

# TÜRK FERMENTE SUCUĞUNA ÖZGÜ STARTER KÜLTÜR BAKTERİLERİNİN İZOLASYON, İDENTİFİKASYON VE ÜRETİMLERİ<sup>1</sup>

Burhan DİNÇER<sup>2</sup>  
Haydar ÖZDEMİR<sup>5</sup>

Bülent MUTLUER<sup>3</sup>  
Önder YAĞLI<sup>6</sup>

İrfan EROL<sup>4</sup>  
Sadi AKGÜN<sup>2</sup>

Isolation, identification and producing of bacteria having starter cultures  
properties from Turkish fermented sausages

**Summary:** *This study was undertaken to isolate and identify lactobacilli, micrococcistaphylococci having starter culture properties from the microflora of Turkish fermented sausages (sucuk); to determine the effect of these isolated bacteria on the organoleptic attributes and ripening period of the sucuk samples and to ascertain the effect of vacuum packaging on the survival of lactobacilli during the storage period of the sucuk.*

*For these purposes, two types of sucuk, naturally fermented sucuk and model sucuk which was manufactured by the bacteria isolates from naturally fermented sucuk were prepared experimentally. Both of them were fermented and dried under the same conditions (fermented at 20±2°C, 75-95 % moisture, 0.4-0.8 m/sc air circulation; dried at 16±2°C, 70% moisture and 0.4-0.8 m/sc air circulation).*

*Isolated lactobacilli from the naturally fermented sucuk were *L. sake* and *L. curvatus* ranging from 91 to 100 % and 3 to 9% respectively. In these sucuk samples *M. varians* and *S. xylosum* were isolated ranging from 12.5 to 15.4% and 7.7 to 37.5 % respectively.*

**L. sake* (10<sup>7</sup> cfu/g), *M. varians* (10<sup>6</sup> cfu/g), and *S. xylosum* (10<sup>6</sup> cfu/g) isolated as dominant from fermented sucuk were used in the ratio 2:1:1 as starter preparation for the model sucuk samples. This starter culture preparation reduced fermentation time and increased the organoleptic properties significantly.*

*Vacuum packaging didn't affect the survival of lactobacilli in the naturally fermented sucuk during the 30 days of storage period. During this time *L. sake* was found dominant in these sucuk samples.*

*As a result, *L. sake*, *M. varians* and *S. xylosum* were found as dominant bacteria in the microflora of sucuk samples. Using these bacteria mixtures as a starter culture preparation reduced the ripening period and increased the organoleptic quality attributes of sucuk samples.*

**Özet:** *Bu çalışma; Türk fermente sucuğu florasında bulunan starter kültür niteliğindeki laktobasil, mikrokok/stafilokok türlerini izole ve tanımlamaya; bu bakteri izolatlarının sucukların olgunlaşma süresi ve organoleptik kalite niteliklerine etkilerini belirlemek ve vakumla paketlemenin depolama süresince sucuklardaki laktobasillerin seyrine etkilerini saptamak amacıyla yapıldı*

1 Bu çalışma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 92-10-00-03 nolu proje ile desteklenmiştir.

2 Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 06110-Ankara.

3 Prof. Dr., Aytaç A.Ş. Çerkeş/Çankırı.

4 Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 06110-Ankara.

5 Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 06110-Ankara.

6 Dr., Aytaç A.Ş. Çerkeş/Çankırı.

*Bu amaçla, doğal fermente sucuk ve model sucuk (doğal fermente sucuk numunelerinden izole edilen bakterilerle fermente edilen) olmak üzere iki farklı sucuk yapıldı. Sucuk numuneleri 20±2°C de, %95-75 nisbi rutubette ve 0.4-0.8 m/sn hava akımında fermente edildikten sonra 16±2°C de ve %70 nisbi rutubette ve aynı hava akımında 21. güne kadar kurutulmuş olgunlaştırıldı. Sucuk numuneleri olgunlaşmanın belirli günlerinde laktobasil, mikrokok/stafilokok, pH ve organoleptik nitelikler yönünden analiz edildi.*

*Doğal fermente sucuk numunelerinin florasında, starter kültür niteliğinde; laktobasillerden L. sake %91--100 ve L. curvatus %3-9; mikrokok ve stafilokoklardan M. varians % 12.5-15.4 ve S. xylosus %7.7-37.5 düzeyinde saptandı.*

*Sucuk numunelerinden, dominant olarak bulunan L. sake, M. varians ve S. xylosus'un sırasıyla 10<sup>7</sup> kob/g, 10<sup>6</sup> kob/g ve 10<sup>6</sup> kob/g düzeyinde 2:1:1 oranındaki karışımları ile yapılan model sucuklarda, fermentasyon süresinin kısaltıldığı ve organoleptik kalite niteliklerinin önemli derecede arttığı saptandı.*

*Doğal olarak fermente edilen sucuklarda, vakumla paketlemenin bir aylık depolama süresince laktobasillerin seyrini önemli derecede etkilemediği ve bu süre içerisinde L. sake'nin dominant olduğu saptandı.*

*Sonuç olarak, Türk fermente sucuğunun florasında starter kültür niteliğindeki bakterilerin L. sake, M. varians ve S. xylosus olduğu saptandı. Bu bakteri karışımları ile üretilen sucuklarda, fermentasyon ve kuruma süresinin önemli derecede kısaltıldığı ve sucuğun kalite niteliklerinin arttığı belirlendi.*

## Giriş

Günümüzde Türkiye dahil, birçok ülkede et sanayii'nin en önemli uğraş alanını fermente sucuk üretimi oluşturmaktadır. Çünkü fermentasyon, sucuklarda muhafaza süresini uzatmanın yanı sıra tüketici tarafından çok beğenilen renk, lezzet, aroma ve tekstür gibi özgün niteliklerin oluşmasını da sağlamaktadır (22, 29, 30, 37).

Fermente sucuklarda kalite niteliklerinin geliştirilip artırılmasında bazı mikroorganizmaların enzimatik ve teknolojik etkileri büyük önem taşır. Bu mikroorganizmaların başlıcaları laktobasil, mikrokok ve stafilokok grubunda yer alan bakterilerdir. Bunlardan laktobasiller doğrudan oluşturdukları laktik asit ile fermente sucuklarda pH'nın düşmesi, aroma oluşumu ve dolaylı olarak renk oluşumunda; mikrokok/stafilokoklar ise nitratı indirgeyerek renk ve aroma oluşumunda rol oynarlar. Bu nedenle Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'nın çoğu ülkesinde bu mikroorganizmalar starter kültür olarak, sucuklarda fermentasyonu kontrol etmek; olgunlaşma süresini kısaltmak; standart tip ve istenilen düzeyde kalite niteliklerine sahip sucuk üretmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (6, 19, 22, 30, 35, 45, 47).

Günümüzde fermente sucuk üretiminde kullanılan starter kültürler genelde laktik asit bakterilerinden; homofermentatif L. plantarum, L. sake, L. curvatus ile P. cerevisiae (P. acidilactici) ve P. pentosaceus; Micrococcaceae fa-

milyasından; S. carnosus, S. xylosus ve M. varians'dır. Bunların yanı sıra D. hansenii ve P. nalgiovense gibi maya ve küf kültürleri de kullanılmaktadır (19, 30).

Türkiye'de de starter kültür ilave edilerek üretilen sucuklar üzerinde bazı araştırmalar (14, 46, 49) yapılmış ve bunlardan kaliteyi artırma yönünde bazı olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Fakat bu araştırmalarda daha çok yurt dışından getirilen starter kültürler kullanıldığı için Türk fermente sucuğuna özgü damak lezzeti ve aroması tam olarak oluşturulamamış ve bu nedenle de starter kültür kullanımı ülkemizde yaygınlaşmamıştır. Bu bakımdan, Türkiye'de sucuk üretiminde hijyenik koşulların henüz yeterli olmamasına bağlı olarak, sucukların patojenler de dahil yüksek düzeyde mikroorganizma içerdiği ve bu nedenle zaman zaman halk sağlığı sorunları ile ekonomik yönden büyük kayıpları meydana geldiği bildirilmektedir (9, 15, 46).

Bu çalışma, yukarıda belirtilen bilimsel gerçekler göz önüne alınarak, öncelikle uygun koşullarda doğal fermentasyonla üretilen Türk fermente sucuğunun mikroflorasında bulunan starter kültür niteliğindeki bakterileri izole ve tanımlamak; bu bakterilerin sucuklarda olgunlaşma süresi ve organoleptik niteliklere olan etkilerini saptamak ve doğal olarak fermente edilen sucuklarda, vakumla paketlemenin depolama süresince laktobasillerin seyri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla planlanıp yürütüldü.

## Materyal ve Metot

Bu çalışmada, sucuk yapımı için gereksinilen ham materyal (et, sığır böbrek yağı, baharat, katkı maddeleri, bağırsak), Ankara piyasasından temin edildi. Bunlardan A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Et Ünitesinde sırasıyla; 1) doğal fermente sucuk numuneleri, 2) model sucuk numuneleri, bunlar doğal fermente sucuklardan izole edilen starter kültür niteliğindeki *L. sake* ( $10^7$  kob/g), *M. varians* ve *S. xylosus*'un ( $10^6$  kob/g) sırasıyla 2:1:1 oranlarındaki karışımlarının ilavesiyle üretildi; 3) vakum paketlenmiş sucuk numuneleri, bu numuneler doğal fermente sucukların fermentasyonunu takiben vakumla paketlenmeleri ile hazırlandı.

Sucuk numunelerinin hazırlanmasında Türk fermente sucuğu yapım tekniği kullanıldı (1, 11). Bu tekniğe göre 7 kg sığır eti ve 2 kg sığır böbrek yağı karışımına; 55 g kırmızı biber, 85 g kimyon, 50 g karabiber, 120 g sarımsak, 45 g glikoz-sakkaroz (1:1) ve 225 g nitrit içeren tuz (%0.5) ilave edilerek sucuk hamuru hazırlanıp kılıflara dolduruldu. Sucuk numuneleri  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  de, %95-75 nisbi rutubette ve 0.4-0.8 m/sn hava akımında 7 gün fermente edildikten sonra,  $16 \pm 2^\circ\text{C}$  de, %70 nisbi rutubette 21. güne kadar kurutularak olgunlaştırıldı. Doğal fermente ve model sucukların yapımı 5'er kez tekrarlandı ve her tekrar parti olarak adlandırıldı.

**Sucuk Numunelerinin Bakteriolojik Muayenesi:** Bu amaçla aseptik koşullarda laboratuvara getirilen sucuk numunelerinden, 10'ar gram steril plastik torbalara alınarak üzerine 90'ar ml steril peptonlu su (%0.1) konuldu ve stomacherde yaklaşık 3 dakika süreyle homojenize edildi (3, 50). Ön denemelerin ışığında; doğal fermente sucuk numunelerinde laktobasiller 0., 2., 5., 7., 14. ve 21. günlerde; mikrokok ve stafilokoklar metabolik aktiviteleri nedeniyle 0., 1., 4. ve 7. günlerde analiz edildi. Model sucuk numunelerinde ise hem laktobasiller hem de mikrokok ve stafilokoklar 0., 1., 2., 4. ve 7. günlerde; vakumla paketlenen sucuk numunelerinde laktobasiller bir haftalık olgunlaşma süresini takiben depolanmanın 7., 15., 21. ve 30. günlerinde analiz edildi.

**Laktobasil, Mikrokok ve Stafilokokların İzolasyon ve İdentifikasyonu:** Sucuk numunelerinin hazırlanan uygun dilüsyonları; laktobasillerin izolasyonu için MRS (Merck-Art. No. 10661) agara ekildi ve  $30^\circ\text{C}$ 'de, anaerob ortamda, (BBL-gaspak veya karbondioksitli etüvde %10  $\text{CO}_2$ ) 3-5 gün süreyle inkübe edildi. Mikrokok ve stafilokokların izolasyonu için Mannitol Salt Agara (MSA-Difco) ekim yapılarak plaklar  $30^\circ\text{C}$  de, aerob ortamda 3-4 gün süreyle inkübasyona bırakıldı (3, 4, 8, 27, 44).

Laktobasillerin identifikasyonu amacıyla, MRS agarda üreyen tek koloniler arasından seçilenler önce MRS buyyona (Merck-Art. No. 10661) geçildi ve  $30^\circ\text{C}$  de 24 saat süreyle anaerob ortamda inkübe edildi. Sonra Gram reaksiyonu için boyama yapıldı ve faz kontrast mikroskopta bakılarak kolonilerin saflıkları ve hücre morfolojileri incelendi. Saf olarak belirlenen koloniler, tekrar MRS buyyona geçilerek katalaz testi uygulandı. Daha sonra Gram (+), katalaz (-) olan kokoid ve çomak şeklindeki koloniler laktobasil olarak ayrıldı. Bu koloniler bazı araştırmacıların (27, 31, 34, 40) bildirdiği karbonhidrat fermentasyon testleri, gaz oluşumu, arjinin hidrolizi, dekstran oluşumu, pH 3.9'da üreme,  $4^\circ$ ,  $15^\circ$  ve  $45^\circ\text{C}$  lerde ve %7.5-10 tuz konsantrasyonunda üreme yetenekleri yönünden test edilerek identifiye edildi.

Mikrokok ve stafilokokların identifikasyonu için MSA'da üreyen tek koloniler arasından seçilenler öncelikle Trypticase Soy Broth'a (TSB) geçildi ve  $37^\circ\text{C}$  de 18-24 saat aerob ortamda inkübasyona bırakıldı. Gram reaksiyonları için boyama yapıldı ve faz kontrast mikroskopta kolonilerin saflıkları ve hücre morfolojileri incelendi. Saf koloniler tekrar TSB'a geçilerek katalaz testleri yapıldı. Daha sonra Gram (+), katalaz (+) olan kok şeklindeki koloniler mikrokok/stafilokok olarak ayrıldı. Ayrılan bu koloniler glikoz fermentasyon (GF), gliserolden asit oluşturma (AG), oksidaz, furazolidon agarda üreme (FTO) ve lizostafin duyarlılık testlerine tabi tutularak mikrokok/stafilokok olarak ayrıldı. Ayrılan koloniler bazı araştırmacıların (2, 13, 16, 36, 41, 42, 44) bildirdiği karbonhidrat fermentasyon testlerine ilaveten üreaz, arjinin hidrolizi, nitrat indirgeme, jelatin, simmons sitrat agarda ve % 7.5-10 tuz konsantrasyonunda üreme yetenekleri yönünden test edilerek identifiye edildi.

**pH Değerlerinin Ölçülmesi:** Mikrobiyolojik muayenelere paralel olarak, sucuk numunelerinin pH değerleri elektronik pH metre (Knick Portamess 750) ile ölçüldü (48).

**Organoleptik Muayeneler:** Doğal fermente sucuklarda organoleptik muayeneler 21. günde; model sucuklarda ise 8. günde yapıldı. Bu muayenelerde DLG'nin (Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft) modifiye edilen organoleptik muayene yöntemi ve şeması kullanıldı (10).

**İzole Edilen Suşların Liyofilizasyonu:** Doğal fermente sucuk numunelerinde dominant olarak bulunan *L. sake*, *M. varians* ve *S. xylosus* buyyonda zenginleştirilerek skim-milk içeren besi yerinde liyofilize edildi (CHRIST ALPHA 2-4) ve suşlar  $-18^\circ\text{C}$  de muhafazaya alındı (40).

Tablo 1: Doğal Fermente Sucuk Numunelerinde Olgunlaşma Süresince Laktobasillerin Seyri ve Tür Düzeyinde Dağılımı.  
Table 1: Behaviour and Species Distribution of Lactobacilli in Naturally Fermented Sausage During Fermentation Period.

Parti no	Olgunlaşma süresi (gün)	Laktobasil sayısı kob/g	L. sake	L. curvatus	L. carnis	L. casei sups. rhamnosus
			%	%	%	%
1	0	5.6x10 <sup>6</sup>	0*	0	0	0
	2	6.4x10 <sup>8</sup>	96	4	-	-
	5	1.0x10 <sup>9</sup>				
	7	2.0x10 <sup>9</sup>				
	14	1.4x10 <sup>9</sup>				
	21	3.8x10 <sup>8</sup>				
2	0	1.0x10 <sup>7</sup>				
	2	4.0x10 <sup>8</sup>	91	9	-	-
	5	8.4x10 <sup>8</sup>				
	7	8.0x10 <sup>8</sup>				
	14	8.0x10 <sup>8</sup>				
	21	6.0x10 <sup>8</sup>				
3	0	3.0x10 <sup>7</sup>				
	2	6.0x10 <sup>8</sup>	92	8	-	-
	5	6.2x10 <sup>8</sup>				
	7	8.4x10 <sup>8</sup>				
	14	4.0x10 <sup>8</sup>				
	21	9.8x10 <sup>7</sup>				
4	0	4.0x10 <sup>6</sup>				
	2	1.0x10 <sup>8</sup>	92	3	4	1
	5	4.0x10 <sup>8</sup>				
	7	6.0x10 <sup>8</sup>				
	14	6.0x10 <sup>8</sup>				
	21	5.0x10 <sup>8</sup>				
5	0	6.0x10 <sup>6</sup>				
	2	6.4x10 <sup>8</sup>	100	-	-	-
	5	1.0x10 <sup>9</sup>				
	7	1.0x10 <sup>9</sup>				
	14	8.0x10 <sup>8</sup>				
	21	6.0x10 <sup>8</sup>				

\*: İdentifiye edilmedi.

### Bulgular

**Doğal Fermente Sucuk Numunelerinde Laktobasillerin Seyri ve Tür Düzeyinde Dağılımı:** Bu numunelerin farklı partilerinde olgunlaşmanın başlangıcında  $4.0 \times 10^6$ - $3.0 \times 10^7$  kob/g düzeyinde bulunan laktobasillerin sayısı, olgunlaşmanın 2. gününden itibaren hızla artarak  $1.0 \times 10^8$ - $6.4 \times 10^8$  kob/g düzeyine ulaşmış ve genelde olgunlaşmanın sonuna kadar  $10^8$ - $10^9$

kob/g düzeyinde seyretmiştir (Tablo 1). Numunelerden izole edilen toplam 120 adet laktobasil suşundan 112'si *L. sake*, 6'sı *L. curvatus*, 1'i *L. carnis*, 1'i de *L. casei sups. rhamnosus* olarak identifiye edilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi bu numunelere ait partilerin hepsinde olgunlaşmanın tüm dönemlerinde *L. sake* %91-100 düzeyinde, partilerin dördünde ise *L. curvatus* %3-9 düzeyinde bulunmuştur. Numunelerden yalnız dördüncü partide %4 düzeyinde *L. carnis* ile

Tablo 2: Doğal Fermente Sucuk Numunelerinde Olgunlaşma Süresince Mikrokok - Stafilokokların Seyri ve Tür Düzeyinde Dağılımı.  
Table 1: Behaviour and Species Distribution of Micrococci-staphylococci in Naturally Fermented Sausage During Fermentation Period.

Parti no	Olgunlaşma süresi (gün)	mikrokok stafilokok kob/g	M.varians %	M.lylae %	M.spp. %	S.xylosus %	S.saprophyticus %	S.capitis %	S.hominis %	S.warneri %	S.epidermidis %	S.spp. %
1	0	4.6x10 <sup>4</sup>	15.4	-	-	7.7	23	7.7	15.4	7.7	-	23
	1	6.8x10 <sup>4</sup>										
	2	7.2x10 <sup>5</sup>										
	4	2.0x10 <sup>5</sup>										
	7	2.0x10 <sup>4</sup>										
2	0	2.8x10 <sup>4</sup>	-	45.4	13.6	-	9.1	9.1	13.6	-	-	9.1
	1	1.6x10 <sup>5</sup>										
	2	4.4x10 <sup>4</sup>										
	4	6.2x10 <sup>3</sup>										
	7	1.4x10 <sup>3</sup>										
3	0	1.8x10 <sup>5</sup>	12.5	37.4	6.3	37.5	-	-	-	-	6.3	-
	1	3.4x10 <sup>5</sup>										
	2	1.0x10 <sup>5</sup>										
	4	3.0x10 <sup>4</sup>										
	7	8.0x10 <sup>2</sup>										
4	0	4.2x10 <sup>4</sup>	15.4	-	-	7.7	23	7.7	15.4	7.7	-	23
	1	6.4x10 <sup>4</sup>										
	2	7.0x10 <sup>5</sup>										
	4	2.2x10 <sup>5</sup>										
	7	2.0x10 <sup>4</sup>										
5	0	1.6x10 <sup>5</sup>	12.5	37.4	6.3	37.5	-	-	-	-	6.3	-
	1	3.2x10 <sup>5</sup>										
	2	1.0x10 <sup>5</sup>										
	4	2.8x10 <sup>4</sup>										
	7	8.0x10 <sup>2</sup>										

%1 düzeyinde *L. casei* sup. *rhamnosus* identifiye edilmiştir.

**Doğal Fermente Sucuk Numunelerinde Mikrokok ve Stafilokokların Seyri ve Tür Düzeyinde Dağılımı:** Bu numunelerin farklı partilerinde mikrokoklar ve stafilokoklar (Tablo 2) olgunlaşmanın başlangıcında  $2.8 \times 10^4$ - $1.8 \times 10^5$  kob/g düzeyinde bulunurken, genelde sayıları olgunlaşmanın 4. gününe kadar aynı düzeyde seyretmiş ve olgunlaşmanın 4. gününden itibaren azalarak 7. günde  $8.0 \times 10^2$ - $2.0 \times 10^4$  kob/g'a düşmüştür. Bu numunelere ait partilerin 4'ünde starter kültür niteliğinde olan *M. varians* %12.5-15.4 düzeyinde, *S. xylosus* ise %7.7-37.5 düzeyinde bulunmuştur. Bu numunelere ait değişik partilerde ayrıca %37.4-45.4 düzeyinde *M. lylae*, %6.3-13.6 düzeyinde *M. spp.* türleri ile %9.1-23 düzeyinde *S. saprophyticus*, %7.7-9.1 düzeyinde *S. capitis*, %13.6-15.4 dü-

zeyinde *S. hominis*, %7.7 düzeyinde *S. warneri*, %6.3 düzeyinde *S. epidermidis* ve %9.1-23 düzeyinde *S. spp.* türleri bulunmuştur.

**Doğal Fermente Sucuk Numunelerinde pH Seyri:** Doğal fermente sucuk numunelerinde, pH değerleri olgunlaşmanın başlangıcında birbirine yakın değerlerde (5.55-5.89) bulunurken, olgunlaşmanın 2. gününde 4. parti hariç diğer partilerde 5.00 düzeylerine kadar düşmüş, 5. günde ise bütün partilerde 5.00'ın altına düşmüştür. pH değerleri genelde olgunlaşmanın 7. gününden itibaren düşük düzeylerde artış göstererek olgunlaşmanın 21. gününde birbirine yakın değerlere (5.04-5.16) ulaşmıştır.

**Model Sucuk Numunelerinde Laktobasil, Mikrokok ve Stafilokok İle pH seyri:** Çalışmanın bu aşamasında, doğal fermente sucuklardan izole edilen starter kültür niteliğindeki *L. sake*, *M. varians* ve *S. xylosis* bakterilerinin sırasıyla

2:1:1 oranındaki karışımlarının ilavesiyle yapılan model sucuklarda, olgunlaşmanın 0. gününde laktobasiller  $2.0 \times 10^7$ - $4.0 \times 10^7$  kob/g düzeyinde bulunmasına karşın, mikrokok/stafilokoklar  $1.0 \times 10^6$ - $1.4 \times 10^6$  kob/g düzeyinde bulunmuşlardır. Olgunlaşmanın 2. gününde laktobasillerin  $1.4 \times 10^9$ - $2.0 \times 10^9$  kob/g'a ulaşmalarına karşın, mikrokok ve stafilokokların sayısında azalma gözlenerek,  $4.0 \times 10^4$ - $6.0 \times 10^4$  kob/g düzeyinde saptanmışlardır. Yine bu sucuklarda pH değerleri olgunlaşmanın başlangıcında birbirine yakın değerlerde (5.55-5.57) bulunurken, olgunlaşmanın 1. gününden itibaren hızla düşerek (5.07-5.13) olgunlaşmanın 7. gününde 4.76-4.78 değerlerinde kalmıştır.

**Vakumla Paketlenmiş Sucuk Numunelerinde Laktobasillerin Seyri:** Fermentasyonu takiben vakumla paketlenerek  $4^\circ\text{C}$ 'de 1 ay süreyle muhafaza edilen sucuk numunelerinde laktobasillerin sayısı, vakumla paketlemenin başlangıcında  $7.2 \times 10^8$ - $8.4 \times 10^8$  kob/g iken, muhafaza süresinin sonunda  $1.0 \times 10^9$ - $1.6 \times 10^9$  kob/g'a ulaşmıştır. Vakumla paketlenmiş sucuk numunelerinde de L. sake, dominant grubu oluşturarak florada %100 düzeyinde bulunmuştur.

**Organoleptik Muayene Sonuçları:** Bu çalışma kapsamında doğal fermente sucuklar olgunlaşmanın 21. gününde, model sucuklar ise fermentasyonun 8. gününde organoleptik niteliklerinin belirlenmesi amacıyla dış görünüş, kesit yüzeyinin görünüşü, kıvam, renk oluşumu, lezzet ve aroma yönünden duyuşal muayene tabi tutulmuştur. Sucuk numunelerinin organoleptik muayenesi sonucunda almış oldukları genel ortalama puanları tablo 3 de gösterilmiştir.

Tablo 3: Sucuk Numunelerinin Organoleptik Muayene Sonuçları  
Table 3: Organoleptic Results of Analysed Sucuk Samples

Doğal Fermente Sucuk	Ortalama puan	Model Sucuk	Ortalama puan
1	4.2	1	4.7
2	4.3	2	4.6
3	4.2	3	4.7
4	4.3	4	4.6
5	4.2	5	4.6

Doğal fermente sucuk numuneleri organoleptik muayenelerde 5 puan üzerinden ortalama 4.2-4.3 puan olarak kaliteli sucuk olarak değerlendirilmişler ve bu sucuklardan izole edilen starter kültür niteliğindeki bakterilerle yapılan model sucuklar ise organoleptik muayenelerde, doğal fermente sucuklara oranla daha yüksek puan (4.6-4.7) alarak daha kaliteli sucuk olarak değerlendirilmişlerdir.

## Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma kapsamında analiz edilen doğal fermente sucuklarda, starter kültür niteliğindeki laktobasillerden L. sake %91-100, L. curvatus %3-9'lük düzeyiyle dominant olarak bulunurken, mikrokok/stafilokoklar içerisinde starter kültür niteliğindeki M. varians %12.5-15.4 ve S. xylosus %7.7-37.5'lik düzeyiyle florada temsil edilmişlerdir.

Fermente sucuklarda laktobasillerin bulunuşu ve bunların olgunlaşma üzerine etkilerini araştıran birçok araştırmacı (5, 21, 25, 26, 31, 33, 38) fermente sucuklarda floranın genelde streptobakteri grubunda bulunan laktobasiller tarafından oluşturulduğunu, heterofermentatif laktobasillerden özellikle L. viridescens'in bulunduğunu, termobakteri grubundaki laktobasillerin florada bulunmadığını ve streptobakteri grubunda bulunan L. sake ile L. curvatus'un (atipik streptobakteri) dominant florayı oluşturduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile bu araştırmacıların bulguları arasında benzerlik görülmektedir.

Comi ve ark. (5) sucuk üretiminde uygulanan olgunlaşma sıcaklığına ve ilave edilen karbonhidratların çeşit ve miktarına bağlı olarak değişen pH değerlerinin, flora üzerinde etkili olduğunu ve pH'nın hızla 5.0'in altına düştüğü sucuklarda aside duyarlı laktobasillerin florada gelişemediğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar floranın gelişmesinde pH değerinin yanı sıra, olgunlaşma sıcaklığı, rutubet, su aktivitesi ( $a_w$ ), başlangıçtaki genel mikroorganizma sayısı ile rekabetçi floranın etkili olduğunu ve buna bağlı olarak İtalyan tipi fermente sucuklarda L. sake ve L. curvatus'un dominant olduğunu bildirmişlerdir. Comi ve ark.'nın (4) sonuçları ile bu çalışma sonuçları uyum göstermektedir.

Reuter (33) yaptığı çalışmalarda fermente sucuklarda dominant florayı, atipik streptobakterilerin oluşturduğunu bildirmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarıyla Reuter'in (33) sonuçları büyük ölçüde benzerlik göstermektedir. Yine Kagermeier (26) fermente sucuklarda L. sake ile L. curvatus'un dominant florayı oluşturduğunu, başlangıç olgunlaşma sıcaklığı  $22^\circ\text{C}$  olan ve ilk 2 gün sonra sıcaklığın yavaşça  $15^\circ\text{C}$ 'ye kadar düşürüldüğü fermente sucuklarda, olgunlaşma periyodunun 2. gününde L. sake'nin sayısal olarak hızla artarak florada %83 düzeyine, 3. günün sonunda ise %95 düzeyine ulaştığını ve bu dönemde L. curvatus'un %2 düzeyinde kaldığını, L. plantarum'un ise olgunlaşma sıcaklığının 8 saat süreyle  $25^\circ\text{C}$ 'den  $32^\circ\text{C}$ 'ye yükseltilmesi sonucu florada daha iyi geliştiğini ve L. sake ile aynı düzeyde (%46) bulunduğunu bil-

dirmiştir. Kagermeier'in (26) sonuçlarıyla, bu çalışmadan elde edilen bulgular arasında *L. plantarum* dışında benzerlik görülmekte olup, bu çalışmada *L. plantarum*'un izole edilememesinin nedeni, muhtemelen olgunlaştırma sıcaklığının  $20\pm 2^\circ\text{C}$  düzeyinde olmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim Lücke ve Hechelmann'da (30) *L. plantarum*'un, olgunlaştırma sıcaklığının  $25^\circ\text{C}$ 'nin üzerinde bulunduğu sucuklarda daha iyi gelişebildiğini bildirmektedirler.

Gürakan (17) Türk fermente sucuklarından izole ettiği toplam 31 adet laktobasil türünden 12'sini *L. sake*, 4'ünü *L. curvatus*, 3'ünü *L. plantarum*, 2'sini *L. brevis* ve 10'nunu *L. alimentarius* olarak tanımlamıştır. *L. brevis* ve *L. alimentarius*'un bu çalışmada tanımlanmış edilememiş olması, sucukların üretiminde uygulanan teknolojinin ve işletme florasının farklı olmasından kaynaklanabilir.

Bu çalışmada mikrokok ve stafilkoklar içerisinde starter kültür niteliğinde olan *M. varians* ve *S. xylosus* tanımlanmış edilmiş olmasına karşın, starter kültür niteliğinde olan *S. carnosus* tanımlanmış edilememiştir. Bu çalışma sonuçları ile bu konuda çalışan araştırmacıların (4, 13, 43, 44) bulguları arasında benzerlik görülmektedir. Seager ve ark. (43) ile Coventry ve Hickey'de (7) analiz ettikleri sucuk numunelerinde *S. carnosus* izole edemediklerini bildirmektedirler. Genelde *S. carnosus*'un düşük pH değerlerine duyarlı olduğu, laktik asit bakterileri ile birlikte kullanıldığında bu bakterilerin hızla laktik asit oluşturması nedeniyle *S. carnosus*'un gelişmesinin baskılanabildiği bildirilmiştir (7).

Doğal fermente sucuk numunelerinde pH seyri; olgunlaştırma koşulları ve kullanılan karbonhidratların çeşit ve miktar yönünden Türk fermente sucuklarına benzerlik gösteren sucuklar üzerine yapılan çalışmalardan (5, 26) elde edilen bulgularla uyum göstermesine karşın, Yıldırım (49) ile Tekinşen ve ark.nın (46) bulguları yönünden farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılığın muhtemelen üretimde kullanılan karbonhidratların çeşit ve miktarı ile olgunlaşma sıcaklığının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Doğal fermente sucuk numunelerinden izole ve tanımlanmış edilen starter kültür niteliğindeki *L. sake*, *M. varians* ve *S. xylosus*'un 2:1:1 oranındaki karışımlarıyla yapılan model sucuklarda, olgunlaşmanın 0. gününde florada  $10^7$  kob/g düzeyinde bulunan *L. sake* olgunlaşmanın 2. gününde  $10^9$  kob/g düzeyine ulaşarak dominant florayı oluşturmuştur. *L. sake*'nin olgunlaşmanın başlangıcından itibaren florada dominant halde bulunması ve bu bakteri türü-

nün metabolik aktivitesi sonucu sucukların fermentasyonu daha kısa sürede tamamlanmıştır. Muhtemelen *L. sake* ile birlikte sucuk hamuruna ilave edilen *M. varians* ve *S. xylosus*'un metabolik aktiviteleri sonucu model sucuk numunelerinin, doğal fermente sucuk numunelerine oranla daha üstün duyuşsal nitelik gösterdikleri belirlenmiştir. Bantleon (3) ile Hammes ve ark. (18) yaptıkları çalışmada *L. sake* ile *L. curvatus*'un fermente sucuklarda duyuşsal kalite nitelikleri üzerine olumlu etki göstererek, arzu edilen duyuşsal niteliklerin oluşmasında etkin rol oynadıklarını bildirmişlerdir. Özdemir (32) yaptığı çalışmada Türk fermente sucuklarında *L. sake* ile *L. curvatus*'un dominant florayı oluşturduğunu ve *L. sake*'nin florada bulunma oranı ile organoleptik nitelikler arasında pozitif bir ilişki bulunduğunu bildirmiştir. Hammes ve ark. (20), Almanya'da ticari olarak üretilen ve sucuk yapımında kullanılan starter kültürlerin mikrobiyolojik analizini yaptığı çalışmada, genelde *L. sake* ile *S. xylosus*'un birlikte kullanıldığını ve buna ilaveten *M. varians*'ın da starter kültür komponentleri arasında yer aldığını bildirmişlerdir.

Vakumla paketlenerek muhafaza edilen et ve et ürünlerinde laktobasillerin dominant florayı oluşturduğunu bildiren birçok araştırma (12, 24, 28) bulunmaktadır. Vakumla paketlenen sucuk numunelerinde laktobasillerin sayısı, vakumla paketlenmenin başlangıcında  $7.2 \times 10^8$ - $8.4 \times 10^8$  kob/g bulunmasına karşın, vakumla paketlenmeden bir ay sonra  $1.0 \times 10^9$ - $1.6 \times 10^9$  kob/g'a ulaşmıştır. Vakumla paketlenmiş sucuk numunelerinde de, *L. sake* dominant grubu oluşturarak florada %100 düzeyinde temsil edilmiştir. Vakumla paketlenen sucuk numunelerinde laktobasillerin sayısal olarak artması bazı araştırmacıların (23, 39) sonuçlarıyla benzerlik göstermesine karşın, *L. sake* dışında izole edilen laktobasil türleri yönünden farklılıklar görülmüştür. Nitekim Holy ve ark. (23) vakumla paketlenmiş bozuk Viyana sucuklarında, homofermentatif laktobasillerin florada dominant bulunmasına karşın, bozulma göstermeyen sucuklarda heterofermentatif laktobasillerin dominant olduğunu bildirmişlerdir. Yine Holzappel ve Gerber (24) ile Korkeala ve Mäkelä (28) vakumla paketlenmiş ve bozulma gösteren et ürünlerinde *L. sake* ile *L. curvatus*'un dominant florayı oluşturduklarını bildirmişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuçlarla, bu konuda yapılan araştırmaların (23, 24, 28) sonuçları arasındaki farklılığın, muhtemelen sucukların üretiminde uygulanan teknolojinin ve işletme florasının farklı olmasının yanı sıra, sucuk numunelerinin muhafaza koşulları ve sürelerinin de farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak hijyenik kalitesi uygun sığırti ve sığırti böbrek yağı karışımı ile yapılan,  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de, %95-75 nisbi rutubette ve 0.8-0.4 m/sn hava akımında olgunlaştırılan Türk fermente sucuklarında, starter kültür niteliğinde olan *L. sake*, *L. curvatus*, *M. varians* ile *S. xylosum*'un dominant olduğu, *L. sake* ile *M. varians* ve *S. xylosum*'un 2:1:1 oranındaki karışımlarıyla yapılan fermente sucukların, duysal kalite nitelikleri yönünden üstün olduğu ve Türk damak zevkine uygun olacağı görüşüne varılmıştır.

#### Kaynaklar

- Anon (1973). *Sucuk Yapım ve Üretimi*. I. Bölüm, Et ve Balık Kurumu Gn Md lüğü Yönetmelik Sıra No: 33, Ankara.
- Baker, J.S. (1984). *Comparison of various methods for differentiation of staphylococci and micrococci*. J Clin Microbiol 19, 875-879.
- Bantleon, A. (1987). *Lactobacillus sake und Lactobacillus curvatus als Starterkulturorganismen für die Rohwurstreifung*. Diss rer nat., Uni Hohenheim.
- Comi, G., Clitlerio, B., Manzona, M., Cantoni, C., Bertoldi, M. (1992). *Evaluation and characterization of micrococcal strains in italian dry fermented sausages*. Fleischwirtsch 72, 1679-1683.
- Comi, G., Manzano, M., Clitlerio, B., Bersani, C., Cantoni, C., Bertoldi, M. (1993). *Physiologische Charakterisierung und Entwicklung von Laktobazillen*. Fleischwirtsch 73, 1312-1318.
- Corretti, K. (1977). *Starterkulturen in der Fleischwirtschaft*. Fleischwirtsch 57, 386-394.
- Coventry, J. and Hickey, M.W. (1991). *Growth characteristics of meat starter cultures*. Meat Sci 30, 41-48.
- De Man, J.C., Rogosa, M and Sharpe, M.E. (1960). *A medium for the cultivation of lactobacilli*. J Appl Bacteriol 23, 130-135.
- Dinçer, B. (1980). *Yerli sucuklarda fermentasyon ve kurumada biyokimyasal, lipolitik ve organoleptik değişiklikler üzerinde araştırmalar*. Doçentlik Tezi. TÜBİTAK, Proje no: VHAG-457.
- Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft (DLG). (1989). *Prüfbestimmungen für Fleischerzeugnisse, Fertiggerichte und Feinkost*, 32. Auflage, Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V. Frankfurt am Main.
- Erol, İ. (1991). *Der Einfluß von Starterkulturen auf das Wachstum pathogener Keime in türkischer Rohwurst*. Diss Vet Med FU Berlin.
- Erol, İ., Hildebrandt, G ve Wiegner, J. (1994). *Dumanlanmış ve vakumlu paketlenmiş fermente sucuklarda H<sub>2</sub>S oluşum nedeni olarak lactobacillus curvatus'un izolasyonu*. GIDA 19, 271-275.
- Fischer, U. und Schleifer, K.H. (1980). *Vorkommen von Staphylokokken und mikrokokken in Rohwurst*. Fleischwirtsch 60, 1046-1051.
- Gökalp, H.Y. und Ockermann, H.W. (1985). *Herstellung von Rohwurst nach türkischer Art (soudjouk) mit Hilfe verschiedener Starterkulturen und unter verschiedenen Reifungstemperaturen: Wachstum der Gesamtkeimzahlen sowie der psychrophilen, proteolytischen und lypolytischen Keime*. Fleischwirtsch 65, 1248-1254.
- Gökalp, H.Y., Yetim, H., Kaya, M. and Ockermann, H.W. (1988). *Saprophytic and pathogenic bacteria levels in türkish soudjouks manufactured in Erzurum, Turkey*. J Food Prot 51, 121-125.
- Gunn, B.A., Singleton, F.L., Peele, E.R., Colwell, R.R., Kiser, J.K. and Kapfer, C.O. (1981). *Comparison of methods for identifying staphylococcus and microcococcus spp*. J Clin Microbiol 14, 195-200.
- Gürakan, G.C. (1991). *Characterization of lactobacilli and staphylococci isolated from türkish dry sausages*. Doktora tezi ÖDTÜ, Gıda Müh Fak Ankara.
- Hammes, W.P., Bantleon, A. and Min, S. (1990). *Lactic acid bacteria in meat fermentation*. FEMS Microbiol Reviews 87, 165-174.
- Hammes, W.P. and Knauf, H.J. (1994). *Starters in the processing of meat products*. Meat Sci 36, 155-168.
- Hammes, W.P., Rölz, I. and Bantleon, A. (1985). *Mikrobiologische Untersuchung der auf dem deutschen Markt vorhandenen Starterkulturpräparate für die Rohwurstreifung*. Fleischwirtsch 65, 729-734.
- Hastings, J.W. and Holzappel, W.H. (1987). *Conventional taxonomy of lactobacilli surviving radurization of meat*. J Appl Bacteriol 62, 209-216.
- Hechelmann, H. (1981). *Wirkung von Starterkulturen*, Fleischerei 9, 657-661.
- Holy, A., Cloete, T.E and Holzappel, W.H. (1991). *Quantification and characterization of microbial populations associated with spoiled, vacuum-packed Vienna sausages*. Food Microbiol 8, 95-104.
- Holzappel, W.H., Gerber, E.S. (1986). *Predominance of Lactobacillus curvatus and Lactobacillus sake in the spoilage association of vacuum-packaged meat products*. Proceedings of the 32. European Meeting of Meat Research Workers, Ghent, Belgium.
- Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, T. and Monfort, J.M. (1993). *Biochemical characterization of lactobacilli from dry fermented sausages*. Int J Food Microbiol 18, 107-113.
- Kagermeier, A. (1981). *Taxonomie und Vorkommen von Milchsäurebakterien in Fleischprodukten*. Diss rer nat., Uni München.
- Kandler, O. and Weiss, N. (1986). *Genus Lactobacillus*. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. II. Eds. Sneath, P. H. A. and Holt, J.G., Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Korkeala, H. and Mäkelä, P. (1989). *Characterization of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged cooked ring sausage*. Int J Food Microbiol 9, 33-43.
- Lücke, F.K. (1986). *Mikrobiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken*. Fleischwirtsch 66, 302-309.
- Lücke, F.K. und Hechelmann, H. (1986). *Starterkulturen für Rohwurst und Rohschinken. Zusammensetzung und Wirkung*. Fleischwirtsch 66, 154-166.
- Morishita, Y. and Shiromizu, K. (1986). *Characterization of lactobacilli isolated from meats and meat products*. Int J Food Microbiol 3, 19-29.
- Özdemir, H. (1995). *Türk fermente sucuğunun florasyndaki dominant laktobasil türlerinin sucuğun organoleptik nitelikleri ile ilişkisi*. A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi Ankara.



33. Reuter, G. (1967). *Atypische Streptobakterien als dominierende Flora in reifender und gelagerter Rohwurst*. Fleischwirtsch 47, 397-402.
34. Reuter, G. (1970). *Laktobazillen und eng verwandte Mikroorganismen in Fleisch und Fleischwaren. 2. Mitteilung: Die Charakterisierung der isolierten Laktobazillenstämme*. Fleischwirtsch 50, 954-962.
35. Reuter, G. (1972). *Versuche zur Rohwurstreifung mit Laktobazillen und Mikrokokken-Starterkulturen*. Fleischwirtsch 52, 465-473.
36. Rheinbaben, K. und Hadlok, R. (1979). *Gattungsdifferenzierung von Mikroorganismen der Familie Micrococaceae aus Rohwürsten*. Fleischwirtsch 59, 1321-1324.
37. Romans, J.R., Costello, W. J., Jones, K.W. and Carlson, C.W. (1985). *The meat we eat*. The Interstate Printers and Publishers, Inc. Danville, USA.
38. Sanz, B., Selgas, D., Parejo, I. and Ordonez, A.J. (1988). *Characteristics of lactobacilli isolated from dry fermented sausages*. Int J Food Microbiol 6, 199-205.
39. Schillinger, U. und Lücke, F.K. (1986). *Milchsäurebakterien Flora auf vakuumverpacktem Fleisch und ihr Einfluß auf die Haltbarkeit*. Fleischwirtsch 66, 1515-1520.
40. Schillinger, U. and Lücke, F.K. (1987). *Identification of lactobacilli from meat and meat products*. Food Microbiol 4, 199-208.
41. Schleifer, K.H. (1986). *Gram-positive cocci*. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. II. Eds. Sneath, P.H. A. and Holt, J.G., Williams and Wilkins Co. Baltimore.
42. Schleifer, K.H. and Kloos, E. (1975). *A simple test system for the separation of staphylococci from micrococci*. J Clin Microbiol 1, 337-338.
43. Seager, M.S., Banks, C., Blackburn, C.W., Board, R.G. (1986). *A taxonomic study of Staphylococcus spp. isolated from fermented sausages*. J Food Sci 51, 295-296.
44. Selgas, M.D., Sanz, B., Ordenez, J.A. (1988). *Selected characteristic of micrococci isolated from spanish dry fermented sausages*. Food Microbiol 5, 185-193.
45. Smith, L.J. and Palumbo, A.S. (1983). *Use of starter cultures in meats*. J Food Prot 46, 997-1006.
46. Tekinşen, O.C., Dinçer, B., Kaymaz, Ş ve Yücel, A. (1982). *Türk sucuğunun olgunlaşması sırasında mikrobiyal flora ve organoleptik niteliklerindeki değişimler*. A Ü Vet Fak Derg 29, 111-130.
47. Weber, H. (1993). *Zur Bedeutung sogenannter Schutzkulturen und deren Stoffwechselprodukten*. Fleischwirtsch 73, 726-733.
48. Wirth, F. (1978). *pH-Wert und Fleischwarenherstellung*. Fleischwirtsch 58, 1458-1468.
49. Yıldırım, Y. (1977). *Yerli sucuklarımıza uygulanan değişik teknolojik yöntemlerin mikroflora ve kalite üzerine etkileri*. FÜ Vet Fak Derg IV, 52-79.
50. Yurtyeri, A., Mutluer, B., Erol, İ. ve Hildebrandt, G. (1993). *Beschaffenheit und Technologie von türkischer Rohwurst*. Fleischerei 9, 725-730.