

DUMANLANMIŞ VE VAKUMLA PAKETLENMİŞ FERMENTE SUCUKLARDA H₂S OLUŞUM NEDENİ OLARAK *Lactobacillus curvatus*'UN İZOLASYONU

THE ISOLATION OF *Lactobacillus curvatus* AS A CAUSE OF H₂S PRODUCTION FROM SMOKED AND VACUUM PACKAGED FERMENTED SAUSAGE

İrfan EROL*, Goetz HILBEDRANDT**, Joachim WIEGNER**

* Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, ANKARA

** Institut für Lebensmittelhygiene der Freien Universität, Berlin-ALMANYA

ÖZET: Fermente sucuklarda arzu edilen olgunlaşmanın sağlanmasında laktobasiller büyük önem taşırlar. Ancak bazı laktobasil türleri ürettikleri H₂S ile et ve ürünlerinde fena koku oluşumuna neden olurlar.

Dumanlanmış ve vakumla paketlenmiş fermente sucuklarda H₂S oluşumuna neden olan bakterilerin araştırıldığı bu çalışmada, numuneler üretim gününden başlamak üzere paketlenmeyi takip eden 4 haftalık süre içerisinde duysal ve mikrobiyolojik yönden analiz edilmiş buna ilaveten sucuk numunelerinin vakum paketi içerisindeki H₂S miktarı ölçülmüştür.

Sucuk numunelerinde paketlenmeyi takiben 2. ya da 4. günlerde paketin açılmasıyla birlikte az veya çok belirgin H₂S kokusu saptanmıştır. Analiz edilen bütün numunelerde laktobasillerin dominant olduğu gözlenmiş ve izole edilen laktobasiller içerisinde 10³-10⁴ kob/g seviyesinde H₂S oluşturma yeteneğinde olan *L. curvatus* identifiye edilmiştir. Numunelere ait paketlenme materyali içerisinde 12 µg/L H₂S saptanmıştır.

Sonuç olarak vakumla paketlenmiş fermente sucuklarda H₂S oluşumunu engellemek için işletmelerde hijyenik kurallara daha çok özen gösterilmesi ve üretimde aktif starter kültürlerinin kullanılması görüşüne varılmıştır.

SUMMARY: Lactic acid bacteria grow in sausage meat and their fermentation products are generally important for the correct course of ripening. However some lactobacilli are capable of producing H₂S and this may also lead to off odors of meat and meat products.

The aim of current study was carried out to detection of H₂S producer bacteria in smoked and vacuum packaged fermented sausages. For this reason the samples were analysed sensorically, microbiologically and in addition to these the H₂S contents were measured in the pack of the samples. The development of microflora over a ripening period for one week and a storage period (after packaging) for three weeks were examined.

After 3-4 days of packaging the sausage samples gave objectionable off odors upon immediately opening the pack. The microflora all of the samples was dominated by *Lactobacillus* and *L. curvatus*, which is able to produce H₂S was identified. Counts of *L. curvatus* approached 10³-10⁴ cfu/g. The amounts of H₂S in the packages of the samples were measured as between 4 to 12 µg/L.

In conclusion the hygienic conditions of meat processing plants must be improved and active starter cultures should be used for the manufacture of fermented sausage.

GİRİŞ VE KAYNAK TARAMASI

Laktobasiller paketlenmiş taze et ve çoğu fermente et ürünlerinin soğuk muhafazası sırasında dominant flora komponentlerini oluştururlar. Vakumla paketlenmiş et ve et ürünlerinde kas doku enzimleri ve mikroorganizmaların metabolik aktivasyonu sonucu oluşan CO₂, bir taraftan Gram negatif, aerob ve psikrofilik bakteri florasının gelişmesini engellerken diğer taraftan *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Streptococcus* gibi fakültatif anaerobların gelişmelerini aktive etmektedir (SCHILLINGER ve LÜCKE, 1986; SUTHERLAND ve ark., 1975; VANDERZANT ve ark., 1982; WIEGNER, 1986).

Vakumsuz ya da vakumlu paketlenerek muhafaza edilen et ve et ürünlerinde laktobasillerin dominant olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. SEIDEMAN ve ark.'ı (1976) vakumla paketlenmiş taze sığır etlerinin 4 haftalık soğukta muhafaza süresinde psikrofilik bakteri popülasyonunu büyük ölçüde laktobasil türlerinin oluşturduğunu, buna karşın *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae*'ları yalnızca düşük düzeylerde bulunduğunu tespit etmişlerdir. VANDERZANT ve ark.'ı (1982) vakumla paketlenmiş bifteklerde muhafaza süresinin başlangıcında homo ve heterofermentatif laktobasillerin ortamda baskın olduğunu ancak muhafaza süresinin 12. ve 24. günlerinden itibaren heterofermentatif *Lactobacillus cellobiosus*'in dominant hale geçtiğini bildirmişlerdir. Yine SCHILLINGER ve LÜCKE'ye (1986) göre vakumla paketlenmiş etlerde süt asidi bakteri florasını homo ve heterofermentatif *Lactobacillus*'lar ile *Leuconostoc* ve *Lactococcus* soyunun temsilcileri oluşturmaktadır.

Anaerob koşullarda glukoz ve diğer şekerlerden büyük ölçüde laktik asit oluşturma yeteneğine sahip olan homofermentatif laktobasillerin et ve et ürünlerindeki en önemli temsilcileri *L. sake* ve *L. curvatus*'tur. REUTER (1967) bu mikroorganizmaları atipik streptobakteriler olarak nitelendirmiştir. BORELAND'da (1988) 4°C'de muhafaza edilen vakumla paketlenmiş domuz pastırmalarında atipik streptobakterilerin dominant olduğunu bildirmektedir. Benzer şekilde MORISHITA ve SHIROMIZU (1986) et ve ısı işlemi görmüş değişik et ürünlerinden elde ettikleri laktobasil izolatlarının çoğunun *L. curvatus* ve *L. sake* olduğunu saptamışlardır.

Vakumla paketlenmiş et ve et ürünlerinde laktobasillerin dominant florayı oluşturması bozulmaya neden olan mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek ürünün raf ömrünü uzatması yönünden arzu edilir. Ancak laktik asit bakterileri her zaman bu etkiyi göstermemekte ve hatta bazı türleri uygun koşullarda et ve et ürünlerinde renk ve koku bozuklukları meydana getirebilmektedirler. Laktobasillerin bu olumsuz etkileri laboratuvar koşullarında ve ürün bazında değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Nitekim SHARPE ve FRANKLIN (1962) kırmızı etlerde çoğu laktobasillerin uygun koşullarda (düşük pH, anaerobiosiz, düşük şeker miktarı) H₂S üretmeleri sonucu yeşilimsi renk bozukluğu meydana getirebileceklerini bildirmektedirler. LEE ve SIMARD (1984) test ettikleri laktobasil suşlarının çoğunun uygun besi yerlerinde H₂S ürettiklerini bildirmişlerdir. SHAY ve EGAN (1981) *Lactobacillus sake* (L13) ile kontamine ettikleri vakumla paketlenmiş sığır etinde bu mikroorganizmanın çok kuvvetli kötü koku oluşturduğunu saptamışlardır. Yine EGAN ve ark.'ın (1989) yaptığı bir çalışmada *L. sake* L13 suşu ile kontamine edilen ve vakumla paketlenen etlerde pH 6,4-6,6'da H₂S oluşumu 9. günde gözlenirken 250 µg glukoz ilave edilmiş ya da normal pH'lı etlerde (5,6-5,7) H₂S oluşumunun 19. günde gerçekleştiği saptanmıştır. HANNA ve ark.'ı (1983) deneysel olarak laktik asit bakterileri ilave edilen ve vakumla paketlenmiş sığır etlerinde arzu edilmeyen asidik, yayık altı, sülfür benzeri ve H₂S kokularını saptamışlardır. Aynı araştırmacılar *L. curvatus*'un ette hoşaga gitmeyen "kasımpatı" kokusu oluşturduğunu ayrıca *L. plantarum*, *H. alvei* ve *S. liquefaciens* ile *A. putrefaciens*'in laboratuvar koşullarında H₂S gazı ürettiklerini bildirmektedirler. GILL (1976) bir laktobasil türünün anaerobik koşullarda sığır etinde yalnızca glukoz ve arginini fermente ettiğini bildirmektedir. Buna karşın SHAY ve EGAN (1981) *L. sake* L13 suşunun sisteini enerji kaynağı olarak kullanabileceğini göstermişlerdir. Bu durum *L. sake*'nin ortamda enerji kaynağı olarak kullanabileceği glukozun kalmadığı ve pH değerlerinin yüksek olduğu ortamlarda meydana gelmektedir. Yine SHAY ve EGAN (1988) paketlenmiş et ve fermente sucuklardan hidrojen sülfür üreten laktobasilleri izole etmişlerdir. Araştırmacılar laktobasillerin ancak oksijen ile glukoz ya da diğer fermente edilebilir şekerlerin ortamda olmadığı durumlarda H₂S ürettiğini saptamışlardır. HOLZAPFEL ve GERBER (1986) vakumla paketlenmiş ve bozulma gösteren et ürünlerinde homofermentatif laktobasillerden *L. curvatus* ve *L. sake*'nin dominant olduğunu göstermişlerdir. Yine KORKEALA ve MÄKELÄ (1989) pişmiş vakumla paketlenmiş ve bozulma gösteren sucuklarda atipik streptobakterilerin laktobasiller içerisindeki en büyük grubu oluşturduğunu bildirmektedirler. Benzer şekilde HOLY ve ark.'ı (1991) da analiz ettikleri vakumla paketlenmiş, bozulmuş Viyana sucuklarında homofermentatif laktobasiller (%58) ile leuconostokların (%36,3) predominant olduklarını tespit etmişlerdir.

Bu çalışma ile dumanlanmış ve vakumla paketlenmiş fermente sucuklarda H₂S ile karakterize arzu edilmeyen koku oluşumuna neden olan mikroorganizmaların identifikasyonu amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada Almanya'da bir işletmede üretilen ve paketlenme materyali içerisinde H₂S oluşumu gözlenen dumanlanmış ve vakumla paketlenmiş fermente sucuk numuneleri materyal olarak kullanıldı. Aynı işletmede üretilen sucuk numuneleri üretim gününden başlamak üzere 1 haftalık olgunlaşma periyodu ve bunu takip eden paketlenme işleminden sonraki 3 haftalık muhafaza süresince analiz edildi.

Sucuk Yapım Teknolojisi

Çalışma materyali olarak kullanılan fermente sucuk numuneleri, 1/3 sığır eti, 1/3 domuz eti ve 1/3 oranlarındaki domuz yağına nitrit tuzu (%2,5), şeker (%0,2-0,5), baharat karışımı, lezzet arttırıcılar ve

askorbik asit ilavesi ile üretilen ve dumanlama işlemine tabi tutulan fermente bir üründür. Bu sucukların yapımında starter olarak ticari FERMENTS DE MATURATION (*L. plantarum*, *Micrococcus*, *Pediococcus*; Laboratoires G. Roger, Fransa) karışık liyofilize kültürü kullanılmaktadır. Yapım sonrası 10 mm çapında polietilen kılıflara doldurulan ürünler 1 haftalık olgunlaşma periyodunu takiben paketlenerek piyasaya sunulmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan numuneler vakumla paketlenen sonra 2 gruba ayrıldı. Gruplardan biri buzdolabı sıcaklığında diğeri oda sıcaklığında muhafazaya alındı.

Organoleptik Muayeneler

Paketlemeyi takiben buzdolabı ve oda sıcaklığında muhafaza edilen numuneler, 3 haftalık muhafaza süresince 5 kişiden oluşan bir ekibin yaptığı panel ile gaz oluşumu ve lezzet bozuklukları yönünden incelendi.

Mikrobiyolojik Analizler

Bu amaçla sucuk üretiminin 0., 1., 2., 3. ve ürünün paklendiği 7. gün ile paketlemeyi takip eden 1., 2., ve 3. haftalarda alınan numuneler mikrobiyolojik yönden analiz edildi. Yaklaşık 10 g ağırlığındaki herbir numune 90 ml steril peptonlu su ilavesiyle sulandırıldıktan sonra 3 dakika süreyle stomacher'da homojenize edildi. Daha sonra steril peptonlu su ile 10^{-8} 'e kadar desimal dilusyonları hazırlanan numunelerden damla plak yöntemiyle çift paralelli ekimler gerçekleştirildi.

Mikrobiyolojik analizler çerçevesinde kullanılan besi yerleri ile bunlara ait inkübasyon koşulları Çizelge 1'de verilmiştir. Ayrıca pseudomonasların identifikasyonunda CYTOCHROM-OXIDASE (Fa. ORGANON TEKNIKA) test kağıtları ile *Enterobacteriaceae*'ların identifikasyonunda ENTEROTUBE-TESTS (Fa. ROCHE) sistemi kullanıldı. Gaz oluşumu gözlenen numunelerden izole edilen şüpheli laktobasiller ile üretimde kullanılan starter kültürlerin identifikasyonu Hür Berlin Üniveritesi Veteriner Fakültesi Et Hijyeni Enstitüsü'nde gerçekleştirildi.

Çizelge 1. Mikrobiyolojik Muayenelerde Kullanılan Besi Yerleri ve İnkübasyon Koşulları

Aranan mikroorganizma	Besi Yeri	İnkübasyon Derece ve Süresi	İnkübasyon Ortamı
Aerob genel canlı	Plate Count Agar (OXOID)	30°C/2 gün	aerob
Laktobasiller	Laktobazillenagar (REUTER 1968)	30°C/2 gün	anaerob
Aside dirençli laktobasiller	Laktobazillenagar % 0,04 sorbik asit ilaveli (REUTER 1970)	30°C/2 gün	anaerob
Mikrokok ve stafilokoklar	BAIRD-PARKER Agar (OXOID)	37°C/2 gün	aerob
Enterobakteriler	Violet-Red-Bile-Glucose-Agar (OXOID)	37°C/2 gün	anaerob
Koliform mikroorganizmalar	Violet-Red-Bile-Lactose-Agar (OXOID)	37°C/2 gün	anaerob
Enterokoklar	SLANETZ-BARTLEY Medium (OXOID)	37°C/2 gün	aerob
Pseudomonaslar	Pseudomonas Agar Base (OXOID)	30°C/2 gün	aerob
Maya ve küfler	Bengalred-Chloramphenicol-Agar (OXOID)	25°C/7 gün	aerob

pH Değerleri Tayini

Numunelerin pH değerleri elektronik PORTAMESS 751 (Fa. KNICK, Almanya) tip pH metre ile ölçüldü.

H₂S Tayini

Numunelerin paketlenme materyali içerisinde bulunan H₂S miktarı tayini Naturwissenschaftliches Laboratorium'da (Scmalenbachstr. 11, 100 Berlin 44, Almanya) yapıldı.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Paketlemenin 3. ya da 4. gününden itibaren gerek oda sıcaklığında gerekse buzdolabında muhafaza edilen numunelerde paketin açılmasıyla birlikte az veya çok belirgin olan H₂S kokusu tespit edilmiştir. Bu koku muhafazayı takibeden 3 haftalık süre içerisinde varlığını korumuştur. Test edilen numunelerde lezzet değişiklikleri saptanmamıştır. Ayrıca numunelerde muhafaza sıcaklığına bağlı olarak H₂S oluşumu yönünden önemli fark gözlenmemiştir.

Numunelerin mikrobiyolojik analizlerinde floranın normal gelişme gösterdiği ve olgunlaşma periyodunun ilk günlerinden itibaren laktobasiller ile aside dirençli laktobasillerin dominant hale geçerek 10⁷-10⁸ kob/g değerlerine ulaştığı, aerob genel canlı mikroorganizmaların gelişiminin de büyük ölçüde laktobasillere benzer bir seyir izlediği ve sayılarının kısmen laktobasillerden fazla olduğu gözlenmiştir. Laktobasillerden sonra koagulaz negatif stafilokok ve mikrokoklar en sık izole edilen grubu oluşturmuşlardır. Başlangıçta 10³-10⁴ kob/g olan enterokokların sayısı muhafaza süresince büyük ölçüde değişmeden kalmıştır. Buna karşın ilerleyen olgunlaşma periyoduna bağlı olarak pseudomonas, koliform mikroorganizmalar, enterobakteriler ile maya ve küflerin sayısında düzenli bir azalma gözlenmiş ve sayıları ilk hafta içerisinde 10³-10⁴ kob/g'dan saptama sınırı olan 2,0x10² kob/g'ın altına düşmüştür.

Olgunlaşma periyodunun ilk gününde VRBG-Agarda üreyen tipik kolonilerden Enterotube testiyle yapılan identifikasyonlarda başta *Serratia liquefaciens* olmak üzere *Hafnia alvei*, *Klebsiella oxytoca*, *Yersinia enterocolitica* ve *Enterobacter sakazaii* saptanmıştır. Ancak identifiye edilen türlerin hiçbirinin H₂S oluşturma yeteneğinde olmadığı görülmüştür.

Az veya çok belirgin hidrojen sülfür kokusu saptanan paketlenmiş sucuk numunelerinden yapılan laktobasillerin identifikasyonunda 3,0x10³-3,4x10⁴ kob/g miktarlarında H₂S pozitif *Lactobacillus curvatus* (atipik streptobakteri A₃) bulunmuştur. Ayrıca üretimde kullanılan starter kültür komponentlerini oluşturan *L. plantarum*'un varlığına numunelerde paketlenmeyi takip eden günlerde rastlanmazken mikrokoklar ancak düşük düzeylerde bulunmuştur.

Analiz edilen numunelerin başlangıçta 5,7-5,8 olan pH değerleri fermentasyon periyodunun 3. veya 4. günlerinde minimum 5,3'e düşmüş, daha sonra hafif bir artışla 5,5-5,6'ya yükselmiştir.

Toplam 12 adet sucuk numunesinin paketlenme materyali içerisinde 4-12 µg/L miktarlarında H₂S gazı saptanmıştır.

TARTIŞMA

Dumanlanmış ve vakumla paketlenmiş fermente sucuklarda, *Lactobacillus curvatus*'un (atipik streptobakteri A₃) H₂S oluşumunun gerçek nedeni olarak saptandığı bu çalışma sonuçları ile EGAN ve ark. (1989), HANNA ve ark. (1983), LEE ve SIMARD (1989), SHARPE ve FRANKLIN (1962) ile SHAY ve EGAN'ın (1981, 1988) bulguları uyum göstermektedir. Zira araştırmacılar vakumla paketlenmiş et ve et ürünlerinde laktobasillerin H₂S oluşturduğunu bildirmişlerdir. Fermente sucuk numunelerinde kaynağını muhtemelen işletme florasından alan *L. curvatus* sayısının 10³-10⁴ kob/g gibi çok yüksek olmayan düzeylerde bulunması sözkonusu mikroorganizmaların H₂S oluşturmaları için yeterli olmuştur. Benzer şekilde BORCH ve NERBRINK (1989) paketlenmiş et ürünlerinde arzu edilmeyen koku oluşumu ile bakteri sayısı arasında direkt bir ilişkinin bulunmadığını bildirmektedirler.

EGAN ve ark. (1989) ile SHAY ve EGAN'ın (1981) bulgularından farklı olarak bu çalışmada daha düşük pH değerlerinde H₂S oluşumunun gözlenmesi; izole edilen etkenin, ürünün ve muhtemelen ortamdaki fermente edilebilir şeker ve miktarlarının farklılığına bağlanabilir.

Diğer taraftan H₂S gazı saptanan numunelerde starter kültür komponentlerini oluşturan *L. plantarum*'a hiç rastlanamazken mikrokokların ancak düşük düzeylerde bulunması ilave edilen starterlerin

düşük aktiviteye sahip oldukları ve arzu edilen etkiyi sağlayamadıkları sonucunu doğurmaktadır. Fermente sucuklarda istenilen hijyenik ve teknolojik etkilerin sağlanabilmesi için ilave edilen starter kültürlerin aktif olmaları ve sayılarının 10^6 - 10^7 kob/ğ'dan düşük olmaması gerekmektedir (KATO ve ark. 1985; LÜCKE ve HECHELMANN 1986).

Sonuç olarak, et ürünlerinin doğal florasını oluşturan laktik asit bakterileri arasında kaynağını genellikle işletme florasından alan ve H_2S oluşturma özelliğine sahip türler bulunabilir. Bu türler belirli koşullarda vakumla paketlenmiş et ve fermente et ürünlerinde arzu edilmeyen koku ve renk oluşumuna neden olabilirler. Ancak bu problem, işletmelerde temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin titizlikle uygulanması yanı sıra, ürüne özgü aktif starter kültürlerin kullanılması ile büyük ölçüde kontrol altına alınabilir.

KAYNAKLAR

- BORCH, E., E. NERBRINK. 1989. Shelf-life of emulsion stored in vacuum or modified atmospheres. Proceedings of 35th International Congress of Meat Science and Technology, Copenhagen, Denmark, Vol. III., 470-471. Alınmıştır: BORCH, E.-H. BERG, O. HOLST. 1991. J. Appl. Bacteriol. 71, 265-269.
- BORELAND, P.C. 1988. A study of the lactobacilli in Wiltshire-cured vacuum packed bacon. Dissertation Abstracts International, B 49 (1) 8.
- EGAN, A. F., B. J. SHAY, P. J. ROGERS. 1989. Factors affecting the production of hydrogen sulphide by *Lactobacillus sake* L13 growing on vacuum-packaged beef. J. Appl. Bacteriol. 67,(3),255-262.
- GILL, C. O., 1976. Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. J. Appl. Bacteriol. 41, 401-410.
- HANNA, M. O., J. W. SAVELL, G. C. SMITH, D. E. PURSER, F. A. GARDNER, C. VANDERZANT. 1983. Effect of growth of individual meat bacteria on pH, color and odor of aseptically prepared vacuum-packaged round steaks. J. Food Prot. 46, (3) 216-221.
- HOLY, A., T. E. CLOETE, W. H. HOLZAPFEL. 1991. Quantification and characterization of microbial populations associated with spoiled, vacuum-packed Vienna sausage. Food Microbiol. 8, 95-104.
- HOLZAPFEL, W. H., E. S. GERBER. 1986. Predominance of *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake* in the spoilage association of vacuum-packaged meat products. Proceedings of the 32nd European Meeting of Meat Research Workers, Ghent, Belgium.
- KATO, T., K. KANIE, I. SHIGA, Y. SATO. 1985. Preparation of fermented sausage using lactic acid bacteria. J. Agr. Chem. Soc. Japan. 59 (11)11-17.
- KORKEALA, H., P. MÄKELÄ. 1989. Characterization of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged cooked ring sausage. Int.J. Food Microbiol. 9 (1)33-43.
- LEE, B. H., R. E. SIMARD. 1984. Evaluation of methods for detecting the production of H_2S , volatile sulfides, and greening by lactobacilli. J. Food Sci. 49, 981-983.
- LÜCKE, F. K., H. HECHELMANN. 1986. Starterkulturen für Rohwurst und Rohschinken. Fleischwirtsch. 66 (2)154-166.
- MORISHITA, Y., K. SHIROMIZU. 1986. Characterization of lactobacilli isolated from meats and meat products. Int. J. Food Microbiol. 3, 19-29.
- REUTER, G. 1967. Atypische Streptobakterien als dominierende Flora in reifender und gelagerter Rohwurst. Fleischwirtsch. 47, 189-195.
- REUTER, G. 1968. Erfahrungen mit Nährböden für die selektive mikrobiologische Analyse von Fleischerzeugnissen. Arch. Lebensmittelhyg. 19,53 ve 84.
- REUTER, G. 1970. Mikrobiologische Analyse von Lebensmitteln mit selektiv Medien. Arch. Lebensmittelhyg. 21, 30-.
- SCHILLINGER, U., F. K. LÜCKE. 1986. Milchsäurebakterien-Flora auf vakuumverpacktem Fleisch und ihr Einfluß auf die Haltbarkeit. Fleischwirtsch. 66 (10)1515-1520.
- SEIDEMANN, S. C., C. VANDERZANT, G. C. SMITH, M. O. HANNA, Z. L. CARPENTER. 1976. Effect of degree of vacuum and length of storage on the microflora of vacuum packaged beef wholesale cuts. J. Food Sci. 41, 738-742.
- SHARPE, M. E., J. G. FRANKLIN. 1962. Production of hydrogen sulfide by lactobacilli with special reference to strain isolated from cheddar cheese. (Abst.). 8th Int. Cong. Microbiol. 46. Alınmıştır: LEE, B. H., R. E. SIMARD. 1984. J. Food Sci. 49, 981-983.
- SHAY, B. J., A. F. EGAN. 1981. Hydrogen sulphide production and spoilage of vacuum-packaged beef by a *Lactobacillus*. In: Psychotropic microorganisms in spoilage and pathogenicity. Eds. ROBERTS, T. A., G. HOBBS, J.H. B. CHRISTIAN, N. SKOVGAARD. Academic Press, London, p.241.
- SHAY, B. J., A. F. EGAN. 1988. A medium for the isolation and selective enumeration of hydrogen sulphide-producing lactobacilli. J. Appl. Bacteriol. (in press). Alınmıştır: EGAN, A. F., B. J. SHAY, P. J. ROBERTS. 1989. J. Appl. Bacteriol. 67, 255-262.
- SUTHERLAND, J. P., J. T. PATTERSON, J. G. MURRAY. 1975. Changes in the microbiology of vacuum-packaged beef. J. Appl. Bacteriol. 39, 227-237.
- VANDERZANT, C., M. O. HANNA, J. G. EHLERS, J. W. SAVELL, G. C. SMITH, D. B. GRIFFIN, R. N. TERRELL, K. D. LIND, D. E. GALLOWAY. 1982. Centralized packaging of beef loin steaks with different oxygen-barrier films. Microbiological characteristics. J. Food Sci. 47, 1070-1079.
- WIEGNER, J. 1985. Sensorische Analyse, mikrobiologischer Befund und D (-)-Lactat-Konzentration als Parameter der Frischercharakterisierung von vakuumverpacktem Rindfleisch. Diss. Vet. Med., Freie Universität Berlin.