bikarbonat, amonyak, amonyum asetat, Egg-yolk Tellurite Emulsion %20 (Merck, Darmstadt, Germany), petrol eteri, laktik asit, asetonitril, (Carlo Erba, Val de Reuil, France), sodyum nitrit (Tekkim, Türkiye), SPME fiberi (Supelco, Bellefonte, PA, USA), carezz-I, carezz-II (Chem, Bio, Türkiye) şeklindedir.

3.2. Metot

Bu çalışma iki aşamalı olarak tamamlanmıştır. İlk aşamada starter kültürlerin enkapsülasyonu ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiş, ikinci aşamada ise starter kültürler kullanılarak sucuk üretimi ve üretilen sucuğun öngörülen koşullarda farklı sürelerdeki analizleri gerçekleştirilerek enkapsüle starter kullanımının bazı kalite parametreleri üzerine etkileri saptanmıştır.

3.2.1. Mikroenkapsüllerin hazırlanması

Sucuk üretiminde kullanılan starter kültürlerin enkapsülasyonunda iki farklı kabuk materyali (aljinat-nişasta ve pektin-nişasta) kullanılmış ve enkapsülasyon işlemi önerilen emülsiyon yönteminde bazı değişiklikler yapılarak [101, 103, 118] gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1. Aljinat-nişasta enkapsüllerinin hazırlanması

Enkapsül üretiminde kullanılan starter kültürleri aktive etmek amacıyla MRS (*L. plantarum* için) ve BHI (*S. xyloso* için) brothta inokülasyonları yapılan kültürler 37°C’de 48 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Aktifleştirilen kültürlerin hücre sayısını arttırmak amacıyla işlem üç kez tekrar edilmiştir. Hazırlanan gece kültürleri 3000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiş ve pellet üzerine 2 mL steril saf su eklenerek aktif hücre süspansiyonları elde edilmiştir. Starter kültürlerin enkapsülasyonunda kullanılan tüm cam malzemeler ve çözeltiler otoklavda (120 °C’de 15 dk) steril edilmiştir. Çizelge

3.1’de belirtilen oranlarda hazırlanan aljinat-nişasta jeline aktifleştirilen hücre kültürleri ayrı ayrı eklenmiş (kabuk materyali: aktif hücre süspansiyon oranı 4:1) 600 rpm’de 5 dk karıştırılarak merkez-kabuk materyal stok solüsyonu hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1. Aljinat-nişasta enkapsüllerinin hazırlanmasında kullanılan formülasyonlar

Kabuk materyal oranları (%)			Emülsiyon koşulları	
Sodyum aljinat	Nişasta	CaCl ₂ miktarı (mL)	Kabuk:Merkez (mL)	Ayeek Yağı (mL)
0.5	0	100	50	250
1	0	100	50	250
3	0	100	50	250
0.5	0.5	100	50	250
1	1	100	50	250
2	2	100	50	250
3	3	100	50	250

Enkapsül retimi için emülsiyon ortamı 250 mL ayeeği yağı ve %0.5 Tween 80 (hacim olarak) içeren ortama kabuk ve merkez materyal stok solüsyonu bir şırınga ile eklenmiş ve manyetik karıştırıcı ile 600 rpm’de 20 dk karıştırma süresinin sonunda emülsiyon elde edilmiştir. Karıştırma işlemi devam ederken 100 mL, 0.1M kalsiyum klorür (CaCl₂) eltisi (apraz bağlayıcı olarak) damla damla ortama aktarılmış, 20 dk süre ile 600 rpm’de karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dk dinlendirme aşamasının ardından st faz uzaklaştırılmış kalan enkapsller falkon tüplerine alınarak 10 mL yıkama solüsyonu (%0.9 tuz, %5 gliserol suda hazırlanarak otoklavda steril edilmiştir) ilave edilmesinin ardından 1 dk vorteks, 1500 rpm’de 5 dk santrifüj ile yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işleminin 2 kez tekrar edilmesinin ardından, enkapsller dondurarak kurutma aşamasına hazırlık için -18°C’de dondurulmuştur. Hazırlanan enkapsüllerin etkinliği üzerine aljinat-nişasta oranının etkisini belirlemek amacıyla izelge 3.1’de verilen konsantrasyonlarda işlemler tekrarlanmış ve elde edilen enkapsller liyofilizatörde kurutularak (dondurarak kurutma) karakterizasyon testleri gerçekleştirmiştir.

3.2.1.2. Pektin-nişasta enkapsüllerinin hazırlanması

Pektin-nişasta enkapsüllerinin hazırlanmasında kullanılacak starter kültürlerin aktif hücre süspansiyonları Bölüm 3.2.1.1’de anlatılan işlemler takip edilerek elde

edilmiştir. Çizelge 3.2’de belirtilen oranlarda hazırlanan pektin-niştasta jeline aktiveleştirilen hücre kültürleri ayrı ayrı eklenmiş (kabuk materyali: aktif hücre süspansiyon oranı 4:1) 600 rpm’de 5 dk karıştırılarak merkez-kabuk materyal stok solüsyonu hazırlanmıştır.

Bölüm 3.2.1.1’de belirtilen işlemler takip edilerek Çizelge 3.2’de verilen farklı konsantrasyonlar için pektin niştasta enkapsüllerinin üretimi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. Pektin-niştasta enkapsüllerinin hazırlanmasında kullanılan formülasyonlar

Kabuk materyal oranları (%)		CaCl ₂ miktarı (mL)	Emülsiyon koşulları	
Pektin	Niştasta		Kabuk:Merkez (mL)	Ayçiçek Yağı (mL)
0.5	0	100	50	250
1	0	100	50	250
3	0	100	50	250
0.5	0.5	100	50	250
1	1	100	50	250
2	2	100	50	250
3	3	100	50	250

3.2.2 Enkapsüllerin karakterizasyon testleri

3.2.2.1. Aljinat-niştasta enkapsüllerin etkinlik testi

Hazırlanan enkapsüllerin etkinliğini belirlemek amacıyla 100 mg aljinat-niştasta enkapsülleri %2 amilaz enzimi içeren 9 mL fosfat tampon tuz (PBS) solüsyonuna (pH:7.0) eklenmiş ve aljinat-niştasta enkapsülündeki tutuklu bakterilerin PBS içerisine geçmesi amacıyla 30 dk süresince belirli aralıklar ile karıştırılmıştır. Bu işlemin ardından 1 mL örnek alınmış, peptonlu su yardımı ile seri dilüsyonlar yapılmış, katı besiyerinde sayım yöntemi ile MRS agarda (*L. plantarum* için) ve BHI agarda (*S. xyloso* için) mikroorganizma sayısı belirlenmiştir [118, 119]. Üç paralelli yapılan analiz sonucunda canlı hücre sayısı log kob/mL olarak ifade edilmiştir. Enkapsülasyon etkinliği (EE) aşağıda belirtilen formül yardımı ile hesaplanmış, sonuçlar % olarak ifade edilmiştir.

$$EE = \frac{\text{Enkapsülasyonun işlemi sonrasında canlı hücre sayısı (log kob/mL)}}{\text{Başlangıçta kullanılan canlı hücre sayısı (log kob/mL)}} \times 100$$

3.2.2.2. Pektin-nişasta enkapsüllerinin etkinlik testi

Pektin-nişasta enkapsüllerinin etkinliğini belirlemek amacıyla, 100 mg enkapsül 40°C’de su banyosunda bekletilen 9 mL PBS (pH: 4.5) tamponuna eklenmiştir. Pektin-nişasta enkaps l ndeki tutuklu bakterilerin PBS içerisine geçmesi amacıyla ortama %2 pektinaz ve %2 amilaz enzim (hacim olarak)  zeltisi eklenmiş ve 40°C’de su banyosunda 30 dk boyunca belirli aralıklar ile karıştırılmıştır. Bu işlemin ardından peptonlu su yardımı ile seri dilüsyonlar yapılmış, inkübasyon sürelerinin ardından katı besiyerinde MRS agarda (*L. plantarum* için) ve BHI agarda (*S.xylosus* için) mikroorganizma sayıları belirlenmiştir [118, 119].

3.2.3. Morfolojik yapı

Morfolojik yapı Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Leo EVO-40 VPX Carl ZeissSMT, Cambridge, UK) kullanılarak incelenmiştir. Örnekler altın-paladyum ile kaplanmış ve farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri alınmıştır.

3.2.4. Salınım testi

Mikroorganizma içeren enkapsüllerin salınım hızlarını belirlemek amacıyla, fermentasyonaşamasındaki pH düzeyi (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 ve 14. gün için belirlenen pH değerleri sırası ile 5.70, 5.62, 5.00, 4.48, 4.21, 4.39, 4.62 ve 4.67) dikkate alınmış ve bu koşullarda salınım testi gerçekleştirilmiştir. Salınım ortamı olarak steril PBS kullanılmış, 1/100 oranında seyreltilen laktik asit (%88’lik) ve 0.01 N NaOH fermentasyonun 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 ve 14. günlerinde belirlenen pH dereceleri elde edilmesinde kullanılmıştır.

Serbest starter kültür kullanılan sucuk örneğinin 1 gramında bulunan mikroorganizma sayısı belirlenmiş, salınım ortamının 1 mL’de aynı sayıda mikroorganizma taşıyan enkapsül miktarı hesaplanarak, aseptik koşullar altında steril falkon tüplerine tartım alınmıştır (*S. xylosus* için 0.2380 mg/1mL, *L. plantarum* için 0.3846 mg/1mL) . Enkapsül  rnekleri üzerine 5 mL steril PBS ilave edilmiş ve pH metre (Mettler-Toledo, S220, İsviçre) kullanılarak laktik asit ile pH 0. gün değeri olan 5.70’ye ayarlanmıştır. pH metre elektrodunun sterilizasyonu amacıyla elektrod %10 hipoklorit içeren steril saf suda yıkanmış, steril saf su ile durulanmış ve denemeler süresince pH ayarlamalarında işlem tekrar edilmiştir.

Belirlenen süreler (gün) sonunda 1 mL örnek alınmış ve son hacmi değiştirmemek amacıyla aynı miktarda steril PBS (pH uyumlu) ilave edilmiştir.

Alınan örnek üzerine 9 mL steril peptonlu su (%0.1) ilave edilmiş ve steril peptonlu su ile seri dilüsyon işleminin ardından katı besiyerine (*L.plantarum* için MRS, *S.xylosus* için BHI agar) ekim yapılmış, 37°C’de 48 saat inkübasyonun sonunda 1 mL örnekte bulunan serbest formda bakteri sayısı belirlenmiştir.

Örnek alma işleminin ardından salınım test ortamının pH’sı laktik asit ve NaOH yardımı ile analiz günü için belirlenen pH düzeyine ayarlanmış ve süre sonunda yukarıda belirtilen prosedür takip edilerek test edilen gün için salınım ortamının 1 mL’de bulunan serbest canlı hücre sayısı belirlenmiştir. İşlemler belirlenen günler için (0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 ve 14.gün) tekrar edilmiştir.

3.3. Isıl İşlem Gören / Fermente Sucuk Benzeri Et Ürünü Üretimi

Serbest ve enkapsül formda starter kültür içeren sucuk üretimi Muthukumarasamy ve Holley [107], Dalmıs ve Soyer [120] ve Kaban ve Kaya [121]’nın uyguladığı yöntemlere göre Malet MALATYA Et ve Et Ürünleri San. Tic. A.Ş. işletmesinde iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. İlk üretim Ocak 2015’te ikinci üretim ise Şubat 2015’te yapılmıştır. Sucuk üretiminde izlenilen aşamalar Şekil 3.1’de, sucuk örneklerinin formülasyon ve üretim yöntemi temelinde gerçekleştirilen adlandırma Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Sucuk örneklerinin kodlamaları

Grup Adı	Starter Kültür <i>L. plantarum</i> : <i>S. xylosus</i>	Enkapsülasyon	Fermentasyon	Isıl İşlem
Grup A				
A1	-	-	+	-
A2	-	-	-	+
Grup B				
B1	+	-	+	-
B2	+	-	-	+
Grup C				
C1	+	+	+	-
C2	+	+	-	+

Üretim öncesinde işletmenin soğuk hava deposunda -20°C’de tutulan donmuş et ve yağ +4±2°C’de yaklaşık 12 saat bekletilmiştir. Sucuk üretiminde kullanılan formülasyon Çizelge 3.4 ’te verilmiştir.

Çizelge 3.4. Sucuk üretim formülasyonu

Bileşenler	Kontrol (A)	Starter Kültür içeren gruplar	
		Serbest Kültür (B)	Enkapsül Kültür (C)
Et (%)	80	80	80
Hayvansal Yağ (%)	20	20	20
g / kg sucuk hamuru	Tuz	25	25
	Sarımsak	10	10
	Sukroz	4	4
	Kırmızı biber	7	7
	Kara biber	5	5
	Kimyon	9	9
	Yeni bahar	2.5	2.5
	Sodyum Nitrit	0.15	0.15
	Sarter Kültür*	-	+

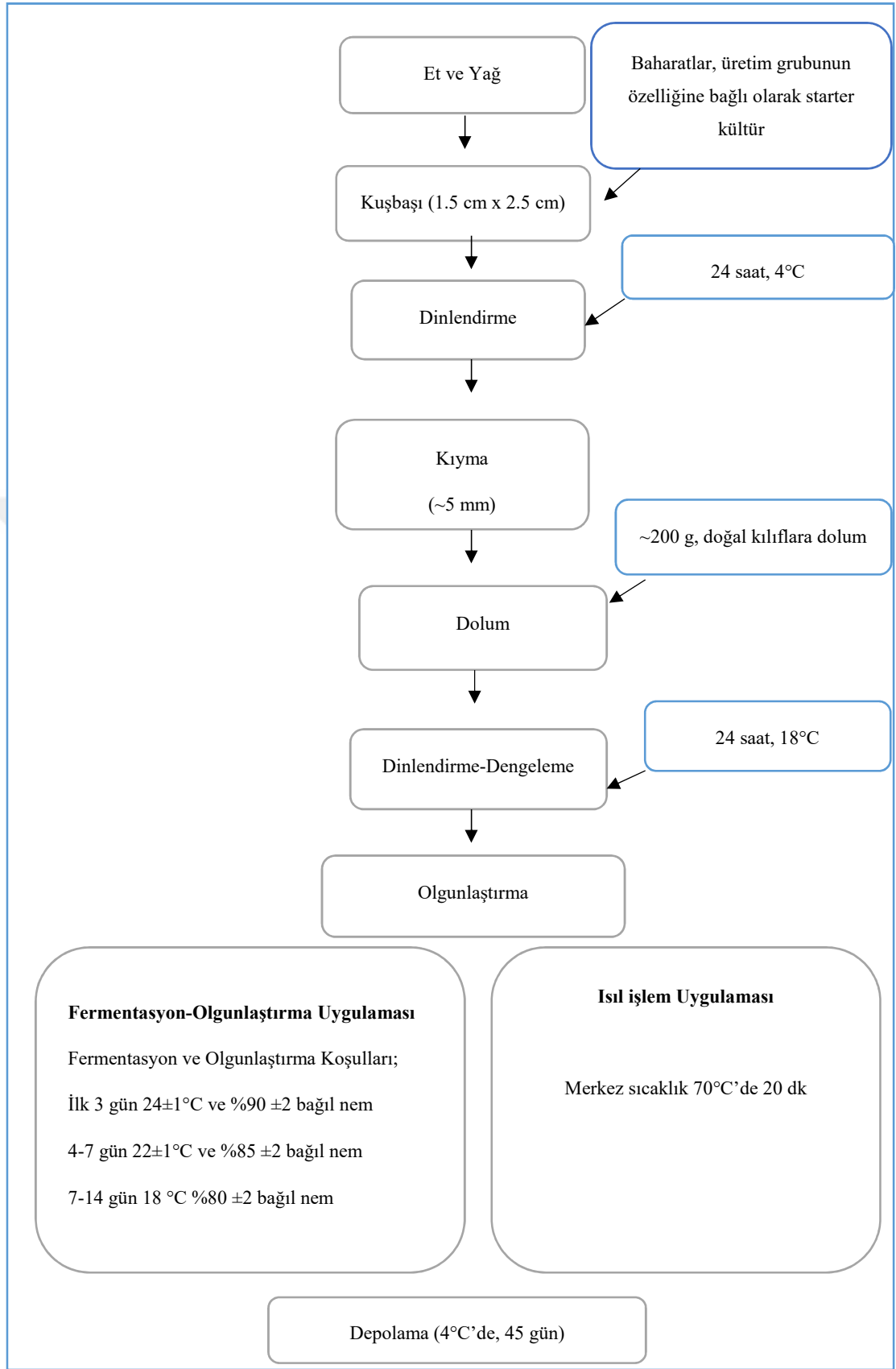
Starter kültür olarak *S. xylosum* ve *L. plantarum* serbest ve enkapsül formda sucuk hamurunun gramında 10^7 kob düzeyinde kullanılmıştır.

Üretimde kullanılacak et ve yağ ayrı ayrı 12 mm aynanın kullanıldığı kıyma makinasından (Arı Torna Ltd. Şti., İstanbul) çekilmiş, 8 kg et ve 2 kg yağdan oluşan 10 kg'lık et-yag karışımı hazırlanmış ve elle homojen bir dağılım oluncaya kadar karıştırılmıştır. Benzer şekilde 10 kg'lık 3 grup oluşturulmuş, bunlar kontrol (starter kültür içermeyen), serbest ve enkapsül formda starter kültür içeren sucukların üretiminde kullanılmıştır. Üretim grubunun özelliğine bağlı olarak eklenen serbest starter kültür sayısı sucuk hamurunda 7 log kob/g olacak şekildedir. Enkapsül formda starter kültür içeren sucuk formülasyonunda enkapsülasyon başarısına göre gerekli hesaplamalar yapılmış, eşdeğer miktarda starter kültür içeren enkapsüllerden ilave edilmiştir. Hazırlanan sucuk hamurları steril 50 kg polietilen torbalarda $4\pm 2^\circ\text{C}$ ' de 24 saat ön fermentasyona bırakılmıştır. Ön fermentasyonun ardından 5 mm çapında aynanın kullanıldığı kıyma makinasından geçirilen sucuk hamurları hazırlık sırası takip edilerek dolum makinasına alınmıştır. Doğal bağırsak kılıflarına yaklaşık 200 gr olacak şekilde dolum yapılmış ve el ile kangal şekli verilerek uç kısımlarından bağlanmıştır. Her bir grup için yaklaşık 50 adet kangal sucuk askıya alınmış ve dolum esnasında dolum makinasından kaynaklanan havayı almak amacıyla iğneleme yapılmıştır. Hazırlanan sucuklar 18°C 'de 24 saat askılarda dinlendirilmiştir. Dinlendirme işleminin ardından elde edilen sucuklar eşit sayıda (25 adet) kangal içerecek şekilde iki alt gruba ayrılmış, bunlardan birisi işletmede ısıtım işlem uygulaması için ayrılmış, diğeri ise fermentasyon uygulaması amacıyla İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne transfer edilmiştir.

İşletmede bulunan ısıtım kabini içinde yaklaşık 20 dk süresince merkez sıcaklık derecesi 70°C olacak şekilde ısıtım uygulanmıştır.

Üretilen sucuklar laboratuvara getirilerek sıcaklık ve bağıl nem kontrollü iklimlendirme kabini içinde fermentasyonun gerçekleşmesi sağlanmıştır. Fermentasyon aşamasında sıcaklık ve bağıl nem ilk 3 gün 24±1°C ve %90 ±2, 4-7 gün 22±1°C ve %85±2 ve 7-14 gün 18±1°C ve %80±2 olacak şekilde ayarlanmıştır.

Elde edilen sucuk örneklerinin üretim ve depolama süreci boyunca belirli zaman aralıklarında analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla dinlendirme aşamasını tamamlayan sucuk örnekleri fermentasyon ve ısıtım uygulamasına alınmadan önce (0. gün) analizleri gerçekleştirilmiştir. Isıtım etkisini tespit etmek amacıyla sadece mikrobiyoloji ve uçucu analizleri ısıtımın henüz ardından gerçekleştirilmiş ve 0. gün analiz sonuçları olarak sunulmuştur. Depolama süresinin örnekler üzerinde etkisini tespit etmek için depolama periyodunun 14, 30 ve 45. günlerinde örnek analizleri gerçekleştirilmiştir. Sucuk örnekleri analiz edilinceye kadar 4°C'de depolanmıştır [122].



Şekil 3.1. Sucuk üretim akış şeması

3.4. Örnek alma

Sucuk üretimi ve depolama periyodu süresince gerçekleştirilen analizler için her bir sucuk grubundan rast gele olacak şekilde 3 kangal seçilmiştir. İlk olarak mikrobiyolojik analizler için örnek alınmış, ardından kalan örneklerin kılıfları soyulmuş, küçük parçalara doğranmış ve parçalayıcı (Beko, BKK, 2166, İstanbul A.Ş.) yardımı ile homojen hale getirilmiştir. Her bir sucuk grubu için hazırlanan homojen sucuk örnekleri nem, a_w , kül, yağ, protein miktarı, pH, titrasyon asitliği, lipid oksidasyonu (TBA), kalıntı nitrit miktarı, uçucu ve biyojen amin analizlerinde kullanılmıştır. Analizler için uygun kaplara tartımı alınan örnekler analiz edilinceye kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir. Aksi belirtilmediği sürece iki tekerrür ve üç paralel seviyesinde analizler gerçekleştirilmiştir.

3.5. Analizler

3.5.1. Nem miktarı ve su aktivitesi (a_w)

Nem miktarı AOAC’da belirtildiği şekilde yapılmıştır [123]. Yaklaşık 5 g örnek daha önce 105°C’de kurutulmuş ve darası alınmış kaplara tartıldıktan sonra 105°C’deki etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Nem miktarı ağırlık kaybından % olarak hesaplanmıştır.

Su aktivitesi deneyleri su aktivitesi tayin cihazı (Labtouch- a_w model (Novasina AG, Lachen, İsviçre) kullanılarak 20°C’de gerçekleştirilmiştir. Ölçüm kaplarına yaklaşık 1.5-2 g örnek yerleştirilerek ölçüm yapılmıştır [124] .

3.5.2. Kül miktarı

AOAC’de belirtildiği gibi yapılmıştır [123]. Yaklaşık 3 g örnek daha önce kurutulup, soğutulan ve darası alınan porselen krozeeye tartılmış ve kademeli olarak 550 °C’de yakılmıştır. Kül miktarı % olarak hesaplanmıştır.

3.5.3. Yağ miktarı

AOAC’de belirtildiği gibi yapılmıştır [123]. Et ve sucuk örneklerinin yağ miktarı Soxhelet metoduyla % olarak belirlenmiştir. Çözücü olarak petrol eteri kullanılmıştır.

3.5.4. Protein miktarı

Örneklerin % azot miktarı Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir [125], kısaca örneklerin katalizör eşliğinde H₂SO₄ ile 400°C'de yaklaşık 3 saat yakma işlemi gerçekleştirilmiş, ardından NaOH ile nötralize edilmiştir. Borik asit (%4) ile distile edilen örneklerin titrasyonunda HCl kullanılmıştır. Tespit edilen azot miktarı 6.25 faktörü ile çarpılarak % protein miktarı hesaplanmıştır.

3.5.5. pH ve titrasyon asitliği

Sucuk örneklerinden 10 g tartılıp üzerine 90 mL deiyonize su ilave edilerek homojenize edilmiş ve pH değerleri pH metre (Mettler-Toledo, S220, İsviçre) yardımı ile ölçülmüştür [126].

pH değeri belirlenen örneklerin pH'sı 8.3'e ulaşana kadar 0.1 N NaOH ile titre edilmiş ve harcanan miktarlar aşağıda belirtilen formülde kullanılarak laktik asit cinsinden % titrasyon asitliği değeri ölçülmüştür [126].

$$\% \text{Asitlik} = V \times N \times 0.09 \times 100 / m$$

Burada:

V= Titrasyonda harcanan 0.1 N NaOH miktarı (mL)

N= Titrasyonda kullanılan NaOH çözeltisinin tam normalitesi

m= Örnek miktarı (g)

3.5.6. Lipit oksidasyonunun (TBA) belirlenmesi

Lipit oksidasyon deneyleri Bozkurt ve Erkmen'nın belirttiği şekilde yapılmıştır [24]. Malonaldehit (MDA) oluşumu 2-tiyobarbütirik asit (TBA) oluşumu ile takip edilmiştir. Bu amaçla 5 g sucuk örneği 25 mL tiyobarbutirik asit reaktif çözeltisi (TBARS) ile (0.772 mL HCl, 0.375 g TBA reaktifi ve 15 g TCA 100 mL su içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır) homojenize edilmiş ve örnekler kaynayan su banyosunda 10 dk bekletilmiştir. Testin devamında örnekler soğuk su ve buz yardımı ile hızla soğutulmuş ve 4500 rpm de 25 dk santrifüj edilerek berrak kısım spektrofotometre küvetlerine alınmış, 532 nm'de köre karşı absorbans okumaları yapılmıştır [24]. Çalışmada kalibrasyon eğrisi 1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP) ile hazırlanmıştır. Bu amaçla 100 µL TEP 10 mL etanolde çözülmüş ardından 100 mL balonjojenin hacmi saf su yardımı ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan ara

stoktan 100 mL’lik balonjojeye 1 mL alınmış ve son hacim saf su ile 100 mL’ye tamamlanmıştır. Böylece TEP 10.000 kat seyreltilmiştir.

Son seyreltiden 25, 50, 75, 150, 200, 300 ve 400 µL alınmış ve saf su yardımı ile deney tüplerinin son hacmi 1 mL tamamlanmıştır. Hazırlanan standart seyreltilerine 5 mL TBARS çözeltisi ilave edilmiş ve örnekler ile aynı anda ve eşit süre kaynayan su banyosunda bekletilmiş ardından buzlu su ile soğutulmuş ve 532 nm’de köre karşı absorbans okuması gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda standardın kullanımı ile hazırlanan standart kurveden elde edilen kalibrasyon denklemi ($Y = 0.4891x + 0.1892$ ve $R^2 0.9992$) ve uygulanan seyrelti katsayıları ile hesaplamalar yapılmış ve TBA değeri mg MDA/ kg örnek olarak ifade edilmiştir.

3.5.7. Kalıntı nitrit miktarı

Kalıntı nitrit miktarı Gençcelep vd. [100] tarafından belirtilen spektrofotometrik yöntemde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Bu amaçla 10 g sucuk örneği 10 mL doymuş borax çözeltisi (5 g boraks 100 mL ılık suda çözülerek hazırlanmıştır) ve 100 mL sıcak saf su ile homojenize edilmiş, homojenizatör 50 mL su ile yıkanmış ve karışıma eklenmiştir. Kaynayan su banyosunda 15 dakika tutulan ve ardından soğutulan karışıma 2 mL Carrez I, 2 mL Carrez II çözeltileri ve 50 mL saf su eklenmiştir. Hazırlanan karışım filtre kağıdı yardımı ile süzülerek 250 mL’lik balon jojeye alınmış ve saf su ile hacim 250 mL’ye tamamlanmıştır. Kalıntı nitrit miktarını belirlemek amacı ile hazırlanan ekstraktan 5 mL alınmış ve üzerine de 5 mL griess çözeltisi (1/1 oranında) ilave edilmiştir. Yaklaşık 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildikten sonra karışımların absorbansları köre karşı 540 nm’de okunmuştur.

Standart kurveyi hazırlamak amacı ile sodyum nitritten 0.1 g/ 100 mL olacak şekilde ilk stok hazırlanmış ve bundan ara seyreltmeler yapılmıştır. Bu amaçla stoktan 1 mL alınıp hacim saf su ile 100 mL’ye tamamlanmıştır. Hazırlanan son ara stoktan deney tüplerine 62, 125, 250, 500 µL, 1 ve 2 mL alınmış ve son hacim 2.5 mL olacak şekilde saf su eklenmiştir. Kör deney için 2.5 mL saf su içeren deney tüpü hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin üzerine 2.5 mL griess çözeltisi (1/1 oranında) ilave edilmiş ve yaklaşık 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildikten sonra karışımların absorbansları köre karşı 540 nm’de okunmuştur.

Farklı nitrit konsantrasyonlara karşı absorpsanlar grafiğe geçirilmiş ve kalibrasyon eğrisi denklemi elde edilmiştir.

Örneklerin nitrit miktarı (ppm NaNO_2 olarak) örnek miktarı, seyreltme faktörü, standart eğriden elde edilen kalibrasyon denklemi ($Y = 0.4273x + 0.1045$ ve $R^2 = 0.9999$) ve okunan absorpsan değeri dikkate alınarak hesaplanmıştır. Test sonucu mg Nitrit/kg örnek olarak verilmiştir.

3.5.8. Renk ölçümü

Sucuk renginin hava oksijeni ve ışıktan etkilenmemesi için renk ölçümlerinden hemen önce sucuklar kalınlıkları yaklaşık 5 mm olacak şekilde dilimlenmiştir. Renk ölçümü için Minolta renk ölçer cihazı (Model CR-5, Konica Minolta, Osaka, Japonya) kullanılmış ve Hunter L^* (açıklık-koyuluk), a^* (kırmızılık) ve b^* (sarılık) değerleri saptanmıştır. Ölçümler aynı dilim üzerine farklı 10 nokta üzerinden yapılarak ortalama sonuçlar verilmiştir [16].

3.5.8. Mikrobiyolojik analiz

Tüm sucuk örneklerinin (A1, A2, B1, B2, C1, C2; bakınız Çizelge 3.3) mikrobiyolojik değerlendirmesi için; 25 g sucuk örneği içerisinde 225 mL steril peptonlu su (%0.1) bulunduran steril polietilen poşete tartılarak homojen bir görüntü oluşması için elle çalkalanmıştır. Steril peptonlu su bulunduran tüpler kullanılarak seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. İlgili mikroorganizma kolonilerinin sayımı için birer mL örnek alınmış, yayma yöntemi ile üç paralelli ekim yapılmıştır. Analiz edilen mikroorganizmanın özelliği temelinde inkübasyon süresinin ardından alınan sayım sonuçları dilüsyon faktörleri ve üç paralelli ekimin ortalaması kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir.

Laktik asit bakterileri sayımı için MRS agar kullanılmış, çift tabaka dökme ekim yapılmıştır. LAB sayısı için 30°C’de 2-4 gün inkübasyon süresinin ardından tipik koloniler sayılmış ve katalaz testi ve gram boyama yapılarak doğrulanmıştır.

Mikrokok-Stafilokok için BPA, (yumurta sarısı tellurit emülsiyonu katkısı ile hazırlanmış), agara dilüsyonlardan yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Mikrokok-Stafilokok için 37°C’de 48 saat inkübasyon süresinin ardından tipik koloniler sayılmış, katalaz testi ve Gram boyama testi ile doğrulanmıştır [7].

Toplam aerofil mezofil bakteri sayımı için PCA kullanılmış, ekimi yapılan petri kutuları 37°C’de 72 saat inkübasyon süresinin ardından mikroorganizma sayıları belirlenmiştir [7].

Maya ve küf sayısını belirlemek amacıyla PDA (standart antibiyotik olarak tetrasiklin içeren) kullanılmıştır. Ekim işleminin ardından petriler 25°C’de 2-7 gün inkübe edildikten sonra koloni sayısı belirlenmiştir [7].

Koliform grubundan bakteri sayısını belirlemek amacı ile steril polietilen poşette yapılan ilk dilüsyonun ardından durham tüpü bulunduran steril LST tüplerinde seyreltmeler yapılarak 37°C’de 48 saat inkübasyonun ardından gaz oluşumunun gözlemlendiği test tüpleri EMB agara yayma plak yöntemi ile ekim yapılmış ve plakalar 37°C’de 48 saat inkübasyonun ardından değerlendirilmiştir. Metalik parlak yeşil renkli koloniler tipik *E. coli* olarak kabul edilmektedir. Analizler 3 paralelli yapılarak ortalama değer alınmış analiz sonuçları log kob/g olarak ifade edilmiştir [95].

Enkapsül formda kültür içeren sucuk örneklerindeki (C1 ve C2) enkapsül formda canlı starter kültür hücre sayısını belirlemek amacı ile %2 amilaz içeren 90 mL steril PBS içerisine 10 g sucuk örneği tartılmış 30 dk süresince belirli aralıklarda karıştırılmıştır. Sürenin sonunda steril peptonlu su bulunduran tüpler kullanılarak ileri seri dilüsyonlar hazırlanmış, enkapsül ve serbest formda bulunan toplam canlı hücre sayıları belirlenmiştir. LAB sayısının belirlenmesi amacıyla MRS agara (analiz anaerob koşullarda gerçekleştirilmiştir) ve Mikrokok-Stafilokok için BPA’a hazırlanan dilüsyonlardan yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Uygun inkübasyon süresinin ardından koloni sayısı belirlenmiştir [118, 119].

3.5.9. GC/MS ile uçucu bileşiklerin belirlenmesi

Uçucu bileşiklerin belirlenmesinde Katı Faz Mikroekstraksiyon-Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometre (SPME-GC/MS) tekniği kullanılmıştır [127]. Analiz için 5 g örnek 15 mL’lik headspace şişesine tartılmış 30 dk, 45°C’de ısıtıcı termoblok üzerinde bekletilerek uçucu bileşiklerin tepe boşluğuna geçmesi sağlanmıştır. Tepe boşluğundaki uçucu bileşiklerin SPME fiberine (75 µm, carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS)) adsorpsiyonu için 45°C’de 2 saat bekletilmiştir. Uygulanan adsorbsiyon süre ve sıcaklık değerleri yapılan ön denemelerle belirlenmiştir.

Süre sonunda uçucu bileşenlerinin fiberden GC/MS sistemine transferi için fiber hızlı bir şekilde GC'nin enjeksiyon bloğuna daldırılmış ve 250°C'de 3 dk desorpsiyon sağlanmıştır. Uçucu bileşiklerin belirlenmesinde GC (Shimadzu GC-2010) sistemi ve buna bağlı MS (Shimadzu QP-2010) dedektörü kullanılmıştır. Kromatografik ayırımın sağlanması için DB-WAX kapiler kolon (60 m x 0.25 mm x 0.25 µm, J&W Scientific, Falsom, CA, USA) kullanılmıştır. Uygulanan fırın sıcaklık programı; başlangıçta 40°C'de 2 dk tutulmuş ve 5°C/dk artış hızıyla sıcaklık 70°C'ye yükseltilerek bu sıcaklıkta 1 dk tutulmuştur. Daha sonra sıcaklık 10°C/dk artışla 240°C'ye çıkarılmış ve burada 30 dk tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/dk akış hızında He gazı kullanılmıştır. Kütle spektrometresi 33–450 amu arası set edilmiş (eşik değeri 1000) ve örnekleme hızı dakikada 1.11 tarama olarak ayarlanmıştır.

Ayrımı gerçekleştirilen uçucu bileşiklerin tanımlanmasında Wiley, National Institute of Standards and Technology (NIST) kütüphaneleri ve her bir pikin alıkonma zamanları ile hidrokarbon standardının alıkonma zamanları kullanılarak hesaplanan "Retention Index" (RI) değerleri referans alınmıştır. Her örnek iki kez analiz edilmiş ve saptanan ortalama pik alanları örnek miktarına ve 10^6 'ya bölünerek gram örnek miktarı üzerinden sonuç ifade edilmiştir.

3.5.9. Biyojen amin analizi

Sucuklarda kalitatif ve kantitatif biyojen amin analizleri ters faz yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir [30]. Analiz öncesinde biyojen aminlerin ekstraksiyonu Kurt ve Zorba [30] ve Genççelep [100] tarafından önerilen yöntemde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Test tüplerine tartılan 4 g örnek üzerine 10 mL %70'lik perklorik asit solüsyonu (0.4 mol/L) eklenerek homojenize edilmiş, 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş, üst kısım 25 mL'lik balona alınmıştır. Ekstraksiyon işlemi bir kez daha tekrar edilerek ekstraktlar balona alınmış ve hacim perklorik asit çözeltisi ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen ekstrakt HPLC'ye verilmeden önce türevlendirilmiştir. Bu amaçla; 1 mL ekstrakt üzerine 200 µL (2 mol/L) NaOH solüsyonu ilave edilerek pH ayarlanmış ve 300 µL doymuş sodyum bikarbonat (8.5 g NaHCO₃ 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır) tampon olarak eklenmiştir. Hazırlanan örnek üzerine 1 mL dansil klorit solüsyonu (10 mg/mL aseton) eklenmiş ve 40°C'de 45 dk inkübasyona bırakılmıştır. Kalıntı dansil kloriti uzaklaştırmak amacıyla 100 µL amonyak (%25) eklenmiş ve 30

dk dinlendirme süresinin ardından dansile edilmiş ekstrakt (0.1 mol/L) amonyum asetat/asetonitril (1:1) kullanılarak 5 mL'ye tamamlanmış ve 2500 rpm 5 dk santrifüj edilmiş, ardından 0.45 µm şırınga enjektörlerden geçirilerek HPLC vialine alınmıştır [30, 100].

Analizlerde, LC-20AR model gradient pompa, SIL-20A HT model autosampler, DGU2A 5R model degassing ünitesi, CTO-10AS VP model kolon fırını ve SPD-M20A model DAD (Diode Array Dedector) dedektörden oluşan Shimadzu HPLC sistemi kullanılmıştır. Kromatografik ayırmda Spherisorb ODS-2 (5µm, 4,6X250 mm; Waters, Waters Corporation, Milford MA U.S.A.) kolonu kullanılmıştır. Mobil faz olarak Asetonitril (A) ve 0.1 M amonyum asetat (B) kullanılmıştır. Separasyonda gradient elusyon uygulanmış, program % 50 B ile başlamış ve 25. dakikada %90 B ile tamamlanmıştır. Kolon sıcaklığı 25 °C, enjeksiyon hacmi 20µL, mobil faz akış hızı 1mL/dk olarak ayarlanmış, ölçümler 254 nm dalga boyunda DAD dedektör kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Kalibrasyon eğrisi oluşturmak amacıyla altı farklı biyojen amin standardı (tiramin, histamin, putresin, spermin, spermidin ve kadaverin) kullanılmıştır. Standartların hazırlanmasında ana stok için her bir standarttan 50 mg alınmış ve 5 mL perklorik asit kullanılarak çözülmüştür. Örnek türevlendirmede prosedürü uygulanarak türevlendirilen her bir standarttan seyreltme yolu ile 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 ve 400 µg/mL konsantrasyonları hazırlanmıştır.

Biyojen amin miktarları başlangıç (0), 14, 30 ve 45. gün depolanan örneklerde belirlenmiş ve sonuçlar iki tekerrür ve her bir tekerrürde 3 paralel olmak üzere 6 analizin ortalaması olarak değerlendirilmiştir.

Örneklerin biyojen amin miktarları örnek miktarı, seyreltme faktörü ve standart eğriden elde edilen kalibrasyon denklemi ($Y=3.25024e^{-005}x+2.6893$ ve $R^2=0.9996055$) dikkate alınarak hesaplanmıştır. Test sonucu mg/kg kuru madde (KM) örnek olarak verilmiştir.

3.5.10. Tekstür profil anilizi

Sucuk örneklerinin tekstürel profili Texture Analyzer Model LF Plus (Lloyd Instruments LTD., Hampshre, UK) cihazı ile belirlenmiştir. Test için oda sıcaklığında bulunan örnekler kullanılmış ve 1cm yüksekliğinde silindir şeklinde kesilen örnekler

depolama aşamalarının 14, 30 ve 45. günlerinde analiz edilmiştir. Alüminyum silindir prob (25 mm çapında) kullanılarak gerçekleştirilen analizin koşulları; hızı 1mm/s, test öncesi hız 2 m/s; test sonrası hız 1 mm/s; basınç %25, tutma zamanı 5 saniyedir [16]. Sucuk analizden elde edilen verilerin hesaplanmasında Nexygen™ FM Software kullanılmış, hardness (sertlik, N), springiness (elastikiyet, mm), gumming (yapışkanlık N), chewiness (çiğnenebilirlik) değerleri tespit edilmiştir. Tüm sucuk örneklerinin tesktürel profil değişimi her tekerrürde 5 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.11. Duyusal analiz

Sucuk örneklerinin duyusal analizleri 7 panelist ile depolamanın 14., 30. ve 45. günlerinde gerçekleştirilmiştir. Panelistler değerlendirme öncesinde sucukların test edilecek kalite karakteristikleri bakımından bilgilendirilmiştir. Duyusal analiz panelinde Erkmen vd. [128] tarafından uygulanan metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Çiğ ve pişmiş sucuklar ayrı ayrı duyusal değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Panelistler çiğ sucuk örneklerinde renk, koku, kesit yüzey görünümü ve genel kabul edilebilirlik bakımından değerlendirme yapmışlardır. Değerlendirme öncesinde sucuklar 1cm kalınlığında kesilmiş ve 30 dk oda sıcaklığında, hava geçirmez kaplarda bekletilmiştir. Değerlendirmeler arasında etkileşim olmaması amacıyla panelistlere su ve tuzsuz kraker verilmiştir. Değerlendirme 1'den 10'a kadar numaralandırılan beğeni skalasını kullanarak gerçekleştirilmiştir (EK 1). Pişmiş sucuk örnekleri yağsız tavada pişirilerek panele hazırlanmıştır. Pişirme işlemi testten hemen önce yapılmış hazırlanan sucuklar bekletilmeden panelistlere sunulmuştur. Pişmiş sucuk örneklerinde tat ve uçucu, koku ve tekstür karakteristikleri bakımından değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirme 1'den 10'a kadar numaralandırılan beğeni skalasını kullanarak gerçekleştirilmiştir (EK 2).

3.5.12. İstatistiksel analizler

Denemede üretim yöntemi (ÜY) başlığı altında fermentasyon ve ısıl işlem koşulları, depolama süresi (DS) başlığı altında 4°C'de, 45 gün devam eden depolama periyodu ve örnek formülasyonu (ÖF) başlığı altında üretimde starter kültür kullanımı ve kullanım formu (serbest ve enkapsül) varyasyon kaynakları olarak uygulanmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi SPSS paket programı (version, 16.0) aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Sucuk örneklerine uygulanan farklı işlemlerin etkisi sonucunda analiz verilerindeki farklılığın belirlenmesi için varyans

analiz (ANOVA) irdelenmiştir. Örnek gruplar arası farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $P<0.05$ önem düzeyinde test edilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Tez çalışması iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada farklı yapılarda enkapsüllerin üretimi iki farklı starter kültür (*S. xylosus* ve *L. plantarum*), farklı kabuk materyalleri ve oranları kullanılarak gerçekleştirilmiş, elde edilen enkapsüllerin etkinlik sonuçları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Canlı hücre sayısı bakımından öne çıkan gruplar belirlenmiş ve bu grupların SEM görüntüleri ve salınım özellikleri belirlenmiştir. Karakterizasyonu tamamlanan enkapsül gruplarından karar verilen formülasyon sucuk üretiminde kullanılmak üzere üretilmiş ve 4°C’de saklanmıştır. Böylece tez çalışmasının ilk aşaması yapılan testler ile tamamlanmıştır.

Tez çalışmasının ikinci aşamasında, farklı formülasyonlarda sucuk üretimi, farklı koşullarda olgunlaştırılması ve belirlenen depolama süresinde bazı kalite kriterlerindeki değişikliklerin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda enkapsül ve serbest formda starter kültürler ilave edilerek ve starter kültür kullanılmadan üretilen sucuk grupları iki farklı üretim yöntemine (fermentasyon- olgunlaştırma ve ısıtma işlemi) tabi tutulmuştur. Starter kültür formunun ve olgunlaştırma basamağındaki farklılığın sucuğun nem ve a_w , kül, yağ, protein, pH ve titrasyon asitliği, lipid oksidasyonu, kalıntı nitrit miktarı, renk, mikrobiyolojik kalitesi, uçucu profili, biyojen amin çeşit ve miktarı, tekstürel özellikleri ve duyu özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

4.1. Enkapsül Üretim ve Karakterizasyonu

4.1.1. Aljinat-Nişasta enkapsüllerinin etkinlik değerleri

Farklı konsantrasyonlarda kabuk materyalleri kullanılarak iki farklı bakterinin enkapsülasyon işlemi sonrasında etkinlik değerleri incelenmiş, etkinlik test sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Etkinlik sonuçlarına göre starter kültürlerin farklı kabuk konsantrasyonlarında farklı oranlarda canlı hücre sayısına (etkinlik) sahip olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.1. İki farklı starter kültürün farklı konsantrasyonlardaki aljinat-nişasta enkapsüllerinin etkinlik test sonuçları

	Başlangıç canlı hücre sayısı (log kob/mL)	Kabuk materyal (%)		Enkapsülasyon sonrası canlı hücre sayısı (log kob/mL)	Enkapsülasyon etkinliği (%)
		Sodyum aljinat	Nişasta		
<i>S. xylosus</i>	11.92	0.5	0	6.04	50.27±2.37
		1	0	4.14	33.24±4.31
		3	0	0	0
		0.5	0.5	10.61	89.01±0.30
		1	1	10.07	84.59±1.17
		2	2	10.76	90.26±0.38
		3	3	0	0
<i>L. plantarum</i>	11.50	0.5	0	4.07	33.18±3.49
		1	0	2.04	17.94±2.86
		3	0	0	0
		0.5	0.5	10.85	98.12±0.61
		1	1	9.95	90.45±0.39
		2	2	9.32	84.31±0.58
		3	3	0	0

S. xylosus için denenen farklı enkapsül bileşimlerinin tamamında canlı hücre sayısında yaklaşık 1 log birim azalmanın olduğu saptanmıştır. Farklı kabuk konsantrasyonlarının etkinlik değerleri birbirine yakın olmasına rağmen *S. xylosus* için en yüksek canlı hücre sayısı %2 aljinat-%2 nişasta konsantrasyonunda elde edilmiştir. *L. plantarum* için bu durumdan farklı olarak %0.5 aljinat-%0.5 nişasta konsantrasyonu dışındaki oranlarda canlı hücre sayısında 1 log dan daha yüksek kayıpların olduğu görülmüştür.

4.1.2. Pektin-nişasta enkapsüllerinin etkinlik değerleri

Farklı konsantrasyonlarda kabuk materyalleri kullanılarak iki farklı bakterinin enkapsülasyon işlemi ardından belirlenen etkinlik sonuçları karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve etkinlik test sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Aljinat-nişasta sonuçlarına benzer şekilde konsantrasyon artışı ile etkinlik arasındaki negatif doğrusal ilişki pektin-nişasta için de gözlemlenmiş, starter kültürlerin farklı kabuk konsantrasyonlarında farklı oranlarda canlı hücre sayısına (etkinlik) sahip olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.2. Starter kültürlerin farklı konsantrasyonlardaki pektin-nişasta enkapsüllerinin etkinlik test sonuçları

	Başlangıç canlı hücre sayısı (log kob/mL)	Kabuk materyal (%)		Enkapsülasyon sonrası canlı hücre sayısı (log kob/mL)	Enkapsülasyon etkinliği (%)
		Pektin	Nişasta		
<i>S. xylosus</i>	11.83	0.5	0	4.36	36.91±0.49
		1	0	3.23	27.30±0.44
		3	0	0	0
		0.5	0.5	7.72	65.31±0.29
		1	1	7.26	61.36±0.89
		2	2	0	0
		3	3	0	0
<i>L. plantarum</i>	11.64	0.5	0	4.35	37.39±0.79
		1	0	3.21	27.60±2.86
		3	0	0	0
		0.5	0.5	7.93	68.12±0.08
		1	1	7.75	57.87±5.50
		2	2	0	0
		3	3	0	0

Çizelge 4.2 incelendiğinde her iki starter kültür için test edilen tüm konsantrasyonlarda etkinlik değerlerinin çok düşük olduğu görülmektedir. Denenen %2 ve %3 oranlarında pektin-nişasta kabuk materyalinin enkapsülasyon prosesinde başarısız olduğu ve hücrelerin canlılığını koruyamadığı belirlenmiştir. Serbest hücre sayısına kıyasla %0.5 ve %1 oranlarında ise tutulan hücre sayısında oldukça büyük bir düşüş (yaklaşık 4 log birim) olduğu saptanmıştır.

Enkapsülasyon denemeleri en yüksek etkinlik değerini sağlayacak kabuk materyal çeşidi ve oranının saptanması amacıyla yapılmıştır. Bu bakımdan, canlı hücre sayısında en düşük azalmanın elde edildiği kabuk çeşidi ve konsantrasyonu tez çalışmasının devam eden kısımlarında bakterilerin enkapsülasyonunda tercih edilen oranlar olarak kabul edilmiştir. *S. xylosus* için %2 aljinat-%2 nişasta konsantrasyonun ve *L. plantarum* için %0.5 aljinat-%0.5 nişasta konsantrasyonun söz konusu kriteri sağladığı belirlenmiştir. Her iki mikroorganizmanın enkapsülasyon prosesinde yukarıda belirtilen oranlarda kabuk materyal kullanımı ile yaklaşık 1 log birim azalma ile enkapsül üretimini gerçekleştirdiği saptanmıştır.

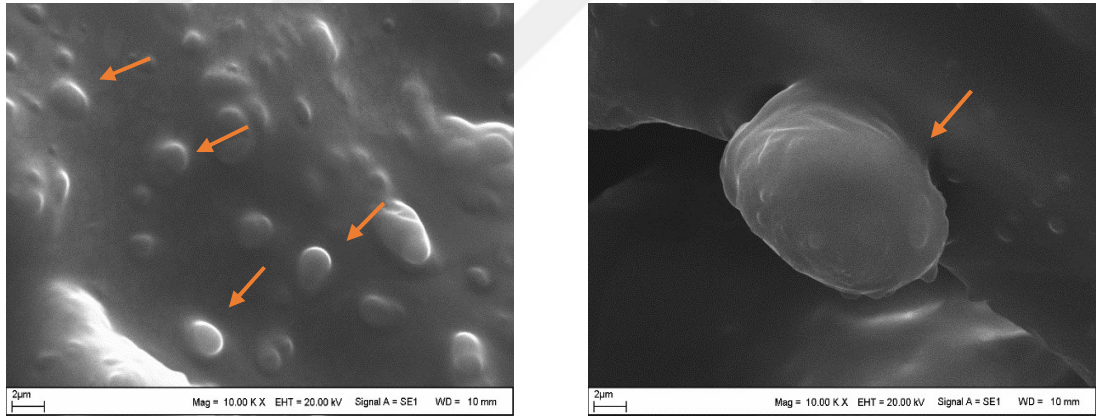
Enkapsülasyon başarısı pek çok faktörün etkisi altındadır. Söz konusu faktörlerin arasında kalsiyum aljinat konsantrasyonu, kapsüllenecek bakteri konsantrasyonu, enkapsül boyutu, kalsiyum kloritin sertleşme zamanı ve kullanılan kombinasyon karakteri yer almaktadır [129]. Enkapsülasyon üretim prosesi süresince merkez materyal olan bakterilerin mümkün olan en yüksek sayıda canlılığını

koruyarak kabuk materyaline tutunması enkapsülasyon prosesleri için oldukça önemlidir.

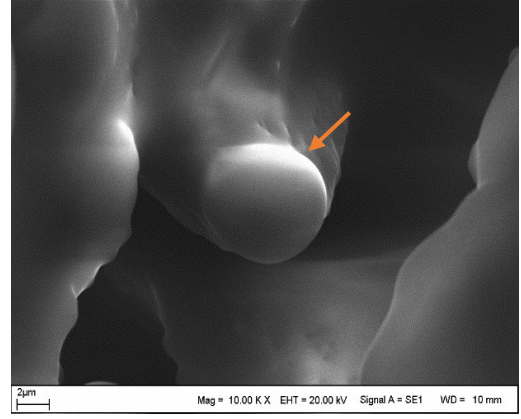
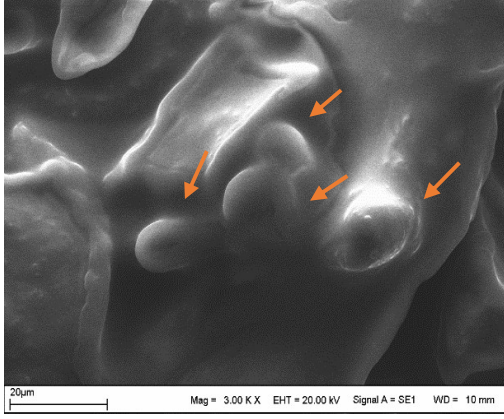
Literatürde tek başına ya da kombinasyon olarak kullanılan kabuk materyallerinin karakteristik özelliklerine, enkapsüle edilecek mikroorganizma tür ve çeşidine bağlı olarak üretim prosesinde kullanılan mikroorganizma sayısında 0.28-7.01 log arasında farklılık gösteren oranlarda azalma gerçekleşebileceği belirtilmiştir [21, 107, 130]. Çalışmada kabuk materyal formülasyonları arasında 1 log birim azalmanın yaşandığı konsantrasyon en başarılı oran olarak tespit edilmiştir.

4.1.3. Morfolojik yapılar

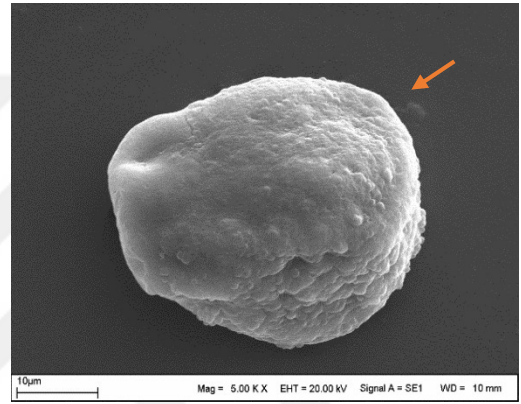
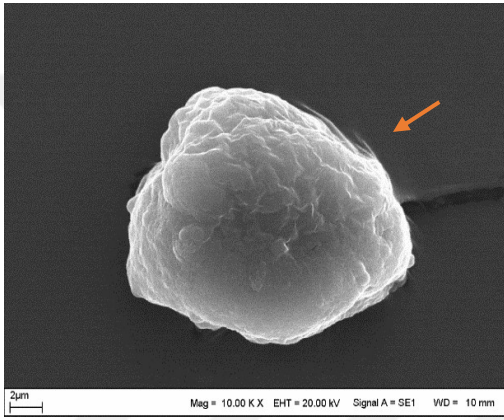
Sucuk üretiminde kullanılacak kabuk materyali olarak aljinat-nişasta karışımı seçildikten sonra, söz konusu kabuk materyali ile starter kültürlerin enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen enkapsüllerin ıslak ve kuru formda SEM görüntüleri elde edilmiştir. Kuru formdaki enkapsüllerin farklı büyütme oranlarındaki görüntüleri Şekil 4.1 ve 4.2’de, kurutma öncesi görüntüler ise Şekil 4.3-4.4’te verilmiştir.



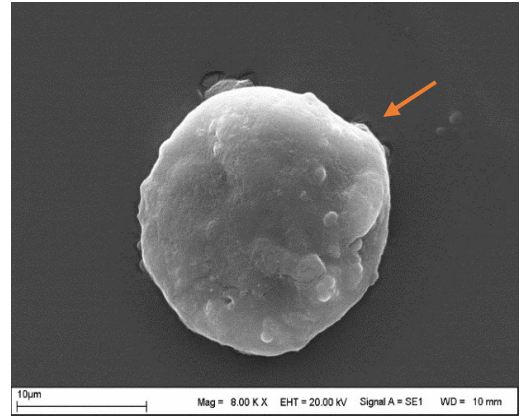
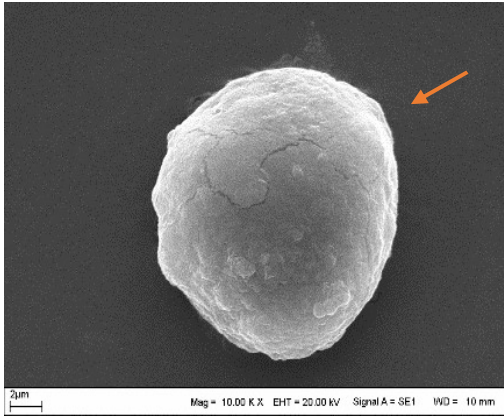
Şekil 4.1. *L. plantarum* için kuru enkapsüllerin SEM görüntüsü



Şekil 4.2. *S. xylosus* için kuru enkapsüllerin SEM görüntüsü



Şekil 4.3. Kurutmadan önce *L. plantarum* enkapsüllerinin SEM görüntüsü



Şekil 4.4. Kurutmadan önce *S. xylosus* enkapsüllerinin SEM görüntüsü

Hem *L. plantarum* hem de *S. xylosus* için hazırlanan enkapsüllerin dondurularak kurutulmuş formunun (Şekil 4.1, 4.2) SEM görüntülerinde kurutmadan önceki duruma (Şekil 4.3-4.4) göre yapının oldukça farklılaştığı, enkapsüllerin kabuk materyal matriksine yapıştığı görülmektedir. Dondurma ve dondurarak kurutma işlemlerinde düşük sıcaklığın ve suyun uzaklaştırılmasının kabuk materyalde yapısal

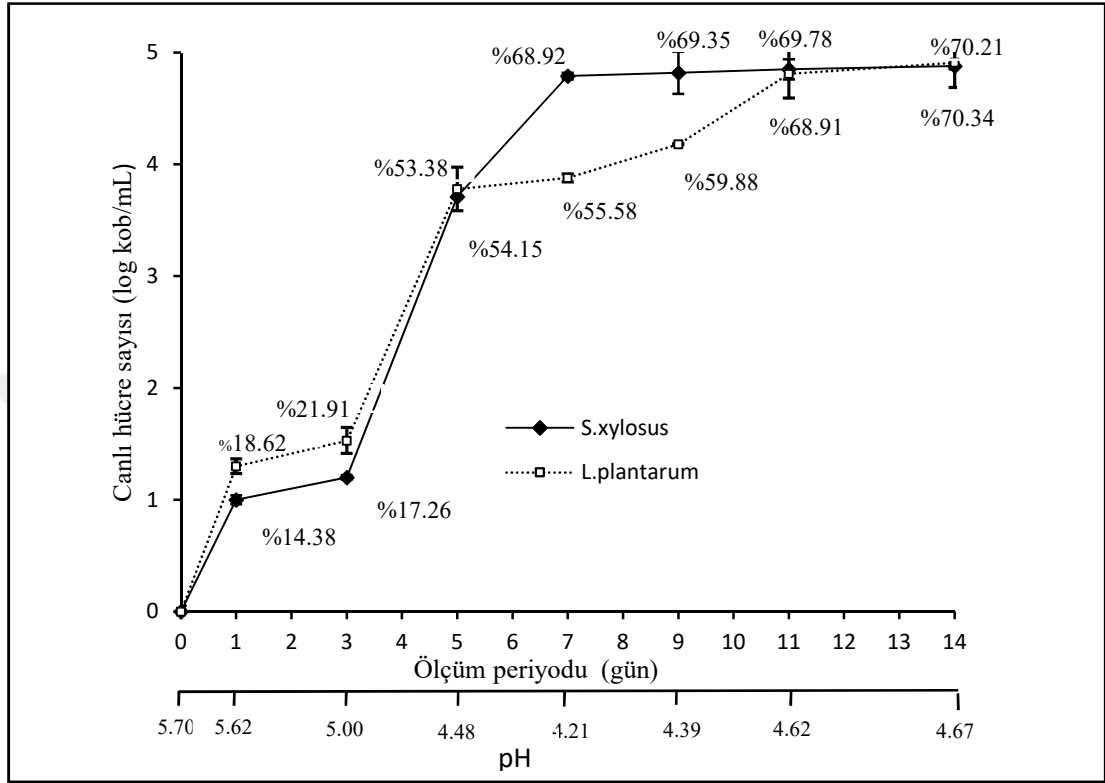
olarak değişikliklere neden olduğu söylenebilir. Dondurma ve kurutma aşamalarında gerçekteşen şekil bozulmaları, sıkışma ve boyut küçülmelerini Allan-Wojtas vd. [131] merkez materyal tutulması (ilaç ya da hücre) ve yaşanan su kaybı ile açıklarken, bir başka yaklaşımda SEM analizi esnasında uygulanan yüksek vakum nedeni ile kapsüllerden suyun evaporasyonu sonucunda yığılmaların gerçekteşebileceği belirtilmiştir [129]. Heidebach vd. [132] probiyotik hücrelerin kazein ile mikroenkapsülasyonu sonucunda dondurarak kurutulan örneklerden alınan SEM görüntülerinde benzer sonuçlar elde edildiğini bildirmiştir. Ayrıca, kabuk materyal olarak silikanın kullanıldığı bir başka enkapsülasyon çalışmasında, yüzey monomerlerinin birbirleri ve kapsül yüzeyindeki sinalol grupları ile yüzeyler arası reaksiyonu sonucunda partiküllerde yapışmaların olduğu bildirilmiştir [129].

Çalışmada kuru formda partiküller ile alınan görüntülerde belirlenen kabuk matriksine yapışmaların literatür ile uyumlu olarak monomer etkileşimleri ve daha yüksek su kaybı faktörlerin etkisi ile gerçekteştiği düşünülmektedir.

Kurutma aşamasından önce alınan görüntüler incelendiğinde, her iki starter kültür için enkapsül varlığı ve mikroyapıların yüzey stabiliteleri gözlemlenmiştir. *L. plantarum* ve *S. xylosus* enkapsüllerinin yüzey morfolojilerinde por boyutunun oldukça küçük olduğu görülmüştür. Söz konusu durumun özellikle aljinat formülasyonu ile yapılan çalışmalarda da tespit edildiği, por boyutunun konsantrasyona bağlı olarak 1.4-10 nm arasında değişebileceği bildirilmiştir. [107, 133]. Enkapsüllerin şekil yönünden karşılaştırmalı olarak incelenmesinde *L. plantarum* enkapsüllerinin daha düzensiz yapısal oluşumlar sergilemesine rağmen, *S. xylosus* enkapsüllerinin daha düzenli küresel yapıda oluşumlar gösterdiği belirlenmiştir. Her iki mikroorganizmanın enkapsülasyonunda farklı konsantrasyonlarda aljinat ve nişastanın kabuk materyal olarak kullanıldığı göz önüne alındığında; literatür bilgi ve bulguları ile uyumlu olarak [17, 79, 113] kabuk materyal konsantrasyonu artışı sonucunda küresel yapının oluşmaya başladığı ifade edilebilir.

4.1.4. Aljinat-Nişasta enkapsüllerin salınım profili

Sucuk  retiminde kullanılacak starter kültürlerin enkapsül formlarının zamana bağlı salınım profilleri şekil 4.5'te verilmiştir.



şekil 4.5. *S. xylosus* ve *L. plantarum* enkapsüllerin salınım değerleri

Aljinat- nişasta kombinasyonunun farklı oranları kullanılarak gerçekleştirilen enkapsül üretiminin ardından her iki starter kültür için Bölüm 3.2.4'te tanımlanan salınım testi gerçekleştirilmiştir.

S. xylosus'un enkapsülasyon prosesinde %2 aljinat-nişasta formülasyonu kullanılmış ve salınım testinde sucuğun fermentasyonu ve olgunlaştırması sırasında laktik asit birikimine bağlı olarak oluşan pH değerleri uygulanmıştır. *S. xylosus* enkapsül formda sucuk hamurunun gramında 6.99 log kob olacak düzeyde eklenmiştir. Bu oran dikkate alınarak 0. gün salınım test ortamında *L. plantarum* için 6.98 log kob/mL, *S. xylosus* için 6.95 log kob/mL canlı hücre içeren enkapsül miktarı belirlenerek test başlatılmıştır. Zamana bağlı olarak düşen pH değeri ile orantılı bir şekilde enkapsül formdan serbest forma geçen hücrelerin salınımının 1, 5, 9 ve 14. günlerde sırası ile 0, 3.71, 4.82 ve 4.88 log kob/mL olduğu tespit edilmiştir. Salınım ortamında ve sucuk içerisinde 14. gün belirlenen salınım miktarı sırasıyla 4.88 log

kob/mL ve 3.60 log kob/g'dır. Diğer bir deyişle; enkapsül formunun salınım testinde ve sucukta salınım oranları 14. gün için sırası ile %70.21 ve %51.50'dir. Salınım ortamında gerçekleşen salınımın sucuktakinden daha hızlı olması; öncelikle sıvı ve katı ortam farkının difüzyon hızına etkisi ve sucuktaki diğer besin öğelerinin tamponlama etkisine bağlanabilir.

L. plantarum enkapsül üretiminde %0.5 aljinat-nişasta formülasyonu kullanılmış ve elde edilen kapsüller 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 ve 14. günlerde *S. xylosus*'un salınım deneyinde olduğu gibi, sucuk ortamı ile aynı pH derecesinin taklit edildiği koşullarda salınım profili bakımından incelenmiştir. Serbest canlı hücre sayısı 1, 5, 9 ve 14. günlerde sırası ile 1, 3.78, 4.18, 4.91 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Salınım testinde ve sucuk ortamında 14. günün sonunda serbest canlı hücre sayısı sırası ile 4.91 log kob/mL ve 4.67 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Yüzde salınım miktarları kıyaslandığında enkapsülden salınımın (%70.34) sucuk ortamından (%66.80) daha yüksek değerlere ulaştığı saptanmıştır. Söz konusu durum sucuk üretiminde kullanılan diğer starter kültür olan *S. xylosus*'da da belirlenmiştir.

4.2. Isıl İşlem Gören/Fermente Sucuk Benzeri Et Ürününün Analizleri

Tez çalışmasının ilk aşamasında enkapsülasyon ve karakterizasyon testleri tamamlanan starter kültürler ikinci aşamada sucuk üretiminde kullanılmıştır. Sucuk üretim yöntemi ve gruplandırmaya ilişkin bilgiler Bölüm 3.3'te tanımlanmıştır.

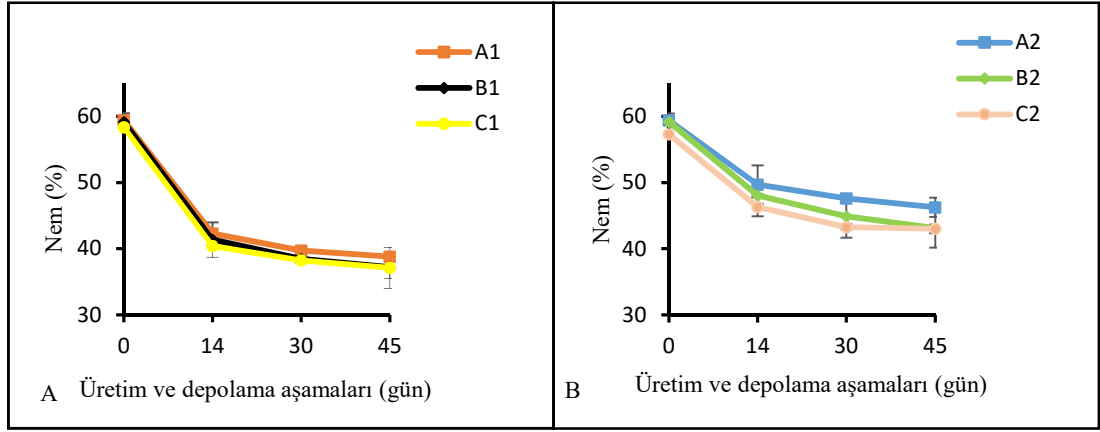
4.2.1. Nem ve su aktivitesi değerleri

Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile üretilen farklı formülasyona sahip sucuk örneklerinin farklı süreçlerdeki nem miktarları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.3. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında fizikokimyasal özellikleri*

Fizikokimyasal Özellikler	Gün	Fermente			Isıl İşlem		
		A1	B1	C1	A2	B2	C2
aw	0	0.905 ±0.004 ^{a,D}	0.900 ±0.001 ^{ab,D}	0.898 ±0.001 ^{a,D}	0.905±0.004 ^{b,C}	0.900±0.001 ^{ab,C}	0.898 ±0.001 ^{a,A}
	14	0.890 ±0.004 ^{c,C}	0.884 ±0.006 ^{bc,C}	0.880 ±0.004 ^{ab,C}	0.879±0.003 ^{ab,B}	0.875 ±0.002 ^{ab,B}	0.873 ±0.002 ^{a,A}
	30	0.879 ±0.002 ^{a,B}	0.867 ±0.001 ^{a,B}	0.865 ±0.004 ^{a,B}	0.875 ±0.002 ^{a,B}	0.873 ±0.001 ^{a,B}	0.866 ±0.009 ^{a,A}
	45	0.842 ±0.004 ^{b,A}	0.833 ±0.004 ^{a,A}	0.831 ±0.003 ^{a,A}	0.857 ±0.002 ^{c,A}	0.856 ±0.002 ^{c,A}	0.855 ±0.002 ^{c,A}
Nem (%)	0	59.46 ±1.02 ^{a,C}	59.20 ±0.55 ^{a,C}	58.38 ±0.89 ^{a,B}	59.46 ±1.02 ^{a,B}	59.20 ±0.54 ^{a,B}	57.33 ±0.05 ^{a,C}
	14	42.28 ±1.70 ^{ab,B}	41.34 ±0.85 ^{a,B}	40.39 ±1.70 ^{a,A}	49.70 ±2.91 ^{c,A}	48.04 ±0.21 ^{c,A}	46.34 ±1.42 ^{bc,B}
	30	39.72 ±0.59 ^{a,AB}	38.48 ±0.64 ^{a,AB}	38.21 ±0.33 ^{a,A}	47.61 ±0.45 ^{c,A}	44.92 ±3.27 ^{bc,A}	43.29 ±0.41 ^{b,A}
	45	38.82 ±0.04 ^{ABa}	37.20 ±1.68 ^{a,A}	37.11 ±3.09 ^{a,A}	46.27 ±1.44 ^{c,A}	43.13 ± 2.95 ^{bc,A}	43.02 ±0.65 ^{bc,A}
Kül (%)	0	3.22±0.13 ^{a,A}	3.23±0.07 ^{a,A}	3.36±0.11 ^{a,A}	3.22±0.03 ^{a,A}	3.23±0.07 ^{a,A}	3.36±0.11 ^{a,A}
	14	3.30±0.14 ^{a,A}	3.38±0.16 ^{a,AB}	3.40±0.32 ^{a,A}	3.36±0.31 ^{a,A}	3.35±0.04 ^{a,AB}	3.35±0.31 ^{a,A}
	30	3.36±0.02 ^{a,A}	3.48±0.06 ^{a,AB}	3.59±0.37 ^{a,A}	3.33±0.01 ^{a,A}	3.39±0.03 ^{a,B}	3.39±0.01 ^{a,A}
	45	3.43±0.05 ^{a,A}	3.61±0.17 ^{cd,B}	3.64±0.03 ^{d,A}	3.14±0.02 ^{a,A}	3.49±0.03 ^{ab,B}	3.49±0.01 ^{bc,A}
Yağ (%)	0	22.63 ±1.19 ^{a,A}	22.38 ±0.01 ^{a,A}	22.42 ±0.41 ^{a,A}	22.63 ±1.19 ^{a,A}	22.38 ±0.01 ^{a,A}	22.42 ±0.41 ^{a,A}
	14	30.30 ±0.29 ^{b,B}	31.43 ±0.06 ^{b,B}	31.60 ±1.56 ^{b,B}	24.21 ±0.44 ^{a,A}	24.45 ±0.30 ^{a,B}	24.85 ±0.31 ^{a,B}
	30	31.06 ±0.81 ^{b,B}	32.54 ±1.67 ^{b,B}	32.61 ±0.46 ^{b,B}	25.42 ±2.40 ^{a,A}	26.00 ±0.09 ^{a,C}	26.17 ±0.28 ^{a,C}
	45	31.31 ±0.75 ^{b,B}	33.01 ±0.74 ^{b,B}	33.19 ±0.80 ^{b,B}	26.05 ±1.06 ^{a,A}	26.52 ±0.43 ^{a,C}	26.56 ±0.50 ^{a,C}
Protein (%)	0	16.91 ±0.22 ^{a,A}	17.08 ±0.13 ^{a,A}	17.12 ±1.19 ^{a,A}	16.91 ±0.22 ^{a,A}	17.08 ±0.13 ^{a,A}	17.12 ±0.25 ^{a,A}
	14	18.71 ±0.17 ^{ab,A}	20.36 ±0.22 ^{ab,B}	20.66 ±2.81 ^{b,AB}	17.06 ±0.27 ^{a,A}	18.11 ±1.38 ^{ab, AB}	18.86 ±0.21 ^{ab,A}
	30	21.21 ±1.54 ^{a,B}	24.52 ±1.40 ^{bc,C}	25.11 ±0.40 ^{c,BC}	20.66 ±0.19 ^{a,B}	21.24 ±2.29 ^{a,BC}	21.46 ±0.21 ^{ab,B}
	45	25.16 ±0.14 ^{bc,C}	26.78 ±0.41 ^{c,D}	26.82 ±0.95 ^{c,C}	22.83 ±1.59 ^{a,C}	24.82 ±1.10 ^{b,C}	24.90 ±0.84 ^{b,C}

* Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satır farklı küçük harflerle (a-c) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıtma işlem, starter kültürsüz; B2: ısıtma işlem, serbest starter kültür, C2: ısıtma işlem, enkapsül starter kültür



Şekil 4.6. Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen nem miktarlarındaki değişim

Fermentasyon ile üretilen sucuk grubunun tüm alt gruplarında üretim ve depolama aşamalarında nem değerinin azaldığı, depolama süresi boyunca örneklerde gerçekleşen değişikliğin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.6-A) ($P < 0.05$). Ayrıca enkapsül formda starter kültür kullanımının örnekler arasında nem değeri bakımından istatistiksel olarak önemli farklılığa neden olduğu gözlenirken ($P < 0.05$); kültür formunun (enkapsül ya da serbest) etkisinin önemli olmayan seviyede olduğu belirlenmiştir ($P > 0.05$).

Fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinin dinlendirme sonu, fermentasyon-olgunlaştırma süreci ve depolama aşamalarında nem değerlerinin ısıtma işlemi gören gruptakilerden daha düşük olduğu görülmektedir. Uygulanan ısıtma işleminin (70°C) kısmende olsa protein denatürasyonuna sebep olabileceği ve buna bağlı olarak oluşan sıkı yapı nedeniyle fermentasyon ve depolama aşamalarında sucuk yapısından dış ortama nemin difüzyonu zorlaştırarak ısıtma işlemi gören grubun daha nemli olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

TGK Et Ürünleri Tebliği'ne [48] göre; tüketime hazır fermentasyon uygulanan sucuklarda nem oranı en fazla %40 olarak belirtilmiştir. Çalışmamızdaki nem değerleri tebliğde belirtilen değerlerden ölçüm yapılan günler bazında farklılıklar göstermektedir. Türk tipi fermente sucuklar üzerine yapılan çeşitli araştırmalarda [7, 59, 120] üretim süreçlerinde erişilen nem değerleri çalışmada saptanan değerlerle benzerlikler göstermektedir.

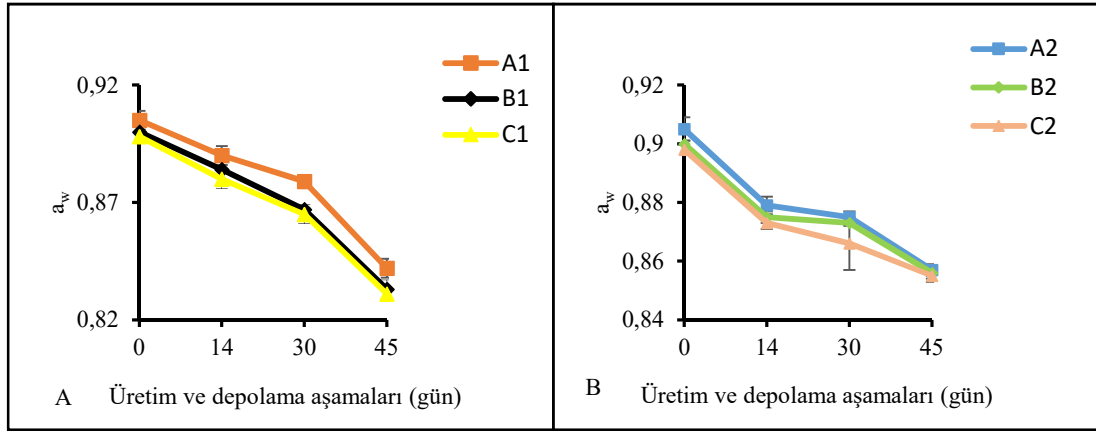
TGK Et Ürünleri Tebliği'ne [48] göre; ısıtma işlemi görmüş sucuklarda nem miktarı en çok %50 olarak sınırlandırılmıştır. Coşkuner [134] tarafından yapılan bir

çalışmada fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile farklı sucuk örnekleri üretilmiş, sucuk hamurunda %53.88 olan nem değerinin fermentasyon ile %32.76'a ve ısıtma işlem uygulaması (74°C'de, 45dk) ile %49.90'a düştüğü bildirilmiştir. Bir başka çalışmada 45-62°C'de farklı sürelerde (10-20 dk) ısıtma işlem uygulamasının ardından sucuk örneklerinde farklı zamanlarda alınan ölçümler sonunda nem değerlerinin %39.60-%45.70 aralığında değiştiği bildirilmiştir [2]. Dalmış [61] tarafından yapılan çalışmada ısıtma işlem uygulanan sucuk örneklerinin nem değerlerinin fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinden daha yüksek olduğu ve 90 günlük depolama süresi sonunda %45.21-46.23 arasında değiştiği bildirilmiştir. Nem miktarına ilişkin çalışma sonuçlarımızın literatürde bildirilen bulgular ile paralellik gösterdiği ve TGK Et Ürünleri Tebliği ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen farklı formülasyona sahip sucuk örneklerinin farklı süreçlerdeki a_w değerleri Çizelge 4.3 ve Şekil 4.7'de verilmiştir. Su aktivitesi mikroorganizmalar tarafından kullanılabilen suyun miktarını ifade etmektedir ve çalışma kapsamında incelenen tüm sucuk örneklerin a_w değerinin 0.900'ın altında olduğu görülmekte ve mikrobiyolojik açıdan kararlı oldukları ifade edilebilmektedir.

Çizelge 4.3 incelendiğinde; dinlendirilmiş sucuk hamurunda saptanan a_w değerleri birbirine yakın düzeylerde ve bu benzerliğin depolama süresinin 45. gününe kadar devam ettiği, depolama sonunda (45. gün) fermentasyon ve ısıtma işlem grupları arasında homojen bir gruplaşma olduğu başlıca göze çarpan noktalardır ($P<0.05$). Nem oranı bulgularıyla benzer şekilde gerçekleşen bu değişimin yine uygulanan ısıtma işlemin et proteinleri üzerine olan etkisi sonucu olduğu kabul edilebilir.

Tüm örnek gruplarında üretim ve depolama aşamalarında su kaybına bağlı olarak önemli bir azalma belirlenmiştir ($P<0.05$). Sucuk örneklerinin a_w değeri üzerinde fermentasyon uygulaması, starter kültür varlığı ve starter kültür formunun etkisi sonucunda depolama periyodunda en hızlı düşüş C1 (0.898'den 0.831'e) örneğinde belirlenirken, starter kültür kullanımı ile sucuk örneklerinin a_w 'si kullanılmayan örneklerle kıyasla daha düşük değerlere ($P<0.05$) ulaşmıştır.



Şekil 4.7. Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen a_w miktarlarındaki değişim

Depolama süresi sonunda kontrol, serbest ve enkapsül formda starter kullanılan örneklerin a_w değerleri sırası ile 0.842, 0.833 ve 0.831 olarak belirlenmiştir. Isıtma işlemi uygulanan sucuk grubunun tüm alt gruplarında üretim ve depolama aşamalarında azalma gerçekleştiği, C2 örneği hariç söz konusu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Tüm örnek gruplarında en düşük a_w değeri enkapsül formda starter kültür içeren sucuk gruplarında (C1 için 0.831, C2 için 0.855) gözlemlenmiştir. Bu durum, enkapsül üretiminde kullanılan kabuk materyallerinin örnekteki serbest suyu bağlaması ile açıklanabilir. Olgunlaştırma koşulları ve muhafaza yöntemi; fermentasyon ya da ısıtma işlemi uygulaması, sucuk formülasyonuna (tuz, şeker ve yağ oranı, etin kıyılma derecesi) bağlı olarak a_w değerinin değişebileceği bildirilmiştir. Üretimde starter kültür kullanımı ile daha düşük a_w değeri gözlemlenmiştir. Ayrıca fermente sucuklarda pH ile birlikte a_w değeri önem taşımakta, ürünün hangi ısıda ve ne kadar süre saklanacağı hakkında fikir verebilmektedir. Fermentasyon uygulaması ile üretilen sucukların a_w değeri 0.700-0.910 arasında değişebilmektedir. Son üründe a_w değerinin 0.900 altında olması ürün güvenilirliğini ifade etmektedir [135-140].

Çalışmamızda tüm örnek gruplarında a_w değerlerinde üretim ve depolama süreçlerinde saptanan düşme yönünde gerçekleşen değişimin literatür bulgularıyla [121, 135, 139-145] uyumlu bulunduğu saptanmıştır.

Farklı üretim teknikler kullanılarak elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen nem ve a_w değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.4’de verilmiştir. Buna göre üretim yöntemi (ÜY), depolama süresi (DS), örnek formülasyonu (ÖF) ve ÜYxDS bakımından nem ve a_w değerlerindeki değişiminin istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$), ÜYxÖF, ÖFxDS ve ÜYxDSxÖF interaksiyonlarının nem oranlarındaki değişim üzerine etkisinin ise önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.4. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin nem ve a_w değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları

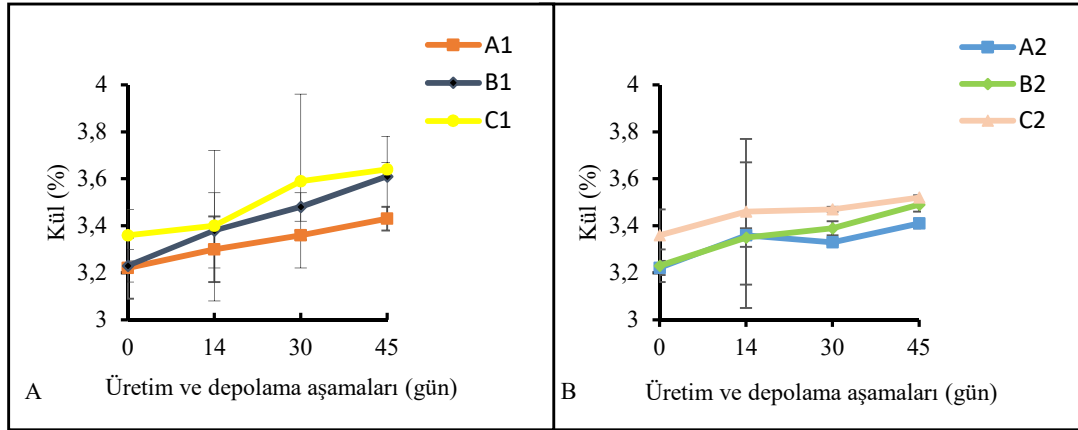
Varyasyon Kaynakları	Nem		a_w	
	F	P	F	P
ÜY	121.3	0.00	1.6	0.21
DS	354.7	0.00	87.4	0.00
ÖF	9.1	0.00	3.9	0.03
ÜY x DS	13.5	0.00	6.5	0.00
ÜY x ÖF	0.9	0.42	0.4	0.69
ÖF x DS	0.5	0.81	0.7	0.99
ÜY x DS x ÖF	0.2	0.98	0.1	0.99

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu

4.2.2. Kül Miktarı

Sucuk gruplarının üretim ve depolama süresi boyunca kül miktarlarında meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.3 ve Şekil 4.8’de verilmiştir. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin kül miktarlarına ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Depolama süresi ile tüm sucuk örneklerinin kül miktarlarında depolamanın son günü olan 45. güne kadar önemsiz bir değişim gözlenirken ($P>0.05$); 45. günde diğer depolama örneklerine kıyasla farklılıklar gözlenmiştir ($P<0.05$). Isıtma işlem uygulanarak üretilen sucuk örneklerinin alt gruplarında depolama süresi ilerledikçe örneklerin kül miktarlarında saptanan artışın kuru madde miktarındaki değişime (yükselme) bağlı olduğu kabul edilebilir. Starter kültür kullanımı ve kullanım formunun (serbest ya da enkapsül) ise kül miktarındaki değişimine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$).



Şekil 4.8 Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen kül miktarlarındaki değişim

Fermentasyon uygulanan sucuk grubunun kül miktarı üretim ve depolama aşamalarında tüm alt gruplar için farklı oranlarda olmakla birlikte artmıştır. Depolama süresi sonunda en yüksek kül miktarı C1 (%3.64) örneğinde, en düşük kül miktarı ise A1 (%3.43) örneğinde belirlenmiştir. Örneklerin kuru madde miktarı ve formülasyon farklılığının (C1 örneğinde enkapsül oluşumu için kullanılan nişasta ve aljinattan kaynaklı bir farklılık olduğu) bu sonuca neden olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.5’de farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinin kül miktarları üzerinde DS ve ÖF etkisinin önemli olduğu ($P < 0.05$), ÜY, ÜYxDS, ÜYxÖF, ÖFxDS ve ÜYxDSxÖF etkilerinin ise önemsiz olduğu ($P > 0.05$) görülmektedir.

Çizelge 4.5. Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin kül, yağ ve protein miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Kül Miktarı		Yağ Miktarı		Protein Miktarı	
	F	P	F	P	F	P
ÜY	0.9	0.35	276.1	0.00	28.9	0.00
DS	7.9	0.00	126.6	0.00	145.8	0.00
ÖF	5.2	0.01	2.8	0.08	10.5	0.00
ÜY x DS	0.6	0.65	30.8	0.00	3.4	0.03
ÜY x ÖF	0.2	0.78	0.7	0.49	0.6	0.53
ÖF x DS	0.2	0.96	0.5	0.75	0.9	0.46
ÜY x DS x ÖF	0.1	0.99	0.1	0.99	0.7	0.64

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu

Keçi ve sığır etleri karışımı ile üretilen sucuk örneklerinde kül miktarları 0. günde %2.70-2.78 ve depolama süresi sonunda %2.81-2.92 olarak bildirilmiştir[141]. Yapılan çalışmalarda farklı oranlarda yağ/et kullanarak üretilen sucukların kül oranlarının %3.17-4.20 [146] ve %3.28-6.81 [147] arasında değiştiği saptanmıştır.

Bilge [59] ise başlangıç ve 9. gün sonundaki kül değerlerini sırasıyla %2.34-2.63 ve %3.35-3.85 olarak belirlemiştir. Bir başka çalışmada [58], geleneksel yöntem ve ısıt işlem uygulaması ile üretilen sucukların kül miktarları sırasıyla %3.97-4.68 ve %4.33-4.70 arasında saptanmıştır. Değerilen literatür bilgilerindeki kül değerleri ile çalışmadan elde edilen sonuçlar arasında gözlenen farklılığın kullanılan et, baharat çeşitliliği ve miktar farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

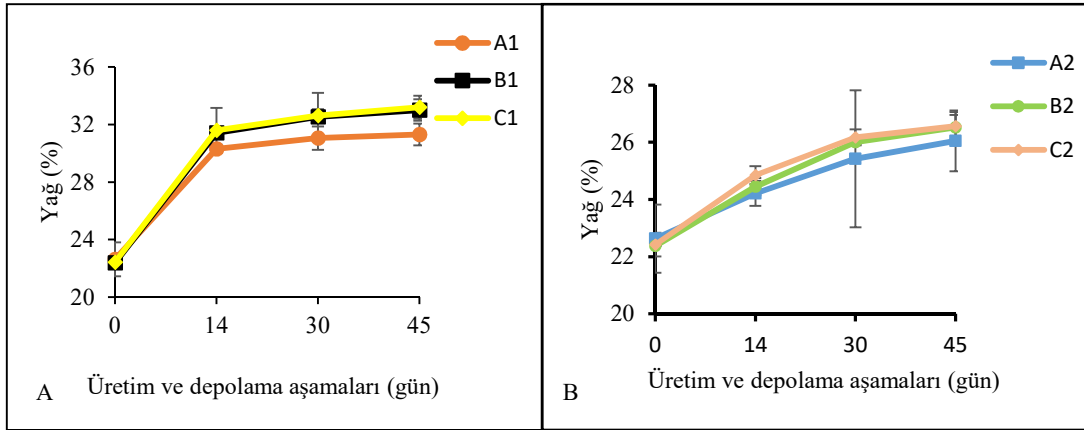
Çalışmamızda saptanan kül değerleriyle uyumlu olarak, Toptancı [124] ısıt işlem ve fermentasyon ile üretimi gerçekleştirilen sucuk örneklerinde kül miktarlarının sırası ile %3.50-4.38 olduğunu, Dalmış [61] ısıt işlem ile üretilen sucuk örneklerinin kül miktarının %3.10-3.40 arasında değiştiğini bildirmiştir.

4.2.3. Yağ Miktarı

Farklı formülasyonlara sahip sucuk örneklerinin üretim ve depolama süresi boyunca yağ miktarında meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.3 ve Şekil 4.9'da verilmiştir. Fermentasyon ve ısıt işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin yağ miktarlarına ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Farklı formülasyonlarda hazırlanan sucuk örneklerinin 0. gün yağ miktarlarındaki farklılığın önemli olmadığı ($P>0.05$), ancak devam eden depolama günlerinde (14, 30 ve 45) fermentasyon ve ısıt işlem örnekleri arasında belirgin bir farklılık olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Depolama süresince yağ miktarı her iki grubun tüm örnekleri için farkı seviyelerde olmakla birlikte artış gösterdiği belirlenmiştir ($P>0.05$). Fermentasyon ve ısıt işlem örneklerinin yağ miktarında serbest veya enkapsül formda starter kültür kullanımının önemli bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Her iki üretim yönteminde de örnekten suyun uzaklaşması yani kurumaya bağlı olarak örnekten örneğe farklı oranlarda olmakla birlikte yağ miktarlarında artış belirlenmiş, üretim yönteminin söz konusu artışta etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.9 A-B) ($P<0.05$). Her iki üretim yönteminde de en yüksek yağ miktarı enkapsül formda starter kültür kullanımının olduğu örneklerde (C1 için %33.19 ve C2 için %26.56) belirlenmiştir.



Şekil 4.9. Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen yağ miktarlarındaki değişim

Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinin yağ miktarları üzerinde ÜY, DS ve ÜYxDS'nin etkisinin önemli olduğu ($P<0.05$), ÖF, ÜYxÖF, ÖFxDS ve ÜYxDSxÖF etkileşimlerinin etkisinin önemsiz olduğu görülmektedir (Çizelge 4.5) ($P>0.05$).

Literatürde yer alan çalışmalarda da fermentasyon ile üretilen sucuk örneklerinin yağ miktarları depolama süresi başlangıcında %20.99-22.33 olarak, depolama süresi sonunda ise %22.97-35.95'e ulaştığı bildirilmiştir [7, 59, 146]. Çalışmamızda fermentasyon uygulanan sucuk örnekleri için belirlenen yağ miktarlarının literatürde bildirilen sonuçlar ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

Dalmış [61] tarafından yapılan çalışmada ısıtma işlemi uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin yağ miktarı üretim sonunda ve 90 günlük depolama sonunda sırası ile %24.08 ve %26.64 olarak bildirilmiştir. Ercoşkun [56] sucuk hamurunda yağ miktarını %25.16 olarak, fermentasyon ve ısıtma işlemi gören örneklerde ise sırasıyla %31.89 ve %31.65 olarak saptamıştır. Toptancı [124] %28.46 yağ miktarına sahip olan sucuk örneklerinin fermentasyon süresi sonunda yağ oranının %30.35'e ulaştığını, 60, 65 ve 70 °C'de uygulanan ısıtma işlemlerinin ardından yağ miktarlarının sırası ile %29.09, %29.19 ve %29.47'ye yükseldiğini bildirmiştir. Çalışmamızda ısıtma işlemi uygulanan sucuk örnekleri için tespit edilen yağ miktarlarının literatürde yer alan bulgular ile yakınlık taşıdığı belirlenmiştir.

4.2.4. Protein miktarı

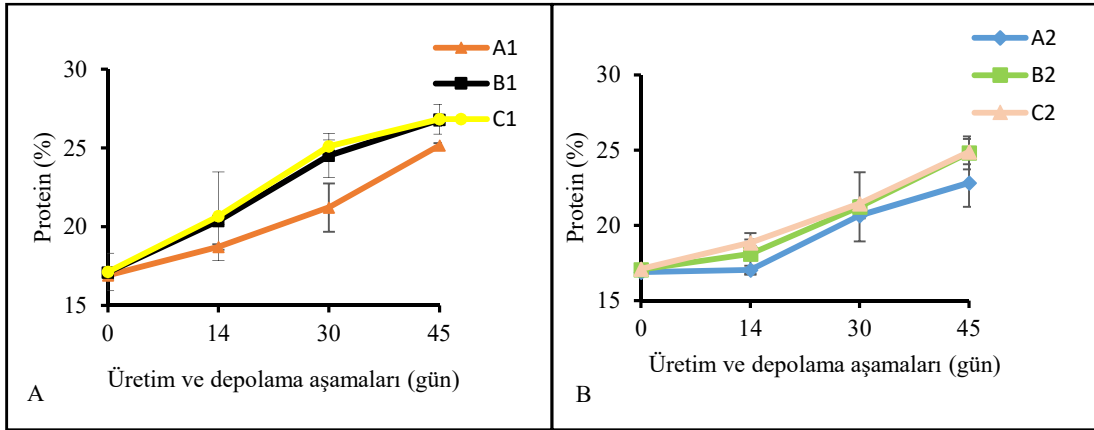
Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim ve depolama süresi boyunca protein miktarında meydana gelen değişiklikler Çizelge

4.3 ve Şekil 4.10’da verilmiştir. Sucuk gruplarının protein miktarlarına ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Sucuk örneklerinde 0. gün protein değerleri A1, B1 ve C1 örneklerinde sırası ile %16.91, %17.08 ve %17.12 olarak tespit edilmiş, protein miktarı bakımından tüm örnek grupları arasındaki farklılıklar 0. günde istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlenmiştir ($P>0.05$). Depolama aşamaları ile hem fermentasyon hem de ısıl işlem örneklerinin protein miktarlarında artma eğiliminin olduğu gözlemlenmiş ve örnekler arasında gözlenen farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Depolama aşamasının sonunda (45. gün) fermentasyon ve ısıl işlem örnekleri için starter kültür kullanımının protein miktarı üzerindeki etkisinin önemli olduğu ($P<0.05$), ancak starter kültür kullanım formunun (enkapsül ya da serbest) önemli bir farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Her iki üretim yönteminde de en yüksek protein miktarlarının enkapsül formda kültür içeren örneklerde (C1 ve C1 için %26.82 ve %24.90) bulunduğu belirlenmiştir.

Tüm örnek gruplarında protein miktarlarının üretim ve depolama aşamalarında gözlenen artışların gerçekleşen kuru madde miktarı artışına paralel olarak artış gösterdiği ve söz konusu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.10 A-B) ($P<0.05$). Fermentasyon uygulaması ile üretilen örneklerin protein miktarlarının, ısıl işlem örneklerine kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda en yüksek protein miktarı C1 (%26.82) örneğinde, en düşük protein miktarı ise A1(%25.16) örneğinde belirlenmiştir.

Çizelge 4.5’de varyasyon kaynaklarından ÜY, DS, ÖF ve ÜYxDS interaksiyonunun protein miktarı üzerinde önemli etkilerinin olduğu ancak ($P<0.05$), ÜYxÖF, ÖFxDS ve ÜYxDSxÖF interaksiyonlarının ise önemli etkilerinin olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).



Şekil 4.10 Fermentasyon (A) ve ısıl işlem (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen protein miktarlarındaki değişim

Atik [141] yaptığı çalışmada fermentasyon ile üretilen sucuk örneklerinin 0. gün protein miktarlarını %18.09, üretim sonunda (6. gün) %22.03 ve depolama aşaması sonunda (90. gün) %22.05 olarak belirlemiştir. Arıkan [148] ise 0 ve 30. günlerde protein miktarını %17.13- 38.83 olarak belirlerken, Ensoy [146] bu oranları %25.48-32.88 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda fermentasyon uygulanan sucuk örnekleri için belirlenen protein miktarları değinilen literatür oranlarıyla uyumludur. Isıl işlem gören sucuklarla ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında; Dalmış [61], örneklerin protein miktarlarını 0. günde % 15.46-15.48, fermentasyonsonunda %21.39-23.71, ısıl işlem sonrasında %20.50-21.07 olarak bildirirken, Coşkuner [134] geleneksel yöntem ile üretilen sucuklarda protein miktarını %33.76, ısıl işlem gören sucuklarda ise %26.00 olarak bildirilmiştir.

4.2.5. pH ve titrasyon asitliği miktarı

Farklı formülasyona sahip sucuk örneklerinin fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması sürecinde (ilk 14 gün için) belirlenen pH değişimleri Çizelge 4.6'da ve Şekil 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.6. Fermentasyon ve ısıt işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim aşamalarında pH değerleri*

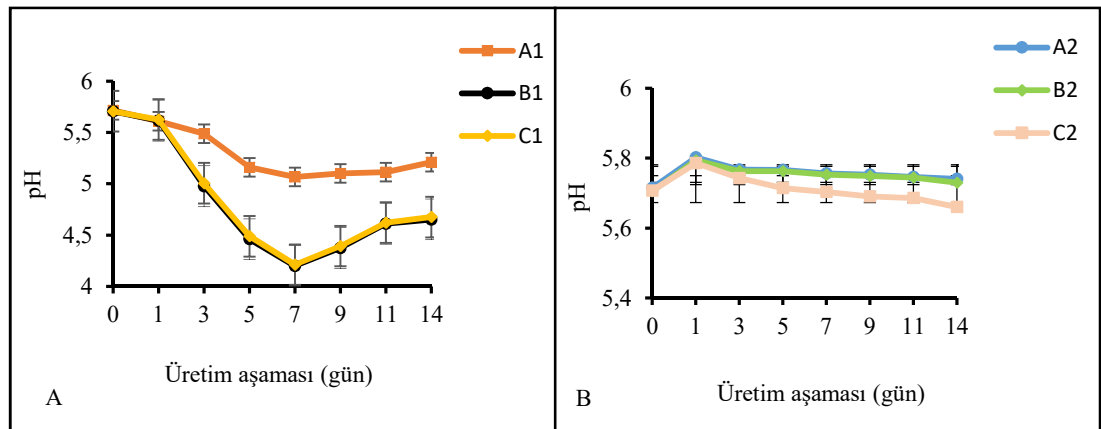
Üretim Yöntemi	Örnekler	pH							
		0.gün	1.gün	3. gün	5. gün	7.gün	9. gün	11.gün	14.gün
Fermentasyon	A1	5.71±0.00 ^{a,E}	5.61±0.00 ^{a,D}	5.49±0.01 ^{c,C}	5.16±0.01 ^{c,AB}	5.07±0.02 ^{b,A}	5.10±0.00 ^{c,A}	5.11±0.00 ^{b,A}	5.21±0.10 ^{b,B}
	B1	5.70±0.00 ^{a,H}	5.61±0.00 ^{a,G}	4.98±0.00 ^{a,F}	4.46±0.00 ^{a,C}	4.20±0.00 ^{a,A}	4.37±0.00 ^{a,B}	4.61±0.01 ^{a,D}	4.65±0.00 ^{a,E}
	C1	5.70±0.02 ^{a,H}	5.63±0.00 ^{b,G}	5.01±0.00 ^{b,F}	4.49±0.01 ^{b,C}	4.21±0.00 ^{a,A}	4.39±0.01 ^{b,B}	4.62±0.01 ^{a,D}	4.67±0.00 ^{a,E}
Isıl İşlem	A2	5.71±0.00 ^{a,A}	5.80±0.01 ^{d,E}	5.77±0.00 ^{c,D}	5.76±0.00 ^{c,D}	5.76±0.00 ^{d,C}	5.75±0.00 ^{c,C}	5.75±0.00 ^{d,B}	5.74±0.00 ^{c,B}
	B2	5.70±0.02 ^{a,A}	5.79±0.00 ^{c,D}	5.76±0.00 ^{c,C}	5.76±0.00 ^{c,C}	5.75±0.00 ^{d,C}	5.75±0.00 ^{c,BC}	5.74±0.00 ^{d,BC}	5.73±0.00 ^{c,B}
	C2	5.71±0.00 ^{a,C}	5.79±0.00 ^{c,E}	5.74±0.00 ^{d,D}	5.71±0.00 ^{d,C}	5.70±0.00 ^{c,C}	5.69±0.01 ^{d,B}	5.69±0.00 ^{c,B}	5.66±0.00 ^{c,A}

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı sütunda farklı küçük harflerle (a-e) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı satırda farklı büyük harflerle (A-H) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir A1:fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıt işlem, starter kültürsüz; B2: ısıt işlem, serbest starter kültür, C2: ısıt işlem, enkapsül starter kültür

Fermentasyon ile üretilen örneklerde fermentasyonun ilk 7 günü pH değeri hızlı bir düşüş göstermiş (5.70-5.71'den 5.07-4.20'ye) ve devam eden süreçte tüm örnekler için farklı oranlarda olmak üzere pH değerlerinde artışlar gözlemlenmiştir. Üretim periyodu sonunda A1,B1 ve C1 örneklerinde belirlenen pH değerleri sırası 5.21, 4.65 ve 4.67'dir. A1 örneğinde (kontrol) kullanılan bileşenlerde bulunan doğal flora depolama süresince pH düşüşünde etkili olurken, diğer örnek gruplarında eklenen serbest/enkapsül formdaki sterter kültür etkisi ile pH düşüşleri meydana gelmiştir.

Isıl işlem grubunda pH değerindeki değişim fermente gruba kıyasla daha farklı profil sergilemiştir. Bu grupta 0 ile 14. gün arasında saptanan farklılığın muhtemel sebebi formülasyonda kültür kullanımı ve uygulanan ısıl işlem sonucunda canlılığını koruyabilen kültür miktarı olduğu söylenebilir. Uygulanan ısıl işlem etkisi ile serbest kültürlerin canlılığı azalmakta (kontrol grubu ile benzer bir değişim sergilemiş, 14. gün pH değerleri birbirine oldukça yakın olduğu 5.74 ve 5.73 belirlenmiştir) ve enkapsül formda starter kültürlerin pH değerini düşürme (5.66) etkisi ortaya çıkmaktadır (Şekil 4.11-B).

Üretim ve depolama sıcaklığına bağlı olarak ısıl işlem grubunun pH gelişiminin farklı olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11.-B). A2 ve B2 sucuk örneklerinde pH değerinin diğer örneklerden nispeten yüksek olması canlı hücre sayısı ile ilişkilidir. C2 örneğinde pH değerinin (5.66) tüm ısıl işlem uygulanan gruplardan daha düşük (5.74-5.73), fakat fermentasyona tabi tutulan tüm gruplardan (5.21-4.65) daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bu durumun canlı hücre sayısının varlığı ve ısıl işlem sonrasındaki depolama sıcaklığının etkisi ile geliştiği düşünülmektedir.



Şekil 4.11. Fermentasyon (A) ve ısıl işlem (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim aşamalarında belirlenen pH değişimleri

Sucuk örneklerinde pH değerinin belirli bir seviyeye kadar düşmesi ve devamında düşüşün durması ette karbonhidrad miktarının düşük olması ve etin güçlü bir tampon özellik göstermesi ile açıklanmaktadır [21, 149]. Fermentasyon süresinden sonra kurutma ve depolama periyodunda pH değerinde hafif düzeyde yükselmeler yaşanabilmektedir. Bu durum protein parçalanması sonucunda açığa çıkan bazı amino asitlerin dekarboksilasyonu veya deaminasyonu sonucunda amonyum, amin gibi protein olmayan azotlu bileşiklere dönüşmesi ve bu bileşiklerin konsantrasyonunun artması ile açıklanmaktadır [69, 121, 150, 151]. Sucuk üretiminde pH değerinde gerçekleşen değişim sucuğun karakteristik özelliklerinin oluşması için son derece önemlidir. Son ürünün tat, lezzet, tekstür, renk gibi kalite parametreleri pH değişimine bağlı olarak şekillenmektedir [7, 152].

Çalışmada tüm örnek gruplarında pH değerinde belirlenen ilk 7 gün, özellikle fermentasyonuygulanan sucuk grubunda, belirgin bir düşüş, devam eden olgunlaştırma ve depolama süresi boyunca hafif yükselme yönünde gerçekleşen değişimin literatürde yer alan bilgi ve bulgular [107, 120, 121, 144, 153, 154] ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen pH değerleri Çizelge 4.7 ve Şekil 4.12’de verilmiştir.

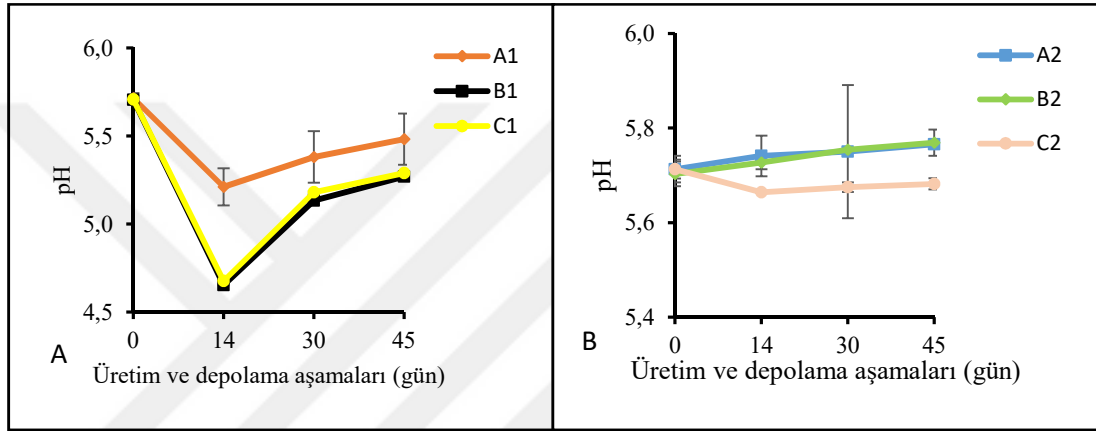
pH değeri bakımından 0. gün örnekleri arasında farklılık bulunmadığı, ancak devam eden depolama aşamalarında (14, 30 ve 45. gün) fermentasyon ve ısıl işlem grupları arasında farklılık olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Fermentasyon ve ısıt işlemlerinin uygulanması ile elde edilen örneklerinin üretim ve depolama periyodunda belirlenen kimyasal özellikler*

Kimyasal Özellikler	Gün	Fermente			Isıt işlemler		
		A1	B1	C1	A2	B2	C2
pH	0	5.71 ± 0.03 ^{a,A}	5.70 ± 0.03 ^{a,D}	5.71 ± 0.02 ^{a,D}	5.71 ± 0.03 ^{a,A}	5.70 ± 0.03 ^{a,D}	5.71 ± 0.02 ^{a,D}
	14	5.21 ± 0.10 ^{b,A}	4.65 ± 0.00 ^{a,A}	4.67 ± 0.00 ^{a,A}	5.74 ± 0.04 ^{c,A}	5.73 ± 0.01 ^{c,A}	5.66 ± 0.00 ^{c,A}
	30	5.38 ± 0.15 ^{b,A}	5.13 ± 0.00 ^{a,B}	5.18 ± 0.01 ^{ab,B}	5.75 ± 0.14 ^{c,A}	5.75 ± 0.00 ^{c,A}	5.67 ± 0.01 ^{c,AB}
	45	5.48 ± 0.14 ^{a,B}	5.27 ± 0.01 ^{a,C}	5.29 ± 0.01 ^{a,C}	5.77 ± 0.00 ^{b,A}	5.77 ± 0.03 ^{b,A}	5.68 ± 0.01 ^{b,AB}
Titrasyon asitliği (% Laktik asit)	0	0.29 ± 0.01 ^{a,A}	0.33 ± 0.01 ^{a,A}	0.31 ± 0.03 ^{a,A}	0.29 ± 0.01 ^{a,A}	0.33 ± 0.01 ^{a,A}	0.31 ± 0.03 ^{a,A}
	14	0.94 ± 0.06 ^{b,B}	1.49 ± 0.13 ^{c,B}	1.45 ± 0.15 ^{c,B}	0.70 ± 0.08 ^{a,B}	0.77 ± 0.01 ^{ab,B}	0.94 ± 0.05 ^{b,B}
	30	0.98 ± 0.01 ^{b,B}	1.88 ± 0.00 ^{c,C}	1.87 ± 0.04 ^{c,C}	0.77 ± 0.10 ^{a,B}	0.78 ± 0.05 ^{a,B}	1.00 ± 0.01 ^{b,BC}
	45	1.10 ± 0.02 ^{c,C}	1.90 ± 0.02 ^{d,C}	1.89 ± 0.03 ^{d,C}	0.77 ± 0.07 ^{a,B}	0.79 ± 0.00 ^{a,B}	1.04 ± 0.03 ^{b,C}
TBA (mg MDA/kg)	0	0.39 ± 0.00 ^{b,A}	0.37 ± 0.01 ^{a,A}	0.38 ± 0.01 ^{ab,A}	0.39 ± 0.00 ^{b,A}	0.37 ± 0.01 ^{a,A}	0.38 ± 0.01 ^{ab,A}
	14	0.76 ± 0.01 ^{b,B}	0.69 ± 0.01 ^{a,B}	0.72 ± 0.04 ^{ab,B}	1.55 ± 0.01 ^{c,B}	1.52 ± 0.01 ^{c,B}	1.54 ± 0.05 ^{c,B}
	30	1.00 ± 0.01 ^{b,C}	0.90 ± 0.00 ^{a,C}	0.88 ± 0.00 ^{a,C}	1.69 ± 0.01 ^{d,C}	1.65 ± 0.01 ^{c,C}	1.65 ± 0.03 ^{c,C}
	45	1.18 ± 0.01 ^{b,D}	0.98 ± 0.12 ^{a,D}	0.99 ± 0.00 ^{a,D}	1.71 ± 0.02 ^{c,C}	1.70 ± 0.00 ^{c,D}	1.69 ± 0.03 ^{c,C}
Kalıntı Nitrit (mg/kg)	SH	133.07 ± 3.59 ^{a,D}	137.81 ± 0.20 ^{ab,E}	140.33 ± 1.37 ^{b,E}	133.07 ± 3.59 ^{a,C}	137.81 ± 0.20 ^{ab,E}	140.33 ± 1.37 ^{b,D}
	0	74.81 ± 0.64 ^{c,C}	63.97 ± 1.34 ^{a,D}	69.89 ± 1.30 ^{b,D}	74.81 ± 1.11 ^{c,B}	63.97 ± 1.34 ^{a,D}	69.89 ± 1.30 ^{b,C}
	14	20.21 ± 1.20 ^{b,B}	14.70 ± 1.04 ^{a,C}	18.81 ± 1.13 ^{b,C}	28.65 ± 1.20 ^{c,A}	31.59 ± 1.16 ^{c,C}	21.91 ± 1.49 ^{b,B}
	30	15.83 ± 0.54 ^{b,B}	11.83 ± 1.10 ^{a,B}	13.44 ± 0.90 ^{a,B}	28.21 ± 0.37 ^{c,A}	28.35 ± 1.43 ^{c,B}	17.32 ± 1.29 ^{b,A}
	45	10.56 ± 0.67 ^{b,A}	7.67 ± 0.32 ^{a,A}	8.09 ± 0.79 ^{a,A}	25.87 ± 1.35 ^{d,A}	25.69 ± 0.75 ^{d,A}	15.83 ± 0.85 ^{c,A}

*Ortalama±standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satır farklı küçük harflerle (a-c) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-E) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıt işlemler, starter kültürsüz; B2: ısıt işlemler, serbest starter kültür; C2: ısıt işlemler, enkapsül starter kültür; SH, Sucuk Hamuru

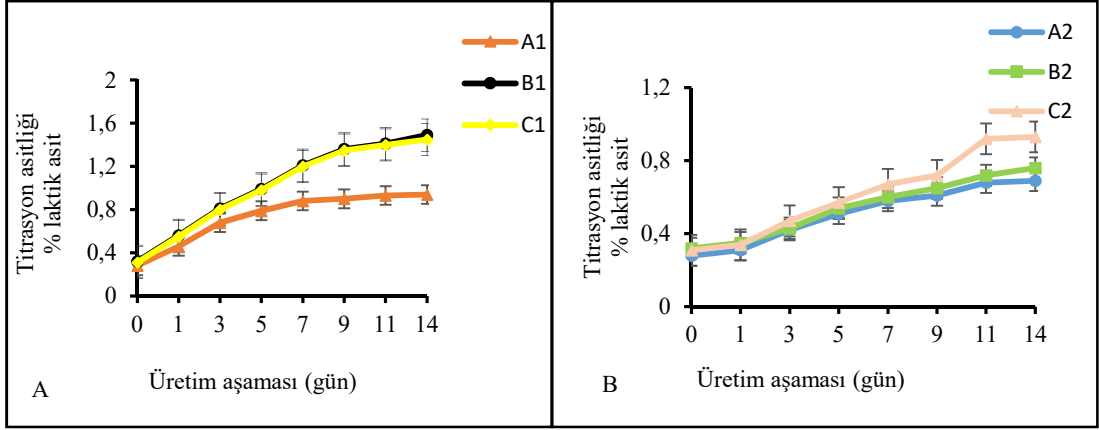
Fermentasyon ile üretilen örneklerde (A1 hariç) depolama süresi boyunca starter kullanımı pH değişimini etkilemiştir ($P<0.05$). Isıl işlem gören sucuk örneklerinde depolama süresi boyunca pH'da meydana gelen değişikliğin (C2 örneği hariç) istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Depolama sonunda (45.gün) fermentasyon uygulanan örnek grubunda pH değeri üzerine starter kültür kullanımının etkisinin önemli olduğu ancak ($P<0.05$), kültür formunun (serbest ya da enkapsül) örnekler arasında farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Isıl işlem uygulanan örnek grubunda enkapsül formda starter kültür kullanımının istatistiksel olarak önemli olduğu başlıca göze çarpan noktalardır ($P<0.05$).



Şekil 4.12 Fermentasyon (A) ve ısıl işlem (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim ve depolama aşamalarında belirlenen pH değişimleri

TGK Et Ürünleri Tebliğ'in'de [48] Fermentasyon uygulanan sucukların sahip olması gereken pH değerini 5.4, ısıl işlem uygulanan sucukların pH değerinin ise 5.8'den yüksek olmaması gerektiğini bildirmiştir. Çalışmada tüm örnek gruplarında bu sınırın aşılmadığı saptanmıştır. Saptanan pH değerleri benzer çalışmalarda bildirilen bulgularla [16, 49, 69, 121, 128, 134, 145, 155, 156] uyumludur.

Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile üretilen farklı formülasyona sahip sucuk örneklerinin üretim aşamasında (ilk 14 gün) titrasyon asitliği değişimi Şekil 4.13'de verilmiştir.



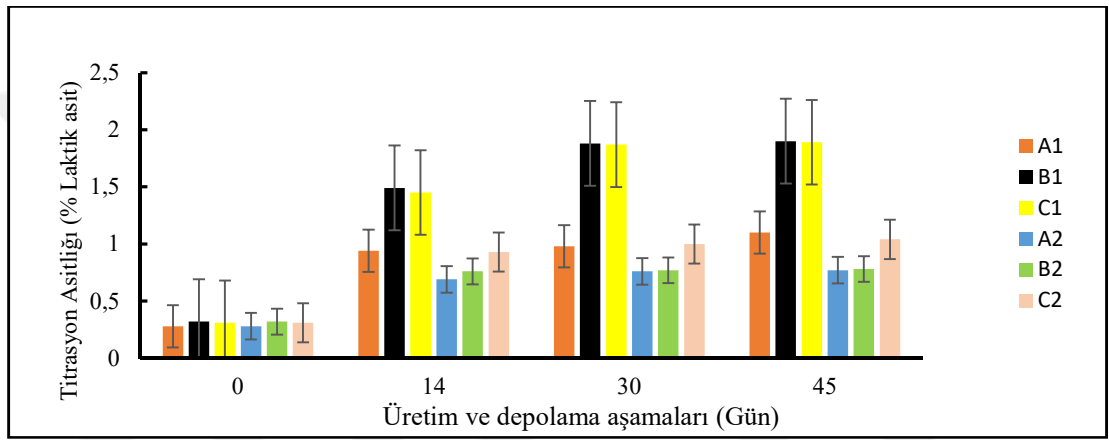
Şekil 4.13 Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim aşamalarında belirlenen titrasyon asitliği değişimi

Fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinde titrasyon asitliğinin üretim süresi boyunca artış gösterdiği, artış miktarının starter kültür içeren örneklerde (B1 ve C1 için %1.49 ve %1.45) kontrol (A1 için %0.94) örneğine kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Enkapsül ve serbest formda kültür içeren örneklerin birbirine yakın titrasyon asitliği değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiş, enkapsülasyon işleminin titrasyon asitliği değeri üzerinde etkisinin önemli olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.13-A). Isıtma işlem uygulamasının yapıldığı sucuk gruplarında titrasyon asitliğinin fermentasyon grubunda olduğu gibi, ilk 14 gün artış eğilimi gösterdiği, en hızlı artışın enkapsül formda starter kültür içeren örnekte (%0.94) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.13-B). Bu durumun daha sonraki bölümlerde açıklanacağı üzere, LAB'nin enkapsülasyon ile korunmasının bir sonucu olduğu kabul edilebilir.

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulanan sucuk gruplarında depolamanın 14, 30 ve 45. günlerinde belirlenen titrasyon asitliği değeri Çizelge 4.7'de ve Şekil 4.14'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 incelendiğinde; üretim yöntemi farklılığının örneklerin titrasyon asitliği değeri üzerinde etkisinin önemli olduğu görülmektedir ($P < 0.05$). Depolama süresi başlangıcı olan 14. gün fermentasyon örneklerinin titrasyon asitliği değerleri %0.94-1.49 iken ısıtma işlem örneklerinin ise % 0.70-0.94 aralığında olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon ile üretilen A1, B1 ve C1 örneklerinin depolama süresince titrasyon asitliği miktarında hafif bir artışın gerçekleştiği, artış miktarının grubun karakteristik özelliğine göre değişiklik gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Depolama süresince örneklerin

titrasyon asitliği değeri üzerinde starter kültür kullanımının etkisinin önemli olduğu ($P<0.05$), ancak kullanım formunun (serbest ya da enkapsül) etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Depolama süresi sonunda (45.gün) en yüksek titrasyon asitliği değeri B1örneğinde (%1.90) belirlenmiş, bunu C1 (%1.89) ve A1 (%1.10) örneklerinin takip ettiği saptanmıştır. Isıl işlem uygulanan örnekler arasında depolama süresi boyunca C2 örneği hariç diğer örneklerde gerçekleşen değişikliğin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$), en yüksek titrasyon asitliği değerinin C2 (%1.04)örneğinde belirlendiği ve enkapsül formda starter kültür kullanımının örneklerin titrasyon asitliği değerinde farklılık oluşturduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).



Şekil 4.14. Fermentasyon (A) ve ısıl işlem (B) uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen titrasyon asitliği değişimleri

Fermente sucuk üretiminde titrasyon asitliği gelişiminin belirli bir noktaya kadar hızlı bir artış gösterdiği, ancak belirli bir noktadan sonra bu artışın azaldığı görülmektedir. Sucuk üretiminde ortamda doğal olarak bulunan (doğal inokülasyon) ya da kontrollü koşullarda ortama ilave edilen starter kültürlerin, özellikle LAB'nin, metabolik aktivitesi sonucunda organik asit oluşumu söz konusu durumun nedeni olarak düşünülmektedir ve bu bağlamda literatürde benzer durumun olduğu bildirilmiştir [7, 58, 59, 157, 158].

Literatürde sucuk üzerine yapılan çalışmalarda örneklerin titrasyon asitliğinin %0.15-0.46 aralığında depolama sürecine başladığı, %0.99-1.72 aralığında depolama sürecini tamamladığı bildirilmiştir [7, 159-161]. Perez-Chabella vd. [21] tarafından yapılan çalışmada akasya gamı ile enkapsüle edilen starter kültürler et hamuruna katılmış, serbest ve enkapsül formda kültür içeren örneklerin titrasyon asitliğinin birbirine yakın değerlerde olduğu bildirilmiştir. Sucukların karakteristik özellikleri

olan tipik ağzı yakıcı asidik tat ve uçucuyu sergileyebilmesi için laktik asit cinsinden titre edilebilir asitlik değerinin % 0.75-1.00 aralığında yer alması, %1.0'den düşük olmaması gerektiği bildirilmiştir [147].

Farklı üretim teknikleri kullanılarak elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen pH ve titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Buna göre varyasyon kaynaklarından ÜY, DS, ÖF, ÜYxDS ve ÖFxDS interaksiyonlarının sucuk örneklerinin pH değeri üzerinde önemli etkilerinin olduğu ($P<0.05$), ÖFxDS ve ÜYxDSxÖF interaksiyonlarının önemli bir etkisinin olmadığı ($P>0.05$), tüm varyasyon kaynaklarının titrasyon asitliği değeri üzerinde etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.8. Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin pH ve titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	pH		Titrasyon Asitliği	
	F	P	F	P
ÜY	168.7	0.00	995.2	0.00
DS	27.9	0.00	776.9	0.00
ÖF	7.6	0.00	211.2	0.00
ÜY x DS	27.8	0.00	124.9	0.00
ÜY X ÖF	4.9	0.02	100.8	0.00
ÖF x DS	1.4	0.26	22.3	0.00
ÜY x DS x ÖF	1.1	0.37	14.4	0.00

Üretim Yöntemi: ÜY, Depolama Süresi: DS, Örnek Formülasyonu ÖF

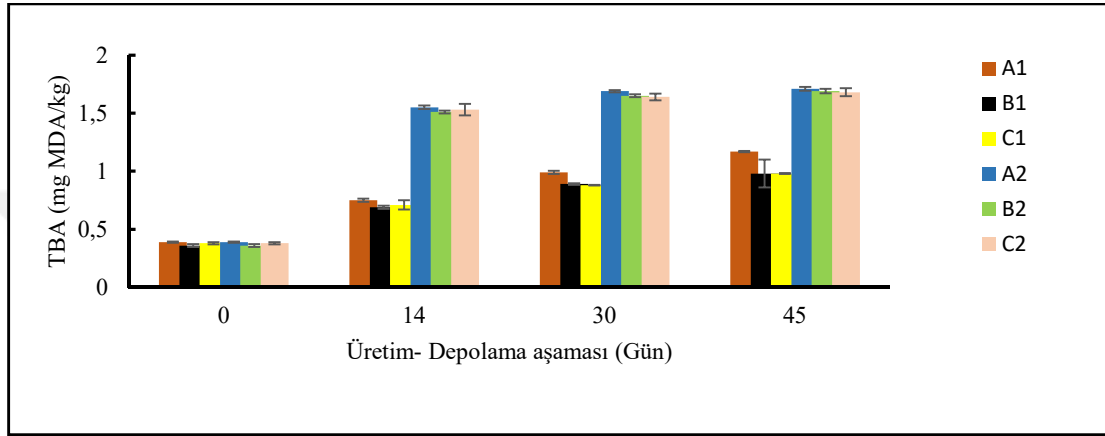
4.2.6. Lipit oksidasyon (TBA) değeri

Sucuk gruplarının üretim ve depolama süresi boyunca TBA miktarlarında meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.7 ve Şekil 4.15'de verilmiştir.

Et ve et ürünlerinde lipit oksidasyonunun göstergesi olan TBA değeri ürün kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Çizelge 4.7 incelendiğinde; 0. gün örneklerinin TBA değerleri bakımından farklılık taşıdığı görülmektedir ($P<0.05$). Depolama sürecinde fermentasyon ve ısıl işlem örnekleri arasında gruplaşma olduğu ($P<0.05$) ve fermentasyon uygulanan örneklerin (0.98-1.18 mg MDA/kg) ısıl işlem örneklerine (1.69-1.71 mg MDA/kg) kıyasla daha düşük TBA değerlerine sahip olduğu dikkat çekmektedir ($P<0.05$). Söz konusu durumun üretim proses koşullarının etkisi ile gerçekleştiği, uygulanan ısıl işlemin örneklerde oksidasyon reaksiyonlarını hızlandırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, hem fermente hem de ısıl

işlem uygulanan sucukların TBA değişimindeki ortak noktanın üretim ve depolama süresi boyunca gerçekleşen kararlı artış olduğu görülmektedir ($P<0.05$).

Fermentasyon uygulaması ile üretilen, starter kültür içermeyen sucuk örneklerinin grupta en yüksek TBA değerine sahip olduğu, starter kültür kullanımının örneklerin TBA değeri üzerinde etkisinin önemli olduğu ($P<0.05$), ancak kullanım formu (serbest ya da enkapsül) etkisinin önemli olmayan seviyede olduğu (14. gün hariç) görülmektedir ($P>0.05$).



Şekil 4.15 Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında TBA miktarlarında gerçekleşen değişiklikler

Sucuk üretiminde kullanılan majör bileşenler olan et ve yağın kalitesi ve miktarı, üretimde kullanılan antioksidan (nitrit, nitrat, askorbik asit, tokoferol) miktarının yetersiz olması, starter kültür tür ve çeşidi, sucuk üretimindeki proses koşulları TBA değerini etkilemektedir [52, 128, 162-171]. Tüm bu faktörlerin etkisi sonucunda üretim ve depolama süresi boyunca farklı hızlarda ve farklı oranlarda TBA değerinin yükselmesi beklenmektedir. TBA değeri 1.0 mgMDA/ kg örnek miktarının üzerine çıktığı zaman üründe genel olarak "kötü koku" olduğu ve lipid oksidasyonunun duyu algısı etkilediği bildirilmiştir [7, 52, 128, 147, 162, 170].

Çalışmada fermentasyon işlemi uygulanan sucuk gruplarından starter kültür kullanımı olmayan örneklerde diğerlerine kıyasla daha yüksek TBA değeri belirlenmiş ve depolama süresi ilerledikçe TBA değerinin arttığı tespit edilmiştir. Literatürde yer alan sucuk üzerine yapılan çalışmalarda da benzer durum bildirilmiştir [61, 170-177]. Çalışmamız sonuçlarında ısıtma işlemi uygulaması ile sucuk grubunda TBA değerinde yükselme yönünde gerçekleşen değişimin literatürde yer alan bilgi ve bulgular ile [124, 135, 156, 178, 179] uyumlu olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.9’da fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin lipid oksidasyon seviyesi üzerinde tüm varyasyon kaynaklarının etkisinin önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$).

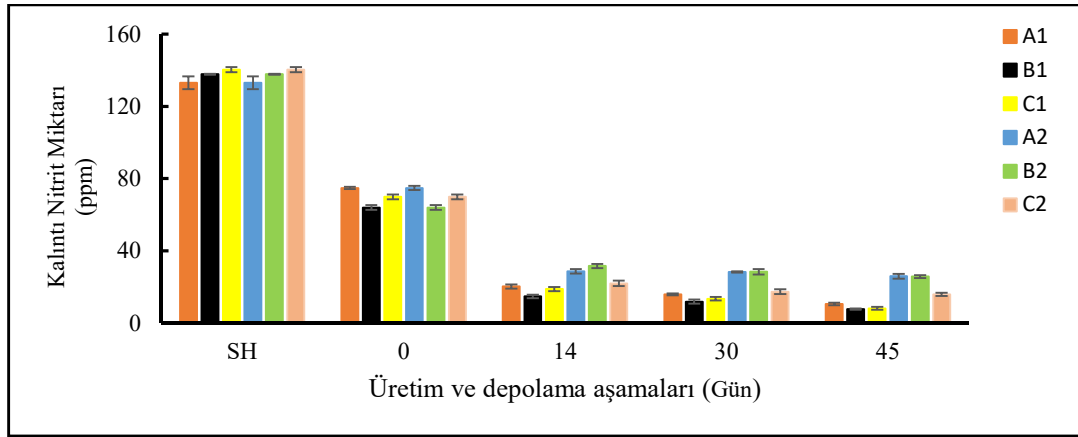
Çizelge 4.9. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin TBA miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	TBA		Kalıntı Nitrit	
	F	P	F	P
ÜY	1.3	0.00	368.7	0.00
DS	8.8	0.00	1.7	0.00
ÖF	67.9	0.00	24.3	0.00
ÜY x DS	1.5	0.00	65.1	0.00
ÜY x ÖF	21.6	0.00	35.9	0.00
ÖF x DS	7.8	0.00	30.7	0.00
ÜY x DS x ÖF	7.5	0.00	6.6	0.00

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu

4.2.7. Kalıntı nitrit miktarı

Sucuk gruplarının üretim ve depolama süresi boyunca kalıntı nitrit miktarlarında meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.7 ve Şekil 4.16’da verilmiştir. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin kalıntı nitrit miktarlarına ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.16. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen kalıntı nitrit miktarlarındaki değişim

Kalıntı nitrit miktarı bakımından sucuk hamuru (SH) ve 0. gün örnekleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$) ve her iki analiz noktasında da starter kültür kullanımı ve kullanım formunun kalıntı nitrit miktarını etkilediği ($P<0.05$) belirlenmiştir. Kalıntı nitrit miktarı kontrol, serbest ve enkapsül formda kültür içeren örneklerde üretim başlangıcında (0. gün) sırası ile 74.81, 63.97,

69.89 mg/kg olarak belirlenmiştir. Üretim süreci sonunda (14. gün) fermentasyon (14.70-20.21 mg/kg) ve ısıtım işlem örnekleri (21.91-31.59 mg/kg) arasında bir gruplaşma başladığı ($P<0.05$) ve depolama süresi sonuna kadar devam ettiği görülmektedir. Fermentasyon uygulanan örneklerde starter kültür kullanımının, ısıtım işlem uygulanan örneklerde ise kullanım formunun istatistiksel olarak farklılığa neden olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Her iki üretim tekniği ile elde edilen örneklerde depolama süresi ile kalıntı nitrit miktarının azaldığı ve bu değişikliğin istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Uygulanan ısıtım işlemin örnekler üzerindeki etki seviyelerinin farklı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7). Depolama süresi boyunca enkapsül formda starter kültür içeren örnekte (15.83 mg/kg) serinin diğer örneklerine (25.69-25.87 mg/kg) kıyasla daha düşük kalıntı nitrit belirlenmiş, bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Starter kültür kullanımı olmadan, serbest ve enkapsül formda starter kültür kullanımı ile üretimi gerçekleştirilen sucuk örneklerinin uygulanan ısıtım işleminden etkilenme seviyesine karar verme noktasında kalıntı nitrit miktarı sonuçları yardımcı olmaktadır. Ayrıca oluşan etkiyi daha detaylı incelendiğinde çalışmamız pH ve canlı mikroorganizma (nitrit-nitrat redüktaz aktivitesi olan mikroorganizmalar bakımından) sayıları da kararda etkili olmaktadır. A2 ve B2 alt gruplarını pH, canlı mikroorganizma sayıları ve kalıntı nitrit miktarları C2 alt grubuna kıyasla birbirlerine daha yakın ve C2 örneğinden farklı olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). C2 sucuk örneğinde ise söz konusu değerlere göz attığımızda; pH değeri ve kalıntı nitrit miktarı serinin diğer örneklerine kıyasla daha düşük, canlı hücre sayısının ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, örnekler arasında belirlenen söz konusu farklılıkların enkapsülasyon uygulamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatür bilgilerinde [150, 174, 180-183] yer alan kabul edilebilir kalıntı nitrit miktarı farklılık göstermekle birlikte, TGK Et Ürünleri Tebliği'ne göre [48]; tüketime hazır fermente sucuklarda kalıntı nitrit miktarı en yüksek 50 ppm olarak belirtilmiştir. Çalışmadaki tüm grup örneklerinin kalıntı nitrit değerlerinin ölçüm yapılan günler bazında farklılıklar göstermekle birlikte, depolama süresi sonunda tebliğ kriterine ve literatürde yer alan bulgulara [128, 147, 165, 174, 181, 183, 184] uygun olduğu saptanmıştır.

TGK Et Ürünleri Tebliği'ne göre [48]; ısıt ıl işlem gören sucuk için en yüksek kalıntı nitrit miktarını 100 ppm olarak sınırlandırılmıştır. Sırık en vd. [181] tarafından yapılan bir çalışmada ısıt ıl işlem gören 100 farklı sucuk örneği kalıntı nitrit miktarlarının 25-278 ppm arasında değişt iğini bildirmiştir. Sezer vd. [185] yaptığı çalışmada piyasadan rast gele toplanan ısıt ıl işlem gören sucukların %90-100'ünün kalıntı nitrit miktarları bakımından TGK Et Ürünleri tebliğine uygun olmadığını belirtmiştir.

Çalışmada tüm örnek gruplarında kalıntı nitrit miktarının üretim ve depolama süreçlerinde saptanan düş me yönünde gerçekleş en değişimin literatürde yer alan bilgi ve bulgular [186, 187] ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

Fermentasyon ve ısıt ıl işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin kalıntı nitrit miktarları üzerinde tüm varyasyon kaynaklarının etkisinin önemli olduğu Çizelge 4.9'da görölmektedir ($P<0.05$).

4.2.8. Renk ölçümü

Renk tüketici kabul edilebilirliğinin bağlı olduğu parametreler arasında yer alması nedeniyle sucuk için önemli bir kalite kriteridir. CIE * renk değerleri olan L* açıklık- koyuluk (100-0 arasında rakamsal değerler almakta ve belirlenen rakamsal değerin renk olarak karşılığı 100 ise beyazı, 0 ise siyahı) ifade etmekte, a* pozitif ve negatif olarak ayrılmakta sırası ile kırmızı ve yeş il rengi ifade etmekte, b* pozitif ve negatif olarak ayrılmakta sırası ile sarı ve mavi renkleri ifade etmektedir.

Fermentasyonve ısıt ıl işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin farklı süreçlerdeki renk (L*, a* ve b*) değerleri Çizelge 4.10 ve Ş ekil 4.17, 4.18 ve 4.19'da verilmiştir. Sucuk örneklerinin depolama aş amalarında belirlenen renk değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen renk değerleri*

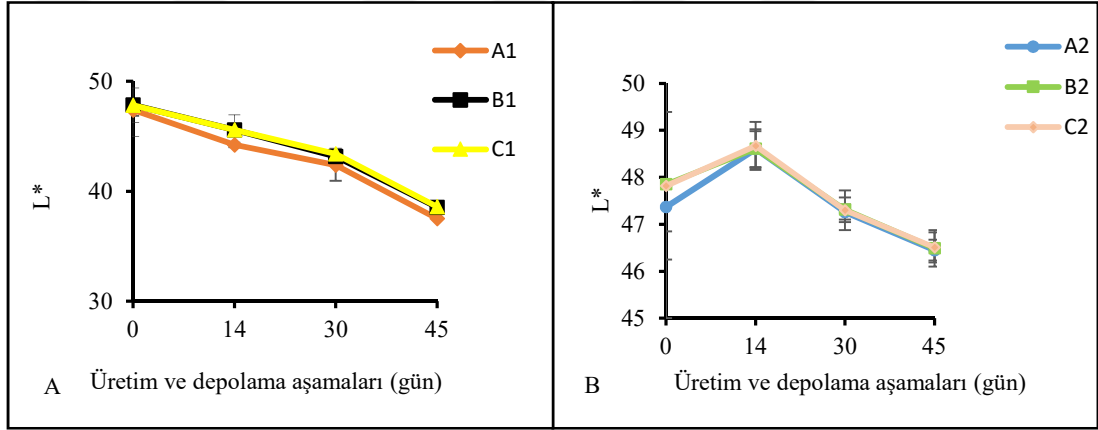
	Üretim Yöntemi	Sucuk Türü	L*, a*, b* Değerleri			
			0.gün	14.gün	30.gün	45.gün
L*	Fermentasyon	A1	47.37±0.52 ^{a,C}	44.21±0.21 ^{a,B}	42.38±1.42 ^{a,B}	37.52±0.04 ^{a,A}
		B1	47.85±2.85 ^{a,C}	45.59±1.34 ^{a,BC}	43.16±0.27 ^{a,B}	38.52±0.40 ^{b,A}
		C1	47.82±1.57 ^{a,C}	45.57±0.31 ^{a,BC}	43.38±0.54 ^{a,B}	38.54±0.59 ^{b,A}
	Isıl İşlem	A2	47.37±0.52 ^{a,A}	48.60±0.38 ^{b,B}	47.26±0.16 ^{b,A}	46.45±0.22 ^{c,A}
		B2	47.85±2.85 ^{a,A}	48.61±0.41 ^{b,A}	47.31±0.26 ^{b,A}	46.49±0.39 ^{c,A}
		C2	47.82±1.57 ^{a,A}	48.67±0.51 ^{b,A}	47.30±0.42 ^{b,A}	46.51±0.32 ^{c,A}
a*	Fermentasyon	A1	12.80±0.87 ^{a,C}	13.44±0.06 ^{a,C}	10.40±0.81 ^{a,B}	8.70±0.35 ^{a,A}
		B1	12.83±0.94 ^{a,B}	14.58±0.56 ^{a,C}	11.64±0.41 ^{a,B}	9.26±0.18 ^{a,A}
		C1	12.84±1.21 ^{a,BC}	14.55±0.63 ^{a,C}	11.57±0.63 ^{a,B}	9.14±0.12 ^{a,A}
	Isıl İşlem	A2	12.80±0.87 ^{a,A}	12.44±0.69 ^{b,A}	11.85±0.81 ^{a,A}	11.64±0.46 ^{b,A}
		B2	12.83±0.94 ^{a,A}	12.55±0.27 ^{b,A}	11.89±1.10 ^{a,A}	11.67±0.34 ^{b,A}
		C2	12.84±1.21 ^{a,A}	12.56±0.64 ^{b,A}	11.91±0.61 ^{a,A}	11.68±0.47 ^{b,A}
b*	Fermentasyon	A1	22.32±0.90 ^{a,C}	17.81±0.24 ^{b,B}	16.82±1.04 ^{a,AB}	15.14±0.12 ^{a,A}
		B1	22.26±0.66 ^{a,B}	16.25±0.32 ^{a,A}	15.75±1.13 ^{a,A}	15.13±0.13 ^{a,A}
		C1	22.28±0.44 ^{a,C}	16.29±0.41 ^{a,B}	15.40±0.25 ^{a,AB}	14.90±0.10 ^{a,A}
	Isıl İşlem	A2	22.32±0.90 ^{a,B}	24.58±0.13 ^{c,C}	21.12±0.69 ^{b,B}	18.64±1.23 ^{b,A}
		B2	22.26±0.66 ^{a,B}	24.62±0.44 ^{c,C}	21.28±0.27 ^{b,B}	19.10±1.63 ^{b,A}
		C2	22.28±0.44 ^{a,B}	24.60±0.80 ^{c,C}	21.16±0.70 ^{b,B}	18.84±0.150 ^{b,A}

*Ortalama±standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır. (n=2). Aynı sütunda farklı küçük harflerle (a-c) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı satırda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1: fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür-serbest; A2: ısıtma işlem, starter kültürsüz; B2: ısıtma işlem, serbest starter kültür; C2: ısıtma işlem, enkapsül starter kültür-serbest

Üründe açıklık-koyuluk göstergesi olan L* değeri bakımından 0. gün (dinlenmiş hamur), örnekleri arasındaki farklılığın önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Depolama süresi boyunca gerçekleşen değişikliğin fermentasyon örnekleri için istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$), ısıtma işlem örnekleri için önemli olmadığı ($P>0.05$), tüm örneklerin L* değerinin zamanla azaldığı saptanmıştır. Depolama aşamasında fermentasyon ve ısıtma işlem örnekleri arasında belirgin bir gruplaşma gerçekleştiği ($P<0.05$), fermentasyon örneklerinin daha düşük L* değerine sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.10). Her iki üretim tekniğinde de örneklerin L* değeri üzerinde starter kültür kullanım ve kullanım formunun etkisinin önemli olmadığı (fermentasyon örnekleri 45. gün hariç) tespit edilmiştir ($P>0.05$).

Çalışmada tüm örnek gruplarında L* değerlerinde depolama sürecinde saptanan düşme yönünde gerçekleşen değişimin literatürde yer alan bilgi ve bulgularla uyumlu bulunduğu saptanmış ve söz konusu değişimin nedenleri arasında depolama süresinde gerçekleşen esmerleşme (browning) reaksiyonları sonucunda koyu renk oluşumu, kuruma, oksidasyon ve pH değerinde azalma yer almaktadır [147, 188, 189].

Isıl işlem uygulanan sucuk örneğinde uygulanan ısıнын etkisi ile renk açılması gerçekleşmiştir. Bu sonuç hem bir miktar nitrozomyoglobin parçalanması ile hem de sucukta bulunan temel renk pigmentinin nitrozohemokromojene dönüşümü ile ayrıca nitrik oksit ve miyoglobin arasında gerçekleşen reaksiyonun ısıl işlemin etkisi ile hızlanması ve nirtosohemokrom miktarının artması ile açıklanmıştır [148]. Hem nirtosohemokromojen hem de denatüre olan nitrozomyoglobin miktarı ısıl işlem normlarının etkisi ile değişmektedir. Yaklaşık 60°C'ye kadar olan ısıl işlemlerde nitrozohemokromojen oluşumu gerçekleşirken 60°C'nin üzerinde uygulanan ısıl işlemlerde nirtozomyoglobin denatürasyonu gerçekleştiği bildirilmiştir [56]. Tüm bu reaksiyonlar göz önüne alındığında ısıl işlem uygulamasına tabi tutulan ürünün fermentasyon uygulanan örneklerle kıyasla daha açık bir renge sahip olması beklenen bir sonuçtur.



Şekil 4.17. Fermentasyon (A) ve ısıl işlem (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen renk (L^*) değişimleri

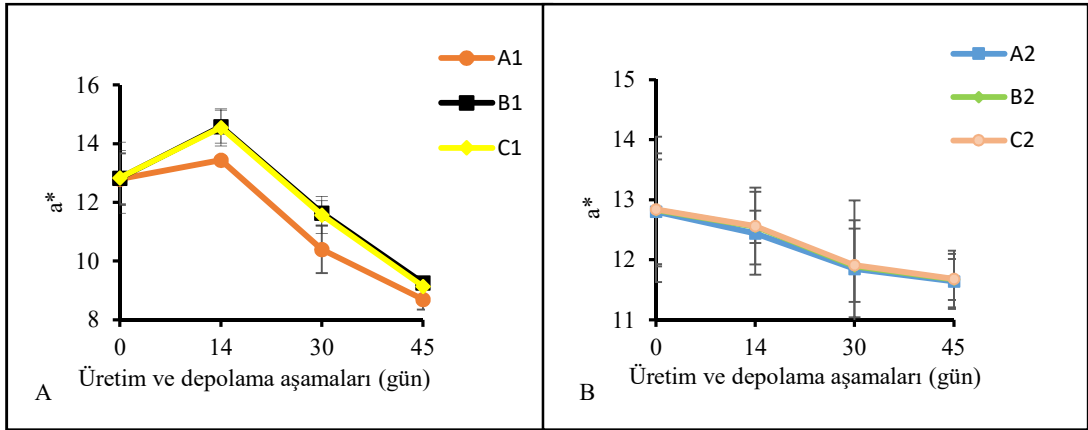
Elde edilen sonuçlar bazı sapmalar göstermekle beraber genel itibari ile önceki çalışmalarda [147, 190-193] bildirilen sınırlar içerisinde yer almıştır. Sapmanın nedeninin sucuk üretiminde kullanılan et-yag kalitesi ve oranı ile üretim koşulları farklılığı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.10 incelendiğinde; fermentasyon uygulanan sucuk grubunda a^* değerinin tüm alt gruplar için dinlenmiş hamurdan fermentasyonun 14. gününe kadar arttığı ($P<0.05$), ancak depolama aşamalarında (14, 30 ve 45. günlerde) azalma eğilimi gösterdiği görülmektedir ($P<0.05$). Üretim ve depolama aşamalarında örneklerin a^* değeri bakımından farklılık taşımadığı ($P>0.05$), starter kültür kullanımı ve kullanım formunun etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Isıl işlem ve fermentasyon örnekleri arasında net bir gruplaşma olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin başlangıç a^* değerlerinin literatürde yer alan sucuk çalışmalarının başlangıç koşulları ile uyumlu olduğu saptanmıştır [192, 193].

Sucuğun sahip olduğu pH, renk pigment konsantrasyonu, formülasyonda nitrit kullanımı, sıcaklık, bağıl nem, redoks potansiyeli gibi farklı parametreler a^* değerini niteleyen faktörler arasındadır [194, 195]. Fermentasyon grubunda a^* değerlerinin olgunlaşma süresinin ilk günlerinde kararlı bir şekilde artış gösterdiği bu durumun yapıda bulunan azotlu bileşenlerin myoglobin ile birleşerek nitrozomyoglobin oluşumundan kaynaklandığı, nitrozomyoglobin miktarındaki artışın pH ve redoks potansiyelinin hızla düşmesi ile ivme kazandığı ve nitrozomyoglobin miktarının artması ile üründe istenilen kırmızı renk açığa çıktığı bildirilmiştir. Olgunlaşma ilerledikçe a^* değeri farklı nedenlerin etkisi ile azalma eğilimine girmektedir. Laktik asit akümüasyonu nedeniyle myoglobin, oksimiyoglobin, nitrozomyoglobin gibi myoglobinin farklı yapı birimlerinde gerçekleşen toplam ya da kısmi denatürasyon, enzimatik ya da mikrobiyal reaksiyonlar sonucunda nitrozomyoglobin parçalanması sonucunda a^* değerinde azalma gerçekleştiği bildirilmiştir [16, 56, 194, 195].

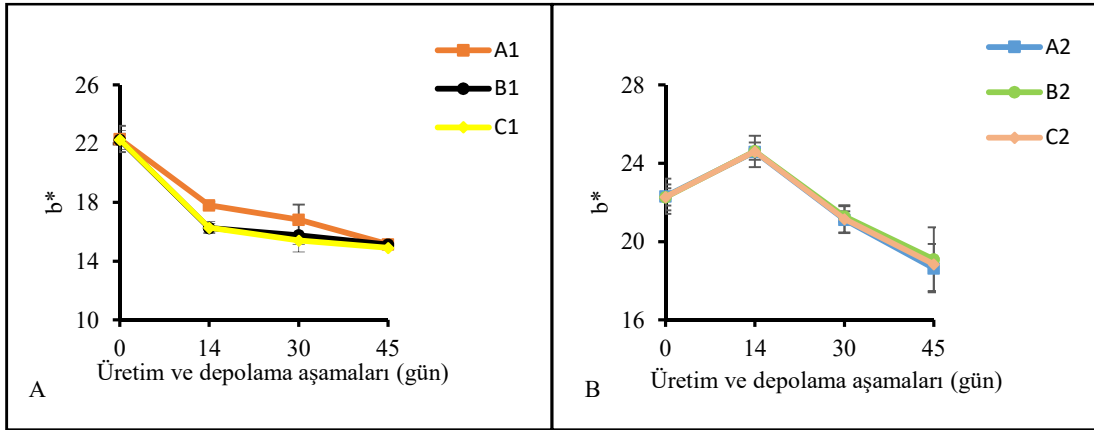
Bozkurt ve Bayram [16] tarafından yapılan çalışmada geleneksel yöntem ile üretilen sucuğun a^* değerinin olgunlaşmanın 5. gününde 8.5'den 11.5'e yükseldiği, ancak depolama süresinin sonunda (15.gün) 7.9'a düştüğü, Urtilla vd. [196] tarafından yapılan çalışmada sucuk örneklerinin a^* değerlerinin üretimin başında 9.47-12.40 olarak ve depolama süresi sonunda azalarak (28.gün) 5.69-6.08 arasında değişen değerler aldığı bildirilmiştir. Çalışmamızda fermentasyon grubunda gözlemlenen depolama süresince a^* değerindeki azalma birçok araştırmada [188, 190, 197, 198] saptanan bir değişimdir.



Şekil 4.18. Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen renk (a^*) değişimleri

Çiçek vd. [199] tarafından yapılan bir çalışmada fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile örnekler üretilmiş, üretim aşamasının ardından 13.86-14.34 olarak belirlenen a^* değerlerinin, fermentasyon sonrasında 16.67-16.73, ısıtma işlem aşamasının ardından 17.17-17.48'e yükseldiği ve sonrasında kuruma aşamasında 13.34-15.49 olarak belirlendiği bildirilmiştir. Çalışmada tüm örnekler için belirlenen a^* değerlerinin değinilen bulgular ile yakınlık taşıdığı tespit edilmiştir. Denктаş [189] tarafından yapılan çalışmada ise ısıtma işlem uygulamasının ardından 7.85-10.03 arasında değişen a^* değerlerinin depolama süresi ile düzenli bir şekilde azaldığı ve depolama süresi sonunda (60. gün) 5.52-6.44'e düştüğü saptanmıştır. Söz konusu bulgu ile çalışmamız sonuçları arasında gözlenen farklılığın üretimde kullanılan et ve diğer bileşen farklılığından, üretim ve olgunlaştırma tekniği farklılığından ve son ürünün sahip olduğu pH, a_w , kalıntı nitrit miktarı ve starter kültür kullanım farkından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin 0. gün b^* değerleri bakımından farklılık taşımadığı Çizelge 4.10'de görülmektedir ($P>0.05$). Devam eden depolama boyunca tüm örneklerin b^* değerlerinin azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Depolama aşamalarında fermentasyon ve ısıtma işlem örnekleri arasında gruplaşma olduğu tespit edilmiş ($P<0.05$), starter kültür kullanımı ve kültür kullanım formunun (serbest ve enkapsül) etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).



Şekil 4.19. Fermentasyon (A) ve ısıtma işlemi (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen renk (b^*) değişimleri

Son ürünün kalitesinden sorumlu parametrelerden biri olan b^* değeri üründe sarılığın ifadesidir. Sucuk formülasyonunda kullanılan biberin bileşenlerinden olan sarı / turuncu rengi veren karotenoidlerin b^* değeri üzerinde etkili olduğu, ayrıca üretim tekniğinin, kullanılan yağ miktarının, starter kültür kullanımı, depolama süresi ve sıcaklığın b^* değerini etkilediği belirtilmiştir. Sucuk üretiminde geleneksel ya da ısıtma işlemi prosesi son üründe belirlenen b^* değeri üzerinde etkili olduğu, üretim tekniği olarak ısıtma işlemi uygulamasının sucuğun b^* değerini yükselttiği bildirilmiştir. Ayrıca hem geleneksel hem de ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinde depolama periyodunda b^* değerinin azalması beklenmektedir. Söz konusu beklentinin gerekçeleri arasında esmerleşme reaksiyonları ile melanoidin oluşumu, sucukta bulunan mikroorganizmaların metabolik aktivitesi sonucunda yapıda bulunan oksijenin tükenmesi ve dolayısı ile oksimiyoglobin miktarının düşmesi ve myoglobinin yapısal değişime uğraması yer almaktadır [7, 57, 61, 141, 199, 200]. Yapılan çalışmalarda farklı sucuk örneklerinde b^* değeri için 11.5-26.20 [200] ve 18.69-23.84 [126] gibi sonuçlar elde edilmiştir. Bir başka çalışmada geleneksel yöntem ile üretilen sucuk örneklerinin b^* değerlerinin depolama süresi boyunca (180 gün) düzenli bir şekilde azaldığı ve depolama sonunda 17.46-19.02 arasında yer aldığı bildirilmiştir [192]. Isıtma işlemi uygulamasının b^* değerini yükselttiğini [124, 191, 201], geleneksel yöntem ile üretilen sucukların b^* değerinin 6.65-9.59 ve 70°C’de ısıtma işlemi uygulamasının ardından 10.53-10.64 olarak saptandığı [124], çalışmamız sonuçları ile literatür bulguları arasında yakınlık olduğu belirlenmiştir.

Farklı üretim yöntemleri ile elde edilen örneklerin varyans analiz sonuçlarına göre (Çizelge 4.11) ÜY, DS ve ÖFxDS bakımından L^* ve a^* değerlerindeki değişimin

istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$). ÖF, ÜYxÖF, ÖFxDS ve ÜYxDSxÖF interaksiyonlarının L^* ve b^* değerlerindeki değişim üzerinde önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). DS ve ÜYxDS bakımından a^* değerindeki değişimin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$). ÜY, ÖF, ÜYxÖF, ÖFxDS ve ÜYxDSxÖF interaksiyonlarının a^* değerindeki değişim üzerinde önemli etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.11. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin renk (L^* , a^* , b^*) değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	L^*		a^*		b^*	
	F	P	F	P	F	P
ÜY	284.42	0.000	4.10	0.054	179.23	0.000
DS	97.91	0.000	44.70	0.000	59.90	0.000
ÖF	2.31	0.121	1.64	0.216	0.64	0.538
ÜY x DS	50.71	0.000	19.48	0.000	28.08	0.000
ÜY x ÖF	1.21	0.316	1.18	0.324	0.59	0.563
ÖF x DS	0.03	1.000	0.23	0.964	0.14	0.989
ÜY x DS x ÖF	0.16	0.985	0.19	0.976	0.19	0.975

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu

4.2.9. Mikrobiyolojik analiz

4.2.9.1. Toplam aerofil mezofil bakteri (TAMB) sayısı

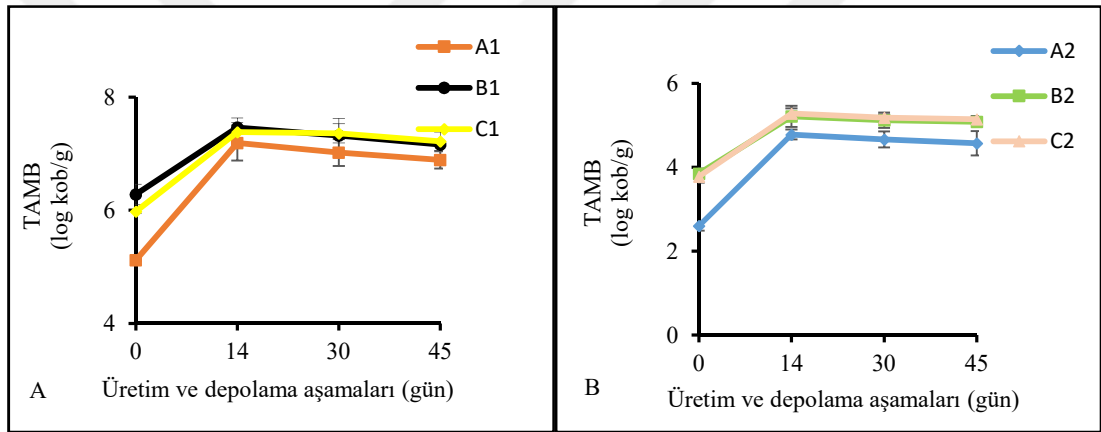
Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinde üretim ve depolama aşamalarında saptanan TAMB sayıları Çizelge 4.12 ve Şekil 4.20’de verilmiştir. Sucuk gruplarının TAMB sayısına ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.13’de verilmiştir.

Toplam aerofil mezofil bakteri sayısı bakımından fermentasyon ile üretilen örneklerde 0. gün farklılıklar olduğu ($P<0.05$), en yüksek hücre sayısının B1 (6.28 log kob / g) örneğinde bulunduğu, bunu C1 (5.98 log kob /g) ve A1 (5.12 log kob / g) örneğinin takip ettiği belirlenmiştir. Üretim süresi sonunda (14. gün) ise tüm örneklerde TAMB sayısının arttığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). Depolama aşamalarında (14, 30 ve 45. gün) fermentasyon ve ısıtma işlem örnekleri arasında gruplaşma olduğu ($P<0.05$), depolama süresi ile tüm örneklerin TAMB sayılarında önemsiz bir azalma olduğu belirlenmiştir ($P>0.05$). Fermentasyon örneklerinin TAMB sayıları üzerinde starter kültür kullanımı ve kullanım formu etkisinin olmadığı ($P>0.05$), ısıtma işlem örneklerinde ise starter kültür kullanımının etkisinin önemli olduğu bulunmuş

($P<0.05$), ancak, kullanım formunun bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$).

Serbest ve enkapsül formda starter kültür içeren örnekleri TAMB sonuçları için LAB, M-S bakteri sayım sonuçları paralel bir şekilde değişim göstermiş ve depolama süresi sonunda en yüksek canlı sayısının enkapsül formda starter kültürün kullanıldığı örnekte olduğu belirlenmiştir. TAMB sayısının M-S'ların salınımına bağlı olarak arttığı düşünülmektedir.

Isıl işlemin ardından tüm örnek grupları için canlı hücre sayısında önemli seviyede azalma olduğu, enkapsülasyon prosesinin gerçekleşen kaybı azalttığı (A2, B2 ve C2 örneklerinde sırası ile 2.52 log, 2.43 log ve 2.2 log azalma ile) TAMB sonuçlarında da belirlenmiştir.



Şekil 4.200. Fermentasyon (A) ve ısıl işlem (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim ve depolama aşamalarında TAMB sayısı

Çizelge 4.122 Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim ve depolama aşamalarında mikrobiyoloji sonuçları (log kob/g) *

MikroorganizmaGün		Fermente				Isıl işlem			
		A1	B1	C1		A2	B2	C2	
				C1-s	C1-k			C2-s	C2-k
LAB	0	1.03±0.03 ^{b,A}	7.32±0.08 ^{g,A}	2.81±0.21 ^{d,A}	6.88±0.02 ^{f,C}	0.69±0.15 ^{a,A}	2.19±0.11 ^{c,A}	2.77±0.13 ^{de,A}	5.72±0.33 ^{e,B}
	14	6.82±0.01 ^{e,C}	8.53±0.24 ^{f,B}	8.55±0.06 ^{f,C}	2.32±0.07 ^{ab,B}	1.82±0.13 ^{a,B}	2.53±0.19 ^{b,AB}	4.64±0.36 ^{d,B}	3.87±0.07 ^{e,A}
	30	6.79±0.04 ^{e,C}	7.69±0.06 ^{f,A}	7.44±0.39 ^{f,B}	2.15±0.09 ^{a,AB}	2.44±0.05 ^{ab,C}	2.79±0.32 ^{b,B}	4.96±0.04 ^{d,B}	3.77±0.28 ^{e,A}
	45	6.63±0.00 ^{e,B}	7.24±0.35 ^{f,A}	7.30±0.30 ^{f,B}	2.04±0.04 ^{a,A}	2.17±0.02 ^{ab,C}	2.48±0.08 ^{b,AB}	4.82±0.07 ^{d,B}	3.71±0.11 ^{e,A}
M-S	0	3.65±0.23 ^{b,A}	6.89±0.03 ^{f,B}	4.68±0.18 ^{c,A}	6.29±0.27 ^{e,C}	1.25±0.24 ^{a,A}	3.63±0.04 ^{b,A}	1.57±0.26 ^{a,A}	5.80±0.12 ^{d,B}
	14	5.39±0.46 ^{b,B}	7.12±0.29 ^{c,B}	6.99±0.78 ^{c,B}	3.39±0.26 ^{a,B}	3.35±0.18 ^{a,B}	4.77±0.18 ^{b,C}	4.81±0.08 ^{b,C}	3.67±0.14 ^{a,A}
	30	4.86±0.15 ^{e,B}	5.85±0.07 ^{f,A}	6.12±0.30 ^{f,B}	2.58±0.33 ^{a,A}	3.21±0.13 ^{b,B}	4.06±0.15 ^{cd,B}	4.24±0.15 ^{d,B}	3.65±0.08 ^{bc,A}
	45	4.55±0.39 ^{e,AB}	5.76±0.14 ^{f,A}	5.79±0.08 ^{f,AB}	2.41±0.21 ^{a,A}	3.10±0.17 ^{b,B}	3.92±0.04 ^{cd,AB}	4.08±0.04 ^{d,B}	3.60±0.03 ^{c,A}
TAMB	0	5.12±0.02 ^{c,A}	6.28±0.18 ^{d,A}	5.98±0.04 ^{a,A}		2.60±0.11 ^{b,A}	3.85±0.12 ^{b,A}	3.78±0.15 ^{e,A}	
	14	7.19±0.31 ^{b,B}	7.46±0.09 ^{b,B}	7.38±0.25 ^{b,B}		4.78±0.12 ^{a,B}	5.21±0.25 ^{a,B}	5.28±0.12 ^{a,B}	
	30	7.02±0.24 ^{b,B}	7.32±0.30 ^{b,B}	7.36±0.17 ^{b,B}		4.66±0.19 ^{a,B}	5.12±0.18 ^{a,B}	5.18±0.08 ^{a,B}	
	45	6.89±0.15 ^{c,B}	7.16±0.01 ^{c,B}	7.22±0.16 ^{c,B}		4.57±0.29 ^{a,B}	5.08±0.03 ^{b,B}	5.14±0.08 ^{b,B}	
Maya- Küf	0	3.27±0.10 ^{a,A}	3.02±0.60 ^{a,A}	3.18±0.04 ^{a,A}		3.08±0.07 ^{a,A}	2.82±0.24 ^{a,A}	3.01±0.92 ^{a,A}	
	14	3.57±0.15 ^{b,A}	2.96±0.96 ^{a,A}	3.04±0.04 ^{a,A}		3.15±0.09 ^{a,A}	3.01±0.05 ^{a,A}	3.14±0.20 ^{a,A}	
	30	3.42±0.17 ^{b,A}	2.86±0.23 ^{a,A}	2.91±0.17 ^{a,A}		3.07±0.14 ^{ab,A}	3.01±0.04 ^{ab,A}	3.05±0.19 ^{ab,A}	
	45	3.22±0.12 ^{a,A}	2.82±0.24 ^{a,A}	2.87±0.24 ^{a,A}		3.05±0.14 ^{a,A}	2.96±0.02 ^{a,A}	2.92±0.05 ^{a,A}	
Koliform	0	2.63±0.05 ^{b,AB}	TE	TE		TE	TE	TE	
	14	2.84±0.007 ^{b,B}	TE	TE		TE	TE	TE	
	30	2.67±0.194 ^{b,AB}	TE	TE		TE	TE	TE	
	45	2.40±0.131 ^{b,A}	TE	TE		TE	TE	TE	

* Ortalama ± standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2), Aynı satır farklı küçük harflerle (a-g) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1-s: fermente, serbest starter kültür; C1-k: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıtma işlem, starter kültürsüz; B2: ısıtma işlem, serbest starter kültür; C2-s: ısıtma işlem, serbest starter kültür; C2-k: ısıtma işlem, enkapsül starter kültür; TE: Tespit Edilmedi

Çalışmada tüm örnek gruplarının TAMB sayısında üretim sürecinde artma, depolama sürecinde ise düşme yönünde gerçekleşen değişimin literatürde yer alan bilgi ve bulgular [57, 61, 202-204] ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Bu bağlamda literatürde yer alan bazı değerlendirmeler şu şekildedir; Wardlaw vd. [205] tarafından yapılan bir çalışmada sucuk örneklerinin TAMB sayısında fermentasyon sürecinde yaklaşık 2 log birim artış, ısıtma uygulaması (merkez noktada 63-71°C) ile 4.5 log birim azalma ve depolama süresi boyunca 1 log birim düşüş gerçekleştiği bildirilmiştir. Araştırmacının ısıtma uygulaması ile belirlediği mikrobiyal azalma düzeyi çalışmamızda belirlenenden daha yüksektir. Ertaş [190] sucuk örneklerinde TAMB sayısının fermentasyonun 5. gününde en yüksek değere ulaştığını 6.52-8.34 log kob/g, ancak ısıtma uygulaması ile 2.07-3.20 log kob/g düzeylerine azaldığını bildirmiştir. Sidira vd. [114] tarafında yapılan bir çalışmada enkapsül ve serbest formda kültür içeren sucuk örneklerinin TAMB sayısının depolama süresince azaldığını depolama süresi sonunda (66. gün) en düşük sayının kontrol grubunda olduğunu (7 log kob/g) serbest ve enkapsül örnekleri için sayının daha yüksek birbirine yakın olduğunu (8 log kob/g) bildirmiştir. Son iki çalışma sonuçlarının bulgularımıza yakın değerler olduğu söylenebilir.

Fermentasyon ve ısıtma uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin TAMB sayısı üzerinde varyasyon kaynaklarından ÜY, DS, ÖF ve ÖFxDS interaksiyonunun etkisinin önemli olduğu ($P<0.05$), ÜYxDS, ÜYxÖF ve ÜYxDSxÖF interaksiyonlarının etkisinin önemli olmadığı Çizelge 4.13’de görülmektedir ($P>0.05$).

Çizelge 4.133. Fermentasyon ve ısıtma uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin TAMB sayılarına ilişkin varyans analiz sonuçları

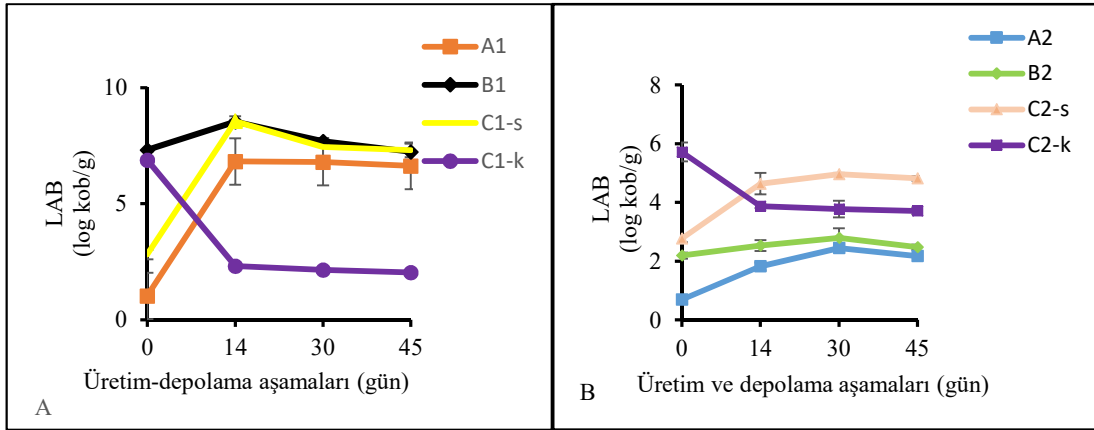
Varyasyon Kaynakları	TAMB sayısı	
	F	P
ÜY	1.8	0.00
DS	209.1	0.00
ÖF	52.8	0.00
ÜY x DS	0.7	0.54
ÜY x ÖF	2.1	0.14
ÖF x DS	5.6	0.00
ÜY x DS x ÖF	0.1	0.99

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu

4.2.9.2. Laktik asit bakterileri (LAB)

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinde üretim ve depolama süresince belirlenen laktik asit bakteri sayıları Çizelge 4.12’de ve Şekil 4.21’de verilmiştir. Çizelgede C-s (serbest) ve C-k (enkapsül) olarak sembolize edilen örnek gruplarında enkapsülasyonun canlı LAB sayısına etkisini (getirisini) daha net ortaya koymak için verilmiştir. C grubu sonuçları bu iki değerin toplamı olup bu duruma dikkat edilmesi hususunun özellikle vurgulanması ve yapılacak değerlendirmelerin bu kapsamda olması gerekmektedir.

Çizelge 4.12 incelendiğinde; farklı üretim tekniği ve formülasyona sahip olan sucuk örneklerinin depolama süreçleri sonunda LAB sayısında belirgin farklılıklar olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Üretim periyodunun başlangıcında (0. gün) LAB sayısı B1 ve C1-k örneklerinde sırası ile 7.32 6.88 log kob / g olarak belirlenmiştir. Depolama süresinin başlangıcı olan 14. günde A1, B1 ve C1-s örneklerinde LAB sayısının arttığı (sırasıyla 6.82, 8.53 ve 5.55 log kob/g) ($P<0.05$), ancak C-k örneğinde (enkapsül formda starter kültür içeren) enkapsüle bakteri sayısının azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Özellikle fermentasyon sürecinden geçen örnekte enkapsül formda bakteri sayısının azalma oranının daha yüksek olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Üretim sürecinde C-k örneğinde bulunan enkapsül formda canlı hücrelerin zamanla salınımı ve dolayısıyla sayı azalması beklenen bir durumdur. 14. gün sonuçlarında örnekler arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Devam eden depolama aşamalarında (30 ve 45.gün) fermentasyon örneklerinde LAB sayısının azalma eğilimine girdiği, bu süreçte örneklerde gerçekleşen değişikliğin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Depolama süresi sonunda en yüksek LAB sayısının C1-s (7.30 log kob/g) örneğinde tespit edildiği, sıralamanın B1 (7.24 log kob/g) ve A1 (6.63 log kob/g) olarak devam ettiği belirlenmiştir. Fermentasyon örneklerinin sahip olduğu LAB sayısının üretimde kullanılan starter kültürden etkilendiği ancak ($P<0.05$), kültürün kullanım formundan etkilenmediği belirlenmiştir ($P>0.05$).



Şekil 4.211. Fermentasyon (A) ve ısıl işlem (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim ve depolama aşamalarında LAB sayısındaki değişim

Üretim ve depolama aşamalarında C1 örneğinde serbest ve enkapsül formda bakteri sayısı değişiklik göstermiştir. Fermentasyon sonunda serbest formdaki (C1-s) canlı hücre sayısı enkapsül formdaki yapıdan salınımın gerçekleşmesine bağlı olarak oldukça yüksek rakamlara ulaşmıştır. Çalışmamızın Bölüm 4.2.5’ de verilen pH sonuçları mikroorganizma değişim sonuçlarını açıklamada bir veri olarak kullanılabilir.

Çizelge 4.144. Enkapsül fomda bulunan LAB ve M-S’in üretim ve depolama aşamalarında salınım oranları

Starter Kültür	Salınım Oranı (%)					
	C1 örneği			C2 örneği		
	ÜA	DA	TSO	ÜA	DA	TSO
LAB	66.80	4.01	70.81	44.63	2.29	46.92
M-S	51.50	14.02	65.52	47.49	1.00	48.49

ÜA; Üretim Aşaması (14 gün), DA; Depolama Aşaması (30.gün), TSO; Toplam Salınım Oranı (0, 14, 30 ve 45. gün),

Fermentasyonun ilk 5 günü çok hızlı bir pH düşüşüne bağlı olarak mikroorganizma sayısı artmış, ancak, devam eden üretim süresinde laktik asit artışının ivme kaybetmesiyle mikroorganizma sayısı ilk periyoda kıyasla daha yavaş artarak durma noktasına gelmiştir. LAB depolaması süresince belirlenen canlı hücre sayıları kullanılarak enkapsül formdan gerçekleşen salınım hesaplanmıştır. Çizelge 4.14 incelendiğinde; depolama süresi sonunda enkapsül yapısından salınım oranı %70.81 olarak belirlenmiştir. Kabuk materyallerinin tabiatı salınımı birinci dereceden etkileyen faktörler arasındadır. Daha önce belirtildiği gibi sodyum aljinat ve nişasta kombinasyonundan oluşan kabuk materyalinin aside direnme kabiliyetine nişastanın

katkıda bulunması ile enkapsül formda canlı hücre mevcudiyetinin depolama süresi sonuna kadar devam ettiği düşünülmektedir.

Isıl işlem örnek grubuna uygulanan ısıl işlemin örnekler arasında farklılığa neden olduğu görülmektedir (Çizelge 4.12) ($P<0.05$). Üretim sonrasında sonuçlar incelendiğinde uygulanan ısıнын etkisi ile A2 ve B2 örneklerinde önemli bir azalma belirlenirken ($P<0.05$), C2 örneği için formülasyon farkı dikkat çekmektedir ($P<0.05$). Çizelgede verilen sonuçların üzerinden hareketle; serbest formda starter kültür kullanımında ısıl işlem sonucu canlı hücre sayısında %68.71 (B2 örneği; 4.81 log azalma) oranında bir kayıp varken, enkapsüle starter kültür kullanımında bu oran %18.16 (C2 örneği; 1.27 log azalma) olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar ışığında starter kültürün enkapsülasyonu sayesinde ısıl işlem uygulaması sonucunda canlı hücre sayısında oldukça önemli bir başarının sağlandığı söylenebilir.

Isıl işlem ile üretilen örneklerin depolama aşamalarında (30 ve 45.gün) LAB sayısının azalma eğilimine girdiği, bu süreçte örneklerde gerçekleşen değişikliğin istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Isıl işlem örneklerinin sahip olduğu LAB sayısının üretimde kullanılan starter kültürden ve kültürün kullanım formundan etkilendiği ($P<0.05$) belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda en yüksek LAB sayısının C2-s (4.82 log kob/g) örneğinde tespit edildiği, sıralamanın B2 (2.48 log kob/g) ve A2 (2.17 log kob/g) olarak devam ettiği belirlenmiştir.

Isıl işlem uygulanan sucuk örneğinde enkapsül formda kullanılan LAB salınım düzeyi %46.92 olarak tespit edilmiştir. Fermentasyon grubunun C1 örneğinde salınım düzeyinin daha yüksek (%70.81) olduğu belirlenmiştir. Bu durumun uygulanan ısıl işlem sonucunda enkapsül morfolojik yapısının daha sert bir yapı kazanması ve salınımı engellemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sucuk üretiminde LAB kullanımı son ürün kalitesini doğrudan etkileyen bir parametredir. Hammaddeden (özellikle etten) kaynaklanan ya da üretimde starter kullanımı ile dahil olan LAB, sucuk hamurunda bulunan karbonhidratlardan organik asit (laktik asit) üretmekte ve son ürünün karakteristik özelliklerini (renk, tekstür, uçucu, ürünün mikrobiyolojik güvenliği, üründe düzenli asitlik gelişimi vb.) etkilemektedir. Sucuk üretiminde LAB gelişiminde adaptasyon, çoğalma ve azalma aşamaları gözlemlenmektedir. Aynı süreç ısıl işlem uygulamasının ardından da gerçekleşmektedir. Uygulanan ısıl işlem süresi ve sıcaklık derecesine bağlı olarak

LAB ve sucuk mikroorganizma florası hasar görmekte ve sayıları azalmaktadır. Uygulanan ısıtma işlem sıcaklığının 50°C'den 60°C'ye çıkarılmasıyla LAB sayısında oldukça büyük bir azalma meydana geldiği yapılan çalışmalarda belirlenmiştir [56, 135, 136].

LAB sayısının fermentasyon sürecinde arttığı, depolama aşamasında ise azalmaya başladığı, [120, 206] en düşük azalma oranının *L. plantarum* ve *L. brevis* 'de olduğu bildirilmiştir. Gençcelep vd. [100] tarafından yapılan çalışmada fermentasyonun başında 6.07 log kob/g olarak belirlenen LAB sayısının fermentasyon sonunda 8.34 log kob/g'a yükseldiği belirtilmiştir. Bir başka çalışmada [4] fermentasyonun ilk 5 gününde LAB sayısının 4-6 log kob/g'den 7-9 log kob/g'a yükseldiği ancak fermentasyonun son aşamalarında sayının 7-8 log kob/g'a düştüğü ve depolamanın 30. gününde önemli bir değişim olmadığı (7 log kob/g) saptanmıştır. Essid ve Hassouna [155] ise LAB sayısını üretimin başında 7.5-8 log kob/g ve depolama sonunda 5.5-7 log kob/g olarak bildirmiştir. LAB sayısında değinilen süreçlerde benzer değişimlerin olduğu başka çalışmalarda da saptanmıştır [56, 135].

Elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumlu olarak Perez-Chabella vd. [21] enkapsül ve serbest formda canlı hücre sayılarını sırası ile 1. gün 3.90 ve 3.78 log kob/g, 8. gün 7.32 ve 6.16 log kob/g olarak saptamış, enkapsülasyon işlemi ile depolama süresinde daha yüksek sayıda canlı hücre sayısı elde edildiğini ve starter kültürlerin enkapsülasyonunun emülsüfiye et ürünlerinde proses öncesi, işlem ve depolama sürelerinde canlı hücre sayısını arttıracakını bildirmiştir.

4.2.9.3. Mikrokok-Stafilokok (M-S) değişimi

M-S yükü üzerine üretim tekniği, formülasyon ve depolama süresi etkisi Çizelge 4.12 ve Şekil 4.22'de verilmiştir.

Farklı üretim teknikleri ile elde edilen örneklerin 0. gün M-S sayılarında örnekler arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir ($P<0.05$). Fermentasyon örneklerinde 0. gün tespit edilem M-S sayıları A1, B1 ve C1-k örneklerinde sırası ile 3.65, 6.89 ve 6.29 log kob/g'dır. Üretim sürecinin sonunda (14. gün) hem fermentasyon hem de ısıtma işlem örneklerinin M-S sayılarının artış gösterdiği ($P<0.05$), ancak, her iki üretim grubunda da enkapsül formda bulunan canlı hücre sayısının gerçekleşen salınım etkisi ile sayılarının azaldığı belirlenmiştir. Fermentasyon

örneklerinde üretim süresi sonunda M-S yükünün 5.39-7.12 log kob/g, ısıl işlem örneklerinde ise 3.35-4.81 log kob/g aralığında değiştiği görülmektedir. Devam eden depolama her iki grup örneklerin M-S sayılarında azalma gerçekleştiği ancak bu değişikliğin istatistiksel olarak önemli olmadığı (A1 ve B2 örneği hariç) belirlenmiştir ($P>0.05$). Depolama süresi sonunda fermentasyon uygulanan örneklerde starter kullanımı ile M-S sayısının etkilendiği ($P<0.05$), ancak kullanım formundan kaynaklanan bir etkinin olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Isıl işlem uygulanan örnekler arasında ise starter kültür kullanımı ve kullanım formunun etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

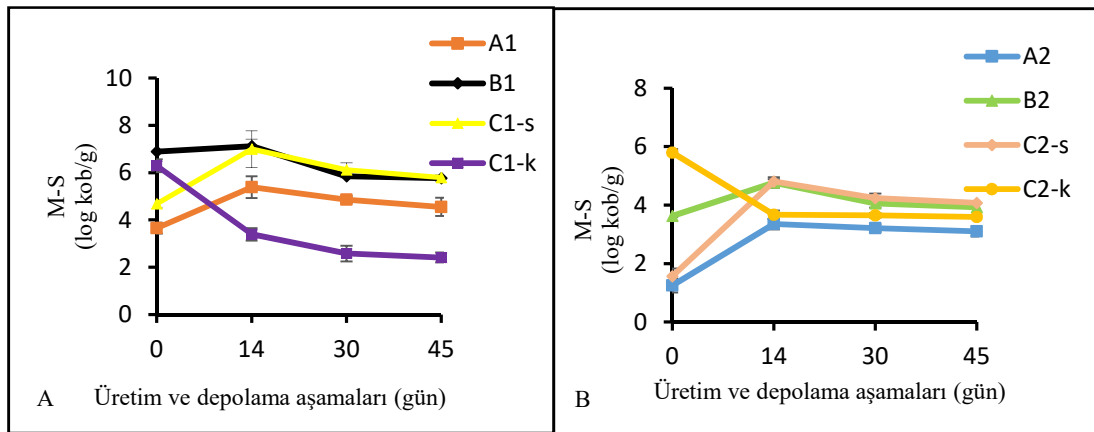
Fermentasyon uygulanan örneklerde fermentasyon aşamasında M-S yükünün arttığı ancak bu çoğalmanın LAB sayısına kıyasla daha düşük kaldığı görülmektedir. Söz konusu durumun ortamın pH değerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan araştırmalarda LAB'nin sucuk ortamında adaptasyon sürecini daha hızlı tamamlayarak daha hızlı çoğaldığı ve buna bağlı olarak pH'nın hızla düştüğü ve sonuçta M-S'lerin çoğalma hızının azaldığı bildirilmiştir [135]. Depolama aşamasında M-S sayısının azalma yönündeki değişimi beklenen bir sonuçtur, fermentasyon süresinde gerçekleşen pH düşüşü, hem fermentasyon hem de depolama süresinde a_w değerindeki azalma ve sucuk habitatında gerçekleşen mikroflora rekabeti bu beklentiyi açıklamaktadır. Fermentasyon grubunun tüm örnekleri karşılaştırmalı olarak incelendiğinde M-S hücrelerinin enkapsülasyon işlemi ile korunabileceği görülmektedir. Örneklerin 45. gün M-S yükleri dikkate alındığında en yüksek sayının enkapsül formda starter kültür içeren sucuk örneğinde olduğu görülmektedir. C grubu örneklerinde M-S sayılarındaki değişim LAB sonuçlarında değinilen tarzıdır. C1-k örneğindeki canlı hücre sayısını enkapsül yapıdan gerçekleşen salınımın etkilediği düşünülmektedir. C1 örneğinde salınımın en hızlı periyodunun fermentasyon aşamasında gerçekleştiği ve sonraki aşamalarda daha yavaş devam ettiği belirlenmiştir. Depolama sonunda %65.52 olarak belirlenen salınım oranının %51.50'si fermentasyon, %14.02'si depolama aşamasında gerçekleşmiştir.

Isıl işlemin ardından canlı hücre sayısının B2 örneğinde önemli ($P<0.05$) bir şekilde (azalma oranı 3.36 log) azaldığı, fakat aynı işlem koşullarının enkapsül formda (C2-k) bulunan canlı hücre sayısını daha ılımlı düzeyde (1.19 log azalma) etkilediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında enkapsülasyon teknolojisinin starter kültür

hücrelerini önemli ($P<0.05$) seviyede koruduğu çalışmada erişilen önemli bulgular arasındadır.

Isıl işlem uygulanan sucuk örneğinde enkapsül formda kullanılan M-S salınım oranı Çizelge 4.14 verilmiştir. Depolama süresi sonunda belirlenen salınım oranı %48.49. Fermentasyon örneklerinde depolama süresi sonunda salınım oranı %65.52 olarak belirlenmiştir. Bu durumda fermentasyon koşullarında salınımın daha hızlı gerçekleştiği, uygulanan ısıl işlemin salınım hızını yavaşlattığı söylenebilir. Benzer durum LAB için de belirlenmiştir. Daha önce değinildiği gibi söz konusu sonucun uygulanan ısıl işlemin kabuk materyalinde gerçekleştirdiği yapısal değişiklik sonunda yaşandığı düşünülmektedir

Ayrıca ısıl işlem uygulaması ile serbest ve enkapsül formda bulunan LAB ve M-S (Çizelge 4.12) sayılarındaki azalma oranı farklılığı dikkat çekmektedir. LAB için serbest ve enkapsül formda ısıl işlem sonrası redüksiyon miktarı sırası ile 4.81, 1.27 log iken, M-S için bu oranlar sırası ile 3.36 ve 1.19 log olarak belirlenmiştir. Böylece M-S canlı hücrelerin LAB'ne kıyasla uygulanan işleme daha dirençli olduğu söylenebilir. Elde edilen bu bulguya benzer şekilde, Çakır [135] tarafından yapılan çalışmada 65°C ısıl işlemin serbest bakteri sayısındaki azalma miktarının LAB ve M-S için sırasıyla 3.5 log ve 2 log olduğu, ayrıca *S. xylosus*'un *L. plantarum*'a nazaran uygulanan ısıl işleme karşı daha dirençli olduğu bildirilmiştir. Rakamsal değerlerin daha yüksek olması üretimde kullanılan başlangıç canlı hücre sayısı, üretim ve ısıl işlem koşullarının farklılığından ve son ürün pH dan kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.222. Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin üretim ve depolama aşamalarında M-S sayısındaki değişim

Sucuk üretiminde son ürünün karakteristik özelliklerinin sağlanması için M-S starter kültürün kullanımı son derece önemlidir. Stafilokok canlı hücreleri sahip oldukları nitrit-nitrat redüktaz ve katalaz aktiviteleri nedeni ile son üründe istenilen renk oluşumu ve korunmasında ayrıca uçucu bileşenlerinin oluşumunda etkilidir [8].

Bilge [59] sucuk örneklerinde 0. ve 9. günlerde belirlenen M-S sayılarını sırası ile 6.31 log kob/g ve 6.78 log kob/g olarak saptamıştır. Tunus'ta yapılan bir çalışmada [155] M-S sayısının önce arttığını (4-5 log kob/g'den 8 log kob/g'a) ve depolama süresi sonunda azaldığı (7 log kob/g) bildirmiştir. Depolama sonunda erişilen sayılar çalışmamızda saptanan değerlerden daha yüksektir. Bununla beraber sonuçlarımızın bazı literatür bulgularıyla uyumlu olduğu da saptanmıştır. Zhao vd. [144] M-S sayılarını üretim başında ve üretim süresi sonunda (7.gün) kontrol ve starter kültür içeren örneklerinde sırası ile 2.29-4.93 ve 5.92-5.19 log kob/g olarak bildirmiştir. Benzer şekilde bir başka çalışmada 0 ve 49. günlerde M-S sayıları sırası ile 4.30-5.84 log kob/g olarak bildirilmiştir [153]. Çalışmamızda M-S sayım sonuçları literatürde bildirilen M-S sayım sonuçları aralığında yer almaktadır. Benzer bulgulara diğer bazı çalışmalarda da [56, 135] erişilmiştir.

Farklı üretim teknikler kullanılarak elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen LAB ve M-S değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.14'de verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi, ÜYxDSxÖF interaksyonu hariç diğer varyasyon kaynaklarının örneklerin LAB ve M-S sayıları üzerinde etkilerinin istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.155. Fermentasyon ve ısıtım işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin starter kültür miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	LAB		M/S	
	F	P	F	P
ÜY	2.3	0.00	563.5	0.00
DS	106.5	0.00	33.4	0.00
ÖF	307.9	0.00	140.9	0.00
ÜY x DS	42.3	0.00	25.1	0.00
ÜY x ÖF	602.3	0.00	115.9	0.00
ÖF x DS	241.7	0.00	84.0	0.00
ÜY x DS x ÖF	56.5	0.00	0.5	0.84

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu, LAB; laktik asit bakterisi, M/S; mikrokok, stafilokok

4.2.9.4. Maya ve küf sayısı

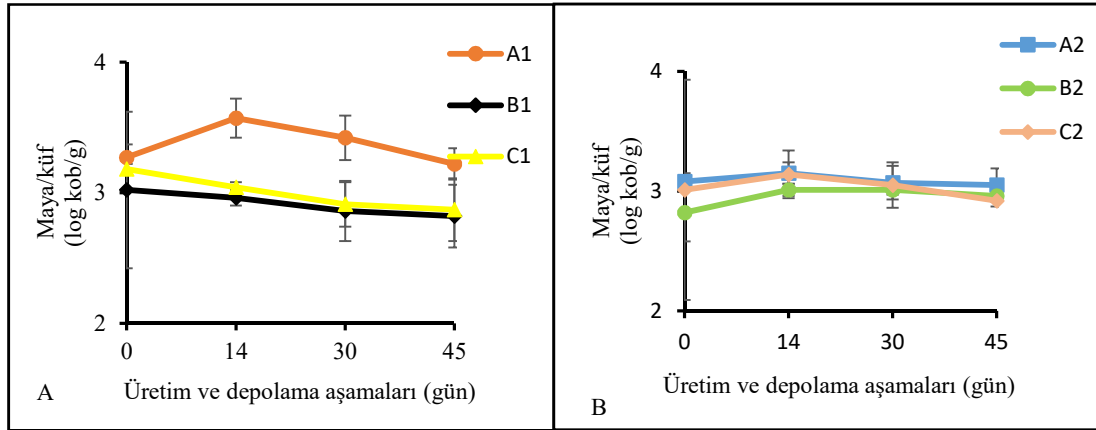
Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim ve depolama süresi boyunca maya ve küf sayısında gerçekleşen değişiklikler Çizelge 4.12 ve Şekil 4.23’de verilmiştir. Sucuk gruplarının maya ve küf sayısına ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.16’da verilmiştir.

Çizelge 4.12 incelendiğinde; 0. günde örnekler arasında farklılık oluşmadığı ($P>0.05$), örneklerin maya ve küf sayısının 3.02-3.27 log kob/g aralığında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Depolamanın 30. günü fermentasyon ve ısıtma işlem grupları arasında bir kümeleşme olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Fermentasyon grubunda starter kültür kullanımı farklılığa sebep olduğu ($P<0.05$), en yüksek maya küf sayısının A1 (3.22 log kob/g) örneğinde bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca, starter kültür kullanım formunun maya küf sayısı üzerinde etkisinin olmadığı (B1 ve C1 örneğinde sırası ile 2.82 ve 2.87 log kob/g) tespit edilmiştir ($P>0.05$). Depolama süresince gerçekleşen değişikliğin önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$).

Sucukta kullanılan hammaddeden (et, yağ ve baharatlar) ya da üretim ve ortam koşullarından kaynaklı maya küf mevcudiyeti söz konusu olabilmektedir. Maya ve küfler oldukça düşük su aktivitesi ve pH değerlerinde çoğalabilmeleri nedeni ile sucuk kalitesinde önemli rol oynamaktadırlar.

Sucuk mikroflorasında rekabet olmaması nedeni ile en yüksek maya küf sayısı starter kültür kullanımının olmadığı sucuk örneğinde saptanmıştır. Kullanılan starter kültür ile mevcut mikroflora arasında rekabet olduğu ve bu ortamda maya küf gelişiminin daha düşük seviyelerde kaldığı, ayrıca enkapsülasyon ile rekabet gücünde herhangi bir kayıp yaşanmadığı belirlenmiştir.

Starter kültür kullanımının olduğu örneklerde maya küf sayısının kontrol örneklerine kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiş, bu verinin literatürde yer alan bilgi ve bulgular [57, 100] ile uyumlu olduğu saptanmıştır. Literatürde üretimin başlangıcında maya-küf sayılarının 3-4 log kob/g seviyelerinde iken ve farklı günlerde olmakla beraber depolama sonunda bu sayının yaklaşık 2-3 log kob/g olduğu farklı çalışmalarla belirlenmiştir [7, 24, 190, 204, 207]. Söz konusu sonuçlar çalışmamızda elde ettiğimiz bulguları doğrular niteliktedir.



Şekil 4.23. Fermentasyon (A) ve ısıt işlem (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen maya-küf sayılarındaki değişim

TGK Et ve Ürünleri Tebliği'ne göre [48]; olgunlaşma dönemi sonunda son üründe maya küf sayısı en fazla 1.0×10^2 kob/g olarak belirtilmiştir. Çalışmamızda incelenen sucuk grupları ve alt gruplarının ölçüm yapılan günler bazında farklılıklar göstermekle birlikte belirtilen sınırın üstünde maya küf sayısına sahip olduğu saptanmıştır.

Fermentasyon ve ısıt işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin maya-küf sayısı üzerinde varyasyon kaynaklarından sadece örnek formülasyonunun bir değişikliğe neden olduğu ($P < 0.05$), diğer varyasyon kaynaklarının (ÜY, DS, ÖF x DS, ÜY x DS, ÜY x ÖF ve ÜY x DS x ÖF interaksiyonlarının) önemli bir etken olmadığı Çizelge 4.28'de görülmektedir ($P > 0.05$).

Çizelge 4.16. Fermentasyon ve ısıt işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin maya-küf sayılarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Maya/küf		Koliform	
	F	P	F	P
ÜY	1.6	0.21	3.9	0.00
DS	1.5	0.23	4.4	0.01
ÖF	9.4	0.00	3.9	0.00
ÜY x DS	0.6	0.64	4.4	0.01
ÜY x ÖF	3.6	0.04	3.9	0.00
ÖF x DS	0.3	0.92	4.4	0.00
ÜY x DS x ÖF	0.5	0.79	4.4	0.01

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu

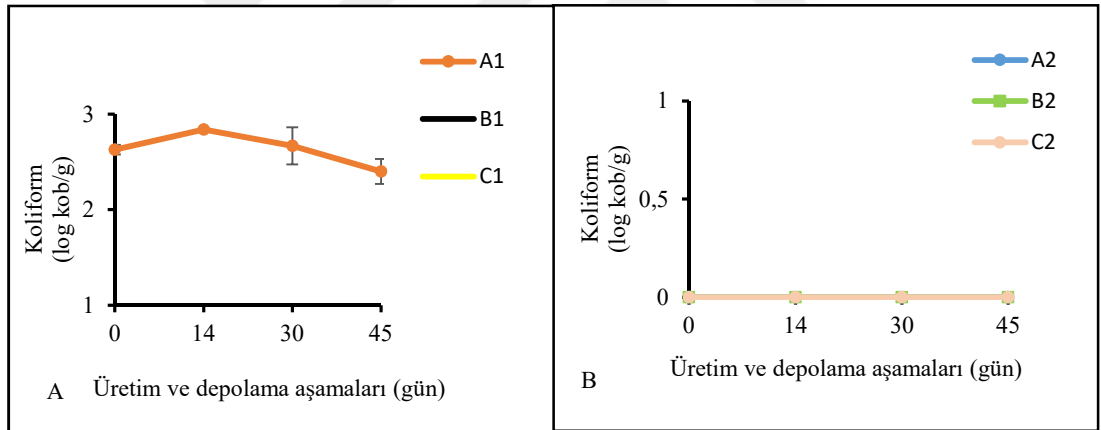
4.2.9.5. Koliform bakteri sayısı

Fermentasyon ve ısıt işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin üretim ve depolama süreçlerindeki koliform sayım sonuçları Çizelge 4.12 ve Şekil

4.24’de verilmiştir. Sucuk gruplarının koliform sayısına ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.16’da verilmiştir.

Tüm örnek grupları içerisinde sadece starter kültür kullanılmayan kontrol örneğinde koliform grubu bakteri varlığı belirlenmiş ve üretim sürecinde bu örnekteki değişimin istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Fermentasyon grubunun diğer örnekleri (B1 ve C1) ve tüm ısıtma işlem örneklerinde koliform bakteri sayısının saptama limitinin (<1 log kob/g) altında kaldığı belirlenmiştir.

Fermentasyon uygulanan sucuk örnekleri arasında A1 örneğinde koliform bakteri tespiti starter kültür kullanımının ürün güvenilirliğini artırdığını göstermektedir. Depolama süresi ile A1 örneğinde koliform grubu bakteri sayısındaki azalmada (2.84 log kob/g’den 2.40 log kob/g’a) fermentasyon sonucu öncelikle laktik asit olmak üzere, diğer metabolitlerin (diğer organik asitler ve muhtemelen bakteriyosin) mevcudiyetinin, mikrobiyal flora arasındaki rekabetin ve üründe gerçekleşen kurumanın etkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.24.Fermentasyon (A) ve ısıtma işlem (B) uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen koliform sayılarındaki değişim

Koliform grubu bakteriler gıda endüstrisinde indikatör mikroorganizma olarak yaygın kullanılmaktadır. Gıda örneklerinde mevcudiyetleri ürün için kullanılan hammaddenin mikrobiyolojik kalitesinin şüpheli olduğunu ya da hazırlama, üretim, olgunlaştırma gibi proses aşamalarında operatör ve alt yapı koşullarından kaynaklı kontaminasyon ihtimalinin varlığını ifade etmektedir [141]. Yapılan çalışmalarda üretim- depolama süreçlerinde koliform bakteri sayısının 2.60 - 4.02 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir [3, 61, 141, 148].

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin koliform sayısı üzerinde tüm varyasyon kaynaklarının etkisinin önemli olduğu Çizelge 4.31’de görülmektedir ($P<0.05$).

4.2.10. Sucuk örneklerinin uçucu bileşikleri

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde uçucu bileşikler sucuğa özgü karakteristik özellikleri yansıtmaktadır. Üretim tekniği temelinde farklılıklar taşımakla birlikte, sucuk örneklerinin toplam uçucu bileşikleri arasında sülfür bileşikleri, terpen, alkol, esterler, aldehit, keton, asitler ve alifatik hidrokarbonlar bulunmaktadır [127, 208-211].

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında sülfür, terpen, alkol, ester, aldehit, keton, asit, alifatik hidrokarbon, eter ve furan gibi birçok bileşik grubundan toplam 79 bileşik tanımlanmıştır. Uçucu bileşiklerin miktarı arbitrary units olarak (toplam iyon kromatogramında her bir bileşen için belirlenen pik alanının 10^{-6} ile çarpımı sonucunda hesaplanarak) ifade edilmiştir. Saptanan uçucu bileşikler Çizelge 4.32’de ana bileşen grupları halinde topluca verilmiştir.

Çizelge 4.17 incelendiğinde; fermentasyon ve ısıtma işlem sucuklarının üretim koşullarının uçucu bileşikler üzerine etkisi bileşen temelinde farklılıklar yansıtmakla birlikte genel anlamda, ısıtma işlem uygulaması ile bileşen çeşit ve miktarlarında azalmalar gerçekleştiği belirlenmiştir. Literatürde sucuk üzerine yapılan çalışmalarda da ısıtma işlem uygulaması ile uçucu bileşenlerinin çeşit ve miktarlarında kayıplar yaşandığı bildirilmiştir [56, 57, 135]. Sucuklarda uçucu bileşiklerin oluşumu ve gelişiminden öncelikli olarak mikroorganizma faaliyetleri sorumlu olduğu bilinmektedir. Çalışmamız mikrobiyoloji sonuçlarında da her iki grup arasında önemli farklılıklar bulunduğu fermente grubun daha yüksek sayılarda canlı hücreye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında ısıtma işlem grubunda uçucu bileşiklerin çeşit ve miktarında belirlenen azalma beklenen bir durumdur. Çalışmamız uçucu sonuçlarında ısıtma işlem örneklerindeki söz konusu olumsuz etkinin üretimde enkapsül formda starter kültür kullanımı ile önemli derecede giderildiği saptanmıştır. Nitekim sülfür, terpen, alkol, ester, keton, asit ve diğer uçucu bileşik gruplarında ısıtma işlem uygulamasından sonra en yüksek uçucu bileşik miktarları C2 örneğinde tespit edilmiştir. Bu durum enkapsülasyon teknolojisinin canlı hücre metabolik faaliyetlerini

olumsuz proses koşullardan koruyabildiğini göstermektedir. Fermentasyon ile üretilen örnekler arasında ise enkapsülasyon teknolojisinin uçucu bileşenlerini eşitleri temelinde farklı etkilediği görülmektedir. Terpen, alkol, ester, keton diğer uçucu bileşen grupları C1 rneğinde, sülfür ve keton grupları ise B1 rneğinde serinin diğer örneklerine kıyasla daha yüksek miktarlarda belirlenmiştir.



Çizelge 4.17. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen uçucu bileşikler*

	Örnek	Gün	Toplam Sülfür Bileşikler	Toplam Terpen Bileşikler	Toplam Alkol Bileşikler	Toplam Ester Bileşikler
Fermentasyon Örnekleri	A1	0	7.82±2.34	34.44±4.52	5.35±0.87	0.99±0.52
		14	3.46±0.85	60.27±7.36	4.18±0.38	0.38±0.09
		30	4.71±0.67	60.94±7.09	4.71±0.47	0.42±0.10
		45	3.13±0.60	54.89±7.09	4.47±0.42	0.13±0.03
	B1	0	8.99±2.73	36.70±4.70	4.83±0.78	1.36±0.67
		14	3.81±0.59	54.75±7.78	5.21±0.68	0.60±0.19
		30	5.44±0.50	54.22±6.96	4.66±0.65	0.62±0.19
		45	4.59±0.76	57.18±6.93	4.23±0.40	0.16±0.03
	C1	0	8.49±2.43	44.39±5.65	5.67±0.92	1.28±0.61
		14	5.41±0.65	63.24±8.43	6.05±0.95	0.32±0.07
		30	5.19±0.68	64.36±8.36	5.46±0.75	0.36±0.12
		45	4.24±0.59	62.15±8.32	5.47±0.78	0.20±0.05
Isıtma İşlem Örnekleri	A2	0	3.83±2.10	13.02±4.06	TE	TE
		14	5.96±1.39	39.74±7.78	4.20±0.55	TE
		30	5.83±1.12	58.16±7.99	4.07±0.49	0.02±0.00
		45	5.53±1.22	50.45±6.96	3.82±0.44	0.02±0.00
	B2	0	3.43±1.89	14.71±3.66	TE	TE
		14	4.39±1.09	39.80±5.15	3.36±0.37	TE
		30	4.57±0.84	43.71±5.50	9.08±0.88	0.03±0.01
		45	4.87±1.02	46.77±6.10	4.58±0.45	0.03±0.01
	C2	0	3.99±2.18	20.96±2.61	TE	TE
		14	6.40±1.46	55.07±6.87	4.05±0.58	0.07±0.00
		30	6.11±1.13	55.63±6.74	4.42±0.54	0.03±0.00
		45	5.56±1.06	57.24±7.03	4.32±0.54	0.03±0.01

Çizelge 4.17. (devam)

	Örnek	Gün	Toplam Aldehit Bileşikleri	Toplam Keton Bileşikleri	Toplam Asit Bileşikleri	Toplam Diğer Uçucu Bileşikler
Fermentasyon Örnekleri	A1	0	33.78±16.80	0.06±0.00	0.90±0.00	0.10±0.02
		14	28.73±8.57	0.06±0.00	20.41±4.07	0.56±0.14
		30	24.44±8.04	0.10±0.03	15.51±2.57	0.67±0.17
		45	23.43±7.28	0.09±0.02	13.60±2.65	1.42±0.35
	B1	0	37.28±12.99	0.08±0.00	1.13±0.00	0.20±0.01
		14	6.67±1.57	0.13±0.03	13.32±2.18	2.00±0.61
		30	5.36±1.17	0.21±0.03	13.57±2.49	1.46±0.50
		45	5.37±1.12	0.17±0.03	14.99±2.65	0.22±0.15
	C1	0	42.66±14.56	0.07±0.00	5.62±0.00	0.22±0.03
		14	5.93±1.90	0.07±0.01	17.60±2.96	1.92±0.95
		30	5.38±1.64	0.18±0.02	12.48±1.91	1.91±0.71
		45	6.91±2.04	0.16±0.03	14.94±2.62	1.43±0.48
Isıl İşlem Örnekleri	A2	0	34.35±17.08	TE	TE	TE
		14	29.36±8.33	0.09±0.01	1.04±0.33	0.21±0.07
		30	32.78±9.31	0.07±0.02	0.49±0.00	0.18±0.11
		45	32.01±9.04	0.04±0.02	0.60±0.07	0.15±0.07
	B2	0	35.14±17.49	TE	TE	TE
		14	23.20±6.57	0.07±0.01	0.56±0.06	0.18±0.06
		30	28.47±8.22	0.10±0.03	0.33±0.00	0.21±0.11
		45	30.58±8.63	0.08±0.01	0.40±0.07	0.16±0.06
	C2	0	29.73±14.79	TE	TE	TE
		14	30.21±8.92	0.10±0.02	1.02±0.36	0.22±0.05
		30	33.48±10.06	0.12±0.01	0.74±0.31	0.21±0.07
		45	21.89±7.33	0.10±0.01	0.76±0.27	0.18±0.05

*Ortalama±standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması $\times 10^{-6}$) olarak ifade edilmiştir. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır(n=4), A1:fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıt işlemler, starter kültürsüz; B2: ısıt işlemler, serbest starter kültür, C2: ısıt işlemler, enkapsül starter kültür

4.2.10.1. Sülfür bileşikleri

Fermentasyon ve ısıtım işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde belirlenen sülfür bileşiklerinin miktarı Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çalışmada fermentasyon ve ısıtım işlem uygulanan sucuklarda belirlenen sülfür bileşiklerinin başında sülfid alil metil, dialil disülfid, alildisülfid, karbon disülfid, dimetil disülfid, metil alil disülfid, *cis* ve *trans* sabinen hidrat ve trian metil yer almaktadır. Her iki üretim tekniği örneklerinde de depolama süresi sonunda alil disülfid ve metil alil disülfid’in miktarı en yüksek bileşen olduğu tespit edilmiştir. Sucuk uçucu bileşikleri üzerine yapılan çalışmalarda alifatik sülfür bileşiklerinin (dialil disülfid ve dimetil disülfid gibi) sarımsaktan kaynaklandığı ve sarımsağın majör bileşeni olan alisinden tüvelendikleri bildirilmiştir [127, 212].

Fermentasyon ve ısıtım işlem uygulaması ile üretilen örneklerin sülfür bileşiklerinin üretim süresinde miktarlarının arttığı, depolama sonuna doğru azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda da bu değişim gözlemlenmiş ve söz konusu durum üretimde kullanılan sarımsağın formülasyonun diğer bileşenleri olan su, protein ve tuz ile girdiği reaksiyonlar sonucunda kükürt içeren farklı bileşiklere dönüşümü ile açıklanmıştır [213, 214].

Çalışmada uygulanan ısıtım işlemin etkisi sonucunda sülfid alil metil, dialil disülfid, *trans* sabinen hidrat, disülfid metil 2-propenil ve karbon disülfid sülfür bileşiklerinin miktarlarında azalmalar olduğu tespit edilmiş ($P<0.05$) ve enkapsül formda kültür içeren örnekte söz konusu azalmanın daha az gerçekleştiği belirlenmiştir. Metil alil disülfid ve trian metil bileşiklerinde ısıtım işlem uygulanan sucuk örneklerinde daha yüksek miktarlarda bulunduğu ($P<0.05$), disülfid dimetil ve *cis* sabinen hidrat bileşiklerinde ise sadece ısıtım işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.18. Fermentasyon ve Isıl İşlem Uygulaması ile Elde Edilen Örneklerin Depolama Aşamalarında Belirlenen Sülfür Bileşikleri*

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Karbon disülfid	750 [127]	779	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.26±0.02 ^{a,C}	0.25±0.02 ^{a,C}	0.26±0.16 ^{a,B}	0.18±0.01 ^{a,B}	0.12±0.01 ^{a,C}	0.27±0.14 ^{a,B}
			30	0.16±0.01 ^{d,B}	0.11±0.02 ^{c,B}	0.06±0.01 ^{b,A}	0.03±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{a,B}	0.07±0.00 ^{b,A}
			45	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.09±0.00 ^{a,A}	0.11±0.14 ^{b,A}
Sülfid alil metil	791 [215]	806	0	0.23±0.04 ^{a,B}	0.28±0.07 ^{a,B}	0.27±0.02 ^{a,B}	0.08±0.01 ^{b,A}	0.08±0.01 ^{b,A}	0.12±0.10 ^{b,A}
			14	0.22±0.01 ^{a,B}	0.18±0.01 ^{a,A}	0.18±0.12 ^{a,A}	0.29±0.01 ^{b,C}	0.32±0.10 ^{b,B}	0.32±0.01 ^{b,C}
			30	0.16±0.01 ^{a,A}	0.17±0.03 ^{a,A}	0.17±0.01 ^{a,A}	0.33±0.02 ^{c,D}	0.25±0.02 ^{b,B}	0.32±0.02 ^{c,C}
			45	0.13±0.01 ^{a,A}	0.15±0.02 ^{a,A}	0.15±0.01 ^{a,A}	0.23±0.02 ^{b,B}	0.23±0.04 ^{b,B}	0.28±0.02 ^{c,B}
Triian metil	875 [216]	839	0	1.70±0.74 ^{a,B}	1.83±0.61 ^{a,B}	2.05±0.8 ^{a,B}	TE	TE	TE
			14	0.46±0.02 ^{a,A}	0.73±0.04 ^{b,A}	0.76±0.00 ^{b,A}	1.21±0.33 ^{c,C}	0.65±0.01 ^{b,A}	1.34±0.26 ^{c,C}
			30	0.27±0.02 ^{a,A}	0.73±0.06 ^{bc,A}	0.72±0.03 ^{bc,A}	0.74±0.08 ^{bc,B}	0.54±0.31 ^{b,A}	0.78±0.06 ^{c,B}
			45	0.21±0.05 ^{a,A}	0.25±0.05 ^{ab,A}	0.31±0.05 ^{b,A}	0.49±0.03 ^{c,A}	0.57±0.04 ^{d,A}	0.54±0.04 ^{cd,A}
Disülfid, dimetil	1044 [127]	1001	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	0.02±0.06 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{a,B}	0.03±0.00 ^{c,B}
			30	TE	TE	TE	TE	0.09±0.00 ^{b,A}	0.05±0.08 ^{a,C}
			45	TE	TE	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{b,A}
<i>trans</i> sabinen hidrat		1119	0	0.56±0.07 ^{b,B}	0.65±0.05 ^{c,A}	0.59±0.06 ^{bc,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{a,A}
			14	0.04±0.00 ^{ab,A}	0.93±0.01 ^{c,C}	0.91±0.08 ^{c,B}	0.09±0.01 ^{b,B}	0.03±0.00 ^{a,A}	0.07±0.01 ^{ab,B}
			30	0.88±0.08 ^{b,C}	0.17±0.03 ^{b,B}	0.94±0.04 ^{c,B}	0.09±0.01 ^{a,C}	0.06±0.01 ^{a,B}	0.08±0.00 ^{a,B}
			45	0.78±0.05 ^{b,C}	0.83±0.03 ^{b,B}	0.95±0.05 ^{c,B}	0.07±0.00 ^{a,B}	0.07±0.01 ^{a,B}	0.08±0.01 ^{a,B}
Metil alil disülfid		1311	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	1.22±0.23 ^{a,A}	TE	TE	TE
			30	1.07±0.07 ^{ab,B}	1.19±0.05 ^{bc,B}	1.22±0.01 ^{bc,A}	1.26±0.17 ^{c,B}	0.92±0.15 ^{a,B}	1.22±0.14 ^{bc,A}
			45	0.09±0.00 ^{a,A}	0.93±0.04 ^{c,A}	1.11±0.06 ^{d,A}	1.06±0.08 ^{d,A}	0.71±0.05 ^{b,A}	1.15±0.08 ^{d,A}
Alil disülfid	1664 [216]	1669	0	5.33±0.76 ^{b,B}	6.22±0.50 ^{c,C}	5.58±0.29 ^{b,C}	3.70±0.26 ^{a,B}	3.33±0.09 ^{a,A}	3.84±0.20 ^{a,BC}
			14	2.30±0.01 ^{ab,A}	1.64±0.10 ^{a,A}	1.93±1.14 ^{a,B}	4.04±0.02 ^{cd,C}	3.19±1.49 ^{bc,A}	4.26±0.37 ^{d,C}
			30	1.94±0.02 ^{b,A}	1.44±0.15 ^{a,A}	1.92±0.06 ^{b,B}	3.28±0.25 ^{d,A}	2.59±0.66 ^{c,A}	3.48±0.07 ^{d,AB}
			45	1.68±0.23 ^{a,A}	2.18±0.06 ^{b,B}	1.55±0.12 ^{a,A}	3.57±0.17 ^{d,AB}	3.17±0.04 ^{c,A}	3.28±0.41 ^{cd,A}

Çizelge 4.18. (devam)

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Dialil disülfid	1665 [215]	1681	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.17±0.01 ^{c,A}	0.08±0.00 ^{c,A}	0.15±0.00 ^{d,A}	0.04±0.00 ^{b,B}	0.02±0.01 ^{a,A}	0.04±0.00 ^{Bb}
			30	0.22±0.02 ^{d,B}	0.93±0.06 ^{d,C}	0.14±0.01 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{a,A}
			45	0.21±0.00 ^{c,B}	0.23±0.03 ^{c,B}	0.14±0.01 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{a,A}
<i>cis</i> sabinen hidrat		1782	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	0.08±0.00 ^{b,C}	0.05±0.02 ^{a,A}	0.07±0.01 ^{b,A}
			30	TE	TE	TE	0.07±0.00 ^{a,A}	0.07±0.02 ^{a,A}	0.07±0.00 ^{a,A}
			45	TE	TE	TE	0.08±0.00 ^{b,B}	0.07±0.01 ^{a,A}	0.08±0.01 ^{b,A}
Toplam				19.11	22.82	23.32	21.15	17.25	22.05

*Ortalama±standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması/ 10⁻⁶) olarak ifade edilmiştir, sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satırda farklı küçük harflerle (a-c) gösterilen ortalamalar birbirinden *P*<0.05 düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden *P*<0.05 düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz, B1: fermente, serbest starter kültür, C1: fermente, enkapsül starter kültür, A2: ısıtılmış işlem starter kültürsüz, B2: ısıtılmış işlem serbest starter kültür, C2: ısıtılmış işlem enkapsül starter kültür, TE: Tespit Edilemedi, REF-RI: referans retention index, RI: retention index

Fermentasyon uygulaması ile üretilen sucuk grupları arasında depolama süresi sonunda starter kültür kullanımı ile miktarında azalma belirlenen sülfürlü bileşiklerin sülfid alil metil (hem serbest hem de enkapsül formda), dialil disülfid, alil disülfid, (serbest formda), karbondisülfid, metil alil disülfid, triian metil (enkapsül formda) olduğu belirlenmiştir. Starter kültür kullanımı ile miktarında artış belirlenen *trans* sabinen hidrat ve alil metil disülfid gibi bileşiklerin üretimde kullanılan sarımsaktan kaynaklandığı ve özellikle starter kültür kullanımı ile miktarlarının arttığı bilgisine çeşitli literatür bulgularında rastlanmıştır [121, 135].

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür kullanımı ile üretilen sucuk gruplarında depolama süresi sonunda miktarları artan sülfürlü bileşikler sülfid alil metil, karbon disülfid (en yüksek değer C2 örneğinde), triian metilin (en yüksek değer B2 örneğinde) olarak belirlenmiştir ($P<0.05$). Üretim tekniğindeki koşulların sülfür bileşikler üzerinde sergilediği farklı etkiler literatürde bildirilen bulgular [121, 135, 211, 217] ile paralellik göstermektedir.

4.2.10.2. Terpen bileşikler

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde saptanan terpen bileşikler Çizelge 4.19’da verilmiştir.

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde 15 terpen bileşiği belirlenmiştir. Belirlenen terpen bileşikler grubunda miktar bakımından öne çıkan bileşiklerin γ -terpinen, limonen, α , β -pinen, β - mirisen, α -tujen, *o*-cymene, *p*-cymene ve *trans*- β - karyofilenin olduğu tespit edilmiştir. Literatürde sucuk uçucusu üzerine yapılan çalışmalarda bu bileşiklerin majör terpen bileşikler olduğu, uçucu oluşumunda önemli etkilerinin bulunduğu ve terpen grubu bileşiklerin üretimde kullanılan baharatlardan kaynaklandığı bildirilmiştir [7, 209, 218]. Çalışmamızda terpen grubu uçucu bileşenleri arasında öne çıkan limonen, kare ve karyofelinin karabiber ucucu yağının majör bileşenlerinden olduğu bildirilmiştir [219].

Depolama süresi boyunca üretim tekniği farklılığının terpen bileşikler üzerinde etkisinin, tespit edilen bileşiklerde farklılık göstermekle birlikte, genel olarak ısıtma işlem uygulaması ile miktarlarının azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.19. Fermentasyon ve ısıtım işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen terpen bileşikler*

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
α -Pinen	940 [212]	945	0	0.24 $\pm$ 0.06 ^{a,A}	0.30 $\pm$ 0.03 ^{a,A}	0.30 $\pm$ 0.05 ^{a,A}	TE	TE	TE
			14	0.56 $\pm$ 0.01 ^{c,C}	0.55 $\pm$ 0.01 ^{bc,C}	0.52 $\pm$ 0.04 ^{abc,B}	0.50 $\pm$ 0.34 ^{ab,A}	0.47 $\pm$ 0.04 ^{a,A}	0.50 $\pm$ 0.01 ^{bc,A}
			30	0.53 $\pm$ 0.02 ^{b,C}	0.49 $\pm$ 0.03 ^{ab,B}	0.55 $\pm$ 0.03 ^{b,B}	0.63 $\pm$ 0.03 ^{c,B}	0.46 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.51 $\pm$ 0.08 ^{ab,A}
			45	0.45 $\pm$ 0.04 ^{a,D}	0.45 $\pm$ 0.04 ^{b,C}	0.54 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.52 $\pm$ 0.05 ^{b,A}	0.45 $\pm$ 0.03 ^{a,A}	0.51 $\pm$ 0.05 ^{ab,A}
α -Tujen	944 [127]	949	0	0.06 $\pm$ 0.01 ^{ab,A}	0.07 $\pm$ 0.00 ^{ab,A}	0.13 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	TE	TE	TE
			14	0.12 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	0.16 $\pm$ 0.02 ^{b,B}	0.16 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.14 $\pm$ 0.10 ^{ab,A}	0.13 $\pm$ 0.01 ^{a,AB}	0.14 $\pm$ 0.01 ^{ab,A}
			30	0.15 $\pm$ 0.02 ^{b,C}	0.15 $\pm$ 0.01 ^{b,B}	0.17 $\pm$ 0.00 ^{b,A}	0.17 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.13 $\pm$ 0.02 ^{a,B}	0.16 $\pm$ 0.01 ^{b,B}
			45	0.13 $\pm$ 0.01 ^{ab,B}	0.14 $\pm$ 0.03 ^{bc,B}	0.18 $\pm$ 0.01 ^{d,A}	0.15 $\pm$ 0.01 ^{c,A}	0.11 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.12 $\pm$ 0.01 ^{ab,A}
β -Pinen	988-1096 [127-218]	1044	0	4.90 $\pm$ 0.77 ^{b,A}	5.51 $\pm$ 0.41 ^{b,A}	5.25 $\pm$ 0.89 ^{b,A}	3.64 $\pm$ 0.24 ^{a,A}	4.77 $\pm$ 0.23 ^{b,A}	4.62 $\pm$ 0.61 ^{b,A}
			14	9.85 $\pm$ 0.15 ^{d,D}	8.85 $\pm$ 0.10 ^{c,C}	9.04 $\pm$ 0.05 ^{c,B}	8.58 $\pm$ 3.91 ^{bc,B}	6.94 $\pm$ 0.53 ^{a,B}	8.08 $\pm$ 0.79 ^{b,B}
			30	8.86 $\pm$ 0.18 ^{abc,C}	7.99 $\pm$ 0.60 ^{b,B}	9.31 $\pm$ 0.14 ^{d,B}	8.31 $\pm$ 1.21 ^{bc,B}	6.91 $\pm$ 0.40 ^{a,B}	9.12 $\pm$ 0.08 ^{cd,C}
			45	8.10 $\pm$ 0.49 ^{bc,B}	8.82 $\pm$ 0.32 ^{c,C}	8.97 $\pm$ 0.28 ^{c,B}	7.67 $\pm$ 1.26 ^{ab,B}	6.90 $\pm$ 0.56 ^{a,B}	7.73 $\pm$ 0.70 ^{ab,B}
Tujen		1061	0	0.33 $\pm$ 0.06 ^{a,A}	0.37 $\pm$ 0.04 ^{a,A}	0.36 $\pm$ 0.07 ^{a,A}	TE	TE	TE
			14	0.70 $\pm$ 0.04 ^{b,C}	0.54 $\pm$ 0.19 ^{a,B}	0.66 $\pm$ 0.03 ^{ab,B}	0.69 $\pm$ 0.89 ^{b,A}	0.55 $\pm$ 0.04 ^{a,A}	0.73 $\pm$ 0.04 ^{b,B}
			30	0.69 $\pm$ 0.04 ^{a,BC}	0.68 $\pm$ 0.07 ^{a,B}	1.61 $\pm$ 0.28 ^{c,C}	0.66 $\pm$ 0.09 ^{a,A}	0.94 $\pm$ 0.03 ^{b,B}	0.74 $\pm$ 0.04 ^{a,B}
			45	0.61 $\pm$ 0.06 ^{ab,B}	0.66 $\pm$ 0.05 ^{bc,B}	0.71 $\pm$ 0.04 ^{c,B}	0.61 $\pm$ 0.09 ^{ab,A}	0.52 $\pm$ 0.06 ^{a,A}	0.58 $\pm$ 0.06 ^{ab,A}
δ -3-Karen		1098	0	1.25 $\pm$ 0.19 ^{a,A}	1.50 $\pm$ 0.02 ^{b,A}	1.38 $\pm$ 0.05 ^{b,A}	TE	TE	TE
			14	1.31 $\pm$ 0.25 ^{a,A}	1.36 $\pm$ 0.26 ^{a,A}	1.51 $\pm$ 0.25 ^{a,A}	TE	TE	TE
			30	1.42 $\pm$ 0.07 ^{a,A}	1.50 $\pm$ 0.12 ^{ab,A}	1.52 $\pm$ 0.06 ^{b,A}	TE	TE	TE
			45	1.20 $\pm$ 0.17 ^{a,A}	1.33 $\pm$ 0.20 ^{ab,A}	1.47 $\pm$ 0.09 ^{b,A}	TE	TE	TE
Trans- β -Ocimene		1100	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.15 $\pm$ 0.00 ^{d,AB}	0.09 $\pm$ 0.01 ^{c,B}	0.08 $\pm$ 0.01 ^{c,B}	0.05 $\pm$ 0.01 ^{b,A}	0.02 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	1.56 $\pm$ 0.01 ^{c,A}
			30	0.47 $\pm$ 0.44 ^{b,B}	0.07 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.09 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	0.05 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.04 $\pm$ 0.00 ^{b,B}	1.46 $\pm$ 0.07 ^{c,A}
			45	0.07 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.08 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.06 $\pm$ 0.01 ^{a,A}	0.05 $\pm$ 0.00 ^{a,A}	0.04 $\pm$ 0.01 ^{a,B}	2.13 $\pm$ 0.18 ^{b,B}
β - Mirisen	1005-1164 [127,216]	1119	0	0.96 $\pm$ 0.27 ^{a,A}	0.97 $\pm$ 0.07 ^{a,A}	0.81 $\pm$ 0.51 ^{a,A}	TE	TE	TE
			14	2.02 $\pm$ 0.05 ^{bc,B}	1.92 $\pm$ 0.08 ^{bc,B}	2.16 $\pm$ 0.77 ^{c,B}	2.00 $\pm$ 0.02 ^{bc,A}	1.38 $\pm$ 0.27 ^{a,A}	1.78 $\pm$ 0.23 ^{b,A}
			30	2.13 $\pm$ 0.07 ^{a,B}	1.86 $\pm$ 0.07 ^{ab,B}	2.30 $\pm$ 0.02 ^{c,B}	1.88 $\pm$ 0.50 ^{ab,A}	1.61 $\pm$ 0.18 ^{a,A}	1.92 $\pm$ 0.10 ^{ab,AB}
			45	1.94 $\pm$ 0.25 ^{ab,B}	2.03 $\pm$ 0.26 ^{b,B}	2.16 $\pm$ 0.11 ^{b,B}	1.81 $\pm$ 0.41 ^{ab,A}	1.58 $\pm$ 0.33 ^{a,A}	2.12 $\pm$ 0.17 ^{b,B}

Çizelge 4.19. (devam)

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
γ -2-Karen	1177 [216]	1145	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			30	0.05±0.00 ^{d,A}	0.08±0.01 ^{c,A}	0.03±0.01 ^{b,A}	TE	0.02±0.00 ^{a,A}	0.04±0.00 ^{c,A}
			45	0.05±0.00 ^{a,B}	0.12±0.02 ^{b,B}	0.17±0.01 ^{c,B}	TE	0.04±0.00 ^{a,B}	0.07±0.01 ^{a,B}
α -Terpinen	1030 [127]	1147	0	0.05±0.00 ^{a,A}	0.08±0.00 ^{a,B}	0.06±0.00 ^{a,A}	TE	TE	TE
			14	0.14±0.02 ^{c,B}	0.01±0.01 ^{ab,A}	0.06±0.01 ^{c,A}	0.08±0.00 ^{d,A}	0.04±0.00 ^{b,A}	0.01±0.04 ^{a,A}
			30	TE	TE	TE	0.15±0.02 ^{a,B}	0.14±0.05 ^{a,C}	0.11±0.00 ^{a,C}
			45	TE	TE	TE	0.09±0.00 ^{a,A}	0.10±0.01 ^{a,B}	0.10±0.01 ^{a,B}
Limonen	1054-1187 [127, 216]	1175	0	4.39±2.64 ^{b,A}	4.21±0.49 ^{b,B}	8.64±0.27 ^{d,B}	1.94±0.21 ^{a,A}	2.41±0.16 ^{a,A}	6.53±0.23 ^{c,C}
			14	3.35±0.26 ^{c,A}	3.24±0.17 ^{c,A}	3.08±0.10 ^{c,A}	2.72±0.01 ^{b,B}	2.42±0.33 ^{a,B}	4.88±0.10 ^{d,B}
			30	3.14±0.16 ^{b,A}	3.10±0.15 ^{b,A}	3.19±0.15 ^{b,A}	3.07±0.13 ^{b,C}	2.45±0.33 ^{a,B}	3.74±0.14 ^{c,A}
			45	2.69±0.35 ^{a,A}	3.04±0.11 ^{ab,A}	3.16±0.12 ^{abc,A}	2.69±0.29 ^{a,B}	3.00±0.69 ^{bc,C}	3.67±0.14 ^{c,A}
γ -Terpinen	1079-1248 [127, 216]	1248	0	13.34±2.20 ^{b,A}	14.09±1.23 ^{b,A}	14.84±1.96 ^{b,A}	9.38±0.62 ^{a,A}	9.94±0.68 ^{a,A}	9.79±0.56 ^{a,A}
			14	25.31±1.46 ^{c,B}	26.31±0.78 ^{c,B}	29.67±0.65 ^{d,B}	24.85±0.40 ^{c,C}	15.87±0.71 ^{a,B}	22.55±2.20 ^{b,B}
			30	TE	24.54±1.55 ^{ab,B}	29.64±0.66 ^{c,B}	26.18±1.14 ^{cd,C}	18.01±1.65 ^{a,BC}	22.76±2.09 ^{b,B}
			45	TE	25.47±2.95 ^{b,B}	29.37±1.86 ^{c,B}	22.44±2.42 ^{ab,B}	20.51±2.76 ^{a,C}	24.51±2.47 ^{b,B}
<i>o</i> -Cymene	1287 [127]	1290	0	8.88±1.84 ^{a,A}	14.09±1.83 ^{b,A}	12.63±1.87 ^{b,A}	TE	TE	TE
			14	12.57±0.81 ^{b,B}	11.34±0.70 ^{a,B}	13.14±0.03 ^{b,A}	TE	TE	TE
			30	12.28±0.38 ^{b,B}	10.87±0.55 ^{A,B}	12.73±0.31 ^{b,A}	TE	TE	TE
			45	11.86±0.40 ^{a,B}	11.87±0.79 ^{a,B}	12.69±0.57 ^{b,A}	TE	TE	TE
<i>p</i> -Cymene	1031-1273 [211, 216]	1296	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	15.01±0.24 ^{c,C}	10.68±1.18 ^{a,A}	12.83±1.87 ^{b,A}
			30	TE	TE	TE	14.47±0.25 ^{c,B}	11.22±0.86 ^{a,A}	12.46±1.73 ^{b,A}
			45	TE	TE	TE	13.03±1.63 ^{a,A}	11.37±0.64 ^{a,A}	12.47±2.06 ^{a,A}

Çizelge 4.19. (devam)

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
α -Kopaen	1599	1601	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.13±0.02 ^{b,A}	0.37±0.03 ^{d,B}	0.20±0.02 ^{c,B}	0.10±0.02 ^{b,A}	0.06±0.02 ^{a,A}	0.10±0.00 ^{b,A}
			30	0.20±0.04 ^{d,B}	0.15±0.01 ^{bc,A}	0.18±0.01 ^{cd,AB}	0.10±0.06 ^{ab,A}	0.09±0.07 ^{a,B}	0.13±0.02 ^{ab,A}
			45	0.17±0.03 ^{a,B}	0.18±0.04 ^{a,A}	0.16±0.03 ^{a,A}	0.12±0.01 ^{a,A}	0.09±0.01 ^{a,B}	1.09±0.66 ^{b,B}
Trans- β karyofilenin	1608 [216]	1915	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	1.86±0.01 ^{a,A}
			30	2.89±0.11 ^{c,A}	2.74±0.31 ^{c,A}	3.05±0.05 ^{b,A}	2.50±0.24 ^{c,B}	1.68±0.13 ^{a,A}	2.47±0.14 ^{a,C}
			45	2.95±0.23 ^{d,A}	2.91±0.36 ^{d,A}	3.50±0.28 ^{c,B}	1.25±0.18 ^{a,A}	1.78±0.17 ^{b,A}	2.13±0.18 ^{b,B}
Toplam				210.54	202.85	234.14	161.37	144.98	188.90

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması/ 10⁻⁶) olarak ifade edilmiştir, sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satırda farklı küçük harflerle (a-e) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-D) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz, B1: fermente, serbest starter kültür, C1: fermente, enkapsül starter kültür, A2: ısıt işlem starter kültürsüz, B2: ısıt işlem serbest starter kültür, C2: ısıt işlem enkapsül starter kültür, TE: Tespit Edilemedi, REF-RI: referans retention index, RI: retention index

Fermentasyon uygulaması ile üretilen örneklerde belirlenen terpen bileşiklerinin miktarlarının 0. günden 14. güne kadar artma, devam eden depolama periyodunda azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda enkapsülasyon işleminin uçucu bileşiklerinin miktarı üzerine etkisi incelendiğinde α , β -pinen, α -tujen, toluen, tujen, δ -3-karen, β - mirisen, limonen, γ -terpinen, *o*-cymene, γ -2-karen bileşiklerin enkapsüle starter kültür içeren örneklerde daha yüksek miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Ayrıca δ -3-karen ve *o*-cymene bileşiklerinin sadece fermentasyon uygulaması ile elde edilen örneklerde bulunduğu, ısıtma işlemi uygulaması ile üretilen örneklerde bulunmadığı tespit edilmiş, bu bileşiklerin de en yüksek miktarları C1 örneğinde belirlenmiştir ($P<0.05$).

Depolama süresince limonen miktarının artma ve azalmasının sucuk yapısında gerçekleşen biyokimyassal dönüşümlerden kaynaklandığı ifade edilmektedir. Sucuk uçucu bileşenlerinden olan α -terpineol'ün mikrobiyal aktiviteler sonucunda limonen'e dönüştüğü ve oluşan limonenin ısıtma işlemi uygulamaları ile kimyasal yapısında değişiklikler olabileceği veya birçok farklı bileşiğe dönüşebileceği bildirilmiştir. Sucuk formülasyonunda kullanılan yenibahar ve biber de limonen içermektedir. Özellikle fermentasyon süresi ardından 14. gün tespit edilen ve depolama süresinin kalan aşamalarında tespit edilemeyen *trans* karyofilenin sucuk bileşenlerinden olan sarımsak, kimyon, karabiber ve yenibahardan kaynaklandığı bildirilmiştir. Böylece limonen ve karyofilenin miktarına ilişkin bulgularımızın literatürde bildirilen veriler ile uyumlu olduğu saptanmıştır [56, 217, 218].

β -pinen fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinde daha yüksek miktarlarda ($P<0.05$) olmakla birlikte her iki üretim yöntemi ile elde edilen sucuk örneklerinde belirlenmiş, depolama aşamasının ilk 30. gününe kadar artma, devam eden süreçte ise azalma eğilimi sergilediği saptanmıştır. Gök [7] sucuk örneklerinin depolama aşamalarında *B* -pinen miktarının tüm örnek grupları için arttığını bildirmiştir.

Sucuk örneklerinin tüm alt gruplarında belirlenen majör terpenlerden bir diğeri γ -terpinen'dir. γ -terpinen her iki üretim yönteminde de en yüksek miktarda enkapsül formda kültür içeren örneklerde (C1 ve C2) saptanmıştır ($P<0.05$). Kaban [127] tarafından yapılan çalışmada da γ -terpinenin sucuk örneklerinde önemli miktarlarda bulunduğu bildirilmiştir.

Isıl işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde, ısıl işlem uygulamasının ardından yapılan analiz sonucunda (0. gün) α -pinen, α -tujen, tujen ve β -mirisen bileşiklerin serinin hiçbir örneğinde belirlenmediği, β -pinen ve limonenin ise miktarlarında azalmalar gerçekleştiği ancak devam eden depolama süresi boyunca bileşiklerin oluşmaya başladığı ve miktarlarının 30. güne kadar arttığı belirlenmiştir.

Isıl işlem uygulaması ile elde edilen örnekleri terpen bileşenlerinden α -pinen, α -tujen, limonen, γ -terpinenin ve p -cymenin 14. gün test sonuçlarında, β -mirisenin ise depolama süresi sonunda (45. gün) enkapsül formda starter kültür içeren örneklerde serbest forma daha yüksek miktarlarda ($P<0.05$) bulunduğu saptanmıştır. Sidira vd. [216] tarafından yapılan çalışmada starter kültür kullanılmadan (kontrol) ve enkapsül (öğütülmüş buğday kabuk materyali ile) ve serbest formda *Lactobacillus casei* starter kültürü kullanarak sucuk üretimi gerçekleştirmiş, 8 gün olgunlaştırma süresi sonrasında 70-72°C'de 10 dk ısıl işlem uygulamasının ardından son ürünün uçucu bileşikleri üzerine kültür formunun etkisini incelemiştir. Söz konusu çalışmada saptanan bileşenler ile bulgularımız oldukça uyumlu bulunmuştur.

4.2.10.3. Alkol bileşikleri

Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin uçucu bileşenlerinden olan alkol yapısındaki bileşikler ve depolama aşamalarında değişimi Çizelge 4.20'de verilmiştir.

Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinde toplam 17 alkol bileşiği belirlenmiştir. Sucuk uçucusunda düşük seviyede etkili oldukları belirtilen alkollerin gerçekleşen yapısal biyokimyasal reaksiyonlar (lösin, izolösin, valin gibi dallanmış amino asitlerin degradasyonu, metil keton redüksiyonu, lipit otoksidasyonu ile oluşan hidroperoksitlerin lipoksigenaz enzimi tarafından parçalanması ve karbonhidrat fermentasyonu gibi) sonucunda oluştukları ve miktarlarının formülasyon, üretim tekniği gibi faktörlere bağlı olduğu bildirilmiştir [7, 216, 220, 221].

Fermentasyon uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinde etanol, linalool, *trans* karveol, p -cymen-7-ol, metil eugenol'ün miktar olarak öne çıkan alkol bileşikler olduğu belirlenmiştir. Saptanan bileşiklere dair bulgular literatürde bildirilen veriler ile yakınlık taşımaktadır [190, 222].

Çizelge 4.20. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen alkol bileşikler*

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Metanetiol		769	0	TE	TE	TE	0.03±0.071 ^{a,B}	0.03±0.018 ^{a,C}	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			30	TE	TE	TE	0.03±0.00 ^{b,B}	0.02±0.009 ^{a,BC}	0.03±0.001 ^{b,B}
			45	TE	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.000 ^{a,AB}	0.02±0.002 ^{b,A}
Etanol	508-584-900 [212, 222]	865	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.03±0.01 ^{a,B}	0.05±0.00 ^{a,B}	0.04±0.03 ^{a,B}	0.03±0.01 ^{a,B}	0.03±0.00 ^{a,B}	0.03±0.00 ^{a,B}
			30	0.04±0.00 ^{a,C}	0.06±0.00 ^{b,B}	0.04±0.01 ^{a,B}	0.04±0.01 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{a,C}	0.04±0.01 ^{a,B}
			45	0.01±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{b,A}
3-Büten-2-ol	887 [222]	923	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	0.03±0.01 ^{b,A}	0.01±0.01 ^{a,B}	TE	TE
			30	TE	TE	0.05±0.00 ^{b,B}	0.01±0.00 ^{a,A}	TE	0.01±0.00 ^{a,A}
			45	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.05±0.00 ^{b,B}	TE	0.04±0.00 ^{b,A}	0.04±0.01 ^{b,B}
2-Propen-1-ol		1038	0	0.06±0.02 ^{a,A}	0.08±0.01 ^{b,A}	0.07±0.01 ^{ab,A}	T ^E	TE	TE
			14	TE	TE	TE	0.05±0.00 ^{b,B}	0.04±0.00 ^{a,A}	TE
			30	TE	TE	TE	0.05±0.00 ^{a,B}	2.66±1.55 ^{b,B}	0.04±0.01 ^{a,B}
			45	TE	TE	TE	0.03±0.02 ^{a,A}	0.04±0.00 ^{b,A}	0.03±0.00 ^{a,A}
Trans-Tujan-4-ol		1190	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	0.09±0.03 ^{a,B}	0.62±0.12 ^{b,A}	0.83±0.04 ^{c,A}
			30	TE	TE	TE	0.09±0.02 ^{a,B}	0.75±0.02 ^{b,B}	0.75±0.03 ^{b,A}
			45	TE	TE	TE	0.07±0.12 ^{a,A}	0.71±0.06 ^{b,AB}	0.75±0.09 ^{b,A}
1-Butanol		1409	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.03±0.01 ^{b,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	TE	0.01±0.00 ^{a,A}
			30	TE	TE	0.03±0.00 ^{b,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.05±0.01 ^{c,B}	0.02±0.00 ^{a,A}
			45	TE	TE	0.03±0.00 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.03±0.01 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{a,B}
E-(2-D)etenol		1730	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			30	TE	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}
			45	TE	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.02±0.03 ^{b,B}

Çizelge 4.20. (devam)

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Linalool	1558 [216]	1764	0	0.36±0.06 ^{a,A}	0.11±0.05 ^{a,A}	0.46±0.02 ^{b,B}	TE	TE	TE
			14	0.43±0.08 ^{c,A}	0.55±0.01 ^{d,B}	0.42±0.02 ^{c,AB}	0.37±0.01 ^{bc,A}	0.21±0.05 ^{a,A}	0.30±0.01 ^{b,A}
			30	0.37±0.02 ^{b,A}	0.37±0.02 ^{b,A}	0.40±0.02 ^{c,A}	0.31±0.03 ^{a,A}	0.28±0.02 ^{a,B}	0.34±0.03 ^{b,B}
			45	0.34±0.02 ^{b,A}	0.36±0.02 ^{b,A}	0.42±0.03 ^{c,AB}	0.37±0.04 ^{b,A}	0.30±0.01 ^{a,B}	0.34±0.02 ^{ab,B}
Trans-karveol	1838 [216]	1848	0	2.49±0.38 ^{a,B}	0.32±0.03 ^{a,C}	2.61±0.36 ^B	TE	TE	TE
			14	0.66±0.14 ^{b,A}	0.06±0.01 ^{a,A}	0.06±0.00 ^{a,A}	1.95±0.10 ^{d,B}	1.30±0.47 ^{c,A}	1.78±0.06 ^{d,A}
			30	0.58±0.08 ^{b,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	1.87±0.07 ^{d,AB}	1.33±0.78 ^{c,A}	1.87±0.07 ^{d,A}
			45	0.86±0.07 ^{c,A}	0.57±0.06 ^{b,B}	0.01±0.00 ^{a,A}	1.69±0.26 ^{d,A}	1.65±0.12 ^{d,A}	1.86±0.13 ^{d,A}
(+)β-Costol		1867	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	0.06±0.01 ^{a,C}	0.03±0.00 ^{a,A}	0.14±0.13 ^{c,C}	0.09±0.03 ^{b,A}	0.14±0.02 ^{c,B}
			30	TE	0.02±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{a,A}	0.09±0.00 ^{a,B}	2.48±1.42 ^{b,B}	0.10±0.00 ^{a,A}
			45	TE	0.05±0.01 ^{b,B}	0.03±0.00 ^{a,A}	0.07±0.01 ^{c,A}	0.08±0.00 ^{cd,A}	0.10±0.03 ^{d,A}
Terpinen-4-ol		1897	0	0.22±0.04 ^{a,B}	0.23±0.11 ^{a,A}	0.23±0.05 ^{a,A}	TE	TE	TE
			14	0.18±0.01 ^{b,A}	0.29±0.01 ^{d,B}	0.22±0.09 ^{c,A}	TE	0.11±0.04 ^{a,A}	0.07±0.01 ^{b,Aa}
			30	0.23±0.02 ^{c,B}	0.17±0.01 ^{b,A}	0.23±0.01 ^{c,A}	0.15±0.00 ^{ab,B}	0.15±0.02 ^{ab,B}	0.15±0.01 ^{a,A}
			45	0.21±0.02 ^{b,AB}	0.20±0.02 ^{b,A}	0.21±0.02 ^{b,A}	0.14±0.01 ^{a,A}	0.13±0.00 ^{a,AB}	0.15±0.01 ^{a,A}
α-Terpineol		2078	0	0.14±0.01 ^{b,A}	0.12±0.02 ^{a,A}	0.14±0.01 ^{b,A}	TE	TE	TE
			14	0.13±0.05 ^{b,A}	0.16±0.01 ^{b,B}	0.16±0.01 ^{b,A}	0.08±0.01 ^{a,A}	0.05±0.02 ^{a,A}	0.07±0.01 ^{a,A}
			30	0.13±0.01 ^{c,A}	0.15±0.00 ^{d,B}	0.16±0.00 ^{d,A}	0.08±0.00 ^{b,A}	0.07±0.02 ^{a,AB}	0.10±0.01 ^{b,B}
			45	0.12±0.01 ^{b,A}	0.12±0.02 ^{b,A}	0.15±0.02 ^{c,A}	0.09±0.00 ^{a,B}	0.08±0.00 ^{a,B}	0.09±0.01 ^{a,B}
2-Bütanol		2178	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			30	TE	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.06±0.01 ^{b,B}	TE
			45	TE	0.01±0.01 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	TE
1-Propanol, 2-isopropoksi		2336	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.07±0.02 ^{b,A}	0.07±0.01 ^{b,A}	0.06±0.03 ^{a,A}	TE	TE	TE
			30	0.07±0.01 ^{a,A}	0.07±0.00 ^{a,A}	0.07±0.00 ^{a,AB}	TE	TE	TE
			45	0.07±0.01 ^{a,A}	0.08±0.01 ^{a,B}	0.07±0.01 ^{a,AB}	TE	TE	TE

Çizelge 4.20. (devam)

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Metil Eugenol	1985-2033 [223]	2560	0	1.25±0.25 ^{a,A}	1.12±0.28 ^{a,B}	1.40±0.05 ^{b,B}	TE	TE	TE
			14	0.88±0.08 ^{c,A}	0.82±0.08 ^{bc,A}	0.90±0.07 ^{c,A}	2.14±0.03 ^{b,A}	0.53±0.21 ^{a,A}	0.70±0.04 ^{b,A}
			30	0.98±0.10 ^{c,A}	0.75±0.06 ^{ab,A}	0.85±0.04 ^{bc,A}	0.74±0.03 ^{ab,AB}	0.66±0.16 ^{a,AB}	0.91±0.09 ^{c,B}
			45	0.84±0.46 ^{a,A}	0.91±0.05 ^{a,AB}	0.87±0.09 ^{a,A}	0.77±0.08 ^{a,B}	0.82±0.06 ^{a,B}	0.86±0.02 ^{a,B}
<i>p</i> -Cymen-7-ol		2661	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	1.01±0.04 ^{b,A}	2.27±0.14 ^{c,B}	3.26±0.06 ^{d,B}	0.22±0.01 ^{a,C}	0.06±0.01 ^{a,A}	0.04±0.02 ^{a,AB}
			30	1.39±0.13 ^{b,B}	2.25±0.10 ^{c,B}	2.71±0.07 ^{d,A}	0.04±0.01 ^{a,B}	0.15±0.03 ^{a,B}	0.06±0.05 ^{a,B}
			45	1.11±0.12 ^{b,A}	1.14±0.67 ^{b,A}	2.81±0.22 ^{c,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.04±0.01 ^{a,A}	0.05±0.01 ^{a,AB}
Eugenol		2737	0	0.84±0.20 ^{a,A}	0.74±0.14 ^{a,A}	0.76±0.03 ^{a,A}	TE	TE	TE
			14	0.75±0.04 ^{b,A}	0.88±0.04 ^{b,A}	0.85±0.03 ^{b,A}	0.44±0.03 ^{a,A}	0.30±0.09 ^{a,A}	0.45±0.07 ^{a,A}
			30	0.89±0.01 ^{c,A}	0.81±0.09 ^{c,A}	0.86±0.04 ^{c,A}	0.52±0.05 ^{b,B}	0.39±0.01 ^{a,A}	0.58±0.03 ^{b,B}
			45	0.86±0.08 ^{c,A}	0.76±0.10 ^{c,A}	0.79±0.02 ^{c,A}	0.51±0.01 ^{a,AB}	0.65±0.04 ^{b,B}	0.54±0.01 ^{a,B}
Toplam				18.73	18.94	22.65	12.10	17.02	12.80

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması/ 10⁻⁶) olarak ifade edilmiştir, sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satırda farklı küçük harflerle (a-d) gösterilen ortalamalar birbirinden *P*<0.05 düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden *P*<0.05 düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz, B1: fermente, serbest starter kültür, C1: fermente, enkapsül starter kültür, A2: ısıt işlem starter kültürsüz, B2: ısıt işlem serbest starter kültür, C2: ısıt işlem enkapsül starter kültür, TE: Tespit Edilemedi, REF-RI: referans retention index, RI: retention index

Fermentasyon grubunda enkapsül formda starter kültür kullanımının olduğu örneklerde linalool, trans karveol, α -Terpineol, metil eugenol, ve *p*-cymen-7-ol'un daha yüksek miktarlarda bulunduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Fermentasyon ile üretilen sucuk örneklerinde 2-propen1-ol sadece 0. günde belirlenmiş, 1-propanol 2-isopropoksi ise sadece fermentasyon ile üretilen örneklerde tespit edilmiş, ısıl işlem uygulaması ile üretilen sucuk grubunda tespit edilmemiştir.

Alkol bileşiklerine ait sonuçlarda yapıda terpen alkollerin (trans-thujan-4-ol, *p*-cymen-7-ol, terpinen-4-ol, *trans* karveol gibi) ve metil dallanmış alkollerin (metil eugenol, 2-pentanol, 4-methyl-gibi) bulunduğu belirlenmiştir. Sucuk uçucu bileşikleri üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer bileşiklerin belirlendiği ve bu bileşiklerin LAB ve mayalar tarafından aldehytlerin dekarboksilasyonu sonucunda ya da amino asitlerden oluşabileceği bildirilmiştir [212, 224]. Sucuk örneklerinde olgunlaşma döneminden sonra (14. günden sonra) görülen ve Marco vd. [225] tarafından da belirlenen 3-buten-2-ol'ün yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucu oluşan metil ketonların redüksiyonu ile oluştuğu bildirilmiştir.

Isıl işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin alkol bileşiklerinden etanol, linalool, *trans* karveol, terpinen4- ol, α -terpineol ve metil eugenol'ün ısıl işlem uygulamasının ardından (0. gün) serinin hiçbir örneğinde belirlenemediği, devam eden depolama aşamalarında oluşmaya başladığı ve miktarlarının fermentasyon uygulanan örneklerde belirlenen miktarlardan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Literatürde ısıl işlemin sucuk uçucu bileşikleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda da alkol bileşiklerinin ısıl işlem etkisi ile miktarlarının düştüğü belirtilmiştir [135, 216].

Isıl işlem uygulaması ile üretilen sucuk örnekleri arasında belirlenen alkol bileşiklerinden etanol, 1-butanol ve eugenolün enkapsül formda starter kültür içeren örnekte (C2) serbest formda starter kültür içeren örneğe kıyasla daha yüksek miktarda bulunduğu belirlenmiştir. Literatürde bildirilen bulgu [216] çalışmamızı destekler niteliktedir.

Fermentasyon ile üretilen örneklerden farklı olarak, sadece ısıl işlem gören sucuk örneklerinde metanetiol ve trans tujan 4-ol bileşikleri belirlenmiştir. Bu bileşiklerin ısıl işlem etkisi ile türevlenerek oluştukları düşünülmektedir.

4.2.10.4. Ester bileşikleri

Fermentasyon ve ısıt işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin ester yapısındaki bileşikler ve depolama sürecindeki değişimi Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Farklı üretim teknikleri ile üretilen sucuk örneklerinden fermentasyon uygulanan örneklerde 6, (pentanoik asit, 2-metil-, metil ester, bütanoik asit, metil ester, bütanoik asit etenil ester, asetik asit metil ester, bütanoik asit, 2,3-dimetil- metil ester, 4-hekzenoik asit, metil ester) ısıt işlem uygulanan örneklerde 1 ester bileşiği (bütanoik asit etenil ester) olmak üzere toplamda 6 ester bileşiği belirlenmiştir.

Sucuk örneklerinde üretim tekniğinin ester bileşiklerinin çeşit ve miktar üzerine etkili olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Fermentasyon uygulanan örneklerde ester bileşiklerinin çeşit ve miktarlarının ısıt işlem uygulanan örneklere kıyasla daha fazla olduğu ve ayrıca ester bileşiği miktarlarının enkapsül formda starter kültür kullanımı ile yükseldiği saptanmıştır.

Fermentasyon uygulanan örneklerde 0. gün sonuçlarında pentanoik asit 2-metil ester, bütanoik asit metil ester ve bütanoik asit etenil esterin tespit edildiği, ancak devam eden depolama süresinde belirlenmediği görülmektedir. Belirlenen diğer ester bileşiklerinin ise üretim aşamasında olduğu, fakat depolama aşamalarında miktarlarının azalma eğiliminde olduğu saptanmıştır. Söz konusu durumun sucuk formülasyonunda gerçekleşen biyokimyasal değişimler sonucunda enzim aktivitesinin olumsuz etkilenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim literatürde ester bileşiklerinin stafilokok esteraz aktivitesi ile olduğu ve bu enzimin düşük pH derecelerinden olumsuz etkilendiği bilgisi yer almaktadır [208]. Depolama süresi sonunda sucuk örnekleri arasında ester bileşiği miktarı en yüksek örneğin enkapsül formda starter kültür içeren sucuk örneği olduğu göz önüne alındığında, enkapsülasyon işleminin stafilokok esteraz aktivitesini fermentasyon koşullarının olumsuz etkilerinden koruduğu, yani enzimin daha uzun süre aktivite gösterdiği ifade edilebilir.

Çizelge 4.21. Fermentasyon ve ısıt işlemleri ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen ester bileşikler*

Bileşikler	REF - RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Pentanoik asit, 2-metil ester		1029	0	0.93±0.31 ^{a,A}	1.22±0.69 ^{a,A}	1.22±0.31 ^{a,A}	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			30	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			45	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Bütanoik asit, metil ester		1152	0	0.05±0.00 ^{a,A}	0.12±0.00 ^{b,B}	0.12±0.03 ^{b,B}	TE	TE	TE
			14	TE	0.08±0.02 ^{b,A}	0.02±0.04 ^{a,A}	TE	TE	TE
			30	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			45	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Bütanoik asit etenil ester		1371	0	0.02±0.05 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.03±0.01 ^{b,A}	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	0.02±0.00 ^{a,A}
			30	TE	TE	TE	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}
			45	TE	TE	TE	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}
Asetik asit metil ester		810	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.14±0.00 ^{a,A}	TE	0.20±0.07 ^{b,C}	TE	TE	TE
			30	TE	0.13±0.01 ^{a,B}	0.18±0.00 ^{b,B}	TE	TE	TE
			45	TE	0.07±0.04 ^{a,A}	0.08±0.01 ^{a,A}	TE	TE	TE
Bütanoik asit, 2,3-dimetil- metil ester		1029	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.03±0.01 ^{a,B}	0.08±0.01 ^{b,B}	0.09±0.01 ^{b,B}	TE	TE	TE
			30	0.05±0.00 ^{b,C}	0.07±0.00 ^{bc,B}	0.08±0.00 ^{c,B}	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}
			45	0.02±0.00 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{b,A}	0.03±0.00 ^{c,A}	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}
4-Hekzenoik asit, metil ester		1241	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.21±0.01 ^{b,B}	0.41±0.04 ^{c,B}	0.17±0.02 ^{a,B}	TE	TE	TE
			30	0.21±0.14 ^{a,B}	0.42±0.03 ^{c,B}	0.25±0.02 ^{b,C}	TE	TE	TE
			45	0.05±0.00 ^{a,A}	0.08±0.00 ^{b,A}	0.11±0.01 ^{c,A}	TE	TE	TE
Toplam				1.93	2.74	2.14	0.03	0.06	0.08

*Ortalama ± standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması/ 10⁻⁶) olarak ifade edilmiştir, sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satırda farklı küçük harflerle (a-c) gösterilen ortalamalar birbirinden P<0.05 düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden P<0.05 düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1: fermente, starter kültürsüz, B1: fermente, serbest starter kültür, C1: fermente, enkapsül starter kültür, A2: ısıt işlemleri starter kültürsüz, B2: ısıt işlemleri serbest starter kültür, C2: ısıt işlemleri enkapsül starter kültür, TE: Tespit Edilemedi, REF-RI: referans retention index, RI: retention index

Ensoy [57] tarafından yapılan çalışmada fermentasyon uygulanan örneklerde depolama süresi ilerledikçe ester bileşiklerinin miktarının azalma eğiliminde olduğunu, geleneksel yöntem ile üretilen sucuklarda 1,2 benzen dikarboksilik asit dibütil esterinin tespit edilebildiği ancak ısı işlem uygulanan sucuk örneklerinde depolama süresinin 120. gününde oluştuğu bildirilmiştir.

Isıl işlem uygulanan sucuk örneklerinde depolama aşamasının 14. gününden sonra bütanoik asit etenil ester bileşiği belirlenmiş, depolama süresi boyunca bileşiğin miktarının azaldığı tespit edilmiştir.

4.2.10.5. Aldehit bileşikleri

Fermentasyon ve ısı işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin aldehit yapısındaki bileşikleri ve depolama süresince değişimi Çizelge 4.22’de verilmiştir. Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinde 10 aldehit bileşiği tespit edilmiştir. Lipit oksidasyonunun son ve majör ürünü olan aldehitler bulundukları gıdaların önemli uçucu bileşenleridir. Aldehitlerin algılanma eşikleri oldukça düşüktür, dolayısıyla iz miktarda bulunması bile uçucu üzerinde etki göstermektedir [8, 226].

Fermentasyon ve ısı işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin her iki grubunda da tespit edilen aldehit bileşikleri 3-metil butanal, hekzanal, pentanal, propanal 2-metil 3-fenil, *p*-kumik aldehid, benzaldehit ve 2-karen-10’dur. Çalışmamızda incelenen örneklerde tespit edilen aldehit bileşiklerine ait bulgularımızın literatürde bildirilen bulgular [7, 57, 121, 135, 136] ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

Propanal 2-metil 3-fenil her iki üretim yöntemi ile elde edilen sucuk örneklerinde belirlenen aldehit bileşikleri arasında en yüksek miktara sahip olan bileşiktir. Fermentasyon ve ısı işlem örnekleri arasında depolama süresi sonunda enkapsül formda starter kültür içeren örneklerde propanal 2-metil 3-fenil miktarının en düşük seviyede olduğu saptanmıştır. Literatürde yapılan çalışmalarda da söz konusu bileşiğin aldehit grubu arasında miktar olarak öne çıktığı bildirilmiştir [121, 134, 135, 219].

Çizelge 4.22. Fermentasyon ve ısıtım işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen aldehit bileşikleri*

Bileşikler	REF- RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
3-Metilbütanal	875 [127, 216]	842-859	0	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.02 ^{a,A}	0.02±0.01 ^{a,A}	0.02±0.04 ^{a,A}
			14	0.04±0.00 ^{a,B}	0.04±0.00 ^{a,C}	0.04±0.03 ^{a,C}	0.04±0.01 ^{a,B}	0.04±0.00 ^{a,B}	0.06±0.03 ^{b,B}
			30	0.05±0.00 ^{b,C}	0.03±0.00 ^{a,B}	0.03±0.00 ^{a,B}	0.05±0.00 ^{b,C}	0.05±0.00 ^{b,C}	0.07±0.01 ^{c,B}
			45	0.06±0.01 ^{ab,D}	0.06±0.00 ^{ab,D}	0.07±0.00 ^{b,D}	0.05±0.01 ^{a,C}	0.05±0.01 ^{a,C}	0.06±0.02 ^{ab,B}
Pentanal	952-1020 [127, 216]	906	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.04±0.00 ^{ab,A}	0.06±0.00 ^{bc,A}	0.03±0.04 ^{a,A}	0.06±0.03 ^{bc,A}	0.06±0.00 ^{bc,A}	0.06±0.05 ^{bc,A}
			30	0.10±0.00 ^{b,B}	0.06±0.00 ^{a,A}	0.10±0.03 ^{b,B}	0.09±0.00 ^{b,B}	0.16±0.01 ^{c,B}	0.11±0.01 ^{b,B}
			45	0.15±0.06 ^{ab,B}	0.11±0.02 ^{a,B}	0.11±0.00 ^{a,B}	0.19±0.01 ^{c,C}	0.18±0.00 ^{bc,C}	0.11±0.00 ^{a,B}
Hekzanal	849-1074 [127, 216, 223]	1012	0	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{b,A}	0.02±0.00 ^{b,A}	0.01±0.00 ^{a,A}
			14	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.14 ^{a,A}	0.25±0.09 ^{d,B}	0.21±0.01 ^{c,B}	0.20±0.01 ^{b,B}
			30	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.27±0.01 ^{c,C}	0.27±0.02 ^{c,C}	0.24±0.01 ^{b,C}
			45	0.02±0.00 ^{b,B}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.30±0.01 ^{c,D}	0.29±0.00 ^{d,D}	0.27±0.01 ^{c,D}
Heptanal	940-1199 [216, 222]	1152	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	0.04±0.59 ^{a,A}	0.05±0.00 ^{b,B}	0.05±0.00 ^{b,B}
			30	TE	TE	TE	0.05±0.00 ^{b,B}	0.06±0.00 ^{c,B}	0.04±0.00 ^{a,A}
			45	TE	TE	TE	0.05±0.01 ^{c,B}	0.04±0.00 ^{a,A}	0.05±0.01 ^{c,B}
<i>p</i> -kumik aldehid	1255-1334 [127, 212]	1339	0	0.10±0.05 ^{b,B}	0.11±0.03 ^{b,D}	0.06±0.01 ^{a,C}	TE	TE	TE
			14	0.03±0.01 ^{a,A}	0.08±0.01 ^{b,C}	0.04±0.01 ^{a,B}	0.04±0.00 ^{a,B}	0.05±0.00 ^{a,C}	0.07±0.00 ^{b,B}
			30	0.03±0.01 ^{ab,A}	0.05±0.00 ^{c,B}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.04±0.03 ^{bc,B}	0.03±0.00 ^{ab,B}	0.08±0.01 ^{d,C}
			45	0.04±0.00 ^{c,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{b,AB}	0.02±0.01 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{a,A}
Oktanal	1006-1319 [127, 216]	1397	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			30	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.02±0.01 ^{b,B}	TE	TE	TE
			45	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{b,A}	TE	TE	TE

Çizelge 4.22. (devam)

Bileşikler	REF- RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
n-Nonanal	1180-1399 [212, 216]	1501	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.04±0.00 ^{c,A}	TE	TE	0.02±0.00 ^{b,B}	0.01±0.00 ^{a,A}	TE
			30	TE	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	TE
			45	TE	TE	TE	0.02±0.00 ^{b,B}	0.01±0.00 ^{a,A}	TE
Benzaldehit	974, 1018, 1533 [127, 212, 216]	1757	0	TE	TE	TE	0.11±0.09 ^{c,A}	0.08±0.03 ^{b,A}	0.07±0.03 ^{a,A}
			14	0.15±0.02 ^{c,C}	0.04±0.00 ^{a,A}	0.05±0.02 ^{a,A}	0.17±0.03 ^{c,B}	0.10±0.01 ^{b,A}	0.17±0.05 ^{c,B}
			30	0.09±0.01 ^{b,A}	0.06±0.00 ^{a,B}	0.07±0.01 ^{a,B}	0.21±0.01 ^{c,B}	0.20±0.01 ^{c,B}	0.25±0.01 ^{d,C}
			45	0.12±0.01 ^{a,B}	0.12±0.01 ^{a,C}	0.11±0.01 ^{a,C}	0.36±0.07 ^{b,C}	0.37±0.05 ^{b,C}	0.37±0.02 ^{b,D}
Propanal, 2-metil- 3-fenil-	523-1831 1334	1841 1337	0	33.65±3.93 ^{a,B}	30.03±4.57 ^{a,C}	33.64±6.03 ^{a,B}	34.20±0.23 ^{a,B}	35.01±0.43 ^{a,C}	29.61 ±0.14 ^{a,C}
			14	24.55±4.88 ^{c,A}	9.19±0.14 ^{a,B}	5.12±0.21 ^{a,A}	25.27±4.22 ^{c,A}	19.92±4.52 ^{b,A}	25.60±0.78 ^{c,B}
			30	21.59±0.35 ^{b,A}	4.26±0.05 ^{a,A}	4.74±0.27 ^{a,A}	28.25±1.37 ^{d,A}	24.95±3.45 ^{c,AB}	28.89±1.06 ^{d,C}
			45	19.62±6.03 ^{b,A}	6.24±0.89 ^{a,A}	5.88±0.76 ^{a,A}	27.49±3.42 ^{c,A}	26.23±2.41 ^{c,B}	21.08±2.08 ^{b,A}
2-Karen-10-al	1805 [216]	2301	0	8.16±1.15 ^{b,B}	7.13±1.25 ^{a,C}	8.92±0.21 ^{b,B}	TE	TE	TE
			14	3.87±1.06 ^{c,A}	0.91±0.06 ^{a,A}	0.49±0.10 ^{a,A}	3.46±0.31 ^{ab,A}	2.80±0.88 ^{b,A}	4.00±0.04 ^{c,A}
			30	2.57±1.48 ^{b,A}	2.19±0.08 ^{b,B}	0.49±0.02 ^{a,A}	3.80±0.13 ^{c,A}	2.74±0.64 ^{b,A}	3.84±0.42 ^{c,A}
			45	3.42±0.25 ^{bc,A}	3.02±0.40 ^{b,B}	0.68±0.01 ^{a,A}	3.50±0.44 ^{c,A}	3.56±0.09 ^{c,A}	3.63±0.28 ^{c,A}
Toplam				110.38	54.68	60.87	128.50	117.38	115.31

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması/ 10⁻⁶) olarak ifade edilmiştir, sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satırda farklı küçük harflerle (a-e) gösterilen ortalamalar birbirinden *P*<0.05 düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-D) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden *P*<0.05 düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1: fermente, starter kültürsüz, B1: fermente, serbest starter kültür, C1: fermente, enkapsül starter kültür, A2: ısıtım işlemi starter kültürsüz, B2: ısıtım işlemi serbest starter kültür, C2: ısıtım işlemi enkapsül starter kültür, TE: Tespit Edilemedi, REF-RI: referans retention index, RI: retention index

Tipik sucuk uçucu bileşikleri üzerinde etkili olan 3-metilbütanal bileşiğinin fermentasyon ve ısıtım işlem örneklerinde oluştuğu ve depolama süresi boyunca miktarının arttığı belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda fermente örneklerin 3-metilbütanal miktarının ısıtım işlem örneklerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Depolama süresi sonunda en yüksek 3-metilbütanalın enkapsül formda starter kültür içeren örneklerde (C1 ve C2) bulunduğu saptanmıştır. 3-metilbütanal lösin aminoasitinin enzimatik olmayan strecker degradasyonlarında gerçekleşen deaminasyon ve dekarboksilasyon reaksiyonları ile oluştuğu bildirilmiştir [7].

Benzaldehit ısıtım işlem uygulanan sucuk grubunda 0. gün, fermentasyon grubunda ise depolamanın 14. gününden sonra tespit edilmeye başlanmış, depolama süresince miktarın arttığı, ısıtım işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde fermentasyon ile üretilen örneklerle kıyasla daha yüksek miktarlarda oluştuğu belirlenmiştir. Depolama süresinin 14. gün sonunda benzaldehit bileşiğinin enkapsül formda starter kültür içeren örneklerde (C1 ve C2) daha yüksek miktarlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Sidira vd. [216] enkapsül formda starter kültür kullanılan sucuk örneğinde serbest form örneğine kıyasla daha yüksek miktarda benzaldehit bulunduğunu bildirmiştir. Lipit oksidasyon ürünü olan benzaldehit bileşiğinin sucuk örneklerine badem yağı lezzeti verdiği bildirilmiştir [7, 221].

Isıtım işlem grubunda daha yüksek miktarlarda olmakla birlikte ($P<0.05$), her iki üretim tekniği ile elde edilen sucuk örneklerinde hekzanal tespit edilmiş, bileşiğin depolama süresi ilerledikçe artmıştır. Depolama süresi sonunda en yüksek miktarın kontrol örneklerinde (A1 ve A2) ($P<0.05$), en düşük miktarın ise enkapsül formda starter kültür içeren (C1 ve C2) sucuk örneklerinde bulunduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Hekzanal bileşiğine ilişkin bulgularımız literatürde bildirilen veriler [7, 216] ile yakınlık göstermektedir. Depolama aşamalarında söz konusu bileşiğin miktarlarının arttığı ve ısıtım işlem uygulaması ile elde edilen örneklerde miktarın daha yüksek olduğu gözlemlenmektedir. Bu durum lipit oksidasyonunun depolama boyunca devam etmesinden ve ısıtım işlem etkisiyle oksidasyonun daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim çalışmamızda lipit oksidasyon seviyesini belirlemek için yapılan TBA sonuçları ve söz konusu bulgu arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Lipit oksidasyonu sonucu oluşan bu bileşik aralarında et, peynir ve meyve dahil olmak üzere 300 farklı gıda türünde tespit edilmiş ve bulunduğu ürüne

yağı, çimen ve meyvemsi koku verdiği ve sucuk örneklerine önemli lezzet bozukluklarına neden olduğu bildirilmiştir [219].

Isıl işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde fermentasyon uygulaması ile üretilen örneklerden farklı olarak heptanal ve nonanal tespit edilmiştir. Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan, ürüne mumsu, acımsı uçucu veren nonanal bileşiği C2 örneğinde tespit edilmemiştir. Heptanal bileşiği de doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşmakta ve ürüne meyvemsi-yağısı bir tat oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. Heptanal bileşiğinin serinin tüm örneklerinde olduğu, depolama süresinde miktarının arttığı ve en yüksek miktarın A2 örneğinde bulunduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca sucuk örneklerinde 2-karen 10-al aldehit bileşiği belirlenmiş, ısıl işlem uygulanan örneklerde söz konusu bileşik daha yüksek miktarda bulunmuştur ($P<0.05$). Isıl işlem uygulaması ile üretilen örnekler arasında depolama süresi sonunda enkapsül formda starter kültür içeren örnekte 2-karen 10-al bileşiğinin serbest formda kültür içeren örnekte daha yüksek miktarda bulunduğu gözlenmiştir. Sidira vd. [216] tarafından yapılan çalışmada da benzer bulgular bildirilmiştir.

Sucuk örneklerinin tümünde belirlenen bir aldehit olan ρ -kumik aldehidin depolama süresinde miktarının azaldığı ve depolama süresi sonunda ısıl işlem uygulaması ile üretilen örneklerde daha yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. Farklı çalışmalarda da belirlenen ve sucuk üretiminde kullanılan kimyonda bol miktarda bulunan ρ -kumik aldehidin uçucu oluşumunda katkısı önemli olarak nitelendirilen bir aldehit bileşiği olduğu bildirilmiştir [56, 127].

4.2.10.6. Keton bileşikleri

Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinde 8 keton bileşiği belirlenmiştir. Depolama aşamalarında keton bileşiklerinde gerçekleşen değişiklik Çizelge 4.23'de verilmiştir. Fermentasyon uygulanan örneklerde belirlenen keton bileşikleri çeşit ve miktarlarının ısıl işlem uygulanan örneklere kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir. Keton bileşikleri algılanma eşiğinin yüksek olması nedeniyle sucuk uçucu bileşikleri üzerinde etkilerinin orta derecede olduğu, ısıl işlem etkisi ile keton bileşiklerinin miktarında ve çeşidinde azalma gerçekleştiği bildirilmiştir [57, 216, 227].

Keton bileşiklerinden 2-bütanon, 2-bütanon 3-metil ve 2,3-bütadion keton bileşikleri sadece fermentasyon ile üretilen sucuk örneklerinde, aseton, 2-hekzandion ve 3-hidroksi 2-bütanon (asetoin) bileşiği her iki üretim yöntemi ile elde edilen sucuk örneklerinde, 2-propanon, 2,3-oktandion ise sadece ısıtma işlemi uygulaması ile üretilen örneklerde tespit edilmiştir. Çalışmada tespit edilen keton bileşikleri çeşit ve miktar değişimleri ile ilgili verilerin literatürde yer alan bulgular [136, 208, 224, 227] ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

3-hidroksi 2-bütanon (asetoin) keton bileşiğinin fermentasyon uygulanan örneklerde depolama süresi ile artış gösterdiği, ısıtma işlem uygulamasının ardından örneklerde belirlenmediği ve depolama süresi ile oluştuğu tespit edilmiştir. En yüksek asetoin miktarının C1 ve C2 örneklerinde bulunduğu belirlenmiştir. Asetoin bileşiğine ait bulgularımız literatürde yer alan veri [219] ile yakınlık göstermektedir.

Sadece ısıtma işlem uygulanan sucuk örneklerinde belirlenen 2-propanon depolama süresi sonunda B2 örneğinde tespit edildiği ve ürüne meyvemsi uçucu verdiği, benzer şekilde 2,3-oktandionun ise B2 örneğinde tespit edildiği ve bulunduğu ürüne meyvemsi-küflü koku verdiği bildirilmiştir [7, 135, 216].

Çizelge 4.23. Fermentasyon ve ısıtım işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen keton bileşikler*

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Aseton	530 [222]	527	0	0.06±0.02 ^{a,B}	0.08±0.08 ^{a,A}	0.07±0.02 ^{a,B}	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	TE	TE	0.06±0.00 ^{a,B}
			30	0.03±0.01 ^{a,A}	TE	0.09±0.00 ^{b,B}	TE	TE	0.05±0.00 ^{b,A}
			45	0.03±0.01 ^{a,A}	TE	0.04±0.00 ^{b,A}	TE	TE	0.05±0.00 ^{c,A}
2-Bütanon	631 [222]	650	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	0.02±0.00 ^{a,C}	TE	TE	TE	TE
			30	TE	0.07±0.01 ^{a,B}	TE	TE	TE	TE
			45	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	TE	TE	TE	TE
2-Propanon	824 [222]	805	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	0.05±0.02 ^{b,B}	0.05±0.00 ^{a,B}	TE
			30	TE	TE	0.02±0.00 ^{a,A}	0.04±0.00 ^{b,A}	0.06±0.00 ^{c,C}	TE
			45	TE	TE	TE	0.04±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{a,A}	TE
2-Bütanon, 3-metil-	918 [222]	900	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	0.06±0.01 ^{a,A}	TE	TE	TE	TE
			30	TE	0.07±0.00 ^{a,B}	TE	TE	TE	TE
			45	TE	0.06±0.01 ^{a,A}	TE	TE	TE	TE
2,3-Bütadion	949 [222]	903	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	0.06±0.01 ^{b,A}	0.04±0.03 ^{a,A}	0.04±0.01 ^{a,A}	TE	TE	TE
			30	0.07±0.01 ^{ab,A}	0.08±0.07 ^{b,C}	0.06±0.01 ^{a,B}	TE	TE	TE
			45	0.06±0.01 ^{a,A}	0.07±0.06 ^{b,B}	0.09±0.00 ^{c,C}	TE	TE	TE
3-hidroksi 2-bütanon (asetoin)-	1298 [222]	1338	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	TE	TE	TE	0.02±0.00 ^{b,A}
			30	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.04±0.00 ^{b,C}
			45	TE	0.02±0.00 ^{b,B}	0.02±0.00 ^{b,B}	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{c,B}

Çizelge 4.23. (devam)

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
2,3-Oktandion		1373	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	0.040±0.001 ^{b,B}	0.026±0.004 ^{a,A}	TE
			30	TE	TE	TE	0.020±0.004 ^{a,A}	0.031±0.001 ^{b,B}	TE
			45	TE	TE	TE	0.050±0.007 ^{b,B}	0.034±0.001 ^{a,B}	TE
2-Hekzandion		1869	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	0.025±0.001 ^{a,B}	TE	TE	0.029±0.002 ^{b,B}
			30	TE	0.02±0.00 ^{a,B}	0.026±0.039 ^{b,B}	TE	TE	0.023±0.001 ^{b,A}
			45	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.012±0.001 ^{a,A}	TE	TE	0.026±0.004 ^{b,AB}
Toplam				0.30	0.59	0.49	0.20	0.25	0.32

*Ortalama±standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması/ 10⁻⁶) olarak ifade edilmiştir, sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satırda farklı küçük harflerle (a-c) gösterilen ortalamalar birbirinden *P*<0.05 düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden *P*<0.05 düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz, B1: fermente, serbest starter kültür, C1: fermente, enkapsül starter kültür, A2: ısıt işlem starter kültürsüz, B2: ısıt işlem serbest starter kültür, C2: ısıt işlem enkapsül starter kültür, TE: Tespit Edilemedi, REF-RI: referans retention index, RI: retention index

4.2.10.7. Asit bileşikleri

Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinde bulunan asit bileşikleri çeşit ve miktarlarının depolama aşamalarındaki gelişimi Çizelge 4.24'de verilmiştir. Sadece fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinde 4 (asetik asit, pentanoik asit 2-okzo, bütanoik asit 3-metil, *trans*-3-hekzanoik asit), fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulanan sucuk örneklerinde ise 2 (sorbik asit, pentanoik asit 2-metil), sadece ısıtma işlemi uygulanan örneklerde ise 1 (asetik asit okzo) olmak üzere toplam 7 asit bileşiği tespit edilmiştir.

Asetik asitin depolama süresi sonunda sucuk örneklerinde belirlenen asit bileşikleri arasında önemli bir yere sahip olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon uygulaması ile elde edilen sucuk örnekleri arasında en yüksek asetik asit miktarının ($P<0.05$) enkapsül formda starter kültür içeren örnekte bulunduğu tespit edilmiştir. Asetik asitin uygulanan ısıtma işlemi normlarından olumsuz etkilendiği ve ısıtma işlemi uygulaması ile üretilen örneklerde bulunmadığı belirlenmiştir. Çalışmamız asetik asit bulgularının literatürde yer alan veriler [7,121, 127, 135, 227, 228, 229] ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Fermentasyon uygulaması ile üretilen sucuklarda; pentanoik asit-2 okzo miktarının depolama süresinde azaldığı gözlemlenmiş, depolama süresi sonunda sadece A1 örneğinde saptanmıştır. Bütanoik asit 3-metil ve *trans*-3-hekzenoik asitin depolamanın 30. gününe kadar miktarlarının arttığı, depolama süresinde azalmaya başladığı, depolama süresi sonunda en yüksek miktar C1 örneğinde saptanmış ($P<0.05$) ve bunu B1 ve A1 örneklerinin takip ettiği belirlenmiştir. Çalışmamızda belirlenen asit bileşikleri arasında söz konusu asitlerin miktarının düşük olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.24. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen asit bileşikleri*

Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Asetik asit, okzo-		938	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
			14	TE	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}
			30	TE	TE	TE	0.01±0.01 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{b,B}	0.02±0.00 ^{b,B}
			45	TE	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.02±0.00 ^{b,B}	0.01±0.00 ^{a,A}
Asetik asit	1448 [216]	1583	0	TE	TE	TE	TE	TE	
			14	3.08±0.04 ^{a,A}	3.62±0.18 ^{ab,B}	3.77±0.05 ^{b,A}	TE	TE	TE
			30	3.33±0.21 ^{a,A}	3.92±0.29 ^{b,B}	3.28±0.36 ^{a,A}	TE	TE	TE
			45	2.93±0.46 ^{a,A}	3.01±0.37 ^{ab,A}	3.35±0.25 ^{b,A}	TE	TE	TE
Pentanoik asit- 2 okzo		1779	0	TE	TE	TE	TE	TE	
			14	0.04±0.00 ^{b,A}	0.02±0.1 ^{a,A}	0.02±0.09 ^{a,A}	TE	TE	TE
			30	0.05±0.00 ^{a,B}	TE	TE	TE	TE	TE
			45	0.05±0.00 ^{a,B}	TE	TE	TE	TE	TE
Bütanoik asit 3- metil-	1728 [216]	2003	0	TE	TE	TE	TE	TE	
			14	0.08±0.01 ^{a,A}	0.11±0.01 ^{b,B}	0.11±0.01 ^{b,A}	TE	TE	TE
			30	0.09±0.00 ^{a,A}	0.14±0.01 ^{c,C}	0.11±0.00 ^{b,A}	TE	TE	TE
			45	0.07±0.02 ^{a,A}	0.09±0.01 ^{b,A}	0.11±0.01 ^{c,A}	TE	TE	TE
Pentanoik asit, 2- metil-	2211	2202	0	0.90±0.08 ^{a,A}	1.13±0.10 ^{a,A}	TE	TE	TE	
			14	10.80±4.47 ^{c,C}	2.66±0.25 ^{a,AB}	7.22±0.38 ^{b,B}	0.29±0.16 ^{a,A}	0.32±0.11 ^{a,B}	0.78±0.29 ^{a,A}
			30	5.24±0.30 ^{c,B}	6.49±0.19 ^{d,C}	3.57±1.24 ^{b,A}	0.25±0.02 ^{a,A}	0.27±0.21 ^{a,A}	0.60±0.08 ^{a,A}
			45	3.54±1.81 ^{b,B}	5.03±3.30 ^{b,BC}	4.12±1.29 ^{b,A}	0.35±0.13 ^{a,A}	0.50±0.50 ^{a,C}	0.55±0.03 ^{a,A}
Trans-3- hekzenoik asit		2405	0	TE	TE	TE	TE	TE	
			14	0.63±0.01 ^{a,C}	1.30±0.49 ^{b,B}	1.23±0.20 ^{b,C}	TE	TE	TE
			30	1.06±0.05 ^{b,B}	1.12±0.06 ^{c,B}	0.90±0.04 ^{a,B}	TE	TE	TE
			45	0.31±0.02 ^{a,A}	0.68±0.09 ^{b,A}	0.77±0.10 ^{c,A}	TE	TE	TE
Sorbik asit	2150	2603	0	TE	TE	TE	TE	TE	
			14	5.70±0.65 ^{b,A}	5.61±0.88 ^{b,B}	5.23±0.00 ^{b,A}	2.41±0.05 ^{a,B}	0.24±0.01 ^{a,B}	0.20±0.03 ^{a,B}
			30	5.80±0.60 ^{c,A}	3.02±0.53 ^{a,A}	4.61±0.26 ^{b,A}	0.25±0.02 ^{a,A}	0.16±0.04 ^{a,A}	0.13±0.07 ^{a,A}
			45	6.69±0.86 ^{b,A}	6.19±0.55 ^{b,B}	6.59±0.82 ^{b,B}	0.25±0.03 ^{a,A}	0.15±0.01 ^{a,A}	0.20±0.17 ^{a,B}
Toplam				50.42	43.02	50.64	2.14	1.29	2.52

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması/ 10⁻⁶) olarak ifade edilmiştir, sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satırda farklı küçük harflerle (a-d) gösterilen değerler birbirinden P<0.05 düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen değerler her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden P<0.05 düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz, B1: fermente, serbest starter kültür, C1: fermente, enkapsül starter kültür, A2: ısıtma işlem starter kültürsüz, B2: ısıtma işlem serbest starter kültür, C2: ısıtma işlem enkapsül starter kültür, TE: Tespit Edilemedi, REF-RI: referans retention index, RI: retention index

Sorbik asit ve pentonoik asit 2-metil fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinde fermentasyon ve olgunlaşma döneminde (ilk 14 gün) oluşarak ve 14. günde majör asitler arasında yer almış, ancak depolama aşamalarında azaldığı saptanmıştır. Depolama süresi sonunda sorbik asidin C1 örneğinde, pentanoik asit 2-metilin ise B1 örneğinde en yüksek miktarda bulunduğu saptanmıştır. Depolama aşamalarında her iki asidin de artış gösterdiği, depolama süresi sonunda ısıtma işlemi uygulanan örneklerde fermentasyon uygulanan örneklerden daha düşük miktarlarda bulundukları belirlenmiştir ($P<0.05$). Depolama süresi sonunda söz konusu asitlerin C2 örneğinde B2 örneğinden daha fazla miktarda bulunduğu belirlenmiştir. Corral vd. [222] tarafından yapılan çalışmada da söz konusu bileşiklerin sucuk uçucu bileşiklerinde tespit edildiği bildirilmiştir.

Fosfolipit ve trigliseritlerin parçalanması sonucu uzun (C14-C18) ve orta (C6-C12) zincirli yağ asitleri oluşmaktadır. Mikrokokların lipolitik aktivitesi ile oluşan bu yağ asitleri et ürünlerinin duyu özelliklerinde direkt etki göstermemekte ancak tat ya da uçucu bileşikleri etkilenen bileşiklerin öncüsü olarak kullanılmaktadır. Kısa zincirli (C<6) yağ asitleri ise güçlü kokuları ve algılanma eşiklerinin oldukça düşük olmaları nedeni ile et ürünlerinin tat ve uçucusunda etkili bileşiklerdir. Özellikle fermentasyon sürecinde şekerlerin degradasyonu ve/veya lipidlerin oksidasyonu nedeni ile kısa zincirli karboksilli asit miktarının arttığı belirtilmiştir [226, 230].

4.2.10.8. Diğer uçucu bileşikler

Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuk örneklerinde bulunan alifatik hidrokarbonlar, eter, furan ve karbonil bileşiklerinin arasında bulunduğu uçucu bileşiklerinin depolama süresi boyunca miktarlarında meydana gelen değişiklik Çizelge 4.25’de topluca verilmiştir. Fermentasyon ve ısıtma işlemi ile üretilen sucuk örneklerinde üretim tekniği farklılığının alifatik hidrokarbon grubu bileşiklerin çeşit ve miktarı üzerindeki etkisi Çizelgede görülmektedir. Fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinde heksadekan, heksan 2,2,4 trimetil, bütan 2,2 dimetil, oktadekanın arasında yer aldığı 4 alifatik hidrokarbon bileşiği belirlenmiştir. Örneklerin sahip olduğu söz konusu bileşiklerin depolama periyodunun ilerleyen aşamalarında miktarlarının azalma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresi sonunda alifatik hidrokarbon bileşiklerinden oktadekanın sadece B1 örneğinde bulunduğu,

hekzadekanın en yüksek miktarda bulunduğu örneğin A1 ($P<0.05$), bütan 2,2 dimetil, bileşiğinin en yüksek miktarda bulunduğu örneğin C1 olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Isıl işlem ile üretilen sucuk örneklerinde uygulanan ısıl işlemin etkisi sonucunda fermentasyon uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde belirlenen alifatik hidrokarbon bileşiklerinden sadece hekzan 2,2,4-trimetil (sadece C2 örneğinde) bileşiği belirlenmiş, diğer bileşikler tespit edilememiştir.

Çakır [135] tarafından yapılan çalışmada geleneksel yöntemle üretilen sucuk örneklerinde alifatik hidrokarbon bileşiklerinden dekan, undekan, nanodekan, dodekan, tridekan tritetrakontan bileşiklerinin belirlendiğini, ısıl işlem uygulanan sucuk örneklerinde söz konusu bileşiklerin miktarlarının önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Kaban ve Kaya'nın [121] çalışmasında fermentasyon uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde hekzadekan, pentadekan bileşiklerinin belirlendiğini, araştırmacıların diğer [135] çalışmasında ise sucuk uçucu bileşiklerinde alifatik hidrokarbon bileşiği olarak dekan, nonadekan, undekan, heptan, tridekan bileşiklerinin tespit edildiğini bildirmiştir.

Tetrahidro furan fermentasyon ve ısıl işlem uygulanan sucuk örneklerinde belirlenen tek furan bileşiğidir. Fermentasyon uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinde tetrahidro furan bileşiğinin depolama sürecinde azalma eğiliminde olduğu, depolama süresi sonunda belirlenmediği tespit edilmiştir. Isıl işlem uygulaması ile söz konusu bileşiğin miktarının azaldığı, ancak devam eden depolama süresinde miktarın arttığı belirlenmiştir. Depolama süresi sonunda starter kültür kullanımı ile furan bileşiğinin miktarının azaldığı ($P<0.05$), ancak kullanım formunun farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Yapılan çalışmalarda saptanan furan yapısındaki başlıca bileşikler; tetrahidro furan [214], etil furan [214], 2-fenil furan [216] ve 2- pentil furandır [219]. Belirlenen bileşiklerin çeşit ve miktarları ve depolama süresince gözlenen değişim literatür bulguları [214, 219, 216] ile uyumludur.

Çizelge 4.25. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen diğer uçucu bileşikler*

Bileşik Grubu	Bileşikler	REF-RI	RI	Gün	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Alifatik Hidrokarbonlar	Hekzan, 2,2,4-trimetil		889	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
				14	0.06±0.00 ^{a,A}	0.15±0.02 ^{a,A}	0.26±0.09 ^{a,A}	0.42±0.12 ^{a,A}	TE	0.22±0.14 ^{a,AB}
				30	0.22±0.01 ^{b,B}	0.18±0.02 ^{a,B}	TE	TE	TE	0.28±0.06 ^{c,B}
				45	TE	TE	TE	TE	TE	0.14±0.03 ^{a,A}
	Bütan, 2,2-dimetil		1420	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
				14	TE	TE	0.02±0.00 ^{a,A}	TE	TE	TE
				30	TE	0.01±0.01 ^{a,B}	0.03±0.00 ^{b,B}	0.01±0.00 ^{a,A}	0.01±0.00 ^{a,A}	TE
				45	TE	0.01±0.01 ^{a,B}	0.02±0.00 ^{b,A}	TE	TE	TE
	Oktadekan, 1-(eteniloksi)-		1500	0	TE	0.03±0.00 ^{b,B}	0.01±0.00 ^{a,A}	TE	TE	TE
				14	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	TE	TE	TE	TE
				30	TE	0.01±0.01 ^{a,A}	TE	TE	TE	TE
				45	TE	TE	TE	TE	TE	TE
	Hekzadekan	1600 [216]	1620	0	0.08±0.02 ^{a,B}	0.10±0.02 ^{b,C}	0.10±0.01 ^{b,C}	TE	TE	TE
				14	0.05±0.00 ^{a,A}	0.13±0.00 ^{b,D}	0.12±0.00 ^{b,D}	TE	TE	TE
				30	0.07±0.01 ^{b,AB}	0.06±0.00 ^{b,B}	0.05±0.01 ^{a,B}	TE	TE	TE
				45	0.06±0.01 ^{c,A}	0.05±0.00 ^{b,A}	0.03±0.00 ^{a,A}	TE	TE	TE
Uçucutik Hidrokarbon	Toluen	791-1042- [127]	964	0	0.05±0.02 ^{a,A}	0.06±0.02 ^{a,A}	0.05±0.02 ^{a,A}	TE	TE	TE
				14	0.17±0.01 ^{c,B}	0.22±0.02 ^{d,C}	0.17±0.38 ^{c,B}	0.15±0.15 ^{bc,B}	0.13±0.00 ^{ab,A}	0.12±0.03 ^{a,A}
				30	0.17±0.02 ^{a,B}	0.20±0.01 ^{c,C}	0.19±0.01 ^{bc,B}	0.17±0.01 ^{a,B}	0.18±0.01 ^{ab,B}	0.16±0.01 ^{a,B}
				45	0.15±0.01 ^{bc,B}	0.14±0.03 ^{b,B}	0.17±0.01 ^{c,B}	0.13±0.02 ^{ab,a}	0.12±0.02 ^{ab,A}	0.11±0.01 ^{a,A}
Furan Bileşiği	Furan, tetrahidro	687-875 [214 216]	829	0	0.05±0.05 ^{a,A}	0.06±0.00 ^{a,A}	0.07±0.00 ^{a,A}	TE	TE	TE
				14	TE	0.04±0.00 ^{cd,A}	0.02±0.00 ^{ab,B}	0.05±0.03 ^{d,A}	0.02±0.01 ^{ab,A}	0.02±0.00 ^{ab,B}
				30	TE	TE	0.01±0.00 ^{a,A}	0.03±0.00 ^{c,A}	0.02±0.01 ^{b,A}	0.01±0.00 ^{a,A}
				45	TE	TE	0.02±0.00 ^{a,B}	0.04±0.01 ^{b,A}	0.04±0.01 ^{b,B}	0.02±0.00 ^{a,B}
Eter Bileşiği	santolina trien		2399	0	TE	TE	TE	TE	TE	TE
				14	0.34±0.02 ^{b,B}	1.57±0.14 ^{c,C}	1.74±0.00 ^{d,C}	0.03±0.00 ^{a,A}	TE	TE
				30	0.41±0.03 ^{a,C}	1.18±0.05 ^{b,B}	1.53±0.04 ^{c,B}	TE	TE	TE
				45	0.24±0.02 ^{a,A}	0.38±0.04 ^{b,A}	1.14±0.11 ^{c,A}	TE	TE	TE
Toplam					2.75	3.89	5.48	0.54	0.55	0.61

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar arbitrary unit (pik alanı ortalaması/ 10⁻⁶) olarak ifade edilmiştir, sonuçlar iki tekrerr ortalamasıdır (n=2). Aynı satırda farklı küçük harflerle (a-d) gösterilen ortalamalar birbirinden P<0.05 düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-D) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden P<0.05 düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz, B1: fermente, serbest starter kültür, C1: fermente, enkapsül starter kültür, A2: ısıtma işlem starter kültürsüz, B2: ısıtma işlem serbest starter kültür, C2: ısıtma işlem enkapsül starter kültür, TE: Tespit Edilemedi, REF-RI: referans retention index, RI: retention index

Amino asitlerin strecker degradasyonu oluşan ürünler ile maillard reaksiyonu ürünleri olan karbonilli bileşikler ileri uçucu bileşiklerinin oluşum reaksiyonlarında kullanılan ara ürünleri oluşturmak üzere reaksiyona girmektedir. Aralarında furan bileşiklerinin de bulunduğu pek çok uçucu bileşikleri bu reaksiyonlarının son ürünü olarak oluşmaktadır. Pişirilmiş et ürünlerinde istenilen "etimsi" (meaty) uçucusu etin kendisinin de sahip olduğu bir kaç bileşen tarafından oluşturulmaktadır. Söz konusu bileşiklerin başında furanlar, 3-pozisyonda tiol grubu içeren tiofenler ve bazı disülfidler yer almaktadır. Bu bileşiklerin algılanma eşikleri oldukça dūřüktür [34, 226].

Farklı üretim tekniklerinin miktar üzerinde etkisinin belirlendiği bir diğer bileşen toluendir. Aromatik hidrokarbon olan toluenin sucukta hayvan yeminden kaynaklı bulunabileceği gibi lipit degradasyonu ve amino asit katabolizması sonucunda da oluşabileceği bildirilmiştir [231, 232]. Çalışmamız uçucu sonuçlarında toluenin fermentasyon uygulanan örneklerde ısıt işlem örneklerine kıyasla daha yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiş, bulguların önceki çalışma sonuçları [121, 136, 222, 228, 232] ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

4.2.11. Sucuk örneklerinin biyojen amin ierikleri

Çalışmada farklı üretim teknikleri ile üretilen sucuk örneklerinin tümünde, putresin, histamin, kadaverin, spermidin, tiramin ve spermin biyojen amin eşitleri tespit edilmiş, depolama aşamalarında biyojen amin miktarlarında gerçekleşen değişim belirlenmiştir. Söz konusu biyojen amin çeşitlerine ait bilgi ve bulgular aşağıda verilmiştir.

4.2.11.1. Putresin miktarı

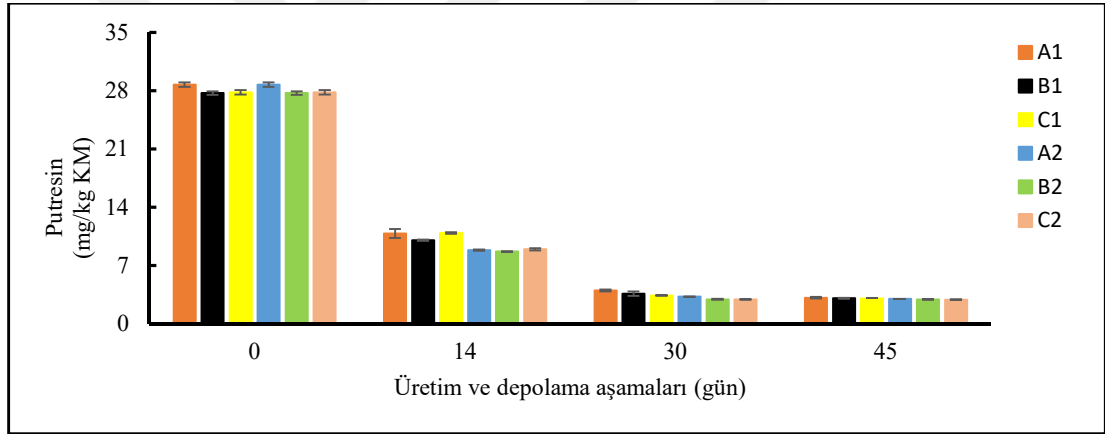
Fermentasyon ve ısıt işlem ile üretilen farklı formölasyona sahip sucuk örneklerinin farklı süreçlerdeki putresin miktarları izelge 4.26 ve şekil 4.25’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; 0. gün putresin miktarları bakımından starter kültür kullanımının örnekler arasında farklılık oluşturduğu görölmektedir ($P<0.05$). Putresin miktarları A1, B1 ve C1 örnekleri için sırasıyla 28.71 mg/kg KM, 23.20 mg/kg KM ve 27.81 mg/kg KM olarak belirlenmiştir

Çizelge 4.26. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen biyojen amin miktarları (mg/kg KM)*

Biyojen Amin	Gün	Fermente			Isıl İşlem		
		A1	B1	C1	A2	B2	C2
Putresin	0	28.71±0.28 ^{c,D}	23.20±0.50 ^{a,D}	27.81±0.27 ^{b,B}	28.71±0.28 ^{c,D}	23.20±0.50 ^{a,C}	27.81±0.27 ^{b,C}
	14	10.45±0.04 ^{c,C}	10.09±0.03 ^{b,C}	10.90±0.09 ^{c,C}	8.83±0.14 ^{a,C}	8.67±0.55 ^{a,B}	9.03±0.00 ^{a,B}
	30	3.69±0.83 ^{c,B}	3.61±0.00 ^{b,B}	3.39±0.01 ^{b,B}	3.27±0.00 ^{ab,B}	2.92±0.01 ^{a,A}	2.94±0.00 ^{a,A}
	45	3.12±0.00 ^{d,A}	3.05±0.00 ^{c,A}	3.04±0.00 ^{c,A}	2.98±0.02 ^{b,A}	2.91±0.05 ^{a,A}	2.89±0.06 ^{a,A}
Histamin	0	33.85±3.02 ^{b,A}	21.76±7.11 ^{a,A}	22.10±0.91 ^{a,A}	33.85±3.02 ^{b,A}	21.76±7.11 ^{a,A}	22.10±0.91 ^{a,A}
	14	69.07±1.02 ^{d,B}	62.78±1.24 ^{d,B}	60.37±0.99 ^{c,B}	35.14±0.47 ^{b,A}	23.19±0.31 ^{a,A}	22.73±0.69 ^{a,A}
	30	190.05±3.51 ^{d,C}	75.86±0.98 ^{c,C}	74.30±0.85 ^{c,C}	35.22±0.14 ^{b,A}	23.86±0.27 ^{a,A}	22.55±0.31 ^{a,A}
	45	205.73±1.34 ^{e,E}	103.65±3.46 ^{d,D}	102.30±0.47 ^{d,D}	35.50±0.13 ^{c,A}	24.23±0.21 ^{b,A}	21.38±0.10 ^{a,A}
Kadaverin	0	31.03±2.41 ^{a,A}	17.75±3.08 ^{b,B}	15.83±1.16 ^{b,C}	31.03±2.41 ^{a,B}	17.75±3.08 ^{b,B}	15.83±1.16 ^{b,C}
	14	62.60±3.30 ^{c,C}	15.06±2.04 ^{a,B}	14.72±2.54 ^{a,C}	37.96±7.47 ^{b,C}	11.62±2.56 ^{a,A}	11.02±3.01 ^{a,A,B}
	30	59.29±1.78 ^{d,B}	7.66±0.49 ^{a,A}	9.22±0.77 ^{a,B}	33.96±2.49 ^{c,BC}	13.94±1.98 ^{b,AB}	12.25±1.02 ^{b,B}
	45	32.02±1.92 ^{d,A}	5.51±0.07 ^{a,A}	4.12±0.08 ^{a,A}	19.50±1.73 ^{c,A}	10.12±0.70 ^{b,A}	9.36±0.30 ^{b,A}
Spermidin	0	3.45±0.69 ^{b,B}	2.29±0.86 ^{a,A}	2.24±0.09 ^{a,A}	3.45±0.69 ^{b,B}	2.29±0.86 ^{a,A}	2.24±0.09 ^{a,A}
	14	6.26±0.08 ^{c,C}	7.35±1.02 ^{d,B}	6.59±0.52 ^{cd,B}	2.27±0.58 ^{a,A}	3.31±0.23 ^{b,B}	3.82±0.32 ^{b,B}
	30	2.24±0.06 ^{a,A}	2.17±0.10 ^{a,A}	2.09±0.45 ^{a,A}	3.17±0.33 ^{b,B}	2.10±0.35 ^{a,A}	2.15±0.10 ^{a,A}
	45	2.11±0.15 ^{a,A}	2.05±0.27 ^{a,A}	2.02±0.05 ^{a,A}	2.94±0.10 ^{a,AB}	2.05±0.33 ^{a,A}	2.04±0.32 ^{a,A}
Tiramin	0	25.52±1.34 ^{a,A}	25.81±0.00 ^{a,A}	25.74±0.02 ^{a,A}	25.52±1.34 ^{a,A}	25.81±0.00 ^{a,A}	25.74±0.02 ^{a,A}
	14	68.45±1.77 ^{b,B}	87.99±0.36 ^{d,C}	70.15±0.12 ^{c,B}	26.83±2.24 ^{a,B}	26.12±0.15 ^{a,A}	25.68±0.23 ^{a,A}
	30	145.72±1.82 ^{d,C}	73.26±2.80 ^{c,B}	75.07±3.57 ^{c,B}	41.10±0.27 ^{b,C}	31.81±1.27 ^{a,B}	31.79±2.08 ^{a,B}
	45	150.20±0.79 ^{f,D}	109.03±0.90 ^{c,D}	98.25±0.07 ^{d,C}	42.61±0.19 ^{c,C}	35.40±0.20 ^{b,C}	34.46±0.63 ^{a,B}
Spermin	0	82.38±4.14 ^{c,A}	64.12±0.08 ^{b,A}	61.89±3.31 ^{a,A}	82.38±1.14 ^{c,B}	64.12±0.08 ^{b,A}	61.89±3.31 ^{a,A}
	14	83.35±2.75 ^{b,B}	93.45±3.75 ^{c,B}	82.06±2.56 ^{b,B}	80.93±1.39 ^{b,A}	75.48±4.30 ^{a,B}	74.37±4.50 ^{a,B}
	30	85.47±0.71 ^{a,C}	96.20±1.01 ^{b,C}	94.09±2.74 ^{b,C}	82.92±3.34 ^{a,BC}	81.24±1.53 ^{a,C}	83.12±5.60 ^{a,C}
	45	105.06±0.65 ^{b,D}	101.71±3.09 ^{b,D}	107.25±12.77 ^{b,D}	84.24±2.64 ^{a,C}	89.42±1.52 ^{a,D}	88.61±1.19 ^{a,C}

* Ortalama ± standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satır farklı küçük harflerle (a-f) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-E) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıtma işlem, starter kültürsüz; B2: ısıtma işlem, serbest starter kültür; C2: ısıtma işlem, enkapsül starter kültür

Üretim aşaması sonunda (14. gün) fermentasyon ve ısıl işlem uygulanan örnekler arasında homojen bir gruplaşma olduğu ($P<0.05$), fermentasyon örneklerinde (10.09-10.90 mg/kg KM) ısıl işlem örneklerine (8.67-9.03 mg/kg KM) kıyasla daha yüksek putresin miktarının bulunduğu ($P<0.05$) ve serbest formda starter kültür kullanımının putresin miktarı üzerinde etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Devam eden depolama sürecinde örneklerin putresin miktarının önemlilik taşımayan azalma eğiliminde olduğu gözlenmiştir ($P>0.05$). Depolama süresi sonunda fermentasyon örneklerinin putresin miktarının 3.04-3.12 mg/kg KM, ısıl işlem örneklerinde ise 2.89-2.98 mg/kg KM aralığında değiştiği ve tüm örneklerde starter kullanım etkisinin önemli ($P<0.05$), kullanım formu etkisinin önemli seviyede olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).



Şekil 4.25. Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında putresin miktarlarındaki değişim

Fermentasyon ve ısıl işlem uygulanan sucuk örnekleri içerisinde depolama periyodu sonunda en düşük putresin miktarı enkapsül formda starter kültür kullanılan örneklerde, en yüksek putresin miktarı ise kontrol örneklerinde belirlenmiştir. Her iki üretim tekniğinde de starter kültür kullanımı ile putresin miktarının azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$). Depolama süresi sonunda, fermentasyon ve ısıl işlem uygulamasının örneklerin putresin miktarındaki etkisinin önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$).

Latorre-Moratalla vd. [91] 6 farklı Avrupa ülkelerinden alınan sucuk örneklerini putresin içeriği bakımından incelemiş ve yüksekten düşüğe doğru sırası ile;

İspanyol 448.85 mg/kg KM, Fransız 362.06 mg/kg KM, Portekiz 342.67 mg/kg KM, İtalyan 324.20 mg/kg KM, Yunan 242.58 mg/kg KM ve Slovan ise 5.51 mg/kg KM şeklinde sıralanmıştır.

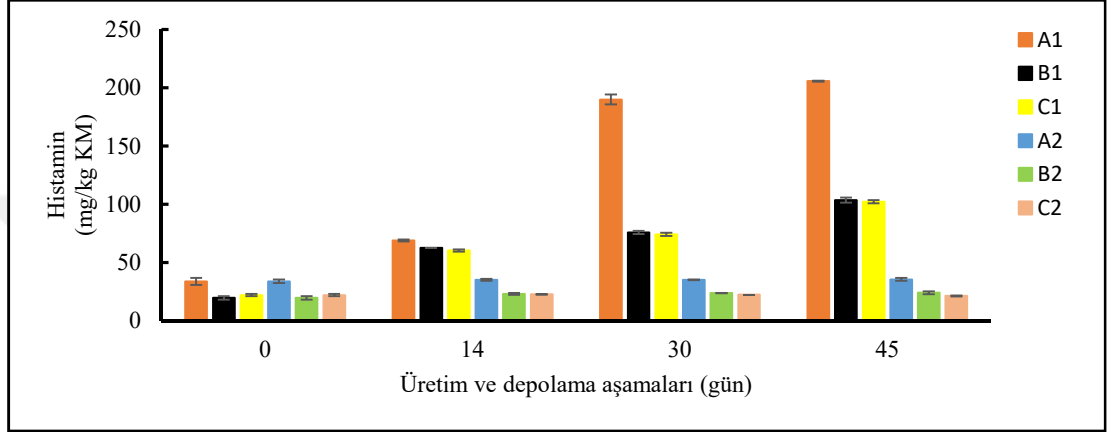
Genççelep vd. [100] tarafından yapılan bir çalışmada starter kültür kullanılmayan örneklerde 80.67 mg/kg KM, starter kullanılan örneklerde ise 30.13/33.13 mg/kg KM putresin belirlenmiştir. Bozkurt ve Erkmén [233] tarafından yapılan bir çalışmada 0. günde 38.3 mg/kg olan putresin miktarı 15 günde 302.9 mg/kg'a yükselmiş ve 60. günde 117.5 mg/kg seviyesine düşmüştür. Starter kültür kullanılmayan sucukta putresin miktarı 159.76 mg/kg, antioksidan katkılı sucuklarda ise bu oran 70.5-107.5 mg/kg şeklinde saptanmıştır [74]. Depolama başlangıcında ve sonunda putresin miktarı sırası ile 193- 212 mg/kg ve 102-126 mg/kg olarak değişmiştir [204]. Piyasadan temin edilen Türk sucuklarında yapılan çalışmada putresin miktarı 0.6-364 mg/kg arasında saptanmıştır [234].

Çevik [126] tarafından yapılan çalışmada kontrol grubu ve starter kültür kullanılan sucuk örneklerinin 10. gün putresin miktarları sırası ile 10.74-12.45mg/kg. 2.96-6.16mg/kg olarak bildirilmiştir. Purtesin için güvenilir alım miktarı net olmamakla birlikte, sınırlı sayıda yapılan canlı içi çalışmalarının önerisi ile oral toksisite 180 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak bildirilmiştir [145].

4.2.11.2. Histamin miktarı

Fermentasyon ve ısıl işlem ile üretilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında histamin miktarlarında gerçekleşen değişiklikler Çizelge 4.26 ve Şekil 4.26'da verilmiştir. Fermentasyon ve ısıl işlem gruplarının 0. gün örneklerinde starter kültür kullanımının olduğu örneklerde (B1 ve C1'de sırası ile 21.76 ve 22.10 mg/kg KM) kültür kullanılmayan örneğe (A1'de 33.85 mg/kg KM) kıyasla daha düşük miktarlarda histamin bulunduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Üretim süresi sonunda (14. gün) fermentasyon ve ısıl işlem örnekleri arasında belirgin bir gruplaşma olduğu ($P<0.05$), fermentasyon grubunun (60.37-69.07 mg/kg KM) ısıl işlem grubundan (22.73-35.14 mg/kg KM) daha fazla histamin içerdiği belirlenmiştir. Depolamanın 30 ve 45. günlerinde örnekler arasında starter kültür kullanımının histamin miktarı üzerine etkisi önemli ($P<0.05$) iken, kullanım formunun etkisi önemsiz olarak değerlendirilmiştir ($P>0.05$). Fermentasyon grubunda histamin miktarının depolama süresince arttığı gözlemlenmiş ($P<0.05$), 45. gün en yüksek histamin miktarı A1

(205.73 mg/kg KM) örneğinde belirlenirken, bunu B1 (103.65 mg/kg KM) ve C1 (102.30 mg/kg KM) örneklerinin takip ettiği tespit edilmiştir. Isıl işlem grubunda söz konusu artma eğilimi saptanmamıştır ($P>0.05$). Depolama süresi sonunda ısıl işlem örnekleri arasında en yüksek histamin miktarı A2 örneğinde (35.50 mg/kg KM), en düşük histamin miktarı ise C2 örneğinde (21.38 mg/kg KM) belirlenmiştir. Starter kültür kullanımının ve kullanım formunun (serbest ve enkapsül) histamin oluşum üzerine etkili olduğu saptanmıştır ($P<0.05$).



Şekil 4.26. Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında histamin miktarlarındaki değişim

Fermentasyon uygulaması ile üretilen sucuklarda histamin oluşumu ve akümülyasyonunun başta *Enterobacteriaceae* familyasının üyeleri ve histidin dekarboksilaz aktivitesine sahip mikrobok ve stafilokokların bazı türleri tarafından gerçekleştirildiği bildirilmiştir [67]. Fermentasyon örnekleri arasında kontrol grubunda (A1) *Enterobacteriaceae* familyasının üyelerinin bulunması, A1 örneğinde histamin miktarının yüksek olmasının nedeni olarak kabul edilebilir.

Histamin heterosiklik yapıda bir biyojen amindir. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) [235] vücudun tolere edebileceği maksimum histamin miktarını günlük 100 mg/kg olarak sınırlandırmış [28], fakat EFSA [236] bu değeri 50 mg/kg olarak kabul etmiş ve monoamine oksidaz inhibitör ilaçlar ya da intolerans durumlarında söz konusu sınırın daha da düşük olması gerektiği ilan edilmiştir [145]. Sucuk örneklerinde biyojen amin üzerinde yapılan çalışmalarda histamin bakımından kritik sınır 1000 mg/kg olarak belirtilmiştir [204, 237, 238].

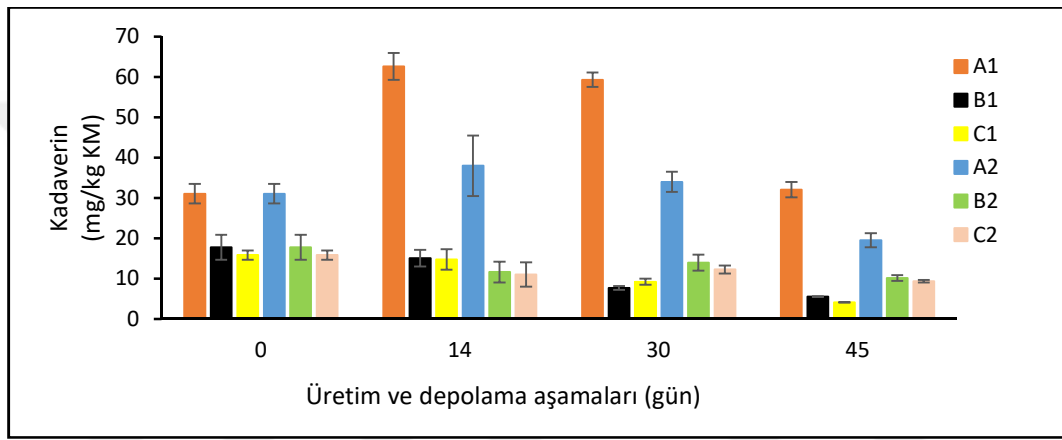
Bozkurt [74], kontrol ve starter kültür kullanılan sucuklarda üretimin ardından histamin miktarını sırası ile 214.9 mg/kg ve 176.6 mg/kg olarak, depolama süresi sonunda ise (16.gün) sırası ile 250-300 mg/kg ve 200 mg /kg'dan daha az olarak saptamıştır. Bozkurt ve Erkmén [204], sucuk örneklerinde histaminin fermentasyonun 5 gününden sonra oluştuğunu (127-191 mg/kg), olgunlaşma süreci ile histamin miktarındaki artışın devam ettiğini ancak depolama periyodunda histamin miktarının azaldığını (18 gün. 106-138 mg/kg) depolama süresi sonunda (36. gün, 24.6-37.4 mg/kg) en düşük histamin değerlerine ulaşıldığını bildirmiştir. Altı farklı Avrupa ülkesi sucuklarında histamin içeriği; Fransız 0.01-41.71 mg/kg KM, İspanyol 0.01-133-39 mg/kg KM, İtalyan 0.01-8.84 mg/kg KM, 0.01-15.81 mg/kg KM, Portekiz 0.01-94.66mg/kg KM, Slovan 0.01-15.29 mg/kg KM olarak bildirilmiştir [91]. Örneklerimizin depolama süresi sonundaki histamin miktarları için elde ettiğimiz verilerin literatürde yer alan bulgular ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte örneklerimizin histamin içeriğinden daha yüksek seviyelerde bulgular (0-600 mg/kg) [67, 91] ile daha düşük seviyelerin (4.01-4.44 mg(kg) saptandığı durumlar [239, 240] olduğu da bilinmektedir.

4.2.11.3. Kadaverin

Fermentasyon ve ısıtıl işlem ile üretilen farklı formülasyona sahip sucuk örneklerinin üretim ve depolama aşamalarında belirlenen kadaverin miktarları Çizelge 4.26 ve Şekil 4.27'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; 0. gün kadaverin miktarlarının A1, B1 ve C1 örneklerinde sırası ile 31.03, 17.75 ve 15.83 mg/kg KM olduğu, 0. gün kadaverin miktarları bakımından starter kültür kullanımının örnekler arasında farklılık oluşturduğu ($P<0.05$), ancak kullanım formunun fark yaratmadığı görülmektedir ($P>0.05$). Üretim süresi boyunca (14 gün) örneklerdeki kadaverin miktarı incelendiğinde, kontrol örneklerinde (A1 ve A2 örneklerinde sırası ile 62.60 ve 37.96 mg/kg KM) artış ($P<0.05$), starter kültür kullanılan örneklerde (B1, C1, B2, C2 örneklerinde sırası ile 15.06, 14.72, 11.60 ve 11.02 mg/kg KM) azalma eğilimi olduğu belirlenmiştir. Söz konusu azalmanın fermente örneklerde önemli ($P<0.05$), ısıtıl işlem örneklerinde önemli olmayan düzeyde olduğu saptanmıştır ($P>0.05$). Devam eden depolama sürecinde örneklerin kadaverin miktarının önemlilik taşıyan düzeyde (B1 örneği hariç) azalma eğiliminde olduğu gözlenmiştir ($P<0.05$). Depolama süresi

boyunca tüm örneklerde starter kullanım etkisinin önemli ($P<0.05$), kullanım formu etkisinin önemli seviyede olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Depolama süresi sonunda, starter kültür kullanımının olduğu örnekler göz önüne alındığında, fermentasyon uygulaması ile üretilen örneklerin (4.12-5.51 mg/kg KM) ısıtma işlem uygulaması ile üretilen örneklerden (9.36-10.12 mg/kg KM) daha düşük miktarda kadaverin içerdiği ($P<0.05$), her iki üretim tekniğinde de starter kültür kullanımı ile kadaverin miktarının azaldığı belirlenmiştir ($P<0.05$).



Şekil 4.27. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında kadaverin miktarlarındaki değişim

Üründe kadaverin varlığı hijyenik ve teknolojik kalite kriteri olarak kabul edilmektedir [91]. *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan lizin dekarboksilaz aktivitesine sahip olan mikroorganizmaların kadaverin üretiminden birinci dereceden sorumlu olduğu [67], ayrıca dekarboksilaz pozitif mikrobokların da akümülyasyonda rol oynadığı bildirilmiştir [91]. Depolama süresi sonunda en yüksek kadaverin miktarının kontrol örneğinde (A1’de 32.02 mg/kg KM) bulunması, yine bu örnekteki *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri mevcudiyeti ile açıklanabilir.

Çalışmamızda starter kültür kullanımı ile kadaverin miktarının düştüğü tespit edilmiştir. Literatürde yer alan çalışmalarda da benzer durum rapor edilmiştir [183-126]. Fermentasyon örneklerinde üretim süresi boyunca kadaverin miktarının arttığı, depolama periyodunda ise azalma eğiliminde olduğu belirlenmiştir, elde edilen veriler literatür ile uyumludur [239, 240]. Bozkurt ve Erkmen [128] tarafından yapılan bir çalışmada 19 adet endüstriyel, 31 adet kasap koşullarında üretilen sucuk örneklerinde

kadaverin miktarının 0.00-6.70 mg/kg arasında değişiklik gösterdiği belirtilmiştir. Fermentasyon tekniği ve starter kültür kullanımı ile üretilen örneklerde tespit edilen kadaverin değerleri araştırmacının verileri ile yakınlık taşımaktadır.

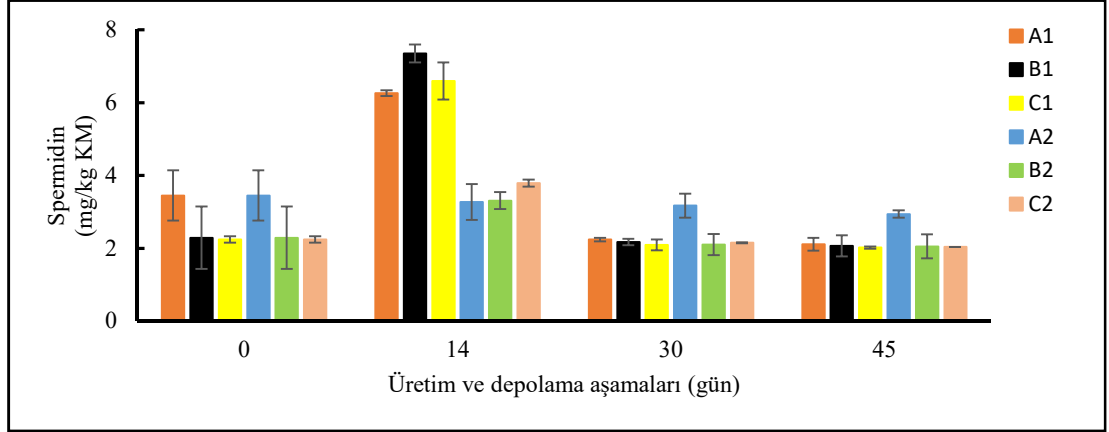
Çevik [126] tarafından yapılan bir çalışmada sucuk örneklerinin 0. gün kadaverin miktarının 0.19-0.23 mg/kg aralığında değiştii, depolama süresi sonunda (180.gün) 0.31-2.44 mg/kg'a yükseldii bildirilmiştir. Bir başka çalışmada piyasadan toplanan 30 farklı sucuk örneğinde 0-199 mg/kg aralığına değişen miktarlarda kadaverin tespit edildiği rapor edilmiştir. Yunanistan'ın farklı bölgelerinde üretilen 40 farklı sucuk örneğinde kadaverin miktarının 0-1014.08 mg/kg arasında değiştii bildirilmiştir [67]. Latorre-Moratalla vd. [91] 6 farklı Avrupa ülkelerinden alınan sucuk örneklerini kadaverin içeriği bakımından incelemiş ve yüksekten düşüğe doğru sırası ile; İspanyol 610.96 mg/kg KM, Portekiz 484.65 mg/kg KM, İtalyan 449.44 mg/kg KM, Fransız 398 mg/kg KM, Slovan ise 251 mg/kg KM ve Yunan 242.58 mg/kg KM şeklindedir.

4.2.11.4. Spermidin miktarı

Fermentasyon ve ısıt işlemler ile üretilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında spermidin miktarlarında gerçekleşen değişiklikler Çizelge 4.26 ve Şekil 4.28'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; 0. günde spermidin miktarları bakımından örnekler arasında farklılık bulunmadığı ($P>0.05$), spermidin miktarının 2.24-3.45 mg/kg KM aralığında değiştii belirlenmiştir. Depolama aşamasının başlangıcı olan 14. günde fermentasyon ve ısıt işlemler uygulaması ile üretilen örnekler arasında gruplaşma oluştuğu göze çarpmaktadır ($P<0.05$). Fermentasyon örneklerinin 14. gün sonuçlarında starter kültür kullanımı ve kullanım formunun etkisinin önemli olduğu ($P<0.05$), starter kültür kullanımı ile spermidin miktarının arttığı (B1 ve C1 örneğinde 7.35, 6.59 mg/kg KM, A1 örneğinde 6.26 mg/kg KM) öne çıkan sonuçlar arasındadır.

Depolama aşamasının 30 ve 45. günlerinde örnekler arasında farklılık gerçekleşmediği ($P>0.05$) ve gerçekleşen değişikliğin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Depolama süresi sonunda örneklerde bulunan spermidin miktarı üzerine fermentasyon ve ısıt işlemler uygulamasının etkisinin önemli

olmadığı ($P>0.05$), spermidin miktarının 2.02-2.94 mg/kg KM aralığında değiştiği belirlenmiştir.



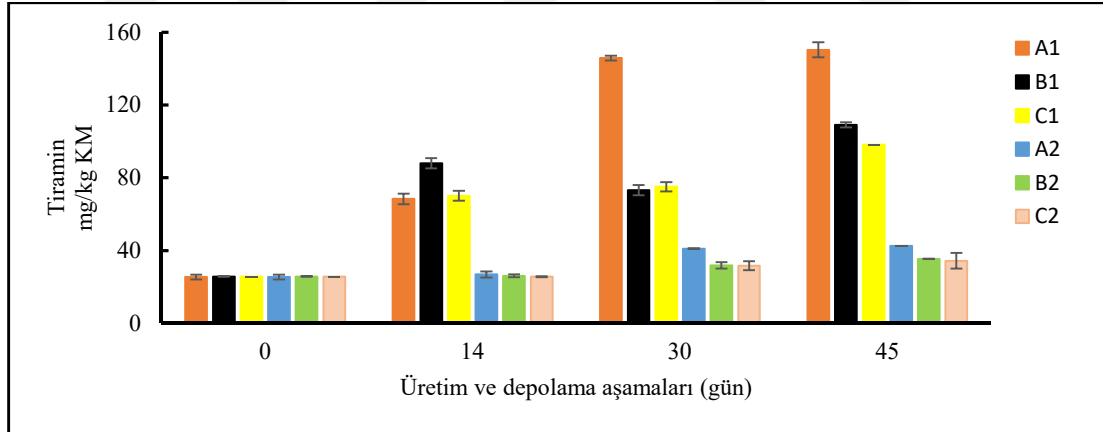
Şekil 4.28. Fermentasyon ve ısıtma uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında spermidin miktarlarındaki değişim

Fermente et ürünlerinde biyojen amin oluşumu mikrobiyal amin dekarboksilaz enzimi ile gerçekleşebildiği gibi aldehit ve ketonların aminasyonu ya da transaminasyonu ile de gerçekleşebilmektedir. Bu olguyu sadece fizyolojik poliaminler olan spermin ve spermidin bozmaktadır. Spermin ve spermidin sucuk formülasyonunun bileşeni olarak ette doğal olarak bulunan temel aminlerdir [29, 55, 67, 99, 240]. Çalışmamızda fermentasyon ve ısıtma uygulaması ile üretilen, özellikle fermentasyon uygulanan, sucuk örneklerinin üretim aşamasında spermidin miktarları mikrobiyal dekarboksilaz aktivitesine bağlı olarak artış göstermiş, ancak, depolama süresince artışın artık devam etmediği belirlenmiştir.

Lorenzo vd. [239] tarafından yapılan bir çalışmada üretim başlangıcında 7.14 mg/kg olarak belirlenen spermidin değeri depolamanın 14.gününde 8.27 mg/kg'a, depolama süresinin 28.gününde ise 9.29 mg/kg'a yükselmiştir. Yunanistan'ın farklı bölgelerinde üretilen 40 farklı sucuk örneğinde spermidin içeriğinin 1.45-19.53 mg/kg arasında değiştiği bildirilmiştir [67]. Gençcelep vd. [234] piyasadan temin edilen 30 farklı sucuk örneğinde spermidin miktarını 0.91-10.70 mg/kg aralığında saptamıştır. Bozkurt vd. Erkmén [233] Türkiye'de yapılan bir çalışmada 0. günde 30.6 mg/kg olarak belirlenen spermidin miktarının 48 gün 1 mg/kg düştüğü, 60. günde ise spermidin belirlenmediği saptanmıştır. Gençcelep vd. [100] ise starter kültür kullanımının spermidin miktarına (yaklaşık 14.50 mg/kg KM) etkisinin olmadığını saptamıştır.

4.2.11.5. Tiramin miktarı

Fermentasyon ve ısıl işlem ile üretilen örneklerin farklı süreçlerde tiramin miktarında gerçekleşen değişiklikler Çizelge 4.26’da ve Şekil 4.29’da verilmiştir. Sıfırıncı günde fermentasyon ve ısıl işlem örnekleri arasında tiramin miktarının farklılık taşımadığı ($P>0.05$), tiramin miktarının 25.52-25.81 mg/kg KM arasında değiştiği görülmektedir (Çizelge 4.26). Üretim süreci ardından fermentasyon ve ısıl işlem örnekleri arasında gruplaşma olduğu ($P<0.05$) ve fermentasyon örneklerinde (68.45-87.99 mg/kg KM) tiramin miktarlarının ısıl işlem örneklerinden (25.68-26.83 mg/kg KM) daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Ondördüncü gün fermentasyon örneklerinin tiramin miktarında starter kültür kullanımının etkisi önemli iken ($P<0.05$), kullanım formu etkisi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Devam eden depolama aşamalarında önemli değişiklikler gözlenmiştir ($P<0.05$). Fermentasyon ve ısıl işlem örneklerinde 30. günde starter kültür kullanımının etkisi önemli iken ($P<0.05$), kullanım formu etkisi önemsizdir ($P>0.05$). Fermentasyon örneklerinin 45. gün sonuçlarında örnekler arasında starter kültür kullanımı ve kullanım formu önemli derecede farklılık yaratmıştır ($P<0.05$).



Şekil 4.29. Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında tiramin miktarlarındaki değişim

Fermentasyon grubunda en düşük tiramin miktarı C1 (98.25 mg/kg KM) örneğinde, en yüksek değer A1 (150.20 mg/kg KM)’dedir. Yapılan çalışmalarda sucuktan izole edilen biyogen amin oluşturma yeteneği gösteren mikroorganizmaların başında *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinin yer aldığı ve bu mikroorganizmaların özellikle tiramin oluşumunda etkili oldukları belirlenmiştir [241]. Mikrobiyoloji sonuçlarımızda *Enterobacteriaceae* familyası üyesi olan koliform grubunun sadece

A1 örneğinde bulunduğu göz önüne alınınca, A1 örneğinde tiramin miktarının diğer örnekler kıyasla daha yüksek çıkması beklenen bir durumdur.

Starter kültür kullanımı ile örneklerin tiramin miktarının düştüğü, enkapsül formda starter kültür içeren sucuk örneğinde ise en düşük tiramin miktarının bulunduğu belirlenmiştir. Enkapsül formda starter kültür içeren sucuk grubunun daha düşük tiramin içermesinin muhtemel nedeni olarak mikrokok ve stafilokok gibi bazı türlerinin biyojen amin üretme yeteneklerinin enkapsülasyon ile azaltıldığı düşünülmektedir. Literatürde mikrokok ve stafilokok gibi bazı türlerinin tiramin üretimine katkıda bulunduğu bildirilmiştir [242, 243].

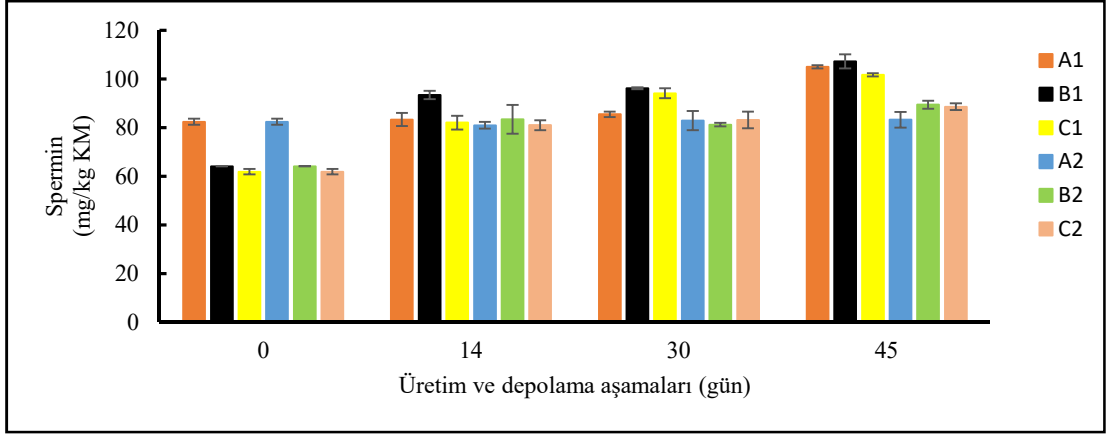
Bozkurt ve Erkmén [204] tarafından yapılan bir çalışmada sucuk örneklerinin 0. gün analizlerinde tiramin belirlenmediği ancak depolama süreci ile tiramin oluşumu ve akümülyasyonunun başladığı, depolama süresi sonunda 25.3-57.6 mg/kg arasında tiramin belirlendiği bildirilmiştir. Bir başka çalışmada depolama başlangıcında 91.91 mg/kg belirlenen tiramin miktarının depolama süresi sonunda 100-200 mg/kg'a yükseldiği saptanmıştır [243]. Olgunlaşma ve depolama döneminde tiramin miktarının düzenli bir şekilde arttığı çeşitli çalışmalarda saptanmıştır [74, 233]. Otuz günlük depolama sonrasında normal ve vakum paketlenen kontrol (starter kültür içermeyen) sucuklarda tiramin miktarı sırası ile 340 mg/kg ve 222 mg/kg olarak saptanırken, starter kültür içeren örneklerde ise belirlenmemiştir [122]. Piyasadan temin edilen sucukların incelemesinde farklı tiramin bulguları (4-381 mg/kg [67], 125-1173 mg/kg [90] ve 24- 676 mg/kg [244]) bildirilmektedir.

Lu vd. [137] tarafından yapılan çalışmada geleneksel Çin sucuğunda starter kültür ve bitkisel katkı kullanımının biyojen amin akümülyasyonuna etkisi incelenmiştir. Olgunlaşma döneminin sonunda tiramin miktarı kontrol örneğinde 160 mg/kg katkılı örnekte ise 47.48-120.57 mg/kg aralığında belirlenen değerler, depolama süresince azalarak, sırası ile 119.66 mg/kg ve 11.13-25.06 mg/kg değerlerine düşmüştür. Çalışmada depolama süresi sonunda belirlenen tiramin miktarları araştırmacıların rapor ettiği değerlerden daha yüksektir. Latore –Moratalla vd. [91] yaptığı çalışmada özellikle tiamin miktarının yüksek olduğu sucuk örneklerinde *Enterobacteriaceae* familyası üyesi olan koliform grubunun da daha yüksek sayıda bulunduğunu bildirmiştir.

Avrupa Gıda ve İlaç İdaresi (EFSA) [236] tiramin için günlük maksimum alım miktarını 600 mg olarak sınırlandırmış ve monoamin oksidaz inhibitör ilaçlar ya da intolerans durumlarında söz konusu sınırın daha da düşük olması gerektiği ilan edilmiştir [145]. Gıdalarda bulunan tiraminin toksisitesi araştırılmış ve 100-800 mg/kg değerlerindeki tiramin toksik etki göstermediği ancak 1080 mg/kg üzerinde toksik etki görüldüğü bildirilmiştir [28].

4.2.11.6. Spermin miktarı

Fermentasyon ve ısıl işlem sucuk örneklerinin farklı süreçlerde belirlenen spermin miktar ve değişimleri Çizelge 4.26 ve Şekil 4.30'da verilmiştir. Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; 0.gün fermentasyon grubundan A1, B1 ve C1 örneklerinde tespit edilen spermin miktarları (sırası ile 82.38, 64.12 ve 61.89 mg/kg KM) göz önüne alındığında spermin miktarları üzerinde starter kültür kullanımının önemli sayılabilecek etkilere sahip olduğu ($P<0.05$), ancak kullanım formunun önemsiz değişiklikler oluşturduğu saptanmıştır ($P>0.05$). Depolamanın 30 ve 45. günlerinde fermentasyon ve ısıl işlem örnekleri arasında gruplaşma olduğu öne çıkan veriler arasında yer almaktadır ($P<0.05$). Depolamanın sonunda fermentasyon örneklerinde starter kültür kullanımı ve kullanım formu önemli değişikliklere sebep olmuştur ($P<0.05$). Isıl işlem grubunda ise starter kültür kullanımının etkisi önemli iken ($P<0.05$), kullanım formu değişimi etkilememiştir ($P>0.05$). Fermentasyon ve ısıl işlem grupları mukayese edildiğinde; fermentasyon örneklerinde (101.71-107.25 mg/kg KM) ısıl işlem örneklerine (84.24-89.42 mg/kg KM) kıyasla daha yüksek miktarlarda spermin belirlenmiştir ($P<0.05$).



Şekil 4.30. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında spermin miktarlarındaki değişim

Literatürde sucuk örneklerinde spermin miktarının incelendiği çalışmalarda son üründe spermin miktarının oldukça farklı gelişim sergilediği, depolama süresince artış ya da azalmaların gerçekleşebileceği ve bu durumun muhtemel sebepleri irdelenmiştir. Bunlar arasında; starter kültür kullanımı (kullanılan starter kültürün cins ve türü), hammaddenin sahip olduğu spermin miktarı, üretim ve depolama koşulları, yapıda bulunan kontaminant ya da doğal floranın biyokimyasal etkisi (yapıda bulunan mikroorganizmaların dekarboksilaz aktivitesi sonucunda spermin miktarının artabileceği ya da azot kaynağı olarak spermini kullanması sonucunda spermin miktarının azalabileceği) yer almaktadır [234, 244-246]. Ayrıca literatürde spermidin ve spermin arasındaki bu oransal fark (spermin miktarının spermidin miktarından daha yüksek olduğu) yapılan çalışmaların tümünde belirlenmiş ve bu durumun putresinden spermidin, spermidinden de spermin sentezlenmesinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür [247, 248].

Bozkurt ve Erkmen [233] tarafından yapılan bir çalışmada 0.gün 19.6 mg/kg olarak belirlenen spermin miktarının 33.günde 1.8 mg/kg'a düştüğü, 60. günde ise spermin belirlenmediği bildirilmiştir. Farklı sıcaklıklarda (22 ve 26 °C) olgunlaştırılan sucuklarda sırasıyla 2.56-5.78 mg/kg ve 2.90-6.0 mg/kg düzeyinde spermin saptanmıştır [25]. Bir başka çalışmada [204] spermin miktarının olgunlaşma dönemi ile arttığı (0'dan 6.18 mg/kg'a) ancak depolama sürecinde azalma gözlemlendiği (36. günde 2.38-2.89 mg/kg) bildirilmiştir. Olgunlaşma sürecinde spermin artışı başka çalışmalarda da gözlemlenmiş, ancak, aynı çalışmada depolama sürecinde miktarın 8.15 mg/kg'dan 14.31 mg/kg'a yükseldiği saptanmıştır [240]. Gençcelep vd. [234]

piyasadan temin edilen 30 farklı sucuk örneğinin spermin miktarını 2.30-16.40 mg/kg aralığında saptamış ve Yunanistan'da gerçekleştirilen benzer bir başka çalışmada incelenen 40 sucukta söz konusu değişim 13.37-60.11 mg/kg olarak bildirilmiştir [67]. Geleneksel Çin sucuğunda ise spermin miktarı 5.99-7.85 mg/kg düzeyinde saptanmıştır [137].

Farklı coğrafya, farklı teknik ve formülasyonlarda elde edilen sucukların biyojen amin çeşit ve miktarı çok geniş çeşitlilik sergilemektedir. Bu durumun nedeni günümüzde tam anlamıyla açıklanamamakla birlikte, öncelikle hammadde (özellikle etin sahip olduğu enzim ve mikroorganizma faktörü, serbest amino asit miktarı ve baharatlar), formülasyonda kullanılan starter kültür tür ve çeşidi (starter kültür olarak kullanılan türlerin amin üretme yeteneğindeki farklılıklar) ve üretim tekniği koşullarının farklı olması (geleneksel ve endüstriyel üretim koşullarında gelişen pH düşüşü, ortam sıcaklığı, olgunlaşma döneminin süresi) karşılaşılan söz konusu çeşitliliğin muhtemel nedenleri arasında gösterilmektedir [67, 91, 249].

Et ve et ürünlerinde biyojen amin çeşit ve miktarı üretim aşamalarında farklılıklar göstermektedir. Bu değişimin azalma yönünde olması LAB seviyesinde zamanla gerçekleşen redüksiyona bağlanırken; artışın gerekçesi dekarboksilaz aktif mikroorganizmaların rekontaminasyonu, sucuk üretiminden kaynaklanan amin-üretici bakterilerin aktiviteleri için uygun koşulların oluşumu ve/ya da canlı mikroorganizmalar etkisi ve ortamda canlı mikroorganizma bulunmasına rağmen ilk aşamalarda mikroorganizma tarafından üretilen dekarboksilaz enziminin kalıntı aktivitesine bağlanmaktadır [94, 235, 250].

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin biyojen amin sonuçlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.27'de verilmiştir Çizelge incelendiğinde tüm varyasyon kaynakları bakımından histamin, kadaverin ve tiramin miktarındaki değişim istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$), putresin miktarının ÜY, DS, ÖF, ÜYxDS, ÖFxDS interaksiyonlarından etkilendiği ($P<0.05$), spermidin miktarına ÜY, DS, ÜYxDS ve ÖFxDS interaksiyonlarının etkide bulunduğu ($P<0.05$) ve son olarak spermin miktarının ÜY, DS, ÜYxDS, ÖFxDS interaksiyonları ile değiştiği görülmektedir ($P<0.05$).

Çizelge 4.27. Fermentasyon ve ısıt işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin biyogen amin miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Putresin		Histamin		Kadaverin		Spermidin		Tiramin		Spermin	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
ÜY	225.3	0.00	3438.6	0.00	53.8	0.00	64.9	0.00	9072.1	0.00	100.1	0.00
DS	67696.7	0.00	696.6	0.00	89.6	0.00	186.7	0.00	1990.4	0.00	184.5	0.00
ÖF	525.6	0.00	633.8	0.00	999.7	0.00	5.1	0.15	416.9	0.00	3.1	0.61
ÜY x DS	90.3	0.00	640.2	0.00	19.8	0.00	103.3	0.00	1178.8	0.00	16.1	0.00
ÜY x ÖF	1.3	0.29	288.9	0.00	102.5	0.00	2.3	0.12	209.9	0.00	4.5	0.02
ÖF x DS	371.8	0.00	95.0	0.00	55.8	0.00	10.9	0.00	194.9	0.00	9.1	0.00
ÜY x DS x ÖF	1.8	0.14	99.1	0.00	13.1	0.00	2.4	0.05	129.7	0.00	4.8	0.00

ÜY; Üretim Yöntemi, DS; Depolama Süresi, ÖF; Örnek Formülasyonu

4.2.12. Sucuk örneklerinin tekstür analizi

Fermentasyon ve ısıt işlem ile üretilen sucukların tekstür profili hardness (sertlik), springiness (elastikiyet), gumming (yapışkanlık) ve chewiness (çiğnenebilirlik) olmak üzere 4 farklı özellik bakımından incelenmiştir. Tekstür analizleri sucukların 14, 30 ve 45. günlerdeki depolama sürelerinde gerçekleştirilmiştir. Tekstür, gıdaların yüzey, yapısal ve mekanik özelliklerinin ısıtma, görme ve dokunma özellikleri ile belirlendiği tüketici tercihinde ve son ürün kalitesinde oldukça önemli olan kriterdir [251].

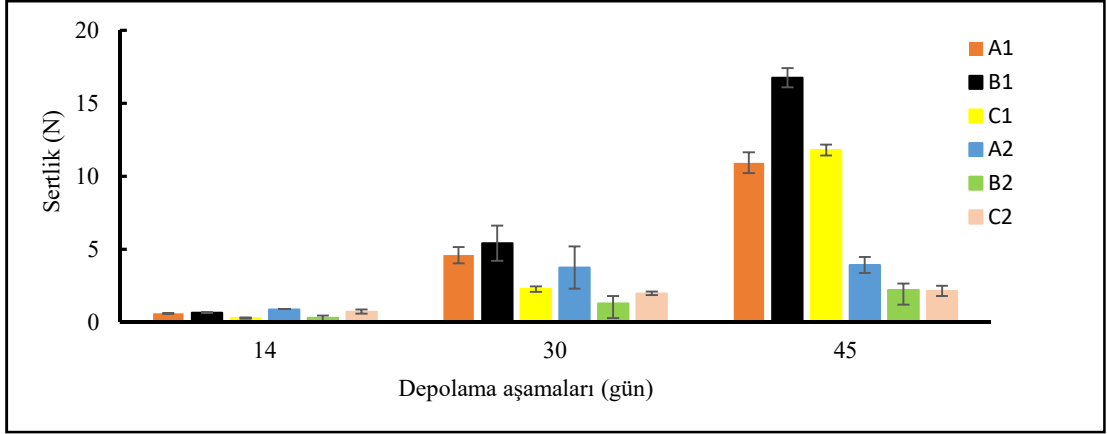
4.2.12.1. Sertlik (Hardness, N)

Fermentasyon ve ısıt işlem ile üretilen sucukların depolama sürecinde sertlik değerlerinde gerçekleşen değişiklikler Çizelge 4.28 ve Şekil 4.31’de verilmiştir. Tüm gruplar bazında üretim yöntemi, starter kültür kullanımı ve kullanım formunun 14. günde sertlik değerini önemli derecede etkilediği ($P<0.05$), sertlik değerinin 0.28-0.88 N aralığında değiştiği belirlenmiştir. Fermentasyon grubunun devam eden depolama süresinde starter kültür kullanımı ve kullanım formu yine sertlik değerinde artış yönünde değişimler yaratmış ancak ($P<0.05$), depolama süresinin 30 ve 45. günlerinde, kullanım formu etkisi ortadan kalkmıştır ($P>0.05$). Tüm örneklerde depolama süresi ilerledikçe sertlik değerinin artma eğiliminde olduğu ($P<0.05$) ve değerlerin 2.14-16.75 N aralığında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.28. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında belirlenen tekstür analiz sonuçları*

Tekstür Parametreleri	Gün	Fermente				Isıl İşlem	
		A1	B1	C1	A2	B2	C2
Sertlik (N)	14	0.60±0.01 ^{b,A}	0.66±0.03 ^{bc,A}	0.28±0.05 ^{a,A}	0.88±0.00 ^{c,A}	0.30±0.15 ^{a,A}	0.72±0.14 ^{b,BC}
	30	4.60±0.56 ^{c,B}	5.42±1.21 ^{c,B}	2.27±0.18 ^{ab,B}	3.74±1.45 ^{bc,AB}	1.28±0.51 ^{a,AB}	1.98±0.12 ^{ab,B}
	45	10.93±0.72 ^{c,C}	16.75±0.66 ^{c,B}	11.80±0.37 ^{d,C}	3.93±0.55 ^{b,B}	2.21±0.43 ^{a,B}	2.14±0.35 ^{a,B}
Elastikiyet (mm)	14	0.41±0.06 ^{ab,B}	0.41±0.06 ^{ab,B}	0.61±0.00 ^{b,A}	0.40±0.12 ^{ab,A}	0.29±0.03 ^{a,B}	0.34±0.15 ^{a,B}
	30	0.18±0.02 ^{a,B}	0.19±0.00 ^{a,A}	0.35±0.03 ^{a,AB}	0.14±0.00 ^{a,B}	0.37±0.08 ^{a,B}	0.16±0.00 ^{a,AB}
	45	0.06±0.02 ^{ab,A}	0.06±0.05 ^{ab,A}	0.02±0.00 ^{a,A}	0.08±0.00 ^{b,A}	0.04±0.01 ^{ab,A}	0.03±0.00 ^{a,A}
Yapışkanlık (N)	14	0.07±0.02 ^{ab,A}	0.11±0.00 ^{bc,A}	0.06±0.00 ^{a,A}	0.03±0.01 ^{a,A}	0.10±0.02 ^{bc,A}	0.14±0.00 ^{c,A}
	30	0.40±0.11 ^{a,B}	0.45±0.14 ^{a,A}	0.39±0.00 ^{a,A}	0.55±0.21 ^{a,B}	0.55±0.16 ^{a,B}	0.60±0.10 ^{a,B}
	45	1.92±0.00 ^{a,C}	3.59±0.18 ^{c,C}	3.84±0.39 ^{c,B}	2.89±0.19 ^{b,C}	2.01±0.00 ^{a,C}	2.98±0.13 ^{b,C}
Çiğnenebilirlik (N/mm)	14	0.02±0.01 ^{a,A}	0.04±0.02 ^{ab,A}	0.04±0.03 ^{ab,A}	0.05±0.01 ^{b,A}	0.03±0.00 ^{ab,A}	0.02±0.01 ^{a,A}
	30	0.53±0.18 ^{a,B}	0.51±0.14 ^{a,A}	1.28±0.04 ^{b,A}	0.52±0.19 ^{a,A}	0.46±0.07 ^{a,A}	0.55±0.06 ^{a,B}
	45	3.32±0.04 ^{a,C}	4.35±0.44 ^{a,B}	4.47±1.35 ^{a,B}	3.38±0.63 ^{a,B}	4.09±0.24 ^{a,B}	4.21±0.09 ^{a,C}

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satır farklı küçük harflerle (a-e) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-D) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1:fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıtma işlem, starter kültürsüz; B2: ısıtma işlem, serbest starter kültür; C2: ısıtma işlem, enkapsül starter kültür



Şekil 4.31. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında sertlik miktarlarındaki değişim

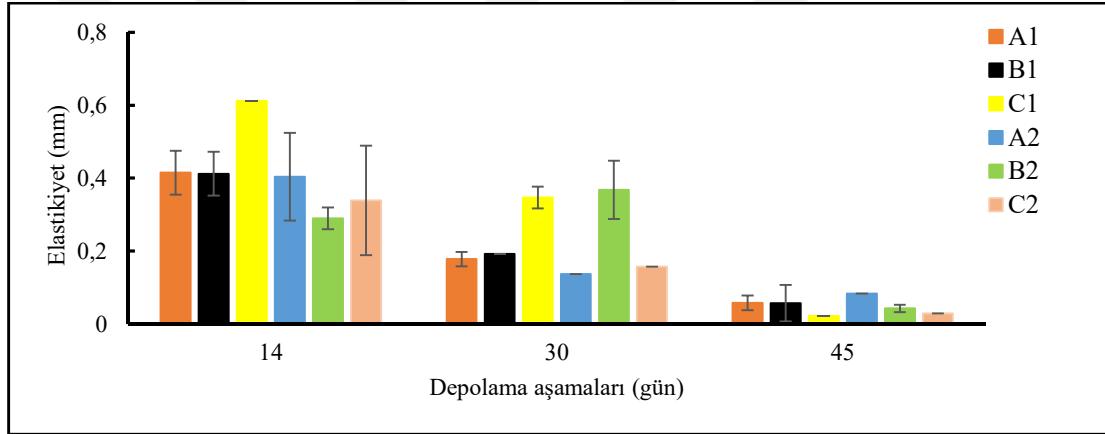
Sertlik bir gıdaya uygulanan kuvvete karşı koyma gücü olarak tanımlanmaktadır. Sucuğun tekstürünü sayısal olarak ifade eden parametrelerden birisi olan sertlik değeri bir başka ifade ile "öğütücü dişler arasında yarı katı besinlerin dil ve damak arasındaki basınca karşı koyma gücü" olarak da tanımlanabilmektedir. Sucuk örneklerinin istenilen sertlik özelliğini kazanması yapıda gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonlara bağlıdır. Mikroorganizma faaliyeti ile sucuk yapısında laktik asit akümülyasyonuna bağlı olarak pH düşmektedir. Düşen pH ile aralarında miyofibriller proteinlerin de bulunduğu proteinler izoelektrik nokta (5.2-5.3) değerine erişerek yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Söz konusu durumun bir getirisi olarak sucuğun a_w değeri düşmekte ve son ürün dilimlenebilir nitelik kazanmaktadır [251-253].

Sucukların depolama sürecinde sertlik değerinin arttığını saptayan birçok çalışma bulunmaktadır. Söz konusu çalışmalarda bildirilen sertlik değerinin üst sınırının 13 N olduğu gözlenmiştir. Sertlik değerinde depolama sürecince saptanan artışın muhtemel sebebi pH değerinin düşmesi ile proteinlerin gösterdiği yapısal değişimler ve su kaybı nedeniyle oluşan kuruma olarak açıklanmıştır [7, 16, 124, 213, 254, 255]. Elde ettiğimiz sertlik değer ve değişimleri literatür bulguları ile uyumludur.

4.2.12.2. Elastikiyet (Springiness, mm)

Fermentasyon ve ısıtma işlem ile üretilen örneklerin depolama sürecinde belirlenen elastikiyet değerleri Çizelge 4.28 ve Şekil 4.32’de verilmiştir.

Fermentasyon grubunun 14. gününde starter kültür kullanım formunun (enkapsül form) ve ısıtım işlem örneklerinde ise starter kültür kullanımının elastikiyet değerlerini etkilediği ($P<0.05$), elastikiyet değerinin 0.41-0.61 mm aralığında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Depolamanın 30. gününde örnekler arasında farklılık oluşmadığı ancak ($P>0.05$), depolama sonunda fermentasyon grubunda starter kültür kullanım formunun (enkapsül form) elastikiyeti etkilediği saptanmıştır ($P<0.05$). Isıtım işlem grubunda ise hem starter kültür kullanımı hem de kullanım formunun önemli etkiye sahip olduğu ($P<0.05$), elastikiyet değerinin 0.29-0.40mm aralığında değiştiği belirlenmiştir. Farklı üretim teknikleri ile üretilen örneklerin elastikiyet değerleri genel olarak depolama süresince azalma yönünde değişim göstermiştir ($P<0.05$). Depolama süresi sonunda en düşük elastikiyet değerleri C1 ve C2 örneklerinde (sırası ile 0.02 ve 0.03mm) saptanmıştır



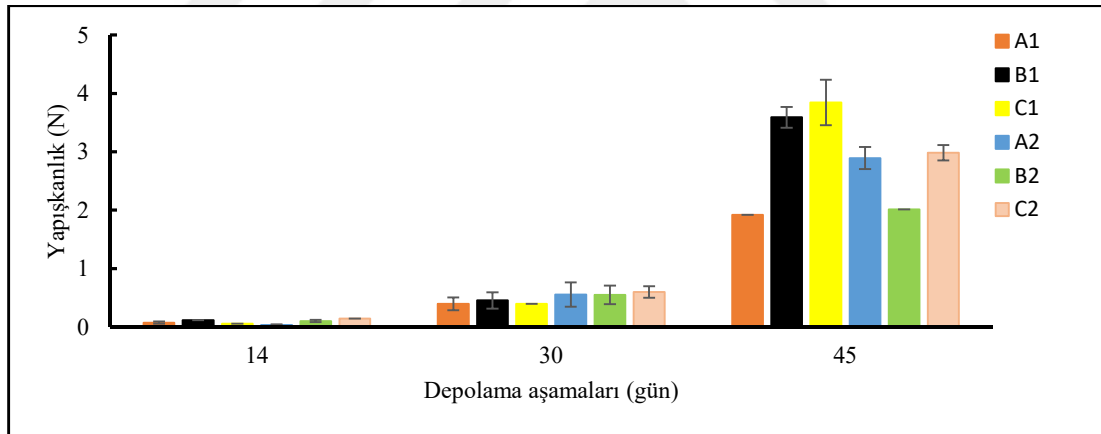
Şekil 4.32. Fermentasyon ve ısıtım uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında elastikiyet miktarlarındaki değişim

Üretim yöntemi, formülasyondaki bileşenler ve depolama koşullarının elastikiyet değerlerinde farklılık yaratabileceği bildirilmiştir [175]. Literatürde geleneksel yöntem ile üretilen sucukların depolama aşamalarında elastikiyet değerinin değişmediği [16, 141], arttığı [175] ve azaldığını [21] ifade eden çalışmalar bulunmaktadır. Perez-Chabella vd. [21] tarafından yapılan bir çalışmada fermentasyon ve ısıtım işlem uygulaması ile üretilen, enkapsül formda starter kültür içeren sucuk örneklerinin serbest formda starter kültür içeren örneklere nazaran elastikiyetin daha düşük olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda saptanan 45. gün sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

4.2.12.3. Yapışkanlık (Gumminess, N)

Sucuk gruplarının depolama süresince boyunca yapışkanlık değerinde meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.28 ve Şekil 4.33’de verilmiştir.

Çizelge incelendiğinde; yapışkanlık değeri bakımından 14. gün örnekleri arasında farklılık olduğu ($P<0.05$), yapışkanlık değerinin 0.03-0.14 N aralığında değiştiği belirlenmiştir. Depolama periyodunun 30. günde fermentasyon ve ısıl işlem örnekleri arasındaki farklılığın önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Fermentasyon grubunun 45. gününde A1, B1 ve C1 örneklerinde yapışkanlık değerleri (sırası ile 1.92, 3.59 ve 3.84 N) dikkate alındığında starter kültür kullanımının yapışkanlık değerini arttırdığı ($P<0.05$), ancak kullanım formunun değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Isıl işlem grubunun 45. gününde ise A2, B2 ve C2 örneklerinde sırası ile 2.89, 2.01 ve 2.98 N yapışkanlık değerleri elde edilmiş ve serbest formda starter kültür kullanımı önemli değişimlere neden olduğu saptanmıştır ($P<0.05$).



Şekil 4.33. Fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında yapışkanlık miktarlarındaki değişim

Her iki üretim yöntemi ile elde edilen sucukların yapışkanlık değerleri depolama süresi ilerledikçe artmıştır ($P<0.05$). Literatürde sucuk tekstür profili üzerine yapılan çalışmalarda yapışkanlık özelliğinin depolama süresi ilerledikçe artma eğilimi gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur [153, 175, 212].

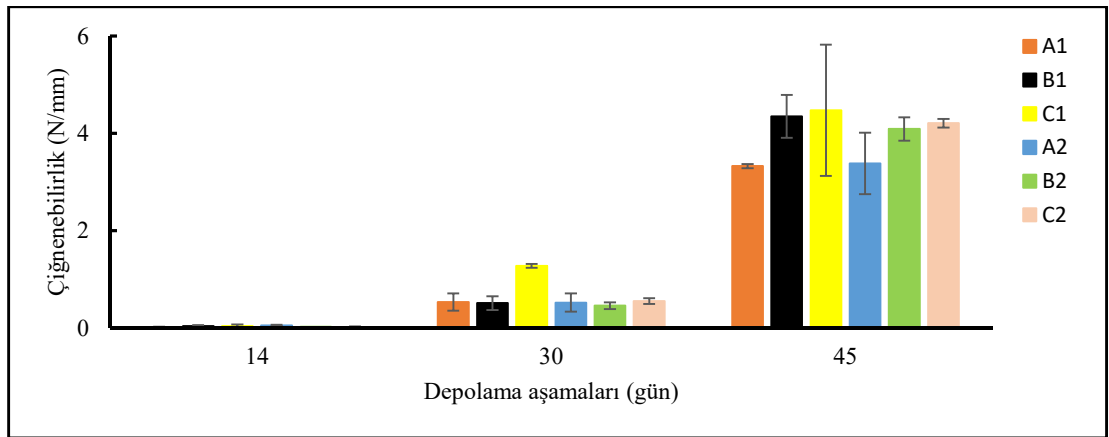
Fermentasyon ve ısıl işlem ile üretilen sucukların depolama süresi sonunda yapışkanlık değerleri karşılaştırıldığında; her iki üretim grubunda da en yüksek değerlerin enkapsül formda starter kültür kullanılan sucuklarda bulunduğu

belirlenmiştir. Söz konusu durumun enkapsül kabuk materyalinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim literatürde sucuk örneklerinin yapışkanlık özellikleri üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde et ürünlerinin üretimine maltodekstin, soya proteini, buğday unu, kalsiyum kazeinat gibi bileşenlerin dâhil edilmesi ile son ürünün yapışkanlık özelliğinin arttığı belirlenmiştir [256-258].

4.2.12.4. Çiğnenebilirlik (Chewiness)

İki farklı üretim tekniği ile elde edilen sucuk örneklerinin çiğnenebilirlik özelliklerinde depolama süresince gerçekleşen değişim Çizelge 4.28 ve Şekil 4.34’de verilmiştir. Fermentasyon ve ısıtma işlemi ile elde edilen örneklerin 14. gün çiğnenebilirlik sonuçlarında starter kültür kullanımı ve kullanım formu etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$), çiğnenebilirlik değerinin 0.02-0.05 N/mm aralığında değiştiği belirlenmiştir. Çalışmanın 30. gününde fermentasyon uygulanan grupta starter kültür kullanım formu örnekler arasında farklılığa neden olurken (A1, B1 ve C1 örneklerinde sırası ile 0.53, 0.51 ve 1.28 N/mm) ($P<0.05$), ısıtma işlemi örneklerinde bu etki görülmemiştir (A2, B2 ve C2 örneklerinde sırası ile 0.52, 0.46 ve 0.55 N/mm) ($P>0.05$). Depolama süresi sonunda her iki üretim yönteminde de en yüksek çiğnenebilirlik değerinin enkapsül formda starter kültür içeren örneklerde (C1 ve C1’de sırası ile 4.47 ve 4.21 N/mm) olduğu saptanmıştır.

Her iki üretim tekniği ile elde edilen sucukların ortak özelliği literatür bilgileriyle [175, 212, 254, 259, 260] uyumlu olarak, çiğnenebilirlik değerlerinin depolama aşamalarında kararlı bir şekilde artma ($P<0.05$) eğiliminde olmasıdır.



Şekil 4.34. Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulaması ile elde edilen örneklerin depolama aşamalarında çiğnenebilirlik miktarlarındaki değişim

Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucukların sertlik, elastikiyet, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları topluca Çizelge 4.29’da verilmiştir

Çizelge 4.29. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin tekstür özelliklerine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Sertlik		Elastikiyet		Yapışkanlık		Çiğnenebilirlik	
	F	P	F	P	F	P	F	P
ÜY	282.4	0.00	2.5	0.13	5.8	0.03	1.2	0.29
DS	350.1	0.00	45.2	0.00	15.5	0.00	372.3	0.00
ÖF	33.5	0.00	0.5	0.60	21.3	0.00	4.4	0.03
ÜY x DS	165.3	0.00	2.0	0.17	18.6	0.00	0.4	0.70
ÜY x ÖF	0.6	0.54	2.7	0.09	31.5	0.00	0.7	0.51
ÖF x DS	19.6	0.00	1.67	0.20	17.9	0.00	2.6	0.07
ÜY x DS x ÖF	20.4	0.00	1.6	0.23	32.1	0.00	0.3	0.86

ÜY; Üretim Yöntemi, DS; Depolama Süresi, ÖF; Örnek Formülasyonu

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örneklerinin tekstür profilini oluşturan sertlik özelliği üzerinde ÜYxÖF interaksyonu dışında kalan varyasyon kaynakları önemli etki oluşturmuştur ($P<0.05$). Yapışkanlık özelliğinin varyasyon kaynaklarından etkilenmediği belirlenmiştir ($P<0.05$). Elastikiyet ve çiğnenebilirlik değerlerindeki değişimin DS hariç olmak üzere diğer varyasyon kaynaklarından etkilenmediği görülmektedir ($P>0.05$).

4.2.13. Duyusal analizler

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulamaları, formülasyonda starter kültür kullanımı ve kullanım formunun sucuğun bazı duyusal özelliklerine etkisi çiğ ve pişmiş sucuk örneklerinde farklı nitelikler çerçevesinde değerlendirilmiştir. Sucuğa özgü bazı karakteristik özelliklerin özellikle olgunlaşma aşamalarında şekillendiği kabul edilerek duyusal analizler depolama süreçlerindeki (14, 30 ve 45) örnekler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizde belirlenen niteliklere ait bulgular çiğ ve pişmiş sucuklarda ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

4.2.13.1. Çiğ sucuklarda duyusal analizler

Duyusal analiz paneline katılan panelistler çiğ sucukları renk, koku, kesit yüzey görünümü (KYG) ve genel kabul edilebilirlik (GK) özellikleri bakımından değerlendirmiştir..

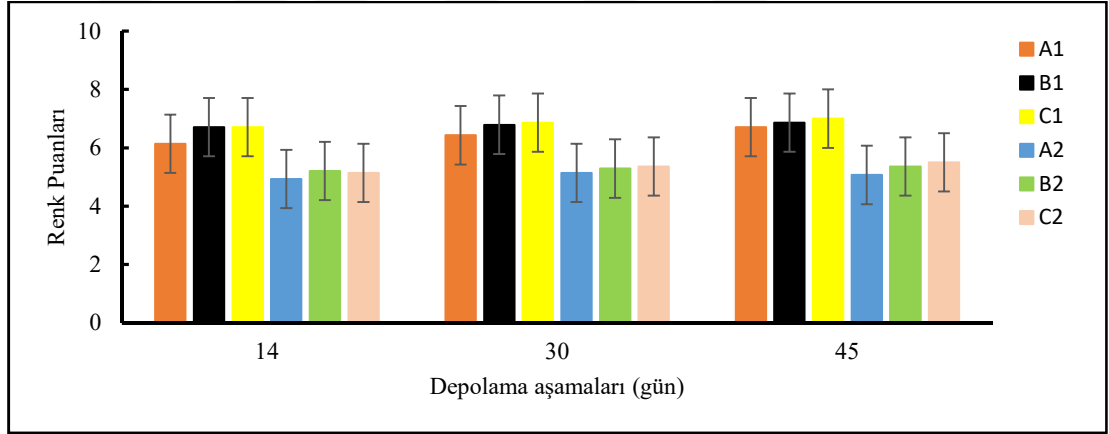
Çizelge 4.30. Çiğ fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen duyusal değerlendirme puanları*

Duyusal Değerlendirme	Gün	Fermente			Isıl İşlem		
		A1	B1	C1	A2	B2	C2
Renk	14	6.14±1.56 ^{b,A}	6.71±1.38 ^{b,A}	6.71±1.13 ^{b,A}	4.93±1.07 ^{a,A}	5.21±1.05 ^{a,A}	5.14±0.86 ^{a,A}
	30	6.43±1.74 ^{b,A}	6.79±1.31 ^{b,A}	6.86±1.74 ^{b,A}	5.14±1.02 ^{a,A}	5.29±1.06 ^{a,A}	5.36±1.00 ^{a,A}
	45	6.71±1.59 ^{b,A}	6.86±1.56 ^{b,A}	7.00±1.35 ^{b,A}	5.07±1.14 ^{a,A}	5.36±1.21 ^{a,A}	5.50±1.16 ^{a,A}
Koku	14	7.00±1.35 ^{c,A}	6.71±2.01 ^{c,A}	6.64±1.64 ^{c,A}	5.21±1.97 ^{a,A}	5.57±1.34 ^{ab,A}	5.71±1.20 ^{ab,A}
	30	6.43±1.28 ^{b,A}	6.50±1.60 ^{b,A}	6.50±1.01 ^{b,A}	5.14±1.16 ^{a,A}	5.21±0.89 ^{a,A}	5.43±1.28 ^{a,A}
	45	6.00±1.35 ^{ab,A}	6.14±0.86 ^{b,A}	5.93±1.68 ^{ab,A}	5.00±1.24 ^{a,A}	5.14±1.56 ^{ab,A}	5.36±1.15 ^{ab,A}
KYG	14	6.57±1.55 ^{b,A}	6.57±1.45 ^{b,A}	6.43±1.01 ^{b,A}	5.29±0.99 ^{a,A}	6.36±1.33 ^{b,A}	6.29±1.26 ^{b,A}
	30	5.79±1.47 ^{a,A}	6.71±1.54 ^{a,A}	6.57±1.82 ^{a,A}	6.36±1.27 ^{a,A}	5.86±1.79 ^{a,A}	6.64±1.21 ^{a,A}
	45	6.79±1.47 ^{a,A}	7.29±1.20 ^{a,A}	6.86±1.16 ^{a,A}	6.29±2.05 ^{a,A}	6.57±1.91 ^{a,A}	6.83±1.20 ^{a,A}
GK	14	6.07±1.54 ^{c,A}	6.57±1.15 ^{c,A}	6.50±1.09 ^{c,A}	4.86±1.09 ^{a,A}	5.50±1.45 ^{ab,A}	5.29±1.06 ^{ab,A}
	30	5.93±1.63 ^{ab,A}	6.50±1.50 ^{b,A}	6.57±1.74 ^{b,A}	5.14±0.94 ^{a,A}	5.29±1.26 ^{a,A}	5.36±1.27 ^{a,A}
	45	6.31±1.49 ^{b,A}	6.46±1.39 ^{b,A}	6.38±1.44 ^{b,A}	5.29±1.49 ^{ab,A}	5.14±1.29 ^{a,A}	5.64±1.21 ^{ab,A}

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satır farklı küçük harflerle (a-c) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-C) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1: fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıtma işlem, starter kültürsüz; B2: ısıtma işlem, serbest starter kültür; C2: ısıtma işlem, enkapsül starter kültür

4.2.13.1.1.Renk

Fermentasyon ve ısıtma işlemi ile üretilen çiğ sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen renk puanları Çizelge 4.30 ve Şekil 4.35’de verilmiştir. Ondördüncü gün duyusal değerlendirme panelinde renk değerinin 4.93-6.71 arasında değişen puanlar aldığı belirlenmiştir. Panelistlerin verdikleri puanlar esas alınarak elde edilen renk değerleri bakımından fermentasyon ve ısıtma işlem gruplarının 14., 30. ve 45. gün örneklerinde homojen bir gruplaşma olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Tüm örneklerde starter kültür kullanımı, kullanım formu ve depolama süresince gerçekleşen değişikliklerin etkisinin önemli seviyede olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Depolama süresi sonunda enkapsül formda starter kültür kullanılan örneklerin renk değeri bakımından en yüksek puanlar aldığı (C1 ve C1’de sırası ile 7.00 ve 5.50) saptanmıştır.

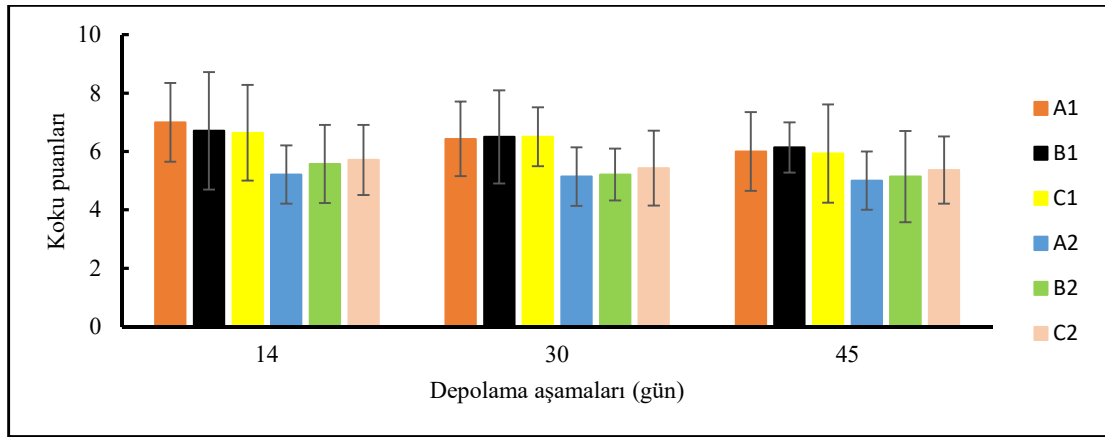


Şekil 4.35. Çiğ fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen renk değişimleri

Depolama sürelerinin tamamında verilen renk puanları incelendiğinde; panelistlerin fermentasyon uygulanan sucukların renklerini ısıtma işlem uygulananlara kıyasla daha çok beğenmiş oldukları gözlemlenmiştir (Şekil 4.35). Isıtma işlem uygulanan sucukların renkleri soluk kırmızı-pembe olarak, fermentasyon ile üretilen sucukların ise kırmızı veya kırmızı-kahverengi olarak nitelendirildiği görülmüştür. Renk parametresi için belirlenen sonuçlar sucukların aletsel renk ölçümlerinde saptanan a^* değerleri ile (bkz Çizelge 4.18) yakınlık gösterdiği söylenebilir.

4.2.13.1.2. Koku

Duyusal değerlendirme ölçütlerinden bir diğeri sucuk örneklerinin koku özelliğidir. Fermentasyon ve ısıl işlem örneklerinde farklı süreçlerde belirlenen koku puanları Çizelge 4.30 ve Şekil 4.36’da verilmiştir. Fermentasyon grubunda depolama süresince örneklerin koku skorları oldukça yakın (6.64-7.00) değerlerdedir ($P>0.05$). Isıl işlem grubunda starter kültür kullanımı koku puanları bakımından farklılık yaratmıştır ($P<0.05$), üretim süresi sonunda A2, B2 ve C2 örneklerine verilen koku puanları sırası ile 6.64, 5.21 ve 5.57 şeklindedir. Depolama aşamasının 14 ve 30. günlerinde örnekler arasında homojen bir gruplaşma olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Depolamanın 45. gününde tüm örneklerde starter kültür kullanımının koku puanlarını etkilediği ($P<0.05$), fermentasyon grubunda en yüksek koku puanının B1 (6.14), ısıl işlem grubunda ise C2 (5.36) örneğinde olduğu gözlenmiştir. Farklı üretim yöntemleri ile elde edilen sucukların koku puanlarındaki farklılık önemli bulunmuş ($P<0.05$) ve fermente sucukların ısıl işlem görenlere kıyasla daha yüksek beğeni puanları aldığı görülmüştür. Her iki üretim yöntemi ile elde edilen sucukların depolama süresi ilerledikçe istatistiksel olarak önemli sayılmayacak seviyede düşük puanlar aldıkları Çizelge 4.30’da görülebilir ($P>0.05$).



Şekil 4.36. Çiğ fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen koku değişimleri

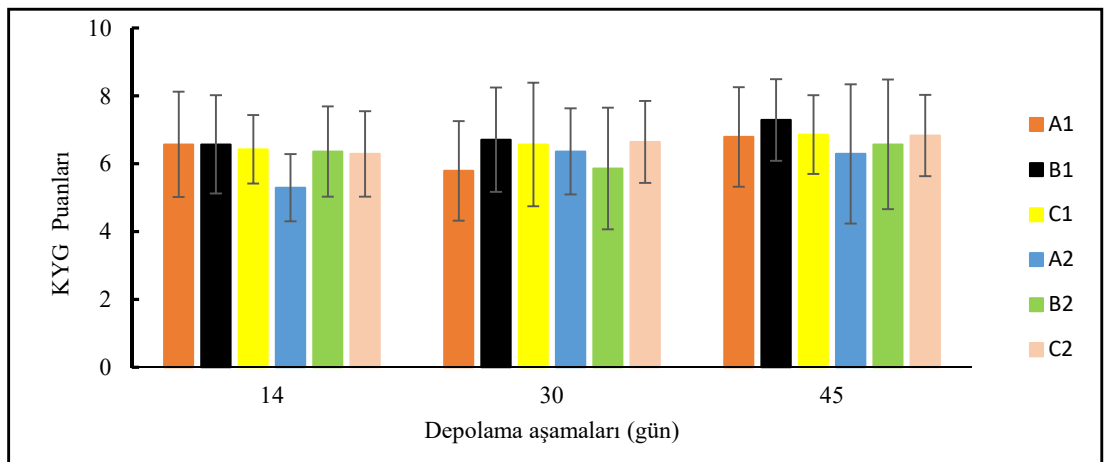
Sucukta algılanan koku özelliğinin üretim ve depolama sürelerinde oluşan lipoliz ve lipit oksidasyonu ile açığa çıkan bileşiklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Lipit oksidasyonu ile aralarında aldehit ve ketonların bulunduğu çeşitli bileşiklerin oluştuğu ve tüketici tercihlerini olumsuz yönde etkilediği yapılan

farklı çalışmalarda da belirlenmiştir [7, 225]. Isıl işlem uygulanan sucuk örneklerine fermente sucuk örneklerine kıyasla daha düşük puan verilmesi uygulanan ısıl işlem ile daha yüksek oranda lipit oksidasyonunun gerçekleşmesi, dolayısıyla tat ve uçucuyu olumsuz etkileyen bileşik miktarının daha fazla olmasına bağlanabilir. Söz konusu oksidasyon ürünlerinin (aldehidik yapıda) miktarını gösteren TBA değerleri (bkz Çizelge 4.7) bu kanıyı destekler niteliktedir.

4.2.13.1.3. Kesit yüzey görünümü (KYG)

Fermentasyon ve ısıl işlem örneklerin farklı süreçlerde belirlenen KYG değerlendirmesi Çizelge 4.30 ve Şekil 4.37’de verilmiştir. Fermentasyon ve ısıl işlem ile üretilen sucukların duyuşal değerlendirmesinde KYG birbirine yakın puanlar aldığı ve puanlamanın 5.29-6.57 aralığında değiştiği saptanmıştır. Depolama süresi boyunca örnekler arasındaki farkın ve örneklerde gerçekleşen değişikliklerin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Fermentasyon ile üretilen sucuklar KYG bakımından istatistiksel olarak önemli sayılmayacak derecede daha yüksek puanlar almış panelistlerin beğenisini kazanmıştır ($P>0.05$). Üretim prosesindeki ısınma ve soğuma etkisi ile yapı bileşenlerinden yağın eriyip tekrar katılaşması sucukların kesit yüzey görünümünün yeniden şekillenmesine neden olmaktadır. KYG değerlendirme sonuçlarında bu yeni oluşumun fermentasyon koşullarında üretilen sucuk örneklerine kıyasla daha düşük puanlar ile değerlendirildikleri tespit edilmiştir.

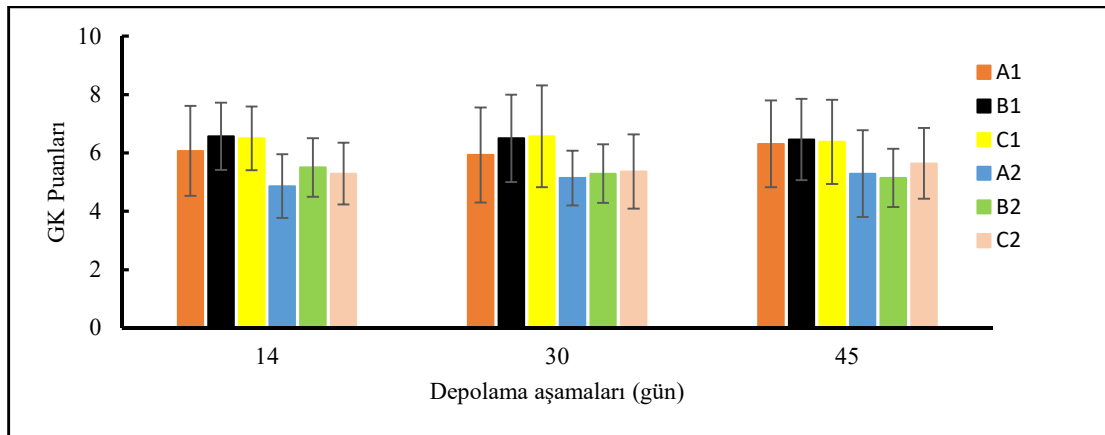


Şekil 4.37. Çiğ fermentasyon ve ısıl işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen KYG değişimleri

4.2.13.1.4. Genel kabul edilebilirlik (GK)

Fermentasyon ve ısıtma işlem örneklerinin farklı süreçlerde belirlenen GK değerindeki değişimler Çizelge 4.30 ve Şekil 4.38’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; 14. günde fermentasyon örneklerini (6.07-6.57) ısıtma işlem örneklerinden (4.86-5.50) daha yüksek puanlar aldığı ($P<0.05$) ve ısıtma işlem örnekleri üzerinde starter kullanımı etkisinin önemli olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$). Devam eden depolama süresince üretim yönteminin örnekler üzerinde oluşturduğu gruplaşmanın devam ettiği belirlenmiştir. Depolama aşamasının 45. gününde fermentasyon grubunda örnekler arasında farklılık oluşmadığı ($P>0.05$), ısıtma işlem grubunda serbest formda starter kültür kullanımının etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Depolama süresi boyunca tüm örneklerde gerçekleşen değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulanan sucukların GK test sonuçları ışığında, üretim tekniğinin sucukların GK özelliği üzerinde önemli etkiye bulunduğu görülmüştür ($P<0.05$). Fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinin genel beğeni puanları ısıtma işlem uygulanan sucuk örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir, dolayısıyla fermentasyon uygulaması ile üretilen sucukların panelistlerin beğenisini topladığı ifade edilebilir.



Şekil 4.38. Çiğ fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında belirlenen GK değişimleri

GK kriteri duyuşsal olarak algılanan birçok özelliği bünyesinde barındırmaktadır. Özellikle ısıtma işlem gören sucukların duyuşsal analizlerde daha düşük

puanlar almasının muhtemel sebebi; uygulanan ısıt işlem etkisi ile oluşan fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal olayların olumsuz etkisidir.

Sucuk örneklerinin depolama aşamalarında renk, koku, KYG ve GK değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.31’de verilmiştir.

Çizelge 4.31. Fermentasyon ve ısıt işlem uygulaması ile elde edilen örneklerin çiğ formda duyuşal panel değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Renk		Koku		KYG		GK	
	F	P	F	P	F	P	F	P
ÜY	43.5	0.00	32.3	0.00	3.6	0.07	43.1	0.00
DS	0.5	0.61	2.4	0.10	3.6	0.04	0.5	0.57
ÖF	0.9	0.39	0.1	0.91	2.4	0.11	1.5	0.23
ÜY x DS	0.0	0.97	0.9	0.40	0.6	0.55	0.1	0.89
ÜY X ÖF	0.0	0.96	0.7	0.51	0.9	0.39	0.1	0.90
ÖF x DS	0.0	0.99	0.1	0.95	0.2	0.93	0.3	0.87
ÜY x DS x ÖF	0.0	0.99	0.2	0.89	1.4	0.25	0.2	0.93

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu, KYG Kesit Yüzey Görünümü, GK: Genel Kabul Edilebilirlik

Çizelge 4.31 incelendiğinde; ÜY hariç varyasyon kaynakları renk, koku ve GK değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmadığı ($P>0.05$) ve hiçbir varyasyon kaynağının KYG değerlerinde önemli değişiklikler oluşturmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

4.2.13.2. Pişmiş sucuklarda duyuşal analizler

Duyuşal analiz paneline katılan panelistler Bölüm 3.5.11’de tanımlanan koşullarda pişirilen sucukları tat ve uçucu, koku ve tekstür özellikleri bakımından EK 2’de verilen formdaki formata uygun olarak değerlendirmiştir.

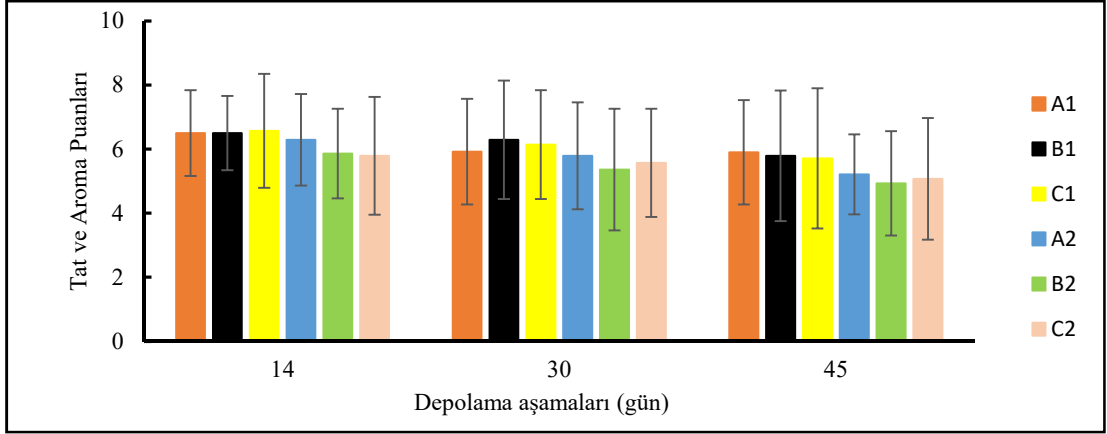
4.2.13.2.1. Tat ve uçucu

Farklı depolama süreleri sonunda pişirilen sucukların tat ve uçucu puanları Çizelge 4.32 ve Şekil 4.39’da verilmiştir. Farklı üretim teknikleri ile elde edilen ve farklı sürelerde depolanan pişmiş sucuk örneklerinin tat ve uçucu özellikleri panelistler tarafından genel olarak 4.93-6.57 puan aralığında değerlendirilmiştir. Fermentasyon ve ısıt işlem ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamalarında örnekler arasında farklılık oluşmadığı ve ayrıca depolama süresi boyunca sucuk örneklerinin tat ve uçucu özelliklerinde gerçekleşen değişikliğin de istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.32. Fermentasyon ve ısıtım işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin depolama aşamaları sonunda pişirilmesi ile elde edilen duyuşal değeriendirme puanları*

Duyuşal Değeriendirme	Gün	Fermente			Isıtım İşlem		
		A1	B1	C1	A2	B2	C2
Tat ve Uçucu	14	6.50±1.34 ^{a,A}	6.50±1.16 ^{a,A}	6.57±1.78 ^{a,A}	6.29±1.43 ^{a,A}	5.86±1.40 ^{a,A}	5.79±1.84 ^{a,A}
	30	5.92±1.65 ^{a,A}	6.29±1.85 ^{a,A}	6.14±1.70 ^{a,A}	5.79±1.67 ^{a,A}	5.36±1.90 ^{a,A}	5.57±1.69 ^{a,A}
	45	5.90±1.63 ^{a,A}	5.79±2.04 ^{a,A}	5.71±2.19 ^{a,A}	5.21±1.25 ^{a,A}	4.93±1.63 ^{a,A}	5.07±1.90 ^{a,A}
Koku	14	6.14±1.09 ^{a,A}	6.29±1.63 ^{a,A}	6.50±1.55 ^{a,A}	5.71±1.93 ^{a,AB}	6.57±1.98 ^{a,A}	6.07±1.73 ^{a,A}
	30	6.07±1.38 ^{a,A}	5.79±1.67 ^{a,A}	5.64±1.59 ^{a,A}	5.21±0.97 ^{a,AB}	6.07±1.38 ^{a,A}	5.71±1.38 ^{a,A}
	45	6.00±1.84 ^{a,A}	5.15±1.06 ^{a,A}	5.36±1.98 ^{a,A}	5.00±1.41 ^{a,A}	5.07±1.54 ^{a,A}	4.93±1.68 ^{a,A}
Tekstür	14	6.23±1.69 ^{a,A}	7.31±1.84 ^{ab,A}	7.69±1.37 ^{b,A}	6.57±1.74 ^{ab,A}	6.64±1.44 ^{ab,A}	7.00±1.41 ^{ab,A}
	30	6.21±1.76 ^{a,A}	6.36±1.69 ^{a,A}	7.21±1.67 ^{a,A}	6.50±1.99 ^{a,A}	6.57±1.55 ^{a,A}	6.93±1.26 ^{a,A}
	45	6.07±1.59 ^{a,A}	6.00±1.71 ^{a,A}	6.71±1.54 ^{a,A}	6.29±1.63 ^{a,A}	6.29±1.72 ^{a,A}	6.71±1.49 ^{a,A}

*Ortalama ±standart sapma. Sonuçlar iki tekerrür ortalamasıdır (n=2). Aynı satır farklı küçük harflerle (a-b) gösterilen ortalamalar birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklıdır. Aynı sütunda farklı büyük harflerle (A-B) gösterilen ortalamalar her bir uygulamanın depolama sonrasında birbirinden $P<0.05$ düzeyinde farklı olduğunu göstermektedir. A1: fermente, starter kültürsüz; B1: fermente, serbest starter kültür; C1: fermente, enkapsül starter kültür; A2: ısıtım işlem, starter kültürsüz; B2: ısıtım işlem, serbest starter kültür; C2: ısıtım işlem, enkapsül starter kültür

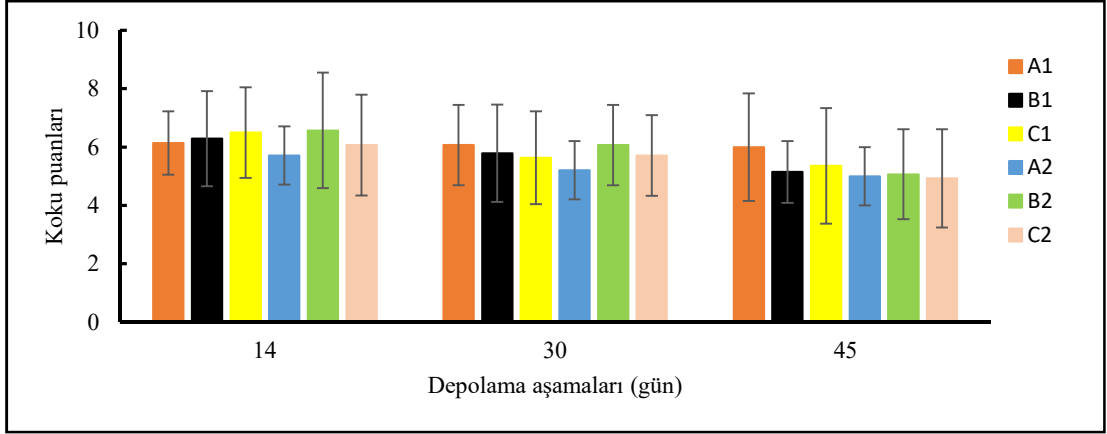


Şekil 4.39. Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucukların depolama aşamaları sonunda pişirilmesi ile elde edilen tat ve uçucu puanları

Tat ve uçucu özellikleri bakımından fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulanan örnekler yakın puanlar almış, (değerlendirme skalasında orta dereceli puanlar kullanılmıştır), her iki sucuk grubu da tat ve uçucu özellikleri bakımından eşit seviyede değerlendirilmiştir. Depolama süresi ilerledikçe her iki üretim yöntemi ile elde edilen sucuk örneklerinin tat ve uçucu puanlarında istatistiksel açıdan önemli olmayan ($P>0.05$) azalma belirlenmiştir (Şekil 4.39).

4.2.13.2.2. Koku

Farklı depolama süreleri sonunda pişirilen sucukların koku puanları Çizelge 4.32 ve Şekil 4.40'da verilmiştir. Fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulanan sucuk örneklerinin pişirme işlemi sonrası koku özelliğinin değerlendirildiği panelde fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinin 5.15-6.50 aralığında, ısıtma işlem örneklerinin ise 4.93-6.57 aralığında puanlar aldığı belirlenmiştir ($P>0.05$). A2 örneği hariç tüm örneklerin koku puanlarında depolama süresi ilerledikçe küçük miktarlarda azalma eğilimi olduğu tespit edilmiştir ($P>0.05$). Koku ölçütlerinde panelistler fermentasyon ve ısıtma işlemi uygulanan sucukları yakın puanlar kullanarak değerlendirmiş, yani her iki sucuk grubunu da aynı derecede beğenmişlerdir.

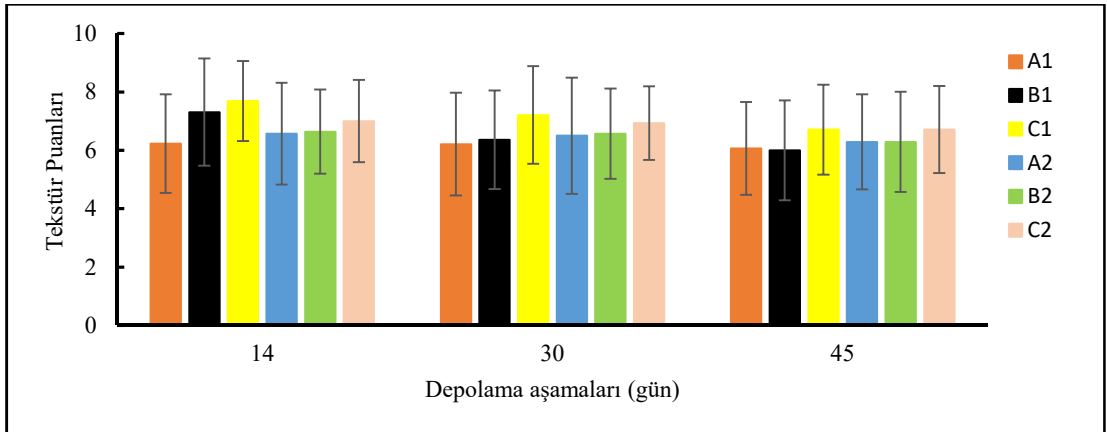


Şekil 4.40. Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucukların depolama aşamaları sonunda pişirilmesi ile elde edilen koku puanları

4.2.13.2.3. Tekstür

Farklı depolama süreleri sonunda pişirilen sucukların tekstür puanları Çizelge 4.32 ve Şekil 4.41’de verilmiştir.

İstatistiksel olarak incelendiğinde; 14. gün fermentasyon uygulanan sucuk örneklerinin tekstür puanlarının ısıtma işlemi uygulanan sucuk örneklerine kıyasla daha yüksek oldukları ve örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Aynı örneklerde starter kültür kullanımı ve kullanım formunun (serbest ya da enkapsül) tekstür üzerine etkisinin de önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Ondördüncü gün ısıtma işlem örnekleri arasında ise starter kültür kullanımı ve kullanım formu tekstür puanlarında önemli bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).



Şekil 4.41. Farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucukların depolama aşamaları sonunda pişirilmesi ile elde edilen tekstür puanları

Devam eden depolama sürelerinde panelistlerin giderek azalan ölçütlerde puanlar kullandığı (Şekil 4.41), örneklerin birbirlerine yakın puanlar ile değerlendirildiği ve farklı üretim teknikleri ile elde edilen sucuklar arasında oluşan farklılığın önemli olmadığı ($P>0.05$) görülmektedir (Çizelge 4.32).

Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile üretilen sucuk örnekleri için gerçekleştirilen pişmiş sucuk duyusal değerlendirme panel sonuçlarına ilişkin varyans analiz verileri Çizelge 4.33’de verilmiştir.

Çizelge 4.33. Fermentasyon ve ısıtma işlem uygulaması ile elde edilen sucuk örneklerinin pişmiş formda duyusal panel değerlerine ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Tat ve Uçucu		Koku		Tekstür	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
ÜY	9.7	0.01	3.7	0.07	0.2	0.64
DS	5.2	0.02	9.6	0.00	3.2	0.06
ÖF	0.4	0.69	0.5	0.59	3.9	0.04
ÜY x DS	0.1	0.93	0.7	0.48	1.1	0.36
ÜY x ÖF	0.2	0.78	1.9	0.17	0.6	0.57
ÖF x DS	0.0	1.00	0.7	0.60	0.2	0.92
ÜY x DS x ÖF	0.1	0.98	0.3	0.88	0.2	0.94

ÜY: Üretim Yöntemi, DS: Depolama Süresi, ÖF: Örnek Formülasyonu

Çizelge 4.33’de; ÜY dışında kalan varyasyon kaynakları bakımından tat ve uçucu değerlerindeki değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$), örneklerin koku ve tekstür özellikleri üzerine sadece DS’nin etkili olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sucuk, ülkemizde en çok tüketimi olan işlenmiş et ürünlerinden bir tanesidir. Geleneksel Türk sucuğu, ısıl işlem uygulanmayan yarı kuru fermente bir et ürünüdür. Ancak son yıllarda endüstride üretim süresini kısaltmak ve üretim maliyetlerini azaltmak amacıyla sucuk hamurunun kılıflara doldurulmasından sonra yaklaşık 70°C civarında 10-20 dk süren ısıl işlem uygulaması yaygınlaşmaya başlamıştır. Uygulanan sıcaklık derecesinde fermentasyon süresince aktivite göstererek sucuğun olgunlaşmasını sağlayan bakteriler de dahil olmak üzere tüm mikroflora neredeyse yok edilmektedir. Isıl işlem uygulanarak üretilen sucuğun geleneksel üretime kıyasla değinilen avantajlarına rağmen, sucuğun kendine özgü tat, koku ve uçucu bileşiklerinin gelişmemesi önemli dezavantajlardan birisidir. Bu bakımdan starter kültürlerin ısıl işlem koşullarında tahribatını engellemek amacıyla uygun kabuk materyalleri ile enkapsüle edilmesi ve enkapsüle formda ısıl işlem gören sucuklarda kullanımının sağlanarak sucuk kalite parametrelerinin iyileştirilmesi amaçlar arasındadır.

Yukarıda verilen hitotez kapsamında başlıca hedefler ve gerçekleştirme düzeyleri şu şekildedir:

HEDEF I: Enkapsülasyonda kabuk materyal olarak kullanılacak aljinat, pektin ve nişastanın kabuk materyali olarak uygunluğunun ve kullanım oranlarının saptanması ile enkapsüle yapının karakterizasyonun gerçekleştirilmesi.

GERÇEKLEŞME: Aljinat-nişasta ve pektin-nişastanın % 0.5-3 aralığında değişen farklı kombinasyonları kabuk materyali olarak test edilmiş ve etkinlik değeri bakımından aljinat-nişastanın pektin nişastadan daha uygun bir kabuk materyali olduğuna karar verilmiştir. Aljinat-nişasta kombinasyonlarının *S.xylosus* için % 2, *L.plantarum* için % 0.5' lik konsantrasyonun en yüksek etkinlik başarısına ulaştığı belirlenmiştir (*S.xylosus* için etkinlik değeri %90.26, *L.plantarum* için etkinlik %98.12).

Enkapsül formda hazırlanan starter kültürlerin yüzey morfolojik yapıları SEM ile incelenmiş, dondurarak kurutma prosesi öncesi ve sonrasında alınan görüntüler yüzey yapılarında (por oluşumu, yapı stabilitesi) önemli değişikliklerin olduğu saptanmıştır.

Enkapsüle formdaki starter kültürlerin sucuk ortamına salınım oranı hakkında fikir edinebilmek amacıyla sucuğun sahip olduğu ortam koşullarının simule edildiği ortamda bakterilerin enkapsül yapısından salınım oranları *S.xylosus* ve *L. plantarum* için sırası ile % 70.21 ve % 70.34 olarak saptanmıştır. Bu bulguya bağlı olarak starter kültürlerin enkapsül yapısından önemli oranda ortama geçebildikleri sonucuna ulaşılmıştır.

HEDEF II: Enkapsülasyon ile starter kültürlerin ısıl işlem uygulamasında zarar görmesinin engellenmesi bu sayede fermentasyonun devamının sağlanması ve böylece güvenliği yüksek ve teknolojik değere sahip ürün elde edilmesi.

GERÇEKLEŞME: Isıl işlem uygulanan örneklerde enkapsül formda canlı hücre sayısının serbest forma kıyasla daha yüksek çıkması (LAB için yaklaşık 6 log kob, M-S için yaklaşık 3 log kob daha yüksek) enkapsülasyon işleminin starter kültürleri ısıl işlemin olumsuz koşullarından korunduğunu ifade etmektedir. Enakpsül starter kültür kullanımı ile pH'nın düşme derecesi sonucunda maya/küf ve koliform bakteriler ile rekabet gücünün saptanması ürün güvenilirliği bakımından hedefin gerçekleştirildiğini göstermektedir.

HEDEF III: Isıl işlem görmüş sucuk üretiminde enkapsüle starter kültür kullanılması ile ısıl işlem gören sucuklarda uçucu bileşiklerin gelişiminin sağlanması

GERÇEKLEŞME: Enkapsül starter kültür kullanımı ile ısıl işlem gören sucuklarda serbest formda starter kültür kullanımı ile üretilen sucuk örneklerine kıyasla uçucu gelişiminde olumlu etkilerin olduğu saptanmıştır.

HEDEF IV: Enkapsüle starter kültür kullanımı ile biyojen amin miktarının azaltılması

GERÇEKLEŞME: İncelenen bazı biyojen amin çeşitlerinde kontrol grubu sucuk örneklerine kıyasla enkapsül starter kültür kullanılan sucuklarda azalmaların olduğu saptanmıştır.

HEDEF V: Enkapsüle starter kültür kullanımı ile son üründe kalıntı nitrit miktarının azaltılması.

GERÇEKLEŞME: Isıl işlem ve fermente örnek gruplarında enakpsül formdaki starter kültürlerin kullanımı ile özellikle ısıl işlem grubunda kalıntı nitrit miktarında belirgin bir azalma saptanmıştır.

Çalışmamız sonuçları ışığında aşağıda belirtilen genel sonuç ve öneriler çıkarılmıştır.

1. Fermentasyon ve ısıl işlem uygulanan örneklerin tümü için pH değeri TGK'de belirtilen sınırın altında saptanmıştır. Genellikle starter kültür kullanımı ile sucukta pH gelişiminin daha kontrollü olduğu ve ısıl işlem uygulanan sucuklarda enkapsül formda kültür kullanımı ile daha başarılı pH gelişimi gerçekleştiği belirlenmiştir.
2. TBA değeri ile izlenen oksidasyon durumu fermente ve ısıl işlem grubunda depolama süresince artış gösterirken, artış oranı ısıl işlem gören sucuklarda daha yüksek saptanmıştır. Bu nedenle ısıl işlem gören sucuklarda oksidasyon direnci sağlayan katkıların ilavesi ile daha yüksek bir stabilite sağlanabilir.
3. Fermente sucuklarda ısıl işlem sucuklarına kıyasla daha düşük miktarda nitrit belirlenmiş ve depolama süresince her iki sucuk grubunda da nitrit seviyesinin kararlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Nitrit indirgeme özelliği olan mikroorganizmaların ısıl işlem ile tahribatına bağlı olarak bu durumun oluştuğu kanaatine varılmıştır. Söz konusu mikroorganizma tahribatı enkapsüle starter kültür kullanımı ile engellenebilir.
4. Farklı üretim tekniklerinin örneklerin renk değeri üzerinde etkisinin olduğu belirlenmiştir. Fermente sucukların L*, a* ve b* değerlerinin ısıl işlem ile üretilenlerin değerlerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Her iki üretim tekniğinde de depolama süresi sonunda starter kültür kullanımı ve kullanım formunun örneklerin L*, a* ve b* değerleri üzerinde farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir.
5. Isıl işlem uygulanan sucuklarda enkapsül formda starter kültür kullanılan örneklerin canlı hücre sayısının serbest formdakine kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.
6. Fermente ve ısıl işlem örneklerinde enkapsüle starter kültür kullanımı ile daha düşük miktarlarda tiramin ve spermin oluştuğu saptanmıştır.
7. Fermente sucukların uçucu bileşiklerinin çeşit ve miktarlarının ısıl işlem sucuklarına kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Isıl işlem grubunda uçucu bileşen çeşit ve miktarındaki bu azalmanın enkapsül formda starter kültür kullanımı ile azaltılabileceği belirlenmiştir. Enkapsüle starter kültür kullanımı ile mikrobiyal faaliyet sonucunda oluşabilecek uçucu kusurlarının (asetik asit- okzo akümüülasyonu) önlenilebileceği belirlenmiştir.

8. Enkapsüle starter kültür kullanımı ile tekstürel özelliklerden elastikiyet ve sertlik değerinde diğer sucuk örneklerine göre üstünlük sağlanmıştır.

9. Yapılan duyuşsal değerlendirmede çiğ örneklerin renk koku ve genel kabuledilebilirlik niteliklerinin fermentasyonuygulanan örneklerde daha çok beğenildiği, kesit yüzey görünümü için ise ısıt işleml uygulanan sucuk örneklerinin tercih edildiği belirlenmiştir. Pişirildikten sonra değerlendirilen fermente ve ısıt işleml örneklerinin tat, uçucu, koku ve tekstür bakımından farklılık taşımadığı iki üretiminde beğenildiği belirlenmiştir.

Enkapsül ve serbest formda starter kültür kullanımı ile hazırlanan, fermente ve ısıt işleml sucuklarında kalite özelliklerini daha fazla zenginleştirmek amacı ile farklı kabuk materyalleri de denenebilir.

Enkapsül formda starter kültür kullanımı ve ısıt işleml uygulaması ile sucuk üretim tekniğinin endüstriyel düzeyde pratiğe geçirilmesi konusunda imkanlar araştırılmalıdır. Üretici ve tüketici istekleri çerçevesinde karşılaşılan problemlerin pek çoğunun bu uygulama ile giderilebileceği düşünülmektedir.

Sucuk üretiminde kullanılan starter kültürlerin her iki üretim tekniği şartlarından ve sucuk ortamında gelişen koşullardan olumsuz etkilendiği bilinmektedir. Bu çalışmada starter kültürler için söz konusu tehditlerin enkapsülasyon ile mümkün olduğunca azaltıldığı belirlenmiştir. Dolayısı ile sucuk üretiminde ürünün karakteristik özelliklerinin iyileştirecek ve son ürün başarısını arttıracak (kalıntı nitrit miktarı, uçucu uçucu bileşeni çeşit ve miktar bakımından ve biyojen amin üretim ve üretimi engelleme potansiyeli olan starter kültürlerin üretime dahil edilmesi) farklı fonksiyonel starter kültürlerin test edilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- [1] M. Henchion, M. McMart, V.C. Resconi and D.Troy, *Meat consumption: trends and quality matters*, **Meat Sci.**, 98:3 (2014) 561-568.
- [2] M. Tayyar, *Türk Sucuğuna uygulanan işlemlerin kaliteye etkisi*, **Gıda**, 19:1 (1994) 17-21.
- [3] Beyza Hatice Ulusoy. "Kefir kültürü ile fermente sucuk üretimi" Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Türkiye, 2007.
- [4]. M. Hugas and J.M. Monfart, *Bacterial starter cultures for meat fermentation*, **Food Chem.**, 59:4 (1997) 547-554.
- [5] H. Vural, *The use of commercial starter cultures in the production of Turkish semi dry fermented sausage*, **Z Lebensm Unters Forsch A.**, 207:5 (1998) 410-412.
- [6] J. Kanner, *Oxidative processes in meat and meat products*, **Meat Sci.**, 36:1 (1994) 169-189.
- [7] Veli Gök. "Antioksidan kullanımının fermente sucukların bazı kalite özellikleri üzerine etkisi" Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2006.
- [8] J.A. Ordóñez, E.M. Hierro, J.M. Bruna and L. Hoz, *Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening*, **Food Sci. and Nutr.**, 39:4 (1999) 329-367.
- [9] Nejlet Filiz. "Yüksek ısı uygulaması ile üretilen Türk sucuklarında starter kültür kullanımı üzerine araştırmalar" Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Türkiye, 1996.
- [10] M.S. Ammor and B. Mayo, *Selection criteria of lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry fermented sausage production*, **Meat Sci.**, 76:1 (2007) 138-146.
- [11] F. Leroy, J. Verluyten and L. De Vuyst, *Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation*, **Int. J. Food Microbiol.**, 106:3 (2006) 270-285.
- [12] K. Candogan and J.C. Acton, *Proteolytic activity of bacterial starter cultures for meat fermentation*, **J. Muscle Foods**, 15:1 (2004) 23-34.
- [13] L. Kearney, M. Upton and A. McLoughlin, *Meat fermentation with immobilized lactic acid bacteria*, **Appl. Microbiol and Biotech.**, 33:6, (1990) 648-651.
- [14] A.J. McLoughlin and C.P. Champagne, *Immobilized cells in meat fermentation*, **Crit. Reviews in Biotechnol.**, 14:2 (1994) 179-192.
- [15] N.P. Shah and R.R. Ravula, *Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts*, **Australian J. Dairy Technol.**, 55:3 (2000) 139-144.
- [16] H. Bozkurt and M. Bayram, *Colour and textural attributes of sucuk during ripening*, **Meat Sci.**, 73:2 (2006) 344-350.
- [17] W. Krasaekoopt, B. Bhandari and H. Deeth, *Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt*, **Int. Dairy J.**, 13:1 (2003) 3-13.
- [18] Z. Fang and B. Bhandari, *Encapsulation of polyphenols: A review*, **Trends Food Sci. Tech.**, 21:10 (2010) 510- 523.
- [19] Ö. Kınık, G. Kavas ve E. Yılmaz, *Mikroenkapsülasyon tekniği ve süt teknolojisinde kullanım olanakları*, **Gıda**, 28:4 (2003) 401-407.

- [20] K. Kailasapathy, *Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications*, **Curr. Issues. Intest Microbiol.**, 3:2 (2002) 39-48.
- [21] M.L. Pérez -Chabela, R. Lara-Labastida E. Rodriguez-Huezo and A. Totosaús, *Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant Lactic Acid Bacteria on meat batters properties*, **Food Bioprocess Technol.**, 6:6 (2013) 1505-1515.
- [22] L. Serna-Cock and V. Vallejo-Castillo, *Probiotic encapsulation*, **Afr. J. Microbiol Res.**, 7:40 (2013) 4743-4753.
- [23] S. Rokka and P. Rontamäki, *Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications*, **Eur. Food Res. Technol.**, 231:1 (2010) 1-12.
- [24] H. Bozkurt and O. Erkmén, *Effects of starter cultures and additives on the quality of Turkish style sausage (sucuk)*, **Meat Sci.**, 61:2 (2002) 149-156.
- [25] A. Gucukoğlu and O. Kuplulu, *The effect of different starter cultures and ripening temperatures on formation of biogenic amine in Turkish fermented sausages*, **Eur. Food Res. Technol.**, 230:6 (2010) 875-884.
- [26] G. Suzzi and F. Gardini, *Biogenic amines in dry fermented sausages: a review*, **Int. J. Food Microbiol.**, 88:1 (2003) 41-54.
- [27] B. Brink, C. Damirík, H.M.L.J. Joosten and J.H.C. Huis in t'Veld, *Occurrence and formation of biologically active amines in foods*, **Int. J. Food Microbiol.**, 11:1 (1990) 73-84.
- [28] A.R. Shalaby, *Significance of biogenic amines to food safety and human health*, **Food Res. Int.**, 29:7 (1996) 675-690.
- [29] S. Bover-Cid, M. Hugas, M. Izquierdo-Pulido and M.C. Vidal-Carou, *Amino acid decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausage*, **Int. J. Food Microbiol.**, 66:3 (2001) 185-192.
- [30] S. Kurt and O. Zorba, *Biogenic amine formation in Turkish-dry fermented sausage (sucuk) as affected by nisin and nitrate*, **J. Sci. Food Agric.**, 90:15 (2010) 2669-2674.
- [31] K. Candogan, F.B. Wardlav and J. Acton, *Effect of starter culture on proteolytic changes during processing of fermented beef sausage*, **Food Chem.**, 116:3 (2009) 731-737.
- [32] G. Wolf, A. Strahl, J. Meisel and W.P. Hammes, *Heme dependent catalase activity of Lactobacilli*, **Int. J. Microbiol.**, 12:2 (1990) 133-140.
- [33] G. Kaban and M. Kaya, *Effects of starter culture on growth of Staphylococcus aureus in sucuk*, **Food Control.**, 17:10 (2006) 797-801.
- [34] D.S. Mottram, *Flavour formation in meat and meat products: a review*, **Food Chem.**, 62:4 (1998) 415-424.
- [35] F. Leroy and L. De Vuyst, *Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry*, **Trends Food Sci. Tech.**, 15:2 (2004) 67-78.
- [36] H.Y. Gökalp, M. Kaya ve Ö. Zorba, *Et ürünleri işleme mühendisliği*, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 1994.
- [37] L. Kristensen, S. Stoier, J. Würtz and L. Hinrichsen, *Trends in meat science and technology: The future looks bright, but the journey will be long*, **Meat Sci.**, 98:3 (2014) 322-329.

- [38] E. Mathijs, *Exploring future patterns of meat consumption*, **Meat Sci.**, 109:1 (2015) 112-116.
- [39] S. McNeill and M.E. Van Elswyk, *Red meat in global nutrition*, **Meat Sci.**, 92:3 (2012) 166-173.
- [40] P.M.C.C. Pereira and A.F.R. B. Vicente, *Meat nutritional composition and nutritive role in human diet*, **Meat Sci.**, 93:3 (2013) 586-592.
- [41] K. Arihara, *Strategies for designing novel functional meat products*, **Meat Sci.**, 74:1 (2006) 219-229.
- [42] B. Olmedilla-Alonso, F. Jiménez-Colmenero and F.J. Sánchez-Muniz, *Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods*, **Meat Sci.**, 95:4 (2013) 919-930.
- [43] A.J. McAfee, E.M. McSorley, G.J. Cuskelly, B.W. Moss, J.M.W. Wallace, M.P. Bonham and A.M. Fearon, *Red meat consumption: An overview of the risks and benefits*, **Meat Sci.**, 84:1 (2010) 1-13.
- [44] P. Williams, *Nutritional composition of red meat*, **Nut. & Diet.**, 64:4 (2007) 113-119.
- [45] E.A. Decker and Y. Park, *Healthier meat products as functional foods*, **Meat Sci.**, 86:1 (2010) 49-55.
- [46] Ş. Anar, *Et ve Et Ürünleri Teknolojisi*, Dora Basım-Yayın Dağıtım, Bursa 2012, Sayfa: 239-268.
- [47] J.N. Goodwin and C.W. Shoulders, *The future of meat: a qualitative analysis of cured meat media coverage*, **Meat Sci.**, 95:3 (2013) 445-450.
- [48] TGK- Et ve Et Ürünleri Tebliği (2012/74), <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/12/20121205-12.htm> (erişim tarihi 10 Ocak, 2017).
- [49] A. Casaburi, M.C. Aristoy, S. Cavella, R.D. Monaco, D. Ercollini, F. Toldrá and F. Villani, *Biochemical and sensory characteristic of traditional fermented sausages of Vallo di Diano as affected by the use of starter cultures*, **Meat Sci.**, 76:2 (2007) 295-307.
- [50] M.I. Aksu and M. Kaya, *Effect of usage *Urtica dioica* L. on microbiological properties of sucuk, a Turkish dry-fermented sausage*, **Food Control**, 15:8 (2004) 591-594.
- [51] C. Sarıcoban, M. Karakaya and C. Caner, *Properties of Turkish -style sucuk made with different combinations of beef and hen meat*, **J. Muscle Foods**, 17:1 (2006) 1-8.
- [52] H. Ercoşkun and S.G. Özkal, *Kinetics of traditional Turkish sausage quality aspects during fermentation*, **Food Control**, 22:2 (2011) 165-172.
- [53] G. Kaban, *Sucuk and pastırma: microbiological changes and formation of volatile compounds*, **Meat Sci.**, 95:4 (2013) 912-918.
- [54] O.C. Tekinşen, B. Dinçer, Ş. Kaymaz ve A. Yücel, *Türk sucuğunun olgunlaşması sırasında mikrobiyal flora ve organoleptik değişimler*, **A.Ü. Vet. Fak. Drg.**, 29:1 (1982) 111-130.
- [55] S. Bover Cid, M. Izquierdo-Pulido and M.C. Vidal-Carou, *Effect of the interaction between a low tyramine-producing *Lactobacillus* and proteolytic *Staphylococcus* on biogenic*

amine production during ripening and storage of dry sausages, **Int. J. Food Microbiol.**, 65:1 (2001) 112-123.

[56] Hüdayi Ercoşkun. "Isıl işlem uygulanarak üretilen sucukların bazı kalite özelliklerinde Fermentasyonsüresinin etkisi" Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2006.

[57] Ümran Ensoy. "Hindi sucuğu üretiminde starter kültür kullanımı ve ısıl işlem uygulamasının ürünün karakteristikleri üzerine etkisi" Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2004.

[58] S. Stajic, M. Perunovic, N. Stanišić, M. Žujović and D. Živković, *Sucuk (Turkish style dry fermented sausage) quality as an influence of recipe formulation and inoculation of starter cultures*, **J. Food Process.**, 37:5 (2012) 870-880.

[59] Gülşah Bilge. "Sucukta üretim sırasında meydana gelen mikrobiyolojik ve biyokimyasal değişmelere, üretim sıcaklığının ve starter kültürünün etkisi" Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2010.

[60] <http://gidamuhendisi.tripod.com/FERMENTE.HTM>, (erişim tarihi 09 Ekim, 2016).

[61] Ülku Dalmış. "Sucukta üretim ve depolama sırasında meydana gelen mikrobiyolojik ve biyokimyasal değişmeler" Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2007.

[62] F. Toldrá, *Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry cured meat products*, **Meat Sci.**, 49:1 (1998) 101-110.

[63] Aygöl Küçükgülmez. "Kırmızı dev karides (*Aristaeomorpha foliacea*) kabuklarından elde edilen ekstraktın buzdolabında depolanan hamsi (*Engraulis encrasicolus*)'nın kimyasal, fiziksel ve duyuşal özelliklerine etkisi" Doktora tezi Çukurova Üniversitesi Türkiye, 2011.

[64] A. Soyer and A.H. Ertas, *Effects of fat level and storage time on lipid and color stability naturally fermented Turkish sausage (sucuk)*, **J. Muscal Foods**, 18:3 (2007) 330-340.

[65] D. Kolożyn-Krajewska and Z.J. Dolatowski, *Probiotic meat products and human nutrition*, **Process Biochem.**, 47:12 (2012) 1761-1772.

[66] F.K. Lücke, *Utilization of microbes to process and preserve meat*, **Meat Sci.**, 56:2 (2000) 105-115.

[67] E.J. Papavergou, *Biogenic amine levels in dry fermented sausage produced and sold in Greece*, **Procedia Food Sci.**, 1:1 (2011) 126-1131.

[68] P.T. Olesen, A.S. Meyer and L.H. Stahnke, *Generation of flavour compounds in fermented sausage the influence curing ingredients Staphylococcus starter culture and ripening time*, **Meat Sci.**, 66:3 (2004) 675-687.

[69] S. Kurt and O. Zorba, *The microbiological quality of Turkish dry fermented sausage (sucuk), as affected by ripening period, nitrite level and heat treatment*, **Food Sci. Technol. Res.**, 16:3 (2010) 191-196.

[70] H. Özdemir, T.H. Çelik, İ. Erol U.T. Sireli ve B. Siriken, *Yüksek sıcaklık derecesinde olgunlaştırılan Türk fermente sucuklarında laktobasillerin seyir, izolasyon ve identifikasyonu*, **Gıda**, 21:6 (1996) 464-470.

[71] Z. Gönülalan, A. Arslan ve A. Köse, *Farklı starter kombinasyonlarının fermente sucuklardaki etkileri*, **Turk J.Vet. Anim Sci.**, 28:2 (2004) 7-16.

- [72] K.B. Vivek, *Use of encapsulated probiotics in dairy based foods*, **Int. J. Food Agric. Vet. Sci.**, 3:1 (2013) 188-197.
- [73] N.P. Shah, *Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods*, **J. Dairy Sci.**, 83:4 (2000) 894-907.
- [74] H. Bozurt, *Utilization of natural antioxidant: Green tea extract and Thymbra spicata oil in Turkish dry fermented sausage*, **Meat Sci.**, 73:3 (2006) 442-450.
- [75] I. Çakır, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, Mayıs 24-26, pp.693-696.
- [76] Z. Fang and B. Bhandari, *Encapsulation of polyphenols a review*, **Trends Food Sci. Tech.**, 21:10 (2010) 510- 523.
- [77] M.L. Pérez -Chabela, A. Totosa and I. Guerrero, *Evaluation of thermotolerant capacity of lactic acid bacteria isolated from commercial sausages and the effects of their addition on the quality of cooked sausages*, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 28:1 (2008) 132-138.
- [78] W.C. Lian, H.C. Hsiao and C.C. Chou, *Survival of bifidobacteria after spray-drying*, **Int. J. Food Microbiol.**, 74:1 (2002) 79-86.
- [79] K.N. Chen, M.J. Chen, J.R. Liu, C.W. Lin and H.Y. Chiu, *Optimization of incorporated prebiotics as containing materials for probiotic microencapsulation*, **J. Food Sci.**, 70:5 (2005) 260-266.
- [80] R.I. Corona Hernandez, E. Álvarez-Parilla, J. Lizardi-Mendoza, A.R. Islas-Rubio, L.A. Rosa and A. Wall-Medrano, *Structural stability and viability of microencapsulated probiotic bacteria: a review*, **Compr. Reviews Food Sci. Food Safety**, 12:6 (2013) 614-628.
- [81] J. Burgain C. Gaiani, M. Linder and J. Scher, *Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications*, **J. Food Eng.**, 104:4 (2011) 467-483.
- [82] L.T. Hansen, P.M. Allan-Wojtas, Y.L. Jin and A.T. Paulson, *Survival of Ca-alginate microencapsulated Bifidobacterium spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions*, **Food Microbiol.**, 19:1 (2002) 35-45.
- [83] H. Mirzaei, H. Pourjafar and A. Homayouni, *Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of Lactobacillus acidophilus LA5 and sensory properties in Iranian white brined cheese*, **Food Chem.**, 132:4 (2012) 1966-1970.
- [84] H. Olcer ve B. Akın, *Starch: biosynthesis, granule structure and genetic modifications*, **Dumlupınar Üniv. Fen Bilim. Enst. Derg.**, 16:1 (2008) 1-12.
- [85] B.L. Ridley, M.A. O'Neill and D. Mohnen, *Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling*, **Phytochem.**, 57:6 (2001) 929-967.
- [86] Erlangung des Grades. "Influence of different capsule materials on the physiological properties of microencapsulated Lactobacillus acidophilus" PhD Thesis, Wilhelms-University Egypt, 2003.
- [87] D. Ogonczyk, M. Siek and P. Garstecki, *Microfluidic formulation of pectin microbeads for encapsulation and controlled release of nanoparticle*, **Biomicrofluidics**, 5:1 (2011) 5-12.
- [88] P.T. Olesen, L.H. Stahnke, *The influence of environmental parameters on the catabolism of branched-chain amino acid by Staphylococcus xylosus and Staphylococcus carnosus*, **Food Microbiol.**, 21:1 (2004) 43-50.
- [89] W. Zhang, S. Xiao, H. Samaraweera, E.J. Lee and D.U. Ahn, *Improving functional value of meat products*, **Meat Sci.**, 86:1 (2010) 15-31.

- [90] B. Senoz, N. Isıklı and N. Çoksoyler, *Biogenic amines in Turkish sausage (Sucuk)*, **Food Chem.Toxicol.**, 65:5 (2000) 764-767.
- [91] M.L. Latorre-Moratalla, T. Veciana-Nogués, S. Bover-Cid, M. Garriga, T. Aymerich, E. Zanardi, A. Ianieri, M.J. Fraquenza, L. Patarata, E.H. Drosinos, A. Lauková, R. Talon and M.C. Vidal-Carou, *Biogenic amines in traditional fermented sausage produced in selected European countries*, **Food Chem.**, 107:2 (2008) 912-921.
- [92] A. Onal, *A review: current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods*, **Food Chem.**, 103:4 (2007) 1475-1486.
- [93] S Bover-Cid, S. Schoppen, M. Izquierdo-Pulido and M.C. Vidal-Carou, *Reduction of biogenic amine formation using a negative amino acid-decarboxylase starter culture for fermentation of sausages*, **J.Food Prod.**, 63:1 (2000) 237-243.
- [94] G. Greif, M. Greifová and J. Karovičová, *Effects of NaCl concentration and initial pH value on biogenic amine formation dynamics by Enterobacter spp. Bacteria in model concentrations*, **J.Food Nutr.**, 45:1 (2006) 21-29.
- [95] O. Erkmen, *Basic Methods for the Microbiological Analysis of Foods*, University of Gaziantep Press, Gaziantep, 2000, pp 59-62.
- [96] L.D. Vuyst, G. Falony and F. Leroy, *Probiotics in fermented sausage*, **Meat Sci.**, 80:1 (2008) 75-80.
- [97] M.H. Silla Santos, *Biogenic amines: Their importance in foods*, **Int. J.Food Microbiol.**, 29:2 (1996) 213-223.
- [98] H. Çolak ve H. Aksu, *Gıdalarda biyojen aminlerin varlığı ve amin oluşumunu etkileyen faktörler*, **YYÜ. Vet. Fak. Derg.**, 13:1 (2002) 35-40.
- [99] S. Bover Cid, M. Izquierdo-Pulido and M.C. Vidal-Carou, *Changes in biogenic amine and polyamine contents in slightly fermented sausages manufactured with and without sugar*, **Meat Sci.**, 57:2 (2001) 215-221.
- [100] H. Genccelep, G. Kaban and M. Kaya, *Effects of starter cultures and nitrite levels on formation of biogenic amines in sucuk*, **Meat Sci.**, 77:3 (2007) 424-430.
- [101] T.Y. Sheu, R.T. Marshall and H. Heymann, *Improving survival of culture bacteria in frozen dessert by micro entrapment*, **J. Dairy Sci.**, 76:7 (1993) 1902-1907.
- [102] A.H. Khalil and S.H. Mansour, *Alginate encapsulated bifidobacteria survival in mayonnaise*, **J.Food Sci.**, 63:4 (1998) 702-706.
- [103] K. Sultana, G. Godward, N. Reynolds, R. Arumugaswamy, P. Peiris and K. Kailasapathy, *Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt*, **Int. J. Food Microbiol.**, 62:1 (2000) 47-55.
- [104] K. Adhikari, A. Mustapha, I.U. Grün and L. Fernando, *Viability of microencapsulated Bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage*, **J.Dairy Sci.**, 83:9 (2000) 1946-1951.
- [105] G.E. Gardiner, P. Bouchier, E. O'Sullivan, J. Kelly, J.K. Collins, G. Fitzgerald, R.P. Ross and C. Stanton, *A spray-dried culture for probiotic Cheddar cheese manufacture*, **Int. Dairy J.**, 12:9 (2002) 749-756.

- [106] A. Picot and C. Lacroix, *Encapsulation of bifidobacteria in whey protein- based microencapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt*, **Int.Dairy J.**, 14:6 (2004) 505-515.
- [107] P. Muthukumarasamy and R.A. Holley, *Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated Lactobacillus reuteri*, **Int. J. Food Microbiol.**, 111:2 (2006) 164-169.
- [108] K. Kailasapathy, *Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt*, **LWT- Food Sci.Technol.**, 39:10 (2006) 1221-1227.
- [109] P Muthukumarasamy and R.A. Holley, *Survival of Escherichia coli O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria*, **Food Microbiol.**, 24:1 (2007) 82-88.
- [110] B. Ozer, Y.S. Uzun and H.A. Kirmaci, *Effect of microencapsulation on viability of Lactobacillus acidophilus, LA-5, and Bifidobacterium bifidum BB-12 during Kasar cheese ripening*, **Int. J.Dairy Technol.**, 61:3 (2008) 237-244.
- [111] A. Homayouni, A. Azizi, M.R. Ehsani, M.S. Yarmand and S.H. Razavi, *Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream*, **Food Chem.**, 111:1 (2008) 50-55.
- [112] B. Ozer, H.A. Kirmaci, E. Senel, M. Atamer, A. Hayaloglu, *Improving the viability of Bifidobacterium bifidum BB-12 and Lactobacillus acidophilus LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation*, **Int. Dairy J.**, 19:1 (2009) 22-29
- [113] O. Sandoval-Castilla, C. Lobato-Calleros, H.S. García- Galindo, J. Alvarez-Ramirez and E.J. Vernon-Carter, *Textural properties of alginate-pectin beads and survivability of entrapped Lb. casei in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt*, **Food Res. Int.**, 43:1 (2010) 111-117.
- [114] M. Sidira, A. Karapetsas, A. Galanis, M. Kanellaki and Y. Kourkoutas, *Effective survival of immobilized Lactobacillus casei during ripening and heat treatment of probiotic dry-fermented sausage and investigation of the microbial dynamics*, **Meat Sci.** 96:2 (2014) 948-955.
- [115] A.B. Nongonierma, M. Abrlova and K.N. Kilcawley, *Encapsulation of a Lactic Acid Bacteria cell-free extract in liposomes and use in cheddar cheese ripening*, **Foods**, 2:1 (2013) 100-119.
- [116] K.M. Amine, C.P. Champagne, Y. Raymond, D. St-Gelais, M. Britten, P. Fustier, S. Salmieri and M. Lacroix, *Survival of microencapsulated Bifidobacterium longum in Cheddar cheese during production and storage*, **Food Cont.**, 37:1 (2014) 193-199.
- [117] M.C.E. Ribeiro, K.S. Chaves, C. Gebara, F.N.S. Infante, C.R.F. Grosso and M.L. Gigante, *Effect of microencapsulation of Lactobacillus acidophilus LA-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristic of stirred probiotic yoghurt*, **Food Res. Int.**, 66:1 (2014) 424-431.
- [118] A. Mortazavian, S.H. Razavi, M. R. Ehsani and S. Sohrabvandi, *Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms*, **Iran. J. Biotechnol.**, 5:1 (2007) 2-18.
- [119] V. Chandramouli, K. Kailasapathy, P. Peiris, and M. Jones, *An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect Lactobacillus spp. in simulated gastric conditions*, **J. Microbiol. Meth.**, 56:1 (2004) 27-35.

- [120] U. Dalmış and A. Soyer, *Effect of processing methods and starter culture (Staphylococcus xylosus and Pediococcus pentosaceus) on proteolytic changes in Turkish sausages (sucuk) during ripening and storage*, **Meat Sci.**, 80:2 (2008) 345-354.
- [121] G. Kaban and M. Kaya, *Effects of Lactobacillus plantarum and Staphylococcus xylosus on the quality characteristics of dry fermented sausage "sucuk"*, **J. Food Sci.**, 74:1 (2009) 58-63.
- [122] K. Ayhan, N. Kolsarici and G.A. Ozkan, *The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish soudjoucks*, **Meat Sci.**, 53:3 (1999) 183-188.
- [123] AOAC, 1990, Official Methods of Analysis. 15thed, AOAC, Arlington, USA
- [124] İsra Toptancı. *"Sucuğun renk ve tekstürüne farklı ısı işlem sıcaklıklarının etkisi"* Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2007.
- [125] J. Fernández-López, E. Ayas-Barberá, C. Navarro, E. Sendra and J.A. Pérez-Alvarez, *Physical, chemical, and sensory properties of bologna sausage made with ostrich meat*, **J. Food Sci.**, 68:4 (2003) 1511-1515.
- [126] Mutlu Çevik. *"Ticari starter kullanarak üretilen Tokat bez sucuğunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri"* Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Türkiye, 2012.
- [127] G. Kaban, *Volatile compounds of traditional Turkish dry fermented sausage (sucuk)*, **Int. J.Food Prop.**, 13:3 (2010) 525-534.
- [128] O. Erkmén and H. Bozkurt, *Quality characteristics of retailed sucuk (Turkish dry fermented sausage)*, **Food Technol. Biotechnol.**, 42:1 (2004) 63-69.
- [129] J. Wijk, T. Heunis, E. Harmzen, L.M.T. Dicks, J. Meuldijk, B. Klumperman, *Compartmentalization of bacteria in microcapsules*, **Chem. Comm.**, 50:5 (2014) 15427-15430.
- [130] M. Chávarri, I. Marañón, R. Ares, F.C. Ibáñez, F. Marzo and M.C. Villarán, *Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions*, **Int. Food Microbiol.**, 142:1 (2010) 185-189.
- [131] P. Allan-Wojtas, L.T. Hansen and A.T. Paulson, *Microstructural studies of probiotic bacteria- loaded alginate microcapsules using standard electron microscopy techniques and anhydrous fixation*, **LWT Food Sci. Technol.**, 41:6 (2008) 101-108.
- [132] T. Heidebach, P. Först and U. Kulozik, *Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells*, **J.Food Engin.**, 98:2 (2010) 309-316.
- [133] C. Simpliciano, L. Clark, B. Asi, N. Chu, M. Mercado, S. Diaz, M. Goedert, M. M. Miremedi, *Cross-Linked alginate film pore size determination using atomic force microscopy and validation using diffusivity determinations*, **JSEMAT.**, 3:1 (2013) 1-12.
- [134] Ömer Coşkun. *"Türk sucuğunda lipid oksidasyonuna ve serbest yağ asitleri oluşumuna ısı işlemin etkisi"* Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2002.
- [135] Muhammet Ali Çakır. *"Isıl işlem uygulamasının sucuğun uçucu bileşikleri ve diğer kalitatif özelliklerine etkisi"* Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Türkiye, 2010.
- [136] G. Kaban ve M. Kaya, (2010). *Farklı proses şartlarında olgunlaştırılan sucukların uçucu bileşikleri ve diğer kalitatif özellikleri*, Proje No: Tovag 107 O 769, TÜBİTAK, Erzurum.

- [137] S. Lu, H. Ji, Q. Wang, B. Li, K. Li, C. Xu and C. Jiang, *The effects of starter cultures and plant extracts on the biogenic amine accumulation in the traditional Chinese smoked horse meat sausage*, **Food Control**, 50:1 (2015) 869-875.
- [138] Y. Yıldırım, *Et ve et ürünlerinin su aktivitesi (a_w) değeri ve önemi*, **Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.**, 27:1 (1980) 3-4.
- [139] G. Tabanelli, C. Montanari, L. Grazia, R. Lanciotti and F. Gardini, *Effects of a_w at packing time and atmosphere composition on uçucu profile. biogenic amine content and microbiological feature of dry fermentes sausage*, **Meat Sci.**, 94:2 (2013) 177-186.
- [140] I.I. Arief, Z. Wulandari, E.L. Aditia and M. Biahagi, *Physicochemical and microbiological propertias of fermented lamb sausage using Probiotic Lactobacillus plantarum IIA-2C12.as a starter culture*, **Procedia Env. Sci.**, 20:1 (2014) 352-356.
- [141] Azize Atik. "Keçi etinin sucuk üretiminde değerlendirilmesi" Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Türkiye, 2013.
- [142] V.S. Eim, S. Simal, C. Rosselló and A. Femenia, *Effects of addition of carrot dietary fibre on the ripening process of a dry fermented sausage (sobrasada)*, **Meat Sci.**, 80:2 (2008) 173-182.
- [143] X.F. Hostipal, E. Hierro and M. Fernández, *Effect of reducing nitrate and nitrite added to dry fermented sausages on the survival of Salmonella typhimurium*, **Food Res. Int.**, 62:1 (2014) 410-415.
- [144] L. Zhao, Y. Jin, C. Ma, H. Song, H. Li, Z. Wang and S. Xiao, *Physico-chemical characteristic and free fatty acid composition of dry fermented mutton sausage as affected by the use of various combinations of starter culture*, **Meat Sci.**, 88:4 (2011) 761-766.
- [145] G. Tabanelli, F. Coloretto, C. Chiavari, L. Grazia. and R. Lanciotti, *Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions*, **Food Control**, 26:2 (2012) 416-426.
- [146] Ü. Ensoy, N. Polat, K. Tokatlı, H. Erinç, *Farklı Et:Yağ Oranları Kullanılarak Üretilen Tokat Bez Sucuğunun Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri*, **Gıda**, 52:2 (2011), 22-25.
- [147] Taner Köse. "Tokat ilinde üretilen bez sucukların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi" Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Türkiye, 2010.
- [148] Duygu Arıkan. "Isıl işlem sonrası starter kültür ilavesinin pastörize sucukların bazı kalite özellikleri ve raf ömrü üzerine etkisi" Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Türkiye, 2011.
- [149] M.E. Stiles, *Biopreservation by lactic acid bacteria*, **Antonie Van Leeuwenhoek.**, 70:2 (1996) 331-345.
- [150] I. Fanco, B. Prieto, J.M. Cruz, M. López and J. Carballo, *Study of the biochemical changes during the processing of Androlla. Spanish dry- cured pork sausage*, **Food Chem.**, 78:3 (2008) 339-345.
- [151] T. Komprda, J. Neznalová, S. Standara and S. Bover-Cid, *Effect of starter culture and storage temperature on the content of biogenic amines in dry fermented sausage polican*, **Meat Sci.**, 59:3 (2001) 267-276.

- [152] K. Tjener, L.H. Stahnke, L. Andersan and L. Martinussen, *Addition of a ketoglutarate enhances formation of volatiles by Staphylococcus carnosus during sausage fermentations*, **Meat Sci.**, 67:4 (2004) 711-719.
- [153] J.M. Lorenzo, M. Gómez and S. Fonseca, *Effect of commercial starter culture on physicochemical characteristics microbial counts and free fatty acid composition of dry-cured foal sausage*, **Food Control**, 46:1 (2014) 382-389.
- [154] A. Soyer, A.H. Ertaş and U. Uzumcuoglu, *Effect of processing conditions on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucuk)*, **Meat Sci.**, 69:1 (2005) 135-141.
- [155] I. Essid and M. Hassouna, *Effect of inoculation of selected Staphylococcus xylosus and Lactobacillus plantarum strains on biochemical and textural characteristic of a Tunisian dry fermented sausage*, **Food Control**, 32:2 (2013) 707-714.
- [156] H. Ercoskun, S. Tağı and A.H. Ertaş, *The effects of different fermentation intervals on the quality characteristic of heat treated and traditional sucuk*, **Meat Sci.**, 85:1 (2010) 174-181.
- [157] L. Aleson-Charbonell, J. Fernandez-López, J.A. Pérez –Alvarez and V. Kuri, *Functional and sensory effects of fibre-rich ingredients on breakfast fresh sausages manufacture*, **Food Sci. Technol. Int.**, 11:2 (2005) 89-97.
- [158] J. Fernandez-López, E. Sendra, E. Sayas-Barberá, C. Navarro and J.A. Pérez-Alvarez, *Physico-chemical and microbiological profiles of "salchichon" (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber*, **Meat Sci.**, 80:2 (2008) 410-417.
- [159] Y. Hu, W. Xia and C. Ge, *Characterization of fermented silver carp sausages inoculated with mixed starter culture*, **LWT, Food Sci. Technol.**, 41:4 (2008) 730-738.
- [160] R. Kara, L. Akkaya, V. Gök, Z. Gürler ve R. Müdüroğlu, *Farklı oranlarda manda eti kullanılarak üretilen sucukların olgunlaştırma ve depolama aşamalarındaki bazı özelliklerinin araştırılması*, **Kocatepe Üniv. Vet. Fak. Derg.**, 5:1 (2012) 13-19.
- [161] A. Soyer, *Effect of fat level and ripening temperature on biochemical and sensory characteristics of naturally fermented Turkish sausages (sucuk)*, **Eur. Food Res. Technol.**, 221:1 (2005) 412-415.
- [162] S. Karabacak and O. Erkmén, *Effects of Urtica dioica and Hibiscus sabdariffa on the quality and safety of sucuk (Turkish dry-fermented sausage)*, **Meat Sci.**, 78:3 (2008) 288-296.
- [163] G. Yıldız-Turp and M. Serdaroglu, *Effects of replacing beef fat with hazelnut oil on quality characteristics of sucuk –a Turkish fermented sausage*, **Meat Sci.**, 78:4 (2008) 447-454.
- [164] B. Rubio, B. Martínez, M.D. García-Cachán, J. Rovira and I. Jaime, *Effect of the packaging method and the storage time on lipid oxidation and colour stability on dry fermented sausage salchichon manufactured with raw material with a high level of mono and polyunsaturated fatty acids*, **Meat Sci.**, 80:4 (2008) 1182-1187.
- [165] D.S. Tsoukalas, E. Katsanidis, S. Marantidou and J.D. Bloukas, *Effect of freeze-dried leek powder (FDLP) and nitrite level on processing and quality characteristic of fermented sausages*, **Meat Sci.**, 87:2 (2011) 140-145.
- [166] J.L. Navarro, M.I. Nadal, P. Nieto and J. Flores, *Effect of nitrate and nitrite curing salts on the generation and oxidation of fatty acids in non-fermented sausage*, **Eur. Food Res. Technol.**, 212:1 (2001) 421-425.

- [167] S. Ahmad and P.K. Srivastava, *Quality and shelf life evaluation of fermented sausage of buffalo meat with different levels hearth and fat*, **Meat Sci.**, 75:4 (2007) 603-609.
- [168] E. Zanardi, S. Ghidini, A. Battaglia and R. Chizzolini, *Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausage depending on different processing conditions and different antioxidants*, **Meat Sci.**, 66:2 (2004) 415-423.
- [169] K. Candogan, *The effect of tomato paste on some quality characteristic of beef patties during refrigerated storage*, **Eur. Food Res. Technol.**, 215:4 (2002) 305-309.
- [170] A. Heras, A. Schoch, M. Gibis and A. Fischer, *Comparison of methods for determining malondialdehyde in dry sausage by HPLC and the classic TBA test*, **Eur. Food Res. Technol.**, 217:2 (2003) 180-187.
- [171] P.K. Rai, C. Zhang and K.W. Shui, *Effects of pure starter culture on physicochemical and sensory quality of dry fermented Chinese- style sausage*, **J. Food Sci. Technol.**, 47:2 (2010) 188- 194.
- [172] E.B. Bingöl, G. Ciftcioglu, F.Y. Eker, H. Yardibi, O. Yesil, G.M. Bayrakal and G. Demirel, *Effects of starter cultures combination on lipolytic activity and ripening of dry fermented sausages*, **Italian J. Anim. Sci.**, 13:4 (2014) 1-6.
- [173] A. Salgoda, M.C. García Fontán, I. Franco, M. López and J. Carbollo, *Biochemical changes during the ripening of Chorizo de cobolla a Spanish traditional sausage, effect of the system of manufacture (homemade and industrial)*, **Food Chem.**, 92:3 (2005) 413-424.
- [174] H. Bozkurt and O. Erkmén, *Effect of nitrate/nitrite on the quality of sausage (sucuk) during ripening and storage*, **J. Food Sci. Food and Agric.**, 84:3 (2004) 279-286.
- [175] J.M. Lorenzo and D. Franco, *Fat effect on physico- chemical. microbial and textural changes through the manufactured of dry -cured foal sausage, lipolysis, proteolysis and sensory properties*, **Meat Sci.**, 92:6 (2012) 704-714.
- [176] Y. Wang, F. Li, H. Zhuang, X. Chen, L. Li, W. Qiao and J. Zhang, *Effects of plant polyphenols and α -tocopherol lipid oxidation. residual nitrites, biogenic amines and N-nitrosamines formation during ripening and storage of dry-cured bacon*, **LWT-Food Sci. Technol.**, 60:1 (2015) 199-206.
- [177] Abdurrahman Uz. "Az yağlı sucuğun renk ve tekstürüne buğday kepeği ilavesinin etkisi" Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2008.
- [178] Z. Gonulalan, H. Yetim and A. Kose, *Quality characteristic of doner kebab made from sucuk dough which is dry fermented sausage*, **Meat Sci.**, 67:4 (2004) 669-674.
- [179] O. Coskuner, A.H. Ertas and A. Soyer, *The effects of processing method and storage time on constituents of Turkish sausage (sucuk)*, **J. Food Process. Pres.**, 34: (2008) 125-135.
- [180] W.P. Hammes, *Metabolism of nitrate in fermented meats: The characteristic feature of a specific group of fermented foods*, **Food Microbiol.**, 29:2 (2012) 151-156.
- [181] B. Sırıken, M. Ozdemir, H. Yavuz and S. Pamuk, *The microbiological quality and residual Nitrate/Nitrite levels in Turkish sausage (soudjouck) produced in Afyon province Turkey*, **Food Control**, 17:11 (2006) 923-928.
- [182] K.O. Honikel, *The use and control of nitrate and nitrite for the processing meat products*, **Meat Sci.**, 78:1 (2008) 68-76.

- [183] Hüseyin Gençcelep. "Sucuk üretiminde değişik starter kültürler ve farklı nitrit seviyelerinin biyogen amin oluşumu üzerine etkileri" Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Türkiye, 2006.
- [184] A. Öztan ve H.Vural, *Sosis üretiminde nitrosomyoglobin ve kalıntı nitrit miktarını etkileyen faktörler*, **Gıda**. 16:1 (1991) 117-121.
- [185] Ç. Sezer, M. Ögün ve A. Güven, *Salam ve sosislerin bazı kimyasal özelliklerinin incelenmesi*, **Kafkas Univ. Vet. Fak.Derg.**, 19:1 (2013) 69-72.
- [186] S.E. Hosseini, N. Hashemian, M.M. Akbar-Boujar and G. Asadi, *Effect of use of date processing by-product on some physico-chemical and sensory properties of sausage*, **Scientific Papers. Series D. Animal Science.**, 42:7 (2014) 237-240.
- [187] A.Uren and D. Babayigit, *Colour parameters of Turkish-type fermented sausage during fermentation and ripening period*, **Meat Sci.**, 45:4 (1997) 539-549.
- [188] M. Kargozari, S. Moini, A. Akhondzadeh Basti, Z. Emam-Djomeh, H. Gandomi, I. Revilla Martin, M. Ghasemlou and A.A. Carbonell- Barrachina, *Effects of autochthonous starter culture isolated from Siahmazgi cheese on physicochemical microbiological. and volatile compound profiles and sensorial attributes of sucuk. a Turkish dry- fermented sausage*, **Meat Sci.**, 97:1 (2014) 104-114.
- [189] Sevgül Denктаş. "Doğal antimikrobiyallerin ısıt işlem görmüş sucukların bazı kalite özellikleri üzerine etkisi" Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Türkiye, 2010.
- [190] Ahment Hamdi Ertaş (2006), *Isıt işlem uygulanarak üretilen sucukların bazı kalite özelliklerine üretim koşullarının etkisi*, Proje No: 2003-07-11-080, Ankara Üniversitesi, Bilimsel araştırma projeleri, Ankara.
- [191] Ceyhune Yürür. "Isıt işlem uygulanmış sucuklarda nitrit miktarının renk oluşumuna etkisi" Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2007.
- [192] Hacer Ekşi. "Sucuk Üretiminde kaşar peyniri kullanımı" Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Türkiye, 2006.
- [193] Naciye Polat. "Tokat bez sucuğunun geleneksel yöntem ve farklı et: yağ oranları kullanılarak üretilmesi" Yüksek Lisans Tezi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Türkiye, 2010.
- [194] S. Kayaardı and V. Gok, *Effects of replacing. beef fat with olive oil on quality characteristics of Turkish soudjuck (sucuk)*, **Meat Sci.**, 66:1 (2003) 249-257.
- [195] J.A. Pérez-Alvarez, M.E. Sayes- Barbarrá, J. Fernández-López and V. Aranda Catalá, *Physicochemical characteristic of Spanish-type dry-cured sausage*, **Food Res.Int.**, 32:9 (1999) 599-607.
- [196] M.C. Utrilla, A. García Ruiz and A. Soriano, *Effect of partial reduction of pork meat on the physicochemical and sensory quality. of dry ripened sausage: Development of a healthy venison salchichon*, **Meat Sci.**, 98:4 (2014) 785-791.
- [197] A. Olivares, J.L. Navarro, A. Salvador and M. Flores, *Sensory acceptability of slow fermented sausage based on fat content and ripening time*, **Meat Sci.**, 86:2 (2010) 251-257.
- [198] S. Turhan, H. Temiz ve N.Ş. Üstün, *Bez sucukların bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi*, The 1st international Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus Tekirdağ. pp.422-424s.

- [199] U. Cicek, N. Kolsarici and K. Candogan, *The sensory properties of fermented turkey sausage: effects of processing methodologies and starter culture*, **J. Food Process. Pres.**, 2014
- [200] A.M. Baka, E.J. Papavergoy, T. Pragalaki, J.G. Bloukas and P. Kotzekidou, Effects of selected autochthonous starter cultures on processing and quality characteristic of Greek fermented sausage, **LWT- Food Sci. Technol.**, 44:1 (2011) 54-61.
- [201] A. Wanangkran, D.C. Liu, A. Swetwathana and F.J.Tan, *An innovative method for the preparation of mum (Thai fermented sausage) with acceptable technological quality extend shelf life*, **Food Chem.**, 135:2 (2012) 515-521.
- [202] H. Hampikyan and M. Ugur, *The effect of nisin on L. monocytogenes in Turkish fermented sausage (sucuk)*, **Meat Sci.**, 76:2 (2007) 327-332.
- [203] H Bozkurt and O.Erkmen, *Effects of some commercial additives on the quality of sucuk (Turkish dry fermented sausage)*, **Food Chem.**, 101:4 (2007) 1465-1473.
- [204] R. Casquete, M.J. Benito, A.Martin, S. Ruiz –Moyano, E. Aranda and M.G. Córdoba, *Microbial quality of salchichon and chorizo, traditional Iberian dry-fermented sausage from two different industries, inoculated autochthonous starter cultures*, **Food Control**, 24:1 (2012) 191-198.
- [205] F.B. Wardlaw, G.C. Skelley, M.G. Johnjon and J.C. Acton, *Changes in meat components during fermentation heat processing and drying of summer sausage*, **J. Food Sci.**, 38:7 (1973) 1228-1231.
- [206] H.D. Paik and J.Y Lee, *Investigation of reduction and tolerance capability of lactic acid bacteria isolated from kimchi against nitrate and nitrite fermented sausage conditions*, **Meat Sci.**, 97:4 (2014) 609-614.
- [207] B. Nazlı, *Researches on the ripening of Turkish fermented sausage using a local starter culture combinations*, **J.Vet. Anim. Sci.**, 22:1 (1998) 393-397.
- [208] M.C. Montel, F. Mason and R. Talon, *Bacterial role in flavour development*, **Meat Sci.**, 49:1 (1998) 111-123.
- [209] A. Meynier, E. Novelli, R. Chizzolini, E. Zanardi and G. Gandemer, *Volatile compounds of commercial Milano Salami*, **Meat Sci.**, 51:2 (1999) 175-183.
- [210] H. Ercoşkun, *Fermente et ürünlerinin lezzet bileşenleri ve oluşumları*, **Gıda Müh. Derg.**, 4:3 (1999) 38-44.
- [211] B. Yalınkılıç, G. Kaban and M. Kaya, *The effects of different levels of orange fiber and fat on microbiological, physical, chemical and sensorial properties of sucuk*, **Food Microbiol.**, 29:2 (2012) 255-259.
- [212] M. Kargozari, S. Moini, A. Akhondzadeh-Basti, Z. Emam-Djomeh, M. Gandomi, I. Revilla Martin, H. Ghasemlou, A.A. Carbonell- Barrachina and A. Szumny, *Development of Turkish dry-fermented sausage (sucuk) reformulated with camel meat and hump fat and evaluation of physicochemical, textural, fatty acid and volatile compound profiles during ripening*, **Food Sci. Technol.**, 59:2 (2014) 849-858.
- [213] M.M. Aguirrezábal, J. Mateo, M.C. Domínguez and J.M. Zumalacárregui, *The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry fermented sausage*, **Meat Sci.**, 54:1 (2000) 77-81.
- [214] L.O. Sunesen, V. Dorigoni, E. Zanardi and L. Stahnke, *Volatile compounds during ripening in Italian dried sausage*, **Meat Sci.**, 58:1 (2001) 93-97.

- [215] A. Marco, J.L. Navarro and M.Flores, *Volatile compounds of dry fermented sausage as affected by solid-phase microextraction (SPME)*, **Food Chem.**, 84:4 (2004) 633-641.
- [216] M. Sidira, P. Kandyls, M. Kanellaki and Y. Kourkoutas, *Effect of immobilized Lactobacillus casei on the evolution of flavor compounds in probiotic dry-fermented sausages during ripening*, **Meat Sci.**, 100:1 (2015) 41-51.
- [217] A. Marco, J.L. Navarro and M. Flores, *The sensory quality of dry fermented sausage as affected by fermentation stage and curing agents*, **Eur. Food Res. Technol.**, 226:3 (2008) 449-458.
- [218] L. Ekici, I. Ozturk, S. Karaman, O. Caliskan, F. Tornuk, O. Sagdic and H.Yetim, *Effects of black carrot concentrate on some physicochemical, textural, bioactive, uçucu and sensory properties of sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage*, **Food Sci. Technol.**, 62:1 (2014) 1-9.
- [219] B.Yalinkılıç, G. Kaban, O. Ortekin and M. Kaya, *Determination of volatile compounds of sucuk with different orange fiber and fat levels*, **Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.**, 21:2 (2015) 233-239.
- [220] A. Adams, J.C.R. Demyttenaere and N. De Kimpe, *Biotransformation of R (+), S (-) Limonen to α -terpineol by Penicillium digitatum investigation of culture conditions*, **Food Chem.**, 80:4 (2003) 525-534.
- [221] D. Ansorena, O. Gimeno, I. Astiasarian and L. Bello, *Analysis of volatile compounds by GC-MS of a dry fermented sausage: Chorizo de pamplona*, **Food Res. Int.**, 34:1 (2001) 67-75.
- [222] S. Corral, A. Salvador and M. Flores, *Salt reduction in slow fermented sausage affects the generation of uçucu active compounds*, **Meat Sci.**, 93:3 (2013) 776-785.
- [223] K. Chaieb, H. Hajlaoui, T. Zımantar, A.B. Kahla-Nakbi, M. Rouabhia, K. Mahdouani and A. Bakhrouf, *The chemical composition and Biological activity of clove essential oil, Eugenia caryophyllata (Syzgium uçucuticum L. Myrtaceae): A short Review*, **Phytother. Res.**, 21:1 (2007) 501-506.
- [224] M Flores, M.A. Durá, A. Marco and F.Toldrá, *Effects of Debaryomyces spp on uçucu formation and sensory quality of dry fermented sausage*, **Meat Sci.**, 68:3 (2004) 439-446.
- [225] A Marco, J.L. Navarro and M. Flores, *The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage*, **Meat Sci.**, 73:4 (2006) 660-673.
- [226] H.Y. Gökalp, H. Ercoşkun ve A.H. Çon, *Fermente et ürünlerinde bazı biyokimyasal reaksiyonlar ve uçucu üzerine etkileri*, **Pamukkale Üniv. Müh. Bilim. Derg.**, 4:3 (1998) 805-811.
- [227] L.H. Stahnke, *Dried sausage fermented with Staphylococcus xylosus at different temperature and with different ingredients levels part- II volatile components*, **Meat Sci.**, 41:2 (1995) 193-203.
- [228] A. Olivares, J.L. Navarro and M. Flores, *Effect of fat content on uçucu generation during processing of dry fermented sausages*, **Meat Sci.**, 87:3 (2011) 264-273.
- [229] J.L. Berdague, P. Monteil, M.C. Montel and R.Talon, *Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausage*, **Meat Sci.**, 35:3 (1993) 275-287.

- [230] D. Ansorena, I. Astiasarian and J. Bello, *Changes in volatile compounds during ripening of chorizo de pamlona elaborated with Lactobacillus plantarum and Staphylococcus carnosus*, **Food Sci. Technol. Int.**, 6:1 (2000) 439-447.
- [231] M.J. Andrade, J.J. Córdoba, E.M. Casado, M.G. Córdoba and M. Rodrigues, *Effect of selected strains of Debaryomyces hansenii on the volatile compound production of dry fermented sausage "Salchichon"*, **Meat Sci.**, 85:2 (2010) 256-264.
- [232] W. Sun, Q. Zhao, H. Zhao, M. Zhao and B. Yang, *Volatile compounds of cantones sausage release at different stage of processing and storage*, **Food Chem.**, 121:2 (2010) 319-325.
- [233] H. Bozkurt and O. Erkmen, *Effects of temperature, humidity and additives on the formation of biogenic amines in sucuk during ripening and storage periods*, **Food Sci. Technol. Int.**, 10:1 (2004) 21-28.
- [234] H. Gençcelep, G. Kaban, M.I. Aksu, F. Oz and M. Kaya, *Determination of biogenic amines in sucuk*, **Food Control**, 19:9 (2008) 868-872.
- [235] Food and Drug Administration 1990. Decomposition of histamine; raw frozen tuna and malú, canned tuna and related species. Revised compliance policy guide, Federal Register 60, 39574-39756.
- [236] European Food Safety Authority & Panel on Biological Hazard (BIOHAZ) 2011. Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods EFSA Journal, 9.2393-2486.
- [237] S. Kurt ve O. Zorba, *Et ve Fermente et ürünlerinde biyojen aminler*, Türkiye 10.Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, 2008, Erzurum, 253-246.
- [238] B. Straub, M. Schollenberger, M. Kicherer, B. Luckas and W.P. Hammes, *Extraction and determination of biogenic amines in fermented sausage and other meat product using reversed phase HPLC*, **Z. Lebensm. Unters. Forsch.**, 197:3 (1991) 230-232.
- [239] J.M. Lorenzo, S. Martínez, I. Franco and J. Carballo, *Biogenic amine content during the manufacture of dry-cured lacon. a Spanish traditional meat product: Effect of some additives*, **Meat Sci.**, 77:2 (2007) 287-293.
- [240] S. Kurt and O. Zorba, *The effects of ripening period, nitrite level and heat treatment on biogenic amine formation of "sucuk" -a Turkish dry fermented sausage*, **Meat Sci.**, 82:2 (2009) 179-184.
- [241] A. Halász, A. Baráth, L.Simon- Sarkadi and W.Holzappel, *Biogenic amines and their production by microorganisms in food*, **Trends Food Sci. Technol.**, 5:2 (1994) 42-49.
- [242] C. Ruiz –Capillas, F.J. Colmenero, A.V. Carrascosa and R. Muñoz, *Biogenic amine production in Spanish dry cured "chorizo" sausage treated with high-pressure and kept in chilled storage*, **Meat Sci.**, 77:3 (2007) 365-371.
- [243] B. Martín, M. Garriga, M. Hugas, S. Bover-Cid, M.T. Veciana-Nogués and T. Aymerich, *Molecular technological and safety characterization of Gram-positive catalase positive cocci from slightly fermented sausage*, **Int. J. Food Microbiol.**, 107:2 (2006) 148-158.
- [244] T. Hernandez-Jover, M. Izquierdo Pulido, M.T. Veciana-Nagues, A. Marine-Font and M.C. Vidal-Carou, *Effects of starter culture on biogenic amines formation during fermented sausage production*, **J. Food Produc.**, 60:7 (1997) 825-830.

- [245] D. Ansorena, M.C. Montel, M. Rokka, R. Talon, S. Eerola, A. Rizzo, M. Raemaekers. and D. Demeyer, *Analysis of biogenic amines in northern and southern European sausage and role of flora in amine production*, **Meat Sci.**, 61:2 (2002) 141-147.
- [246] S. Bardócz, *Polyamines in food and their consequences for food quality and human health*, **Trends Food Sci.Technol.**, 6:10 (1995) 341-346.
- [247] M.A. Rabie, C. Peres and F.X. Malcata, *Evolution of amino acid and biogenic amines throughout storage in sausage made of horse. beef and turkey meats*, **Meat Sci.**, 96:1 (2014) 82-87.
- [248] T. Tasić, P. Ikonić, A. Mandić, M. Jakanović, V. Tomović, S. Svatić and L. Petrović, *Biogenic amines content in traditional dry fermented sausage Petrovska klobasa as possible indicator of good manufacturing practice*, **Food Control**, 23:1 (2012) 107-112.
- [249] M. Saaïd, B. Saad, N.H. Hashim, A.S. Mohamed Ali and M.I. Saleh, *Determination of Biogenic amines in selected Malaysian food*, **Food Chem.**, 113:4 (2009) 1356-1362.
- [250] R. Tschabrun, K. Sick, F. Bauer and P. Kranner, *Histamine production in firm dry sausage*, **Fleischwirtschaft.**, 70:4 (1990) 448-552.
- [251] A.S. Szczesniak, *Texture is a sensory property*, **Food Qual. Prefer.**, 13:4 (2002) 215-225.
- [252] O. Gimeno, D. Ansorena, I. Astiasarán and J. Bello, *Characterization of chorizo de Pamplona Instrumental measurements of colour and texture*, **Food Chem.**, 69:2 (2000) 195-200.
- [253] W. Visessaguan, S. Benjakul, S. Riebroby and P. Thepkasikul, *Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nham characteristic*, **Meat Sci.**, 66:3 (2004) 579-588.
- [254] Y. Xu, W. Xia, F. Yang, J.M. Kim and X. Nie, *Effects of fermentation temperature on microbial and physicochemical properties of silver carp sausage inoculated with *Pediococcus pentosaceus**, **Food Chem.**, 118:3 (2010) 512-518.
- [255] N.G. Liaros, E. Katsanidis and J.G. Bloukas, *Effect of the ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristic of low fat fermented sausage*, **Meat Sci.**, 83:4 (2009) 589-598.
- [256] C.M. Crehan, E. Hughes, D.C. Troy and D.J. Buckley, *Effects of fat level and maltodextrin on the functional properties of frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat*, **Meat Sci.**, 55:4 (2000) 463-469.
- [257] H.S. Gujran, A. Kaur, N. Singh and N.S. Sodhi, *Effects of liquid whole egg fat and textured soy protein on the textural and cooking properties of raw and baked patties from goat meat*, **J. Food Eng.**, 53:4 (2002) 377-385.
- [258] K.H. Roa, R.R.B. Singh, S.R. Anjaneyulu, K.V.S. Roa and P.L. Yadav, *Effects of caseinates and refined wheat flour on the quality of chicken nuggets from spent hens*, **Indian J. Animal Sci.**, 67:11 (1997) 104-106.
- [259] C. González-Fernández, E.M. Santos, J. Rovir and I. Jaime, *The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-spanish dry-cured sausage*, **Meat Sci.**, 74:3 (2006) 467-475.

[260] S. Stajić, D. Zivković, V. Tomović, V. Nedević, M. Perunović, N. Kovjanić, S. Lević and N. Stanisić, *The utilisation of grapeseed oil in improving the quality of dry fermented sausage*, **Int. J.Food Sci. Technol.**, 49:11 (2014) 2356-2363.



EKLER

EK 1. Çiğ Sucuk Duyusal Değerlendirme Formu

Panelistin Adı-Soyadı:

Tarih:

Bu panelde 6 adet örnek duyusal değerlendirmeye alınacaktır. Duyusal değerlendirme paneline başlamadan önce "Notlar" kısmını okuyunuz.

Sucuk Türü Örnek			Özellik		Değerlendirme									
ÇİĞ SUCUK	136	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Kesit Yüzey Görünümü	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Genel Kabuledilebilirlik	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
	176	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Kesit Yüzey Görünümü	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Genel Kabuledilebilirlik	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
	119	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Kesit Yüzey Görünümü	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Genel Kabuledilebilirlik	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
	108	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Kesit Yüzey Görünümü	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Genel Kabuledilebilirlik	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
	192	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Kesit Yüzey Görünümü	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Genel Kabuledilebilirlik	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
	145	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Kesit Yüzey Görünümü	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	
		Genel Kabuledilebilirlik	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	

(136:A1, 176:B1, 119:C1, 108:A2, 192:B2, 145:C2 örneğini temsil temektir)

Düşünceler:

Notlar:

1. Dilimler halinde kapaklı kaplarda bulunan sucuklar, panelistler tarafından kapların kapakları açılır açılmaz koklanarak fermente ve asidik koku yönünden değerlendirilecektir. Panelistler bir örneği kokladıktan sonra, su koklayarak koku hissinin etkisini azaltabilirler.

2. Örneklerin kesit yüzey renkleri bir arada değerlendirilir.

3. Puanlandırma aralığı 10-1 arasında yapılacaktır. Değerlendirme aralığı ve kriterleri aşağıda verilmiştir. Değerlendirme puanınızı ilgili özelliğin bulunduğu kutucuğa belirtiniz.

10-9: Mükemmel, 8:Çok İyi, 7:İyi, 6:Ortalama Üstü, 5: Orta, 4:Ortalama altı, 3:Kötü, 2-1:Çok kötü

4. Renk için değerlendirme ölçütleri:

10-9: parlak, koyu kırmızı tipik sucuk rengi (çevre koyu kırmızı, iç daha açık kırmızı)

2-1: koyu kahverengi veya çevre açık kırmızı, iç beyazımtırak.

5. Kesit yüzey Görüntüsü için değerlendirme ölçütleri:

10-9: mozaik görüntü belirgin

2-1 Mozaikleşme yok, et ve yağ karışık

EK 2. Pişmiş Sucuk Duyusal Değerlendirme Formu

Panelistin Adı-Soyadı:

Tarih:

Bu panelde 6 adet örnek duyusal değerlendirmeye alınacaktır. Duyusal değerlendirme paneline başlamadan önce "Notlar" kısmını okuyunuz.

Sucuk Türü	Örnek	Özellik	Değerlendirme											
Pişmiş Sucuk	136	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Tat-Aroma	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Tekstür	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
	176	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Tat-Aroma	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Tekstür	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
	119	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Tat-Aroma	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Tekstür	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
	108	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Tat-Aroma	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
		Tekstür	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1
192	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1	
	Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1	
	Tat-Aroma	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1	
	Tekstür	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1	
145	Renk	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1	
	Koku	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1	
	Tat-Aroma	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1	
	Tekstür	Çok İyi	10	9	8	7	6	5	4	3	2	Çok Kötü	1	

(136:A1, 176:B1, 119:C1, 108:A2, 192:B2, 145:C2 örneğini temsil temektir)

Düşünceler:

Notlar:

1. Dilimler halinde tabakta sunulan pişmiş sucuklar koklanarak fermente veya asidik koku yönünden değerlendirilecektir. Panelistler bir örneği kokladıktan sonra, suyu koklayarak bir önceki koku hissinin etkisini azaltabilirler.

2. Örneklerin kesit yüzey renkleri bir arada değerlendirilir.

3. Arka dişler ile iyice çiğnenen küçük bir parça sucuk dilimi yutulduktan sonra algılanan asidik ve baharatsız tatlar yönlerinden değerlendirilir. Örnekler arasında, bir önceki tadın etkisini gidermek amacı ile bir parça eklemek ve sudan yararlanınız.

4. Arka dişler ile iyice çiğnenen sucuk dilimi, çiğnemeye karşı gösterdiği direnç yönünden değerlendirilir.

5. Puanlandırma aralığı 10-1 arasında yapılacaktır. Değerlendirme skalası ve kriterleri aşağıda verilmiştir. Değerlendirme puanınızı ilgili özelliğin bulunduğu kutucuğa belirtiniz.

10-9: Mükemmel, 8:Çok İyi, 7:İyi, 6:Ortalama Üstü, 5: Orta, 4:Ortalama altı, 3:Kötü, 2-1:Çok kötü

6. Tat ve uçucu değerlendirme puan kriteri:

10-9: Tipik sucuk tat ve uçucusu, yabancı tat ve ransidite olmamalıdır.

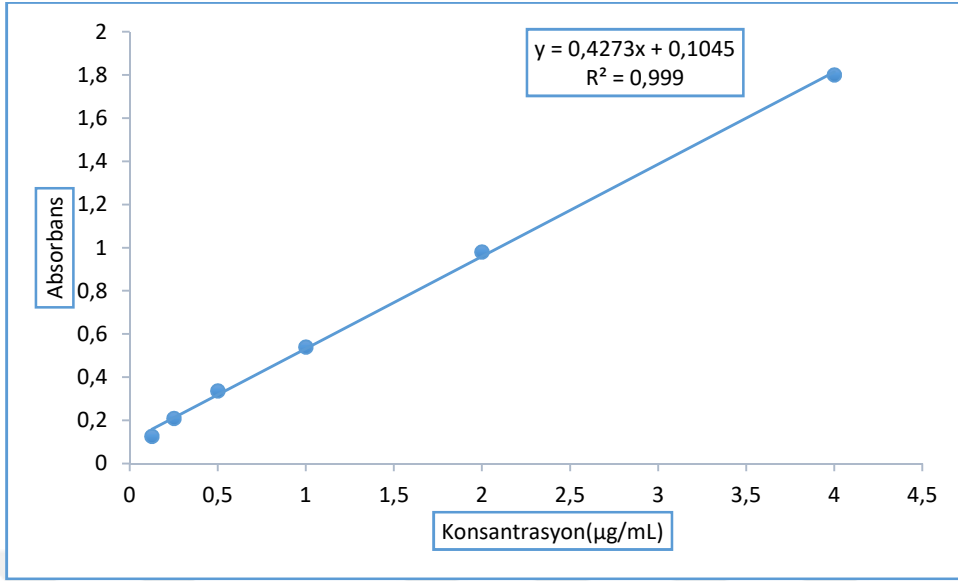
2-1: Tipik sucuk tat ve uçucusu yok, acılaşma var.

7. Tekstür değerlendirme puan kriterleri:

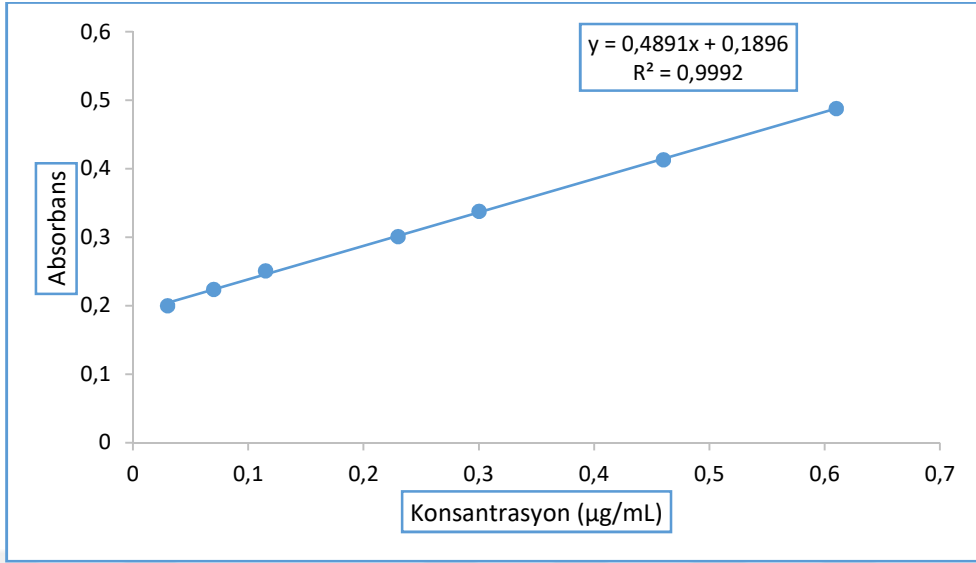
10-9: Kolay çiğnenebilir, kolay koparılabilir.

2-1: Çok sert.

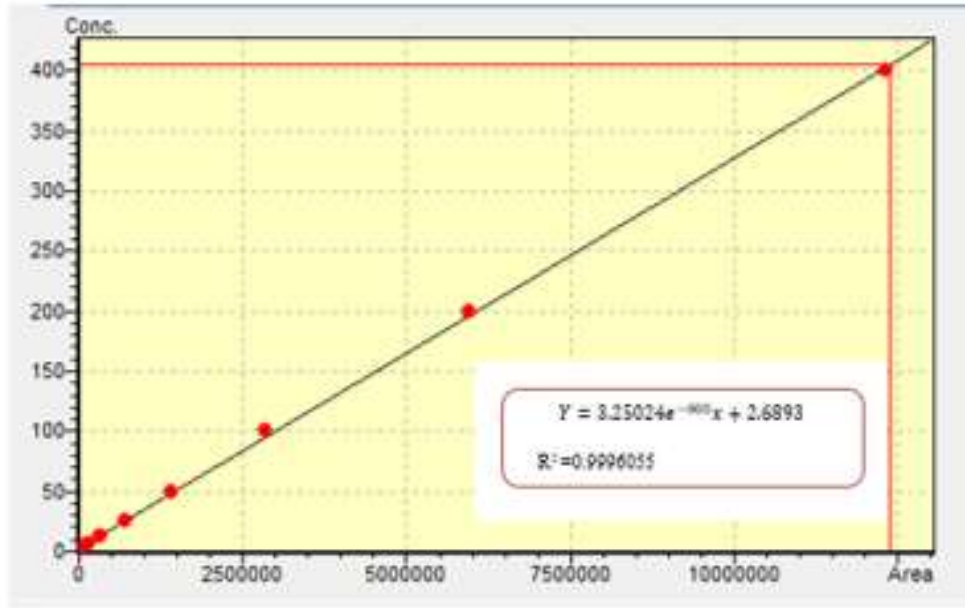
EK 3. Kalıntı nitrit miktarına ait kalibrasyon grafiği



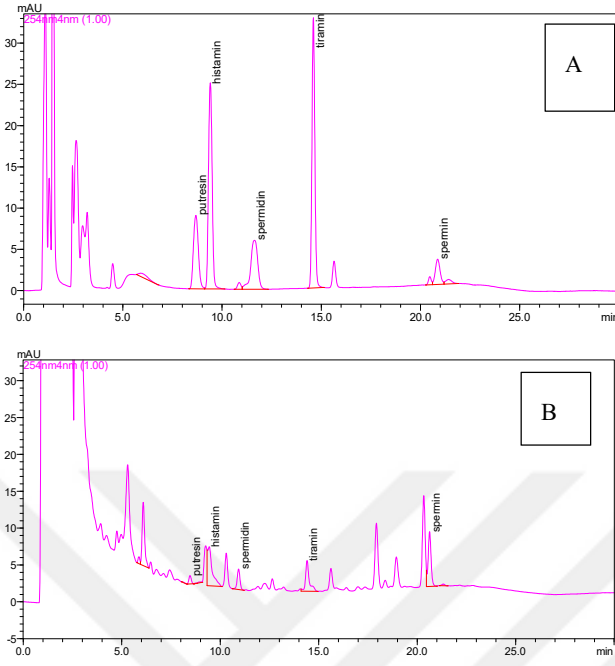
EK 4. TBA değeriine ait kalibrasyon grafiği



EK 5 Biyojen amin standart karışımına ait kalibrasyon grafiği



EK 6. Biyojen amin standart karışımına (A) ve sucuk örneğine (B) ait kromatogramlar



ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Tuğça BİLENLER

Doğum Yeri ve Tarihi: Malatya, 25.07.1983

E-Posta: tugca.bilenler@inonu.edu.tr

Lisans: Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fak. Gıda Müh.Bölümü 2002-2006

Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı 2007-2010

Mesleki Deneyim ve Ödüller:

İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Araştırma Görevlisi 2007-

Yayın Listesi:

Makaleler (SCI)

- 1) Kucukbay F.Z., Kuyumcu E., **Bilenler T.**, Yıldız B., 2012, Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential oil *Achillea cretica* (L.) Asteraceae from Turkey, Natural Product Research, 1668-1675.
- 2) Gokbulut I., **Bilenler T.**, Karabulut I., 2013, Determination of Chemical Composition, Total Phenolic, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Echinophora Tenuifolia Essential Oil, International Journal of Food Properties, 1442-1451.
- 3) Dagdelen S., **Bilenler T.**, Durmaz G., Gokbulut I., Hayaloglu A.A., Karabulut I., 2014, Volatile Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Herbal Plants Used in the Manufacture of Van Herby (Otlı) Cheese, Journal of Food Processing and Preservation, 1716-1725.
- 4) Hatunoglu E., Oztürk F., **Bilenler T.**, Aksakallı S. and Simşek N., 2014, Antibacterial and mechanical properties of propolis added to glass ionomer cement. The Angle Orthodontist, 368-373.
- 5) **Bilenler T.**, Gokbulut I., Sislioglu K., Karabulut I., 2015, Antioxidant and antimicrobial properties of thyme essential oil encapsulated in zein particles, Flavour and Fragrance Journal, 392-398.
- 6) **Bilenler T.**, Karabulut I., Candogan K., 2017, Effects of encapsulated starter cultures on microbial and physicochemical properties of traditionally produced and heat treated sausages (sucuks) LWT - Food Science and Technology, 425-433.

Bildiriler (Ulusal)

- 1) **Bilenler T.**, Gokbulut I., Guler F., Geleneksel Tıpta Yaygın Kullanılan Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Kapasitelerinin Belirlenmesi, 7. Gıda Mühendisliği Kongresi, 24-26 Kasım 2011-Ankara/ Türkiye.
- 2) **Bilenler T.**, Karabulut I., Gokbulut I., Yağ Yapılandırma Kullanılabilir Yeni Teknoloji: Organojelasyon, YABİTED I. Bitkisel Yağ Kongresi, 12-14 Nisan 2012, Adana/ Türkiye.
- 3) Gokbulut I., **Bilenler T.**, Karabulut I., Uçucu Yağların Mikroenkapsülasyonu. YABİTED I. Bitkisel Yağ Kongresi, 12-14 Nisan 2012, Adana/ Türkiye.
- 4) **Bilenler T.**, Şişlioğlu K., Levent O., Esansiyel Yağ ve Standart Antimikrobiyalin Etkileşim Şeklinin Belirlenmesi, 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 Nisan 2014, Adana/Türkiye.

- 5) Brahima S., Boztepe C., **Bilenler T.**, Şişlioğlu K., Tosun E., Hidrojel-Gümüş Kompozit Sistemlerin Hazırlanması ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi, 11. Kimya Mühendisliği Kongresi, 2-5 Eylül 2014, Eskişehir/Türkiye.
- 6) **Bilenler T.**, Karabulut İ., Staphylococcus xylosus ve Lactobacillus plantarum' un Kapsülasyonu ve Karakterizasyonu, 9. Gıda Mühendisliği Kongresi, 12-14 2015Kasım İzmir/Türkiye.

Bildiriler (Uluslar arası)

- 1) **Bilenler T.**, Cetin M.S., Determination of Antimicrobial activity and Isolaation of active compound of *Morus Nigra*, 1st international congress on Food Technology, 03-06 November 2010, Antalya, TURKEY
- 2) Hatunoglu E., Ozturk F., **Bilenler T.**, Aksakallı S., Simsek N., Antibacterial and Mechanical Properties of Propolis Added Glass Ionomer Cement, 113th AAO Annual Sesion, 2-7 May, 2013 Philadelphia, PA, USA.
- 3) Sislioglu K., **Bilenler T.**, Levent O., Determination of Antimicrobial Activity of Viburnum Opulus (Gilaburu) Fruit Juice Compararing with Fermented and Pasteurized Product, the 2nd International Symosium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 24-26 October 2013, Ohrid, Macedonia.
- 4) Hatunoğlu E., Öztürk F., **Bilenler T.**, Aksakallı S., Propolis Eklenmiş Cam İonomer Simanların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi, 13. Uluslar arası Turk Ortadonti Derneği Kongresi, 30.09.2012- 04.10.2012 Antalya, Türkiye.
- 5) **Bilenler T.**, Gokbulut I., Sislioglu K., Karabulut I., Antioxidant Actions of Thyme Essential Oil Encapsulated in Zein, 14-17 September 2014, Montpellier/Fransa.
- 6) Altuntaş B., **Bilenler T.**, Toy E., D-Carvone Eklenmiş Geleneksel Cam İyonmer Simanın Antibakteriyel Etkisinin Araştırılması, XIV. Uluslar arası Türk Ortadonti Kongresi, 25-29 Ekim 2014, Ankara /Türkiye.