



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



**KLASİK (OLGUNLAŞTIRILMIŞ) BEYAZ PEYNİR
ÜRETİMİNİN FARKLI AŞAMALARINDAN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU,
İDENTİFİKASYONU VE TEKNOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

DR-22.01

NİSANUR EKTİK

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Bilim Alan Kodu: 10102.10



BALIKESİR

2022

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLASİK (OLGUNLAŞTIRILMIŞ) BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNİN
FARKLI AŞAMALARINDAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU VE TEKNOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

DR-22.01

NİSANUR EKTİK

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. MUKADDERAT GÖKMEN

ORTAK TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. RECEP ÇIBIK

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 10102.10

BALIKESİR

2022



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ KABUL VE ONAY

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde **Nisanur EKTİK** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“Klasik (Olgunlaştırılmış) Beyaz Peynir Üretiminin Farklı Aşamalarından Laktik
Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Teknolojik Özelliklerinin
Belirlenmesi”**

başlıklı tez çalışması,
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından
DOKTORA TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10/03/2022

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Süleyman ALEMDAR
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi
(**Başkan**)

Doç. Dr. Mukadderat GÖKMEN
Balıkesir Üniversitesi
Üye (**Danışman**)

Prof. Dr. Ziya İLHAN
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Recep KARA
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Hakan TAVŞANLI
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Doktora Tezi,
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 08/04/2022 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK
Enstitü Müdürü

BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi **beyan ederim.**

08/04/2022

Nisanur EKTİK

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının tamamı Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri 2019/053 nolu “Klasik (Olgunlaştırılmış) Beyaz Peynir Üretiminin Farklı Aşamalarından Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı projeden üretilmiştir.

Tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen başta danışman hocalarım Doç. Dr. Mukadderat GÖKMEN ve Prof. Dr. Recep ÇIBIK’a, tezime katkılarından dolayı tez izleme komitesi jürimde yer alan Dr. Öğr. Üyesi Hakan TAVŞANLI ve Prof. Dr. Ziya İLHAN’a, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK’a, laboratuvar çalışmaları esnasında yardımları ile katkı sağlayan değerli arkadaşlarım Dr. Adem ÖNEN ve Enise Begüm GÖÇMEZ’e; MALDI-TOF MS analizi için T.C Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları ve Biyolojik Ürünler Dairesi Başkanlığı’na ve Dr. Yasemin NUMANOĞLU ÇEVİK’e teşekkür ederim.

Sadece doktora süresince değil, hayatımın tüm anlarında yanımda olan ve beni her koşulda destekleyen sevgili aileme sonsuz şükran ve teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Peynir.....	3
2.2. Laktik Asit Bakterileri.....	8
2.2.1. Genel Özellikleri.....	8
2.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması	9
2.2.2.1. <i>Lactobacillus</i> spp.	9
2.2.2.2. <i>Lactococcus</i> spp.	10
2.2.2.3. <i>Streptococcus</i> spp.....	11
2.2.2.4. <i>Leuconostoc</i> spp.....	12
2.2.2.5. <i>Pediococcus</i> spp.	13
2.2.2.6. <i>Enterococcus</i> spp.	14
2.2.2.7. <i>Weissella</i> spp.....	15
2.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Gıda Endüstrisinde Uygulamaları	16
2.2.3.1. Starter ve İkincil Kültür Olarak Kullanımları	16
2.2.3.2. Biyokoruyucu Olarak Kullanımları	18
2.2.3.3. Probiyotik Olarak Kullanımları	19
2.2.4. Laktik Asit Bakterilerinin Teknolojik Özellikleri	20
2.2.4.1. Glikoliz ve Asit Üretimi.....	20
2.2.4.2. Proteolitik Aktivite.....	22
2.2.4.3. Lipolitik Aktivite	23
2.2.5. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri	24
2.2.5.1. Fenotipik Yöntemler	25

2.2.5.2. Genotipik Yöntemler	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Gereç	29
3.1.1. Örnekleme.....	29
3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Kimyasallar	30
3.1.2.1. Besiyerleri	30
3.1.2.2. Kimyasallar	30
3.1.2.3. Antibiyotik Diskleri	31
3.1.2.4. Gram Boyama Çözeltileri	32
3.2. Yöntem	32
3.2.1. Örneklerin Toplanması ve Analize Alınması	32
3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler	32
3.2.2.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Sayımı.....	32
3.2.2.2. Toplam Aerobik Psikrofilik Bakteri (TAPB) Sayımı.....	33
3.2.2.3. Maya Sayımı	33
3.2.2.4. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu.....	33
3.2.3. LAB İzolatlarının İdentifikasyonu.....	34
3.2.3.1. LAB İzolatlarının Ön İdentifikasyonu	34
3.2.3.2. LAB İzolatlarının Moleküler İdentifikasyonu	36
3.2.4. İzolatların Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	37
3.2.4.1. Asit Üretim Kapasitesi	38
3.2.4.2. Proteolitik Aktivite.....	38
3.2.4.3. Farklı Sıcaklık Derecelerinde Gelişebilme	39
3.2.4.4. Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişebilme	39
3.2.4.5. Farklı pH Değerlerinde Gelişebilme	39
3.2.4.6. Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi.....	40
3.2.4.7. Antimikrobiyal Aktivite.....	40
3.2.5. Kimyasal Analizler	41
3.2.5.1. Süt Örneklerinin Kimyasal Analizleri	41
3.2.5.2. Peynir Örneklerinin Kimyasal Analizleri	41
3.2.6. İstatistiksel Analizler	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	45
4.1.1. TAMB, TAPB ve Maya Sayım Sonuçları	45

4.1.2. LAB Sayım Sonuçları.....	47
4.2. LAB İzolasyonu	49
4.3. MALDI-TOF MS Yöntemi ile İzolatların Tanımlama Sonuçları	50
4.4. Bazı LAB İzolatlarının Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	60
4.4.1. Asit Üretim Kapasitesi.....	61
4.4.2. Proteolitik Aktivite	62
4.4.3. Farklı Sıcaklık Değerlerinde Gelişebilme	64
4.4.4. Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişebilme.....	65
4.4.5. Farklı pH Değerlerinde Gelişebilme.....	66
4.4.6. Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi.....	66
4.4.7. Antimikrobiyal Aktivite	68
4.5. Kimyasal Analiz Sonuçları.....	69
4.5.1. Süt Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları	69
4.5.2. Peynir Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları	70
5. TARTIŞMA	72
5.1. Mikrobiyolojik Analizler.....	72
5.2. Teknolojik Özellikler	84
5.3. Kimyasal Analizler.....	90
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	93
KAYNAKLAR	95
ÖZGEÇMİŞ.....	113

ÖZET

KLASİK (OLGUNLAŞTIRILMIŞ) BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNİN FARKLI AŞAMALARINDAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU VE TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, Balıkesir ilinde starter kültür kullanılmadan geleneksel yöntemle üretilen klasik beyaz peynirin doğal mikroflorasında bulunan laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve elde edilen izolatların fenotipik ve genotipik identifikasyonu ile bazı izolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaşma süresinin farklı basamaklarından (çiğ ve ısıl işlem uygulanmış süt, teleme, ön olgunlaştırma ile olgunlaştırmanın 30, 60, 90 ve 120. günleri) alınan örneklerin mikrobiyolojik ve kimyasal analizleri yapılmıştır. Örneklerden izole edilen ve ön tanımlama testleri ile fenotipik olarak laktik asit bakterisi olduğu belirlenen 319 izolat matris ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) yöntemi ile tanımlanmıştır. Buna göre baskın florayı *Streptococcus* spp. (%33.54), *Enterococcus* spp. (%22.88) ve *Lactobacillus* spp. (%17.55) cinsi laktik asit bakterilerinin oluşturduğu belirlenmiştir. Tür düzeyinde en baskın izolatlar ise *Streptococcus gallolyticus* (%12.85), *Lactococcus lactis* (%11.91), *Enterococcus faecalis* (%11.60) ve *Pediococcus acidilactici* (%11.29) olarak tespit edilmiştir. Teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla seçilen izolatlardan, asidifikasyon yeteneği en iyi olan izolatların *P. acidilactici*, *E. faecalis* ve *E. faecium*; en yüksek proteolitik aktivite gösteren izolatların ise *Lactobacillus rhamnosus*, *Lb. paracasei* ve *Lb. plantarum* olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak elde edilen izolatlardan bazılarının klasik beyaz peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılabilir potansiyelinin olduğu belirlenmiştir. Bu izolatların peynir üretimindeki performansları ve etkilerinin ayrıca değerlendirilmesinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Klasik beyaz peynir, laktik asit bakterileri, MALDI-TOF MS, teknolojik özellikler.

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA FROM DIFFERENT STAGES OF CLASSIC (RIPENED) WHITE CHEESE PRODUCTION AND DETERMINATION OF TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS

In this study, it was aimed to isolate the lactic acid bacteria found in the natural microflora of the classical white cheese produced by the traditional method without the use of starter culture in Balıkesir province, and to determine the phenotypic and genotypic identification and technological properties of the obtained isolates.

For this purpose, microbiological and chemical analyzes of the samples taken from the different stages of the classical white cheese production stage and maturation period (raw and heat-treated milk, curd, pre-ripening, and 30th, 60th, 90th, and 120th days of ripening) were performed. A total of 319 isolates which were isolated from the samples and determined to be lactic acid bacteria phenotypically by preliminary identification tests were identified by the matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometer (MALDI-TOF MS) method. Accordingly, it was determined that the dominant flora is formed by the lactic acid bacteria genus, *Streptococcus* spp. (33.54%), *Enterococcus* spp. (22.88%) and *Lactobacillus* spp. (17.55%). The most dominant isolates at the species level were found out to be *Streptococcus gallolyticus* (12.85%), *Lactococcus lactis* (11.91%), *Enterococcus faecalis* (11.60%) and *Pediococcus acidilactici* (11.29%). Of the isolates selected for the determination of their technological characteristics, it is determined that the isolates with the best acidification ability were *P. acidilactici*, *E. faecalis*, and *E. faecium*, and the isolates with the highest proteolytic activity were *Lactobacillus rhamnosus*, *Lb. paracasei* and *Lb. plantarum*.

As a result, it was determined that some of the obtained isolates have the potential to be used as starter cultures in the production of classical white cheese. It was concluded that it would be appropriate to evaluate the performances and effects of these isolates in cheese production separately.

Keywords: Classic white cheese, lactic acid bacteria, MALDI-TOF MS, technological characteristics.

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATCC	: American Type Culture Collection (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu)
CFS	: Cell-Free Supernatant (Hücre İçermeyen Supernatant)
Dk.	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
<i>E.</i>	: <i>Enterococcus</i>
EFSA	: European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
FDA	: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)
Gr.	: Gram
GRAS	: Generally Recognized as Safe (Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen)
Kob	: Koloni Oluşturan Birim
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
<i>Lb.</i>	: <i>Lactobacillus</i>
<i>Lc.</i>	: <i>Lactococcus</i>
<i>Ln.</i>	: <i>Leuconostoc</i>
Log	: Logaritma
L.	: Litre
MALDI-TOF MS	: Matriks Assisted Lazer Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometrisi)
Mg	: Miligram

ml.	: Mililitre
NSLAB	: Non-Starter Lactic Acid Bacteria (Starter Olmayan Laktik Asit Bakterileri)
<i>P.</i>	: <i>Pediococcus</i>
Rpm	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
<i>S.</i>	: <i>Streptococcus</i>
Sn.	: Saniye
<i>Spp.</i>	: Species (Türler)
<i>Ssp.</i>	: Subspecies (Alttürler)
TAMB	: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri
TAPB	: Toplam Aerobik Psikrofilik Bakteri
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
α	: Alfa
β	: Beta
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
μ g	: Mikrogram
μ l	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Klasik Beyaz Peynir Üretim Akış Şeması.....	6
Şekil 2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Glikoliz Metabolizması Yolları.....	21
Şekil 3.1. Araştırma Grubunu Oluşturan Örnekler	29
Şekil 4.1. Klasik Beyaz Peynir Üretim Aşaması ve Olgunlaştırma Süresince TAMB, TAPB ve Maya Sayısı Değişimi.....	46
Şekil 4.2. Klasik Beyaz Peynir Üretim Aşaması ve Olgunlaştırma Süresince LAB Sayısı Değişimi.....	48
Şekil 4.3. Tanımlanan LAB İzolatlarının Cins Düzeyinde Dağılımı.....	60

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Süt ve Peynir Üretim İstatistikleri.....	4
Tablo 3.1. Örnek Alım Periyotları.....	29
Tablo 3.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri	30
Tablo 3.3. Çalışmada Kullanılan Antibiyotik Diskleri.....	31
Tablo 4.1. Klasik Beyaz Peynir Üretim Aşaması ve Olgunlaştırma Süresince TAMB, TAPB ve Maya Sayısı Değişimi	45
Tablo 4.2. Klasik Beyaz Peynir Üretim Aşaması ve Olgunlaştırma Süresince LAB Sayısı Değişimi	47
Tablo 4.3. Örneklerden İzole Edilen LAB İzolat Sayısı	49
Tablo 4.4. MALDI-TOF MS ile İzolatların Tanımlama Sonuçları.....	50
Tablo 4.5. Tanımlanan LAB İzolatlarının Cins ve Tür Düzeyinde Dağılımı.....	59
Tablo 4.6. Tanımlanan LAB İzolatlarının Örneklere Göre Cins Düzeyinde Dağılımı.....	60
Tablo 4.7. Teknolojik Özellikleri Bakımından Değerlendirmeye Alınan LAB İzolatları	61
Tablo 4.8. LAB İzolatların 0, 3, 6, 9 ve 24. Saatlerde pH ve % Laktik Asit Değerleri.....	62
Tablo 4.9. LAB İzolatlarının Proteolitik Aktivite Değerleri	63
Tablo 4.10. LAB İzolatlarının Farklı Sıcaklıklarda Gelişebilme Değerleri	64
Tablo 4.11. LAB İzolatlarının Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişebilme Değerleri.....	65
Tablo 4.12. LAB İzolatlarının Farklı pH'larda Gelişebilme Değerleri	66
Tablo 4.13. LAB İzolatlarının Antibiyotik Direnç Değerleri.....	67
Tablo 4.14. LAB İzolatlarının Antimikrobiyal Aktivite Değerleri	68
Tablo 4.15. Süt Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları.....	69
Tablo 4.16. Peynir Örneklerinin Olgunlaştırma Süresince Kimyasal Analiz Sonuçları.....	71

1. GİRİŞ

Sütteki besin öğelerinin büyük bir kısmını içeren, yüksek biyolojik değere ve uzun dayanma süresine sahip olan peynir; dünyada 2000'den fazla çeşidi olan ve süt ürünleri içerisinde en fazla üretilen önemli bir süt ürünüdür (Tekinşen, 2005; Vlahović ve ark., 2014). Başta kahvaltı olmak üzere birçok öğünde yaygın olarak tüketilen; tatlılar, börekler ve salatalar gibi çeşitli yemeklerde kullanılan peynir, Türk mutfak kültürünün de vazgeçilmez bir unsuru olarak görülmektedir. İçerdiği besin öğeleri ile tüm yaş grupları için yeterli ve dengeli beslenmenin en iyi kaynaklarından biridir. Ekonomik açıdan bakıldığında ise ülkemizde hem iç pazarda hem de dış ticarete önde gelen ürünlerden biri olarak değerlendirilir (International Dairy Federation [IDF], 2019). Dünyada 2020 yılında yaklaşık 21,69 milyon ton peynir üretimi gerçekleştiği bildirilmiştir. Bu üretimin yaklaşık %48'i (10,35 milyon ton) Avrupa Birliği Ülkeleri'nde (27 ülke), %28'i (6 milyon ton) ise Amerika Birleşik Devletleri'nde gerçekleşmiştir (Shahbandeh, 2021). Türkiye'de ise Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre, 2020 yılında toplam 756,65 ton peynir üretildiği bildirilmektedir (TÜİK, 2020a).

Anadolu'nun ilk yerleşim bölgelerinden olan Balıkesir ve çevresinin, tarihi pek çok önemli olayların yanı sıra peynir üretiminin de gerçekleştiği ilk noktalardan biri olduğu bilinmektedir. Bunun ispatı olarak bölgede bulunan 8500 yıllık geçmişe sahip çömlek kaplar gösterilmiştir. Bu bölgede gerçekleştirilen çeşitli incelemelerde araştırmacılar, bölgede süt hayvancılığının ve peynir üretiminin ilk örnekleri olduğunu vurgulamaktadır. Geçmişten bu yana süt ve süt ürünleri Balıkesir halkı için hem mutfaklarının temel beslenme unsurları hem de ticari kazanç kaynakları olarak önemli bir yer tutmaktadır (Bal Onur ve Aksoy Biber, 2017). "Türkiye'yi doyuran il" olarak adlandırılan Balıkesir; coğrafi konumu, kültürü, mevsim elverişliliği ve hayvansal ürün çeşitliliği gibi faktörlerin etkisiyle aynı zamanda pek çok yöresel peynire ev sahipliği yapmaktadır (Kafaoğlu, 2017). Bunlardan Manyas kelle peyniri 2020 itibarıyla coğrafi işaret olarak tescillenmiştir (Türk Patent ve Marka Kurumu, 2020).

Balıkesir’de en çok üretilen ve tüketilen peynir çeşitlerinin biri de beyaz peynirdir. Olgunlaştırma işleminden sonra tüketime sunulan beyaz peynirler grubundan olan klasik beyaz peynir, başta Balıkesir olmak üzere Marmara bölgesinde geleneksel olarak üretilen, oldukça yoğun bir aromaya sahip, lokum kıvamında tabir edilen, fiyatı kültürlü beyaz peynirden pahalı olup, piyasadan yüksek talep gören bir beyaz peynir çeşididir. Balıkesir’de üretilen klasik beyaz peynir, üreticiden üreticiye değişmekle birlikte, genellikle çiğ inek sütüne 63-65°C’de 15-20 dk. ısı işlem uygulanarak, starter kültür inokule edilmeden sütün doğal laktik asit bakterisi (LAB) florası ile üretilmekte ve %12-14 salamura içerisinde 4-5°C’de en az 4 ay gibi uzun bir süre uygun koşulların sağlandığı depolarda depolanmak suretiyle olgunlaştırılarak elde edilmektedir. Geleneksel olarak üretilen klasik beyaz peynirin üretimine ait standart bir üretim şekli bulunmadığından, işletmeler farklı ısı işlem ve olgunlaştırma yöntemleri uygulayabilmektedir. Bu da üretilen peynirlerin her birinin farklı tat ve dokuda olmasına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra üretilen peynirlerin az bir kısmı endüstriyel olarak üretilirken, büyük bir bölümü küçük işletmelerde ve yerel mandıralarda üretilmektedir. Bu sebeple üretim aşamalarında yeterli kalite kontrolünün yapılamaması ve standart bir üretiminin uygulanmaması, son ürünün farklı kalitede olmasına ve verim kaybına zemin hazırlamaktadır.

Yapılan literatür taramalarında Balıkesir’de geleneksel yöntemlerle üretilen klasik beyaz peynirin laktik asit bakteri florasının belirlenmesine yönelik bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışmasında, klasik beyaz peynirin üretim aşaması ve olgunlaştırma süresince mikroflorasında bulunan laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve elde edilen izolatların fenotipik ve genotipik identifikasyonunun yapılması amaçlanmıştır. Buna ilaveten identifiye edilen izolatların teknolojik özellikleri ve gıda endüstrisinde peynir üretiminde kullanılabilirliği araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Peynir

Süt, mikroflorasında doğal olarak bulunan mikroorganizmalar ile sağım sırasında ve sonrasında meydana gelen kontaminasyonlar nedeniyle zengin bir mikrobiyotaya sahiptir. Süt, içerdiği besin öğelerinden dolayı mikroorganizmalar için ideal bir üreme ortamıdır. Uygun şartlarda muhafaza edilmediği takdirde hızlı bir şekilde bozulabileceğinden dolayı, birkaç günden fazla saklanamayacağı için toplandıktan kısa bir süre sonra işlenmelidir (Organisation for Economic Co-operation Development-Food and Agricultural Organization [OECD-FAO], 2020). Bunun yanı sıra hacimli olması nedeniyle taşınması zor olduğundan ve lezzet bakımından farklı ürünler elde edebilmek amacıyla daha dayanıklı ürünlere işleme ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Dünyada üretilen sütün en fazla ve yaygın değerlendirilme şekli ise peynire işleme şeklindedir. Bu durumun başlıca sebebinin peynirin sütteki besin öğelerinin önemli bir kısmını içermesi, uzun dayanma süresine sahip olması ve kısa sürede sütün peynire işlenerek değerlendirilebilmesidir (Tekinşen ve Tekinşen, 2005; Tekinşen ve Uçar, 2006). Peynir üretiminin yaklaşık 8000 yıl önce insanların hayvan yetiştirme ve sütlerini işlemeye başlaması ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (Sandine ve Elliker, 1970). Peynir, çoğunlukla inek sütü olmak üzere, koyun, keçi, manda sütlerinin uygun bir proteolitik enzim veya zayıf organik asitlerle (laktik asit, asetik asit, sitrik asit vb.) pıhtılaştırılmasıyla elde edilen telemenin işlenerek taze ya da belirli koşullar altında olgunlaştırma işlemi uygulanarak üretilen, besleyici değeri yüksek bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır. Türkiye'nin 2020 yılı itibariyle toplam peynir üretimi 756,65 ton (729,54 ton inek peyniri + 27,11 ton diğer peynirler), peynir ihracatı ise 49 bin ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2020a; Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü [TEPGE], 2021) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Süt ve peynir üretim istatistikleri.

Süt Üretim Miktarı (bin ton)	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Dünya	781084,61	795962,95	806594,44	826284,19	841878,18	849856,73	861402,49
Türkiye	18630,86	18223,71	18489,16	20699,89	22120,72	22960,38	-
Balıkesir	790,73	747,84	716,93	696,20	714,12	724,49	-
Peynir Üretim Miktarı (bin ton)	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Dünya	22309,26	22730,50	23145,42	23607,97	23761,94	24140,70	24299,55
Türkiye	631,09	665,58	657,69	687,21	753,23	696,80	756,65

(TÜİK, 2020a; TÜİK, 2020b; OECD-FAO, 2021;

TÜİK Balıkesir Bölge Müdürlüğü, kişisel iletişim, 03 Ocak 2022)

Peynir, dünyada en fazla bilinen ve tüketilen süt ürünü olup, en az 2000 farklı çeşidinin olduğu bildirilmektedir. Bu peynir çeşitleri kullanılan çiğ sütün türüne, işleme yöntemine, olgunlaştırma tekniklerine ve bulunduğu bölgeye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Montel ve ark., 2014). Her bir peynir çeşidi, uygulanan işlem ve içermiş olduğu mikroorganizmalar nedeniyle kendine özgü renk, tat, aroma ve tekstüre sahip olmaktadır (Irlinger ve ark., 2015). Türkiye’de ise 130’dan fazla peynir çeşidi olduğu ve bunlar içerisinde en çok tüketilen ve pazar payı en yüksek olan peynir çeşidinin beyaz peynir olduğu bildirilmiştir (Kamber, 2015). Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği’ne (TGK, 2015) göre beyaz peynir; hammaddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin, tekniğine uygun olarak işlenmesiyle üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren salamuralı bir peynir çeşididir. Bu tanımdan da anlaşılacağı üzere beyaz peynir, Peynir Tebliği’nde (TGK, 2015) taze (kültürlü) ve olgunlaştırılmış (klasik) beyaz peynir olmak üzere iki şekilde tanımlanmaktadır.

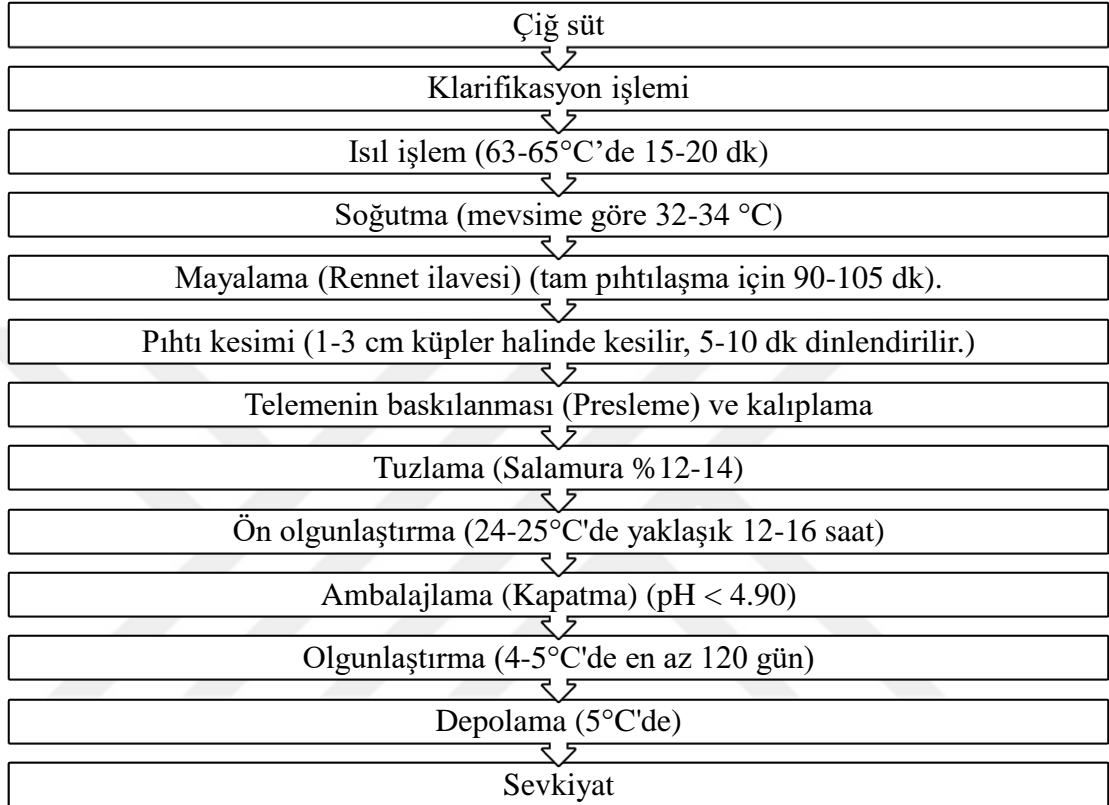
Taze beyaz peynir; pastörizasyon ve daha yüksek sıcaklıklarda ısıtma işlemi uygulanan süte starter kültür inokule edilmesi ile üretilen, üretim sürecinin sonunda olgunlaştırılmadan piyasaya arz edilen ve fiyatının uygunluğu sebebiyle sıklıkla tüketilen beyaz peynir çeşididir. Taze peynirlerde olgunlaşma tam anlamıyla sağlanmadığı için yeterli ısıtma işlemi sağlanmış olması önem arz etmektedir. Pastörize süt kullanılarak yapılan kültürlü peynir üretiminde, kimyasal ve mikrobiyolojik kalite açısından güvenli ve standart bir ürün üretimi mümkündür. Klasik beyaz peynir ise

başta Balıkesir olmak üzere ağırlıklı olarak Marmara Bölgesi'nde geleneksel koşullarda üretilen, fiyatı kültürlü beyaz peynire oranla daha pahalı, piyasadan yüksek talep gören bir beyaz peynir çeşididir. Lezzet olarak oldukça yoğun ve beğenilen bir aromaya sahip olup “lokum kıvamında” şeklinde tabir edilmektedir.

Balıkesir'de üretilen klasik beyaz peynir, üreticiden üreticiye değişmekle birlikte, genellikle çiğ inek sütüne 63-65°C'de 15-20 dk. ısı işlem uygulanmasının ardından, starter kültür inokule edilmeden sütün doğal laktik asit bakterisi (LAB) florası ile üretilmektedir. Ardından teleme tüketici taleplerine göre değişmekle birlikte ortalama 8x8x8 cm olacak şekilde kalıplar halinde tenekelere yerleştirilir, üzerine %12-14 salamura ilave edilerek tenekelere kapatılır. Tenekeler 4-5°C soğuk hava deposunda en az 4 ay gibi uzun bir süre depolanarak olgunlaştırma işlemi uygulanmaktadır (Şekil 1). Peynir Tebliği'ne (TGK, 2015) göre olgunlaşma ifadesi; her peynir çeşidinin kendine özgü yapı, tat ve aroma gibi özellikleri kazanabilmesi için belirli koşullarda ve belirli bir sürede geçirdiği fiziksel, mikrobiyolojik, enzimatik değişimler ve etkileşimler sonucu oluşan biyokimyasal olayların tümünü ifade etmektedir. Her peynir çeşidinin arzu edilen fizikokimyasal ve duyu niteliklere sahip olabilmesi için farklı olgunlaşma sürelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Peynir Tebliği'ne (TGK, 2015) göre çiğ süttten veya termizasyon işlemi uygulanan sütlerden üretilen peynirlerin olgunlaştırma süresinin en az 4 ay olması gerektiği belirtilmektedir. Ancak starter kültür kullanılmadan pastörize süttten üretilen klasik beyaz peynirler için üretici tercihinine bağlı olarak olgunlaşma süresi 4 ile 8 ay arasında değişebilmektedir.

Geçmişte ağırlıklı olarak klasik yöntemle üretimi yapılan beyaz peynirin yerini son 25-30 yıl içerisinde starter kültürlü beyaz peynir üretimi almıştır. Özellikle starter kültürlü beyaz peynirin daha kısa olgunlaşma periyodunun ardından piyasaya sürülmesi ve daha çabuk paraya çevrilmesi sebebiyle üreticinin daha hızlı kâr elde etmesi bunun başlıca nedeni olarak düşünülmektedir. Bunun yanı sıra olgunlaşma periyodu boyunca işçilik, depolama ve soğutma gibi maliyetlerin klasik beyaz peynire göre daha ekonomik olması kültürlü beyaz peynir üretiminin daha yaygın olmasını sağlamıştır.

Son yıllarda klasik beyaz peynir üretimi ülkemizin hemen her bölgesinde yapılmaktadır. Bununla birlikte gerek üretim ve gerekse üretim sonrası olgunlaştırma yöntemleri bölgelere hatta işletmelere göre farklılıklar göstermektedir. Bu sebeple üretilen peynirlerin her birinin kendine özgü tadı, kokusu ve lezzeti olmaktadır.



Şekil 2.1. Klasik beyaz peynir üretim akış şeması.

Balıkesir’de üretilen klasik beyaz peynir, bölgenin bitki örtüsü ve su kaynaklarından beslenen ineklerden elde edilen sütlerin starter kültür kullanılmadan geleneksel yöntemlerle işlenmesi ile kendine has özelliklerde üretilen bir peynirdir. Klasik beyaz peynirin üretimine ait standart bir üretim şekli bulunmadığından çoğunlukla küçük işletmelerde, ustaların bilgi ve becerisine dayalı olarak farklı ısı işlem, üretim ve olgunlaştırma yöntemleri kullanılarak üretilmektedir. Bu nedenle üretilen peynirlerin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri büyük oranda farklılık gösterebilmekte; standart bileşim ve kalite elde edilememektedir. Bu farklılıkların; beslemede kullanılan yemin kalitesi, bölgenin coğrafi koşulları, üretimde kullanılan çiğ süt, peynir üretim tekniği ve olgunlaştırma süreleri ile koşullarından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Klasik beyaz peynir yılın 12 ayında da işletmeler tarafından üretilse de özellikle nisan ve mayıs aylarında çiğ süt kalitesine bağlı olarak peynirlerin duyuşal özellikleri artmakta, bu sütlerden üretilen peynirler üreticinin ifadesiyle “Gold Peynir” olarak adlandırılarak piyasaya sürölmekte ve fiyatı daha yüksek tutulmaktadır. Aynı zamanda bu peynirler tüketici tarafından iyi talep görmektedir.

Geleneksel klasik beyaz peynir üretimi genellikle pastörizasyon normlarının altında ısı/zaman parametreleri uygulanmış sütten yapılmaktadır. Çiğ sütte doğal olarak bulunan ya da sonradan süte kontamine olan mikroorganizmaların büyük çoğunluğu yetersiz ısıl işlem nedeniyle pıhtı içerisinde kalarak telemeye geçmektedir. Bu şekilde olgunlaşma, ısıl işlem sonrası aktif kalan bakteri ve/veya enzimler aracılığıyla gerçekleşmektedir (Çakmakçı, 2011). Peynir üretiminde kullanılan süte ısıl işlem uygulanmadığında veya yetersiz uygulandığında, sütten gelen ve üretim sırasında bulaşan mikroorganizmalar hızla çoğalabilmektedir. Bu mikroorganizmalardan bazıları sağlığı tehdit etmeden olgunlaşma sürecinde önemli rol oynayarak özellikle son ürünün lezzetinde önemli bir katkısı bulunsa da birçok patojen mikroorganizma olgunlaşma süresi ve koşullarında canlı kalabilmektedir. Bu durum halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (Hudson ve ark., 2003). Buna bağlı olarak üretilen peynirlerin bileşimi her üretim sonucunda farklılık gösterebileceği gibi, düşük mikrobiyal ve hijyenik kalitede ürünler elde edilmesi muhtemel olmaktadır.

Son yıllarda dünyada ve ölkemizde geleneksel ürünlerin modern tesislerde standart üretimle işlenmesi oldukça yaygın bir uygulama halini almıştır. Klasik beyaz peynirin son yıllarda endüstriyel olarak üretimi yapılmaya başlansa da standart bir üretim şekli olmadığı için yeterli pazar payına ulaşamamıştır. Bu peynire olan talebin giderek artması, standart üretim prosesinin oluşturularak endüstriyel üretimine dâhil edilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Bu sayede peynirlerin üretim, olgunlaştırma ve depolama koşulları ile süreleri denetlenerek piyasaya sürülecek ve güvenle tüketilebilecektir. Aynı zamanda ürünün ticari olarak dış piyasaya pazarlanması mümkün olacak ve uluslararası bilinirliği artarak ekonomiye katkı sağlayacaktır. COVID-19 salgını, belirsizliğini korusa da uluslararası süt piyasalarını da etkilemiştir. Kısıtlama önlemleri, genellikle süt ürünlerinin, özellikle de peynirin büyük bir kısmını içeren ev dışı tüketimi etkilemektedir (OECD-FAO, 2020). Dolayısıyla salgınla beraber süt ürünleri tüketimi artmış, bununla bağlantılı olarak peynir talebi de

artmıştır. Geleneksel peynirlerin üretiminin zaman içinde artan bu talebe ayak uydurması önem taşımaktadır.

Ülkemizde endüstriyel olarak starter kültür üretiminin olmaması nedeniyle peynir üreticileri ve işletmeler dışa bağımlı halde bulunmaktadır. Bu sebeple peynirin kendine özgü yapısı ve aromasının sağlanmasında önemli role sahip olan bu mikroorganizmaların izolasyon ve identifikasyonunun yapılarak teknolojiye uygunluğunun değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Yapılacak olan bu tez çalışmasında, klasik beyaz peynirin çiğ süt aşamasından itibaren olgunlaşma işleminin sonuna kadar doğal mikroflorasında bulunan baskın LAB'ın izolasyonunun yapılarak elde edilen izolatların, fenotipik ve genotipik identifikasyonu ile teknolojik özelliklerinin belirlenmesi ve gıda endüstrisinde kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Böylece bu yöresel ürünün çoğunlukla geleneksel yöntemlerle yapılmakta olan üretiminin standartlaşması ve endüstriyel olarak yapılmasının yaygınlaşmasının sağlanması hedeflenmiştir.

2.2. Laktik Asit Bakterileri

2.2.1. Genel Özellikleri

Sütte laktik asit bakterilerinin varlığı hakkındaki ilk çalışma 19. yüzyılın sonlarında Nobel ödüllü Rus bilim insanı Elie Metchnikoff tarafından Bulgar dağ köylülerinin tükettiği fermente sütler üzerinde yapılmıştır. Metchnikoff aynı zamanda bu bakterileri insan sağlığına yararlı bir beslenme bileşeni ve sindirim sisteminde canlı kalabilme özelliğinde olan bakteriler olarak tanımlanmıştır. (Schrezenmeir ve de Vrese, 2001). Laktik asit bakterileri; Gram pozitif, fakültatif anaerob, katalaz ve oksidaz negatif, sporsuz, hareketsiz kok veya çubuk şeklinde bakterilerdir. Bu bakteriler fermente et, süt, sebze ve meyve gibi gıdalar, insan ve hayvanların gastrointestinal ve ürogenital sistemleri ile toprak ve su gibi geniş ekolojik ortamlarda yaygın olarak bulunan, her yerde bulunabilen (ubikuter) özellikte bir bakteri grubudur (Liu ve ark., 2014). Bu mikroorganizmalar, karbonhidratların fermantasyonu sırasında ana son ürün olarak laktik asit üretme yetenekleri olan ve fermente gıda ürünlerinin

besinsel, duyuşal ve teknolojik özelliklerini faydalı bir şekilde etkileyen çok çeşitli metabolitleri sentezlemeleri ile bilinmektedir (Ferrer Valenzuela ve ark., 2015).

Probiyotikler olarak adlandırılan bazı LAB türlerinin, insan ve hayvan sağlığı üzerinde faydalı özellikler gösterdiği ve fonksiyonel gıda üretiminin bir parçası olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bazı LAB türleri organik asitlerin yanı sıra, peptitler, antimikrobiyal bileşenler, ekzopolisakkaritler (EPS) ve vitaminler (folik asit, riboflavin, C vitamini, kobalamin) gibi çok çeşitli bileşiklerin sentezinde rol oynamaktadır (Capozzi ve ark., 2012).

2.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması

LAB içerisinde morfoloji ve fizyolojik özelliklerine göre 60'tan fazla cins ve 530'dan fazla tür olduğu bildirilmiştir (Mokoena, 2017; Freire ve ark., 2021). Bu LAB türlerinden gıda endüstrisi açısından önemli olanları ise: *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Enterococcus* spp. ve *Weissella* spp.'dir.

2.2.2.1. *Lactobacillus* spp.

Lactobacillaceae ailesinin bir üyesi olan *Lactobacillus* spp.; Gram pozitif, fakültatif anaerob, oksidaz ve katalaz negatif, hareketsiz, sporsuz bakterilerdir. Uzun ya da kısa çubuk ya da kokobasil hücre morfolojisine sahiptir (Feiner, 2006). Homo- ve hetero-fermentatif türleri bulunmaktadır. İlk olarak 1901 yılında Beijerinck tarafından yoğurttan vazgeçilmez bir tür olan *Lactobacillus delbrueckii* (*Lb. delbrueckii*) tanımlanmıştır. *Lactobacillus* cinsine ait türler LAB içerisinde en çok çeşitlilik gösteren grup olarak yer almakta olup, 2020 yılı itibarıyla bu cins içerisinde 261 tür bulunduğu bildirilmiştir. Bu türlerin içerisinde gıda endüstrisi açısından öne çıkanları *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. plantarum* ve *Lb. sakei*'dir (Zheng ve ark., 2020).

Lactobacillus spp., laktik asit ve diğer asitleri üretme yetenekleri nedeniyle fermente süt ürünlerinin üretimi için önemli yere sahiptir. Genellikle bu bakteriler bitki, toprak, süt ürünleri ve bağırsak florasında bulunur. Bundan dolayı et ve süt ürünleri, meyve-sebzeler ile fermente gıdalardan yaygın olarak izole edilmektedir. Bazı *Lactobacillus* türlerinin probiyotik özelliklere sahip olduğu doğrulandığından, bu bakteriler daha çok önem kazanmıştır. Çoğu probiyotik suşun, bağırsaklarda kolonize olma özelliğinin mikroflorayı olumlu yönde etkilediğine ve aynı zamanda patojenlerin kolonizasyonunu engellediği ileri sürülmektedir (Batt ve ark., 2014). Bunun yanı sıra bazı türlerinin biyofilm oluşturabildiği (Salas-Jara ve ark., 2016) ve ekzopolisakkarit üretebildiği bildirilmiştir.

2.2.2.2. *Lactococcus* spp.

Streptococcaceae ailesinin bir üyesi olan *Lactococcus* spp.; Gram pozitif, katalaz negatif, sporsuz ve hareketsiz bakterilerdir. Morfolojik olarak kok ya da ovoid şekilli olup tek, çift veya zincir şeklinde bulunurlar. Hücre yapıları bakımından *Streptococcus* spp. ve *Enterococcus* spp.'ye benzerlik gösterebilirler; 10°C'nin altında ve 45°C'nin üstünde gelişemediklerinden dolayı bu bakterilerden ayrılmaktadırlar. Optimum gelişme sıcaklıkları ise 30°C'dir. Homofermentatif özellikte olup, karbonhidrat fermantasyonu sonucu %90 ve üstü oranda laktik asit üretmektedirler (Lorenzo ve ark., 2018). *Lactococcus* spp. içerisinde 7 tür bulunduğu bildirilmiştir. Bunlar *Lc. chungangensis*, *Lc. fujiensis*, *Lc. garvieae*, *Lc. lactis*, *Lc. piscium*, *Lc. plantarum* ve *Lc. raffinolactis* türleridir (Kim, 2014).

Lactococcus spp., genellikle süt ürünlerinde, bitkilerde ve hayvanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. *Lactococcus* türlerinin birçoğu güvenli olarak kabul edilir, ancak *Lc. garvieae* gibi bazı türler patojenik özellik gösterebilmektedir (Casalta ve Montel, 2008). *Lactococcus* spp. içinde çiğ süt, peynir ve diğer fermente süt ürünlerinde en fazla bulunan tür ise *Lc. lactis*'dir. *Lc. lactis* içerisinde ise, *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* olmak üzere iki alt tür bulunmakta olup, *Lc. cremoris* yalnızca süt ve süt ürünleri ilgili ortamlarda bulunurken, *Lc. lactis* alt türü içindeki suşlar bitkiler, sebzeler ve süt ürünleriyle ilgili ortamlar dahil olmak üzere farklı kaynaklardan izole edilmiştir (Wels ve ark., 2019).

Lc. lactis süt endüstrisinde peynir gibi fermente süt ürünlerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca peynirin olgunlaştırılması sırasında oldukça önemli bir role sahiptir ve starter kültür olarak tek veya karışım halinde kullanılabilirler. Fermantasyondaki ana görevleri laktik asit üreterek asidifikasyonu sağlamak olsa da ürettikleri ekzopolisakkaritler ile tekstür gelişimine ve aromatik bileşikler (alkoller, ketonlar, aldehitler) ile lezzete katkıda bulunurlar (Smit ve ark., 2005). Aynı zamanda organik asit ve bakteriyosin üretme yetenekleri nedeniyle gıda muhafazasında da kullanılabilirler. Bunun yanı sıra bakterinin plazmitler veya transpozonlar gibi mobil genetik elementlerde bulunan antimikrobiyal/antibiyotik direnç genleri ve/veya virülens genleri için bir rezervuar görevi görebileceği ve bazı patojenlere karşı inhibitör etkisinin bulunabildiği bildirilmiştir (Khemariya ve ark., 2017).

2.2.2.3. *Streptococcus* spp.

İlk olarak 1874'te Avusturyalı cerrah Theodor Billroth tarafından tanımlanmışlardır (Billroth, 1874). Gram pozitif, oksidaz ve katalaz negatif, hareketsiz ve sporsuz bakterilerdir. Çapları 0.5 ile 2 µm arasında, kok veya kokoid şekilli bakterilerdir (Chhatwal ve Graham, 2008). *Streptococcus* türlerinin doğada, özellikle toprak, su ve havada her yerde bulunduğu ve sıcak kanlı hayvanlar ile insanların bu bakterilerin rezervuarı olduğu bildirilmiştir. *Micrococcaceae* familyasının bir üyesi olan *Streptococcus* spp. içinde hem kommensal hem de patojen olarak bilinen 104 tür yer almaktadır. Bu türler içinde *S. pyogenes*, *S. agalactiae* ve *S. dysagalactiae* insan ve hayvanlar için başlıca patojen türlerdir. Bu patojen türler iç kulak enfeksiyonları ve dış hastalıkları gibi daha hafif ancak oldukça yaygın durumlardan nekrotizan fasiit, romatizmal ateş ve pnömoni gibi ciddi ve yaşamı tehdit eden durumlara kadar uzanmaktadır (Samanta ve Bandyopadhyay, 2020). Fakültatif anaerobik koşullar altında gelişirler ve bazı türleri gelişim için ortamda ek CO₂ ihtiyaç duyarlar. Homofermantatif bakterilerdir, bu nedenle glikozdan CO₂ üretmezler. Optimum gelişme sıcaklığı genellikle 37°C olsa da minimum ve maksimum gelişme sıcaklıkları türler arasında değişkenlik gösterebilmektedir (du Toit ve ark., 2014).

Streptococcus spp. içinde yer alan bazı türler laktik asit üretimleri ile peynir ve bazı fermente süt ürünlerinin üretiminde önemli rol oynamaktadır. Özellikle *S. thermophilus* peynir, yoğurt ve diğer kültürlü süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılmakta olup, dünya çapında en çok kullanılan starter kültürlerden biridir. Bu bakteri tek başına veya diğer starter kültürlerle kombinasyon halinde kullanılabilir. Fermantasyondaki asıl rolü, laktozu laktik aside dönüştürmek suretiyle üründe pH'yı düşürmektir. Aynı zamanda ekzopolisakkaritler ve aroma bileşikleri gibi ikincil metabolitlerin üretimine katkıda bulunurlar. Bu ekzopolisakkaritlerin peynir üretiminde yağı azaltılmış peynirlere normal peynire benzer bir doku ve lezzet verdiği bildirilmiştir (Awad ve ark., 2005). *S. thermophilus*'un ayrıca termofilinler olarak adlandırılan bakteriyosinler üretebildiği ve bazı süt ürünlerinde bozulmaya neden olan mikroorganizmalara karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra bazı suşları da probiyotik özelliklere sahip olabilmektedir (du Toit ve ark., 2014).

2.2.2.4. *Leuconostoc* spp.

Leuconostoc spp., içinde 14 tür ve 8 alt tür olan, Gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerob, kok şeklinde, spor oluşturmeyen, hareketsiz, hemolitik ve proteolitik olmayan bakterilerdir. Optimum üreme sıcaklıkları 20-30°C arasındadır. Bazı türleri sakkarozdan dekstran üretme yeteneğine sahiptir. *Leuconostoc* spp. heterofermentatif bakterilerdir ve bu cins içerisinde yer alan *Ln. mesenteroides*, *Ln. pseudomesenteroides* ve *Ln. lactis* gıdaların fermantasyonunda rol oynamaktadır. Et ve süt ürünleri ile bazı bitki materyalleri dahil olmak üzere gıda ile ilgili ekolojik ortamlardan izole edilebilmekte, bu da çeşitli ortamlara iyi bir adaptasyon yeteneği olduğunu göstermektedir (Thunell, 1995; Ruppitsch ve ark., 2021).

Fermente gıdaların üretiminde, *Leuconostoc* spp. genellikle hızlı asit üreten *Lactococcus* spp. ile kombinasyon halinde bir yardımcı kültür olarak kullanılır. Bu türler çoğunlukla sitratı yıkımlama ve diasetil, asetoin ve CO₂ üretimi yoluyla son üründe aroma ve doku oluşumuna katkıda bulunurlar (van Mastrigt ve ark., 2017). Özel olarak üretilen peynirlerde büyük gözenekli yapının oluşmasında *Leuconostoc* türlerinin kullanıldığı bilinmektedir. Ekzopolisakkarit üretimi ile gıdalarda koruyucu özellik göstermekte olup, ayrıca oligosakkarit, mannitol, bakteriyosin ve bazı

vitaminleri de sentezleyebildiği belirtilmektedir (Cardamone ve ark., 2011, Shin ve Han, 2015). *Leuconostoc* spp.'ye ait türlerin streptomisine direnç gösterebildiği, ancak penisilin, ampisilin gibi β -laktam grubu antibiyotiklere karşı duyarlı oldukları bildirilmektedir (Flórez ve ark., 2016).

2.2.2.5. *Pediococcus* spp.

Pediococcus spp., Gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmeyen, katalaz ve oksidaz negatif, fakültatif anaerobik özellikte olup, morfolojik olarak genellikle tetrakoklar halinde bulunan bakterilerdir (Porto ve ark., 2017; Singla ve ark., 2018a). Tuza dayanıklı oldukları ve tamamen homofermentatif özellik gösterdikleri belirlenmiştir. *Pediococcus* türlerinin çoğunun enerji kaynağı olarak laktozu kullanmadığı bilinse de son zamanlarda bazı suşlarının laktozu kullanabildiği gösterilmiştir (Cavicchioli ve ark., 2019). Pek çok *Pediococcus* türünün pediosin adlı bakteriyosinler ürettikleri bildirilmiştir. Pediosinler; Gram pozitif bakterilere karşı geniş bir antimikrobiyal aktivite gösteren ve *Listeria monocytogenes* gibi patojenlere karşı bakterisidal etkiye sahip biyomoleküllerdir (Papagianni ve Anastasiadou, 2009). Isıya dayanıklı olup, geniş pH aralığında aktivitelerini koruyabilirler (Porto ve ark., 2017).

Pediococcus spp. gıda endüstrisi açısından önemli bir yere sahiptir. *Pediococcus* cinsinin çoğu türü, gıda endüstrisinde fermente ürünler için starter kültürler olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra fitaz aktivitesi, galaktoz fermantasyon kabiliyeti, ekzopolisakkarit üretimi ve aroma üretimi gibi çeşitli teknolojik yönler, bu kültürleri endüstriyel olarak faydalı mikroorganizmalar haline getirmiştir. Bu sebeple bu bakteriler sebze, silaj, et ürünleri, süt ve süt ürünleri gibi fermente ürünlerde starter, non-starter ya da ilave probiyotik kültürler olarak kullanılmaktadır (Singla ve ark., 2018b).

Lactobacillaceae familyasının bir üyesi olan *Pediococcus* spp.'nin 11 tür içerdiği bildirilmiştir (Cho ve ark., 2017). Bu türlerden gıda ve süt ortamlarında en yaygın olarak bulunan iki tür *Pediococcus pentosaceus* ve *P. acidilactici*'dir (Banwo ve ark., 2013). Bunlardan *P. acidilactici*; pediosin üretiminde, starter kültür olarak

fermantasyon süreçlerinde ve insanlar ve hayvanlar için probiyotik olarak kullanılan başlıca türlerden biridir (Porto ve ark., 2017). Bakterinin çiğ süttten üretilen peynirlerin olgunlaşma sürecinin sonunda NSLB olarak bulunabilecekleri ve dünyada geleneksel olarak üretilen çeşitli peynirlerden izole edilebildikleri bildirilmiştir (Eugster ve ark., 2019).

2.2.2.6. *Enterococcus* spp.

Enterococcus spp. Gram pozitif, katalaz ve oksidaz negatif, spor oluşturmayan, bazı türleri hareketli, fakültatif anaerobik bakteri grubudur. Bu grup içerisinde yaklaşık 58 tür yer almakta olup (García-Solache ve Rice, 2019); bu türlerin bazıları geniş sıcaklık (10-45°C) ve pH aralığı (4.5-10) ile %9.6'ya kadar tuz konsantrasyonları dahil olmak üzere çevresel koşullarda gelişme yeteneğine sahiptir (Arias ve Murray, 2012). *Enterococcus* spp.'nin doğal yaşam alanı başta insan ve hayvanların gastrointestinal sistemleridir. Farklı ortamlara yüksek adaptasyon kabiliyetine sahip olduklarından dolayı toprak, su ve kanalizasyonda yaygın olarak bulunmaktadır. Dolayısıyla bu yollarla süt ve süt ürünleri, et ve sebze gibi gıdalara kolayca bulaşabilmektedirler (Giraffa, 2002; Giraffa, 2003). Fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak kullanılan *Enterococcus* spp., biyojen amin üretimi ve gıda kaynaklı hastalıklarla da sıklıkla ilişkilendirilmesi nedeniyle "genel olarak güvenli (GRAS)" olarak kabul edilmemektedir (Riboldi ve ark., 2009). Ancak bazı *Enterococcus* türleri lipolitik aktiviteleri, sitrat kullanımı ve aroma bileşikleri üretme özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanılabilir. Diğer yandan çeşitli peynirlerin normal mikroflorasında bulunan *Enterococcus* türlerinin de ürünün tadı, aroması, rengi, yapısı ve genel duyuşal profilini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (Giraffa, 2003). Farklı çalışmalarda süt ürünlerinde *Enterococcus* spp.'ye ait başlıca *Enterococcus faecium* ve *E. faecalis* ile *E. casseliflavus*, *E. durans* ve *E. gallinarum* türlerinin tespit edildiği bildirilmiştir (Settanni ve ark., 2012; Gaglio ve ark., 2016).

2.2.2.7. *Weissella* spp.

İlk olarak 1993 yılında ayrı bir grup olması önerilen *Weissella* spp.; Gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerobik, spor oluşturmayan, hareketsiz bakterilerdir. Kokoid veya kısa basil morfolojisine sahiptirler (Collins ve ark., 1993, Björkroth ve ark., 2014). *Weissella* spp.'nin günümüze kadar 25 türü doğrulanmış olup, bu cinse ait tüm türlerin zorunlu heterofermentatif özellikte oldukları bildirilmiştir (Teixeira ve ark., 2021). *Weissella* cinsine ait türler genel olarak 15-37°C'de gelişmekte olup, *W. cibaria* ve *W. confusa* türlerine ait bazı suşların 45°C'ye kadar gelişme gösterebildikleri bildirilmiştir. *Weissella* spp.; bitkiler, çeşitli fermente gıdalar, anne sütü, insanların ürogenital ve gastrointestinal sistemleri ile hayvanların deri, süt ve mide-bağırsak sistemlerinden izole edilebilmektedir. Bu bakterilerin karmaşık beslenme gereksinimleri vardır ve gelişimleri için peptidlere, amino asitlere, fermente olabilen karbonhidratlara, nükleik asitlere, yağ asitlerine ve vitaminlere ihtiyaç duyarlar (Fusco ve ark., 2015).

Bazı *Weissella* türlerinin dekstran üretebildiği ve bir EPS olan dekstranın yoğurt gibi viskoziteye sahip olması istenen süt ürünlerinin üretimi için önemli olduğu belirtilmiştir (Mende ve ark., 2016). Bunun yanı sıra farklı türlerinin bakteriyosin üretimi, probiyotik ve prebiyotik özellikler göstermesi, eskülinin hidrolizi, argininden amonyak üretimi ve folat üretimi gibi özellikleri bulunabilmektedir. Bu türler günümüzde teknolojik açıdan önem kazanmaktadır ve özellikle biyoteknolojik uygulamalarda dikkate alınması gerektiği bildirilmiştir (Fusco ve ark., 2015).

Weissella cinsine ait bakterileri, *Leuconostoc* cinsinin üyelerinden veya heterofermentatif laktobasillerden yalnızca fenotipik özellikler temelinde ayırmak zordur. Bu gruplardaki yakından ilişkili bakterilerin taksonomisi ve *Weissella* cinsinin tanımlanmasının ancak moleküler taksonomik teknikler temelinde mümkün olduğu belirtilmektedir (Fusco ve ark., 2015; Fessard ve Remize, 2017)

2.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Gıda Endüstrisinde Uygulamaları

LAB'ın gıda endüstrisinde çeşitli uygulama alanları bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanımlarıdır. Bunun yanı sıra adjunct (ilave) kültür olarak, biyokoruyucu olarak veya probiyotik kültür olarak kullanılabilirler (Bintsis, 2018). Belirli LAB türleri, gıdalarda yaygın olarak bulunmalarının yanı sıra, insan tüketimi konusunda uzun ve güvenli bir geçmişe sahip olmasından dolayı Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından “Güvenli Olarak Kabul Edilen (GRAS)” statüsüne alınmışlardır (EFSA, 2020). Bunlar arasında en yaygın olanlarının *Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinslerine ait türlerden bazıları olduğu bildirilmektedir (FDA, 2021).

2.2.3.1. Starter ve İkincil Kültür Olarak Kullanımları

Gıda fermantasyonu, tarım ve çiftçiliğin ortaya çıktığı 10.000 yıl öncesine dayanan gıda muhafaza yöntemlerinden biridir (Cordain ve ark., 2005). Laktik asit bakterilerinin fermantasyondaki rolleri çağlardan beri bilinmekte olup, fermente gıda üretiminde en çok kullanılan ve baskın mikroflora olarak yer alan bakteri grubudur (Anandharaj ve Sivasankari, 2014). Fermente gıdalardaki LAB aktivitesi, kısaca hammaddelerin farklı özelliklere sahip yenilebilir gıda ürünlerine dönüşümü olarak açıklanabilmektedir (De Filippis ve ark., 2020). Fermente gıdalar endüstriyel ve geleneksel (artisanal) olmak üzere iki kategoriye ayrılabilir. Endüstriyel gıda üretimlerinde LAB türleri starter kültürler olarak veya ilave (adjunct) kültürler olarak kullanılabilirler (Burns ve ark., 2012). Geleneksel fermantasyon ise starter kültür kullanılmadan hammaddede bulunan ve çevresel kaynaklı LAB türleri ile gerçekleşmektedir (De Filippis ve ark., 2020). Farklı duyu özelliklere yol açan çeşitli mikroorganizma grubunu içeren yaklaşık 400 geleneksel ve fermente süt ürününün bulunduğu bildirilmektedir (Ghosh ve ark., 2019). Bunlardan bazıları kefir, peynir, tereyağı, yoğurt, ayran ve kıymız gibi süt ürünleridir (Gupta ve ark., 2018). LAB türleri fermente süt ürünlerinin temel mikroflorasını oluşturması nedeniyle bu ürünlerin üretiminde en önemli bakteriler olarak kabul edilirler (Al-kotami ve ark., 2015). Fermente süt ürünleri ile ilişkili olan laktik asit bakterilerine ait üyeler, çoğunlukla *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*,

Propionibacterium ve *Bifidobacterium* cinslerine aittir. Bu bakteriler aynı ekolojik ortamlarda yaşamakta ve mutualist olarak hareket etmektedirler (Ayivi ve ark., 2020).

LAB türleri doğal florada yaygın olarak bulunmasının yanı sıra, endüstriyel fermantasyon proseslerinde starter kültür olarak süte bilinçli olarak ilave edilerek doğal olarak veya kontrollü starterler olarak kullanılabilir (Urbonaviciene ve ark., 2015). Starter kültürler; fermente süt ürünlerine kendine özgü tat ve aroma ile görünüş, yapı ve tekstürün geliştirilmesi ve ürünün raf ömrünün uzatılması amacıyla pastörize süt veya kremaya katılan belli özellikteki mikroorganizma topluluğu şeklinde tanımlanabilmektedir (Kılıç, 2011). Başta peynir olmak üzere fermente süt ürünlerinin üretiminde çok önemli fonksiyonlara sahip olan starter kültürler arasında LAB türleri, yüzey olgunlaştırıcı bakteriler, mayalar ve küfler bulunur (Ayivi ve ark., 2020). Bunlardan Starter Laktik Asit Bakterileri (SLAB) olarak adlandırılan türler peynir üretimi sırasında istenilen sürede laktozu fermente ederek yüksek seviyelerde laktik asit üretirken; Non Starter Laktik Asit bakterileri (NSLAB) olarak bilinen diğer türler ise peynirin olgunlaşma esnasında karakteristik lezzetini geliştirmeye katkıda bulunurlar (Antonsson ve ark., 2003). Laktik asit bakterilerinin bu fonksiyonları ile süt ürününe özgü aroma ve yapı oluşturmaları beklenir. Starter kültür olarak kullanılacak LAB türleri; tuz toleransı, ekzopolisakkarit üretimi, bakteriyosin üretimi ve sıcaklığa duyarlılık gibi üretimde fayda sağlayacak özelliklerine göre seçilirler (Ayivi ve ark., 2020).

İlk ticari starter kültür işletmesi 1890 yılında Danimarka'da kurulmuş olup, süt ürünleri için kültür üretimine başlanmıştır (Yaygın, 1988). Teknolojinin gelişimi ve kıtalararası ticaretin yaygınlaşması, starter kültür teknolojisinde gelişmelere neden olmuştur. Ülkemizde peynirin üretimi ve olgunlaştırılmasında rol oynayan mikroorganizmaların tespiti ile ilgili çalışmalar 1950'li yıllardan itibaren yapılmaya başlansa da peynir üretiminde starter kültür kullanımı 1970'lerde başlamıştır. Ülkemizde yeterli bilgi birikimi edinmiş yetenekli personel olmasına ve konu ile ilgili bilimsel araştırmalar yürütülmesine rağmen, gerçek anlamda starter kültür üretimi yapılamamaktadır (Kılıç, 2011). Bu sebeple özellikle ticari starter kültür kullanılmadan geleneksel yöntemlerle üretilen süt ürünlerinde bulunan mikrobiyal çeşitliliği ve geniş peynir çeşitliliği kaybını önlemek amacıyla, LAB koleksiyonlarını oluşturmak önemli bir ihtiyaç olarak değerlendirilmektedir (Ghahremani, 2015).

Süt endüstrisinde starter kültür kullanımında beklenen, standart kalitede sağlıklı ve güvenilir ürün elde edilmesini sağlamak olduğundan, peynir üretiminde kullanılacak sütün önce pastörize edilerek içeriğindeki patojen ve/veya istenmeyen diğer zararlı mikroorganizmaların inaktive edilmesi veya gelişmelerinin sınırlandırılması gerekmektedir (Kılıç, 2011). Bu sebeple endüstriyel olarak üretilen peynirlerin çoğunda pastörize süt kullanıldığı bildirilmiştir (Høier ve ark., 2010). Ancak peynire işlenecek sütün pastörize edilmesi ile istenmeyen mikroorganizmalar ile birlikte çiğ süt mikroflorasının kaybolması dezavantajına sahiptir. Bu işlem, peynir yapımında spesifik özelliklere sahip bakterileri de ortadan kaldırmaktadır. Araştırmalarda çiğ ve pastörize süttten üretilen peynirlerin mikroflorasının önemli düzeyde farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Çiğ süttten yapılan bazı peynirlerin, pastörize süttten yapılan aynı olgunlaşma süresine sahip aynı türdeki peynirlerden daha yoğun tada sahip olduğu belirlenmiştir (Albenzio ve ark., 2001; Franciosi ve ark., 2009). Bunun nedeninin peynir üretiminde kullanılan çiğ süttten gelen floranın daha fazla proteoliz ve lipolize neden olması ve bunun sonucunda daha iyi lezzet oluşturması olduğu ileri sürülmektedir (Smit ve ark., 2005; Irlinger ve ark., 2015). Bu aroma zenginliği doğal olarak tüketiciye de yansımaktadır. Ancak çiğ sütün bakteriyolojik kalitesi önemli ölçüde farklılık gösterdiği için çiğ süttten üretilen peynirlerin tüketilmesi sonucunda çeşitli enfeksiyon ve intoksikasyon riskleri bulunmaktadır. Bu nedenle hem hijyen hem de güvenlik açısından peynir üretiminde kullanılacak pastörize süte, peynire özgü laktik asit bakterilerinin ilave edilerek üretiminin sağlanması teknolojik bir zorunluluk olarak görülmelidir.

2.2.3.2. Biyokoruyucu Olarak Kullanımları

Günümüzde tüketicilerin beslenme ve sağlık açısından değişen tercihlerine bağlı olarak gıda koruyucuları olarak kimyasallar yerine doğal içeriklerin sürdürülebilir kullanımına artan bir ilgi söz konusudur. Tercihlerdeki bu değişikliğin bir sonucu olarak, gıda uygulamalarında LAB kullanımını daha önemli hale gelmiştir (Ayivi ve ark., 2020). LAB, diğer bakterilerin üremesi ve toksin üretimi üzerinde güçlü inhibitör etkilere sahiptir. Bu etkiler; ortamdaki besinler için rekabet, asit üretimine bağlı pH'nın düşüşü, H₂O₂, CO₂ veya diasetil gibi birincil metabolitler ve bakteriyosinler ile antibiyotikler gibi antimikrobiyal bileşiklerin üretiminden meydana

gelebilmektedir. Bu sebeple bu özelliklerden her biri, gıda ürünlerinin raf ömrünü ve güvenliğini uzatmak için kullanılabilir (Kalantzopoulos, 1997).

Bakteriyosinler, ribozomlar kullanılarak LAB tarafından sentezlenen proteinlerin, polipeptitlerin veya protein komplekslerinin birincil metabolitleridir (Diep ve Nes, 2002). Genel olarak antimikrobiyal etkileri hücre duvarı biyosentezini inhibe ederek veya gözenek oluşumu yoluyla membranı bozarak hücrenin ölümüne yol açarak ortaya çıkmaktadır (Twomey ve ark., 2002). Bu şekilde çeşitli bakterilerin gelişimini ve çoğalmasını engelleyici özelliğe sahiptir. Bakteriyosinler geniş bir pH aralığında aktif olabilmekte ve genellikle ısıya direnç gösterebilmektedirler. İnsan sağlığı için güvenilirliğinden dolayı bazı bakteriyosinler gıda endüstrisinde bakteriyostatik ve koruyucu olarak kullanılmaktadır. *Lb. gasseri* tarafından üretilen gasserinler, *Lc. lactis* tarafından üretilen nisin ve *Lb. sakei* tarafından üretilen sakacin P bunlardan bazılarıdır (Wang ve ark., 2021). Bunun yanı sıra bakteriyosin üretme kabiliyeti olan LAB türleri, süt endüstrisinde starter kültür seçiminde iyi adaylar olarak değerlendirilirler (Perez ve ark., 2014).

Bakteriyosinler iki kategoriye ayrılabilir: Birinci kategori, lantionin içeren lantibiyotiklerdir (nisin, epidermin ve streptin gibi). Bu kategori içerisinde 11 alt grubun yer aldığı bildirilmiş olup (Cotter ve ark., 2005; Deegan ve ark., 2006) gıda endüstrisi açısından nisin ön plana çıkmıştır. Nisin, belirli *Lc. lactis* suşları tarafından salgılanan bir peptittir (Lubelski ve ark., 2008). Nisinin etki mekanizması, Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında küçük gözenekler oluşturarak hücre hasarına neden olmaktadır (Montville ve Chen, 1998). Gıda endüstrisinde güvenli ve doğal bir koruyucu olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhou ve ark., 2014). İkinci kategori ise lantionin içermeyen bakteriyosinlerdir (Cotter ve ark., 2005).

2.2.3.3. Probiyotik Olarak Kullanımları

Probiyotikler, “yeterli miktarlarda alındığında konakçının sağlığı üzerinde olumlu etki sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2006). *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pediococcus* spp. ve *Leuconostoc* spp. gibi bazı LAB türleri gıdalarda en yaygın kullanılan probiyotikler

olup, intestinal sistemde tutunarak hızla çoğalabilmektedir (Fijan, 2014). Bu türler konağın patojen mikroorganizmalara karşı korunmasında önemli rol oynarlar ve ayrıca bağışıklık sistemini güçlendirirler (Zielińska ve Kolożyn-Krajewska, 2018). Bu mikroorganizmaların etki mekanizması; kolonizasyona direnç, fagositozun uyarılması ve antimikrobiyal bileşiklerin üretimi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Vemuri ve ark., 2014). Probiyotiklerin gelişimi, prebiyotik olarak tanımlanan bazı polisakkarit türleri tarafından desteklenebilir. Fruktu-oligosakkaritler ve galakto-oligosakkaritler, insan sağlığı üzerinde faydalı etkileri olan iki önemli prebiyotik grubudur (Davani-Davari ve ark., 2019). Ayrıca bakteriyosinlerin sentezinin de LAB türlerinin bağırsakta probiyotiklerin işlevini yerine getirmesi için de yardımcı olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2021).

Hali hazırda sadece insan gastrointestinal sisteminden izole edilen laktik asit bakterilerinin insanlar tarafından probiyotik olarak kullanılması Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından önerilmektedir. Bununla birlikte, giderek daha fazla çalışma hayvansal kaynaklı fermente ürünlerden ve ayrıca süt ürünü olmayan fermente ürünlerden probiyotik olarak kabul edilen suşların izole edilebileceğini göstermektedir. Özellikle geleneksel fermente ürünler, bazıları probiyotik özellikler sergileyebilen zengin bir mikroorganizma kaynağıdır (Zielińska ve Kolożyn-Krajewska, 2018).

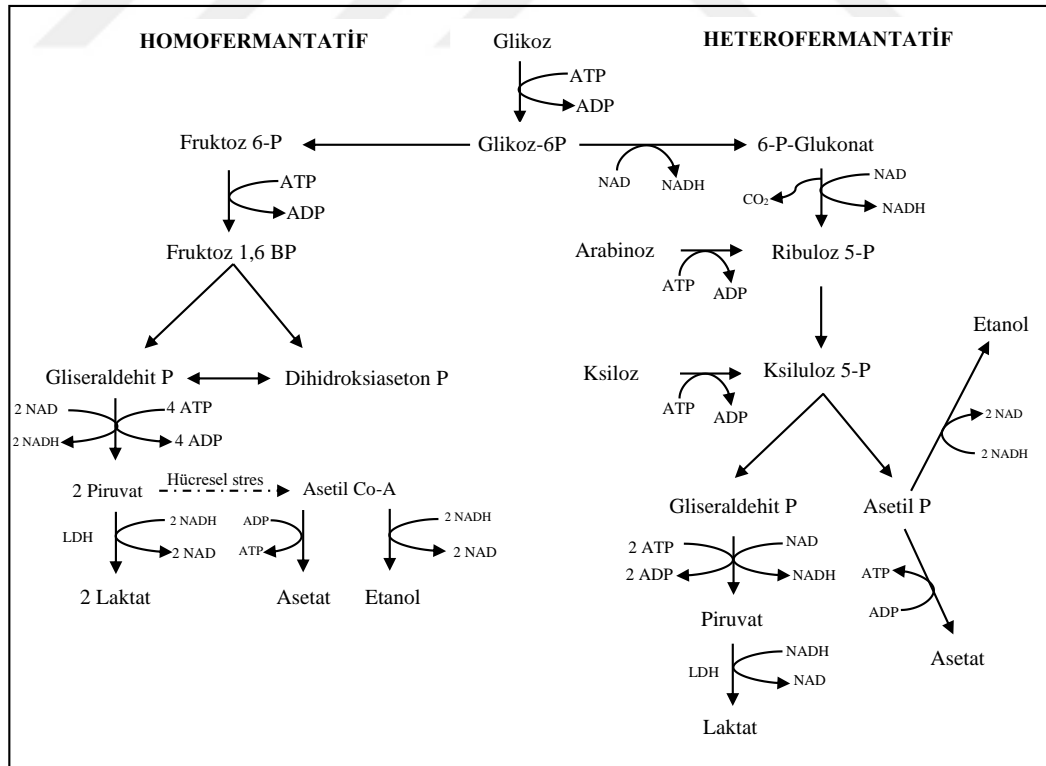
2.2.4. Laktik Asit Bakterilerinin Teknolojik Özellikleri

Süt endüstrisinde peynir üretiminde kullanılacak laktik asit bakterilerinin 3 temel işlevi bulunmaktadır. Bunlar glikoliz, proteolitik aktivite ve lipolitik aktivitedir (Beresford ve ark., 2001).

2.2.4.1. Glikoliz ve Asit Üretimi

LAB türleri enerji üretimi ve gelişimleri için karbohidratlara ihtiyaç duymaktadırlar. Her bakteri grubunun kendine özgü bir fermantasyon profili olduğu belirlenmiştir. LAB türleri, karbohidratları (heksozları) metabolize etme

yeteneklerine göre homofermantatif ve heterofermantatif olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar (Şekil 2.2). Bu fermantasyon mekanizması, bakterilerin salgıladıkları enzimlerin özellikleri ile ilişkilidir. Homofermantatif laktik asit bakterileri; fruktoz di fosfat (FDP, Embden-Meyerhof-Parnas yolu) yoluyla 1 mol laktozdan 2 mol glukoz ve 4 mol laktik asit meydana getirirler. Bu metabolizma sonucunda %90 ve üzerinde laktik asit üretirler. Heterofermantatif LAB ise laktozu heksoz monofosfat (pentoz fosfat) yoluyla parçalayarak 2 mol laktik asit, 2 mol etil alkol ve 2 mol CO₂ üretirler. Bu metabolizma sonucunda en az %50 laktik asit ve bunun yanı sıra CO₂, formik ve asetik asit gibi bazı organik asitler ile etanol, gliserol, mannitol ve fruktoz üretebilmektedirler (Bintsis, 2018). Karbon kaynağının sınırlı olması, glikoz dışında farklı karbon kaynaklarının varlığı, yüksek pH veya düşük sıcaklık gibi bazı stres koşulları altında, bazı homofermantatif mikroorganizmalar karışık asit fermantasyonu ile formik asit üretebilirler (Sousa ve ark., 2001). Oluşan organik maddeler gıda ürünlerinin kendilerine özgü tat, doku ve aroma gibi organoleptik özelliklerine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, ürünün raf ömrünü, mikrobiyal güvenliğini etkili bir şekilde geliştirmekte, dokuyu iyileştirmektedir (Ayivi ve ark., 2020).



Şekil 2.2. Laktik asit bakterilerinin glikoliz metabolizması yolları.

(Hofvendahl ve Hahn- Hagerdal, 2000)

LAB içerisinde yer alan *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. ve *Pediococcus* spp.'nin homolaktik fermantasyon gerçekleştirirken, *Leuconostoc* spp., *Weissella* spp. ve *Oenococcus* spp.'nin heterolaktik fermantasyon gerçekleştirdiği bildirilmiştir. (Sridhar ve ark., 2005; Zaunmüller ve ark., 2006).

Peynir üretiminde süte starter olarak katılan veya sütün doğal mikroflorasında bulunan LAB'ların en önemli işlevleri laktozu fermente ederek laktik asit oluşturmaktır. Hızlı asit üretme yeteneği, starter bakterilerin en önemli özelliği olarak değerlendirilmektedir (Cogan ve ark., 1997). Mevcut LAB florası sütün asitleştirilmesini yavaş sağladığından, starter kültür olarak eklenen LAB kültürlerinin ana görevi ortamın hızlı asitlendirilmesidir. Bu sebeple peynir üretiminde öncelikle termofilik ve mezofilik homofermentatif LAB'ların faaliyetlerinin bir sonucu olarak ortamda hızlı bir şekilde laktik asit oluşmaktadır. Peynir üretim aşamasının yanı sıra asitliğin ön olgunlaştırma ve olgunlaştırma aşamaları boyunca da çok önemli görevleri bulunmaktadır. Peynire işlenen sütte ön asitlenmeyi sağlayarak pıhtılaştırıcı enzimin etkinliğini arttırmakta, pıhtıdan yeterli miktarda peyniraltı suyunun ayrılmasını sağlamakta, haşlama işlemini kolaylaştırmakta, salamuradan tuz alımını yönlendirmekte, olgunlaşmaya yön vererek tat ve aromanın oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca gelişen asitlik sayesinde antimikrobiyel etki birçok zararlı ve patojen mikroorganizmanın faaliyetini engellemektedir (laktik antagonizm) (Kılıç, 2021).

2.2.4.2. Proteolitik Aktivite

Proteoliz, çoğu peynir çeşidinin olgunlaşma sürecinde meydana gelen başlıca ve en karmaşık biyokimyasal reaksiyondur. Peynirde proteoliz, peynir üretiminden önce sütte proteoliz, sütün enzimatik olarak pıhtılaşması ve peynir olgunlaşması sırasında proteoliz olmak üzere üç aşamaya ayrılabilir (Fox, 1989). Proteoliz öncelikli olarak peynirin sertlik, elastikiyet ve eriyebilirlik gibi yapısal özelliklerinin oluşmasında sorumlu olup, küçük peptitler ve amino asitler peynirin aromasına doğrudan katkı sağlamaktadır (Fox ve ark., 2017). Aynı zamanda proteolitik aktivitesi yüksek olan bakteriler aracılığı ile açığa çıkan hidrolize azot bileşikleri ve çeşitli

aminoasitler, laktik asit bakterilerinin gelişimlerini teşvik etmekte ve glikoliz hız kazanmaktadır (Kılıç, 2021).

Peynirde proteoliz; süttten, koagulanttan, starter, starter olmayan ve ikincil kültürler olmak üzere 5 farklı kaynaktan gelen enzimler tarafından katalize edilmektedirler (McSweeney ve Sousa, 2000). Bunlardan süt kaynaklı enzimler, plazmin, somatik hücre proteinazları ve süütün doğal florasından kaynaklanan enzimlerdir.

Laktik asit bakterileri aminoasit sentezleme bakımından sınırlı yeteneğe sahiptir. Bu sebeple gelişebilmeleri için ortamda bazı serbest aminoasitlerin bulunmasına gerek duymaktadırlar. Sütte laktik asit bakterilerinin gelişimini yeterli düzeyde destekleyecek miktarda aminoasit ve düşük molekül ağırlıklı peptitler olmadığı için starter kültürde ve peynir yapımında gerek duyulan yüksek hücre sayısına ulaşabilmek amacıyla, ortamdaki süt proteinlerini aminoasit ve peptitlere hidrolize edebilecek bir proteinaz sisteminin olması gerekmektedir (Kılıç, 2021). Genel olarak, laktik asit bakterilerinin zayıf proteolitik olmalarına rağmen çok kapsamlı bir proteinaz/peptidaz sistemine sahip oldukları bildirilmiştir (Sousa ve ark., 2001; McSweeney, 2004; Al-kotami ve ark., 2015).

Peynirde proteoliz olayı diğer süt ürünlerinin aksine yalnızca laktik bakterilerin etkisi ile gelişmektedir. Pıhtının elde edilmesinde kullanılan pıhtılaştırıcı enzim ile NSLAB türleri bu süreçte rol oynamaktadır. Proteoliz ürünleri, tat ve aroma üzerine olumlu etkide buldukları gibi tat bozukluklarına da sebep olabilirler. Özellikle bazı peptitler, peynirde acı ve keskin tat bozukluklarının kaynağı olarak belirlenmişlerdir (Kılıç, 2021).

2.2.4.3. Lipolitik Aktivite

Lipoliz peynirlerin olgunlaştırılması sırasında meydana gelen en önemli biyokimyasal olaylardan biridir. Süt yağı, esas olarak toplam lipidlerin %98'ini oluşturan gliserol ve yağ asitlerinin esterleri olan trigliseritlerden (triacilgliserollerden) oluşur. Peynirdeki lipoliz, bir yağ asidi ile trigliseritin gliserol kısmı arasındaki ester

bağını parçalayan hidrolazlar (lipazlar ve esterazlar) adı verilen lipolitik enzimlerle gerçekleşmektedir (Lopez ve ark., 2006). Bu enzimler; süt, peynir mayası (rennet), starter bakteriler, sekonder kültürler, NSLAB ve eksojen lipazların eklenmesi olmak üzere altı muhtemel kaynaktan gelmektedir. Lipolitik enzimlerin pH 7-8.5 ve 35°C sıcaklıkta optimum aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Deeth ve Fitz-Gerald, 1983).

Lipoliz reaksiyonu trigliseritlerin önce digliseritlere ve ardından monogliseritler ile serbest yağ asitlerine parçalanması ile gerçekleşmektedir. Bu enzimlerin faaliyetleri sonucu esterler, metil ketonlar, laktonlar ve ikincil alkoller gibi bazı bileşikler oluşmakta ve bunlar peynir lezzet profilini oluşturmaktadır. Bunlardan serbest yağ asitleri, uçucu olan ve tada katkıda bulunan bileşikler üreten katabolik reaksiyonların önemli öncüleridir (McSweeney ve Sousa, 2000).

LAB türleri peynirle ilgili diğer bazı mikroorganizmalara kıyasla zayıf denilecek düzeyde lipolitik etkiye sahiptir. Buna rağmen peynirde çok sayıda starter ve NSLAB türü bulunduğundan, sahip oldukları hücre içi esterolitik/lipolitik enzimleriyle birçok olgunlaştırılmış peynirin uzun olgunlaşma periyodu sırasında önemli seviyelerde yağ asitlerinin ortaya çıkmasından sorumlu olduğu tespit edilmiştir (Collins ve ark., 2004).

2.2.5. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri

Mikroorganizmaların çeşitliliği, varyasyonları ve bilim alanlarındaki keşifler ile yenilikler, mikroorganizmaların tanımlama yöntemlerinin gelişimine yol açmıştır (Nacef ve ark., 2016). Özellikle starter kültürlerin tanımlanması ve karakterizasyonu ile seçimi, çoğaltılması ve kullanımındaki teknolojik ilerlemeler gerek endüstri gerekse bilim dünyası için önem arz etmektedir. Endüstriyel peynir üretiminde, pastörize süt ve arzu edilen lezzetin sağlanması amacıyla hazırlanan kültür karışımlarını kullanarak peynir mikroflorasını daha fazla kontrol edebilmek günümüzün çalışma alanlarında yer almaktadır (Broome ve ark., 2011).

Laktik asit bakterilerinin biyokimyası, fizyolojisi ve genetiğinin anlaşılabilmesi, daha spesifik ve hedef odaklı kültürlerin kullanımına imkan

sağlamaktadır. Bu türlerin tanımlanmasının artması ile fermente süt ürünleri üretiminde kullanılacak spesifik kültür seçimi ve buna bağlı olarak son ürünün organoleptik özellikleri üzerinde daha fazla kontrol avantajı sağlamaktadır (Fox ve ark., 2017). LAB'ların tür düzeyinde tanımlanması aynı zamanda sağlık açısından potansiyel risklerinden kaçınmak için büyük önem taşımaktadır. Bu bakterilerin tanımlanması amacıyla uzun yıllardır çok farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu bakterilerin tür düzeyinde kesin olarak tanımlanmasının kolay bir iş olmadığı bildirilmiştir (Mohania ve ark., 2008). Laktik asit bakterileri identifikasyon yöntemleri fenotipik ve genotipik yöntemler olmak üzere iki ana grup altında toplanmaktadır.

2.2.5.1. Fenotipik Yöntemler

Mikroorganizmaların fenotipik karakterizasyonu için kullanılan yöntemler, kültür ortamının kullanımına ve morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal tabanlı testlere dayanmaktadır. Genellikle bu geleneksel tanımlama yöntemlerinin 3-5 gün arasında sürdüğü ve uzman becerileri gerektirdiği bildirilmiştir (Popović ve ark., 2017). Ancak bu tip yöntemlerin az tekrarlanabilirlik gibi bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Bu yöntemler bir cins içindeki tür ve alt türleri etkin bir şekilde ayırt etmede yetersiz kalmaktadır. Ayrıca bazı tekniklerin belirsizliği tam anlamıyla kesin ve doğru sonuç vermeyebilmektedir (Mohania ve ark., 2008).

Gelişen teknolojiyle birlikte, fenotipik tanımlamayı hızlandırmak ve doğruluğunu arttırmak için yarı otomatik veya otomatik tanımlama sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemler kullanıma hazır test kitleri olarak bulunmakta ve ticari olarak satılmaktadır. Bu kitlerin çalışmasında mikroorganizmaların bir dizi substratı fermente etmesi veya asimile etmesi etkili olmaktadır. Analytical profile index (API) (BioMerieux, France) ve BBL Crystal (Becton, Dickinson and Company, USA) bu test kitlerine örnek olarak verilebilir. Bu kitlerin avantajları; birçok biyokimyasal testin bir arada çalışılması, az miktarda malzeme ve örnek kullanımıyla kısa sürede sonuç vermesi, tekrarlanabilir olması ve yüksek doğrulukta sonuç vermesidir (Elçioğlu, 2010). Ancak özellikle laktik asit bakteri türleri gibi birbirine benzer gelişme ve biyokimyasal aktiviteleri bulunan mikroorganizmaların tanımlanmasında, bu

yöntemlerin ayırt ediciliği yeterli olamamaktadır. Bu sebeple geleneksel tanımlama yöntemlerinin bakteri karakterizasyonu için yararlı ve vazgeçilmez olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen, fenotipik özelliklere dayalı tanımlamaların güvenilirliğinin sorgulanmasına ve bu testlere ek tanımlama testlerine ihtiyaç duyulmuştur. Bu nedenle geleneksel metotlara ilave olarak DNA tabanlı tekniklerin kullanılması önerilmiştir. Zaman içinde fenotipik ve moleküler yöntemlerin kombinasyonu, hedeflenen mikrobiyal toplulukların tür kompozisyonunu belirlemek ve analiz etmek için en çok tercih edilen yaklaşımlardan biri haline gelmiştir (Ostlie ve ark., 2005).

2.2.5.2. Genotipik Yöntemler

Bakterilerin identifikasyonuna yönelik geleneksel yaklaşım, fizyolojik ve/veya biyokimyasal özellikleri esas alan fenotipik yöntemlere dayansa da son yıllarda moleküler bazlı tekniklerin kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Ayivi ve ark., 2020). Bu amaçla kullanılan moleküler yöntemlerden bazıları; DNA-DNA hibridizasyonu, 16s rRNA, pulse-field jel elektroforez (PFGE), gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), floresan in-situ hibridizasyon (FISH) ve amplified rDNA restriction analysis (ARDRA) gibi yöntemlerdir (Okaför, 2011). Bu yöntemler maliyetli, zaman alıcı ve yüksek uzmanlık gerektirse de yapılan araştırmalarda özellikle LAB türlerinin tanımlanması için daha hızlı, hassas, güvenilir ve doğru sonuçlar elde edildiğini göstermektedir (Mohania ve ark., 2008).

Bakteri tanımlama yönteminin seçimi için göz önünde bulundurulacak kriterler genellikle; kullanılan tanımlama testlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü, sağlamlıkları ile analiz başına düşen maliyettir. Bu bağlamda MALDI-TOF MS yöntemi ile bakteri tanımlaması, bakteri izolatlarının cinsini, türünü ve hatta alt türlerini belirlemek için tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir (Carbonnelle ve ark., 2012; Nacef ve ark., 2016).

MALDI-TOF MS

Bakteri karakterizasyonu için kullanılan yöntemler arasında MALDI-TOF MS yöntemi öne çıkmıştır. MALDI-TOF MS, parçacıkların iyonize edildiği, kütle/yük oranlarına göre ayrıldığı ve bir uçuş süresi tüpünün sonunda iyonların bir dedektöre gitmeleri için geçen süreyi belirleyerek ölçüldüğü analitik bir tekniktir. Genel olarak bir kütle analiz cihazına bağlı katı numuneler için bir iyon kaynağından oluşmaktadır (Nacef ve ark., 2016). Yöntem sonunda ortaya çıkan spektrum, bilinen organizmalardan gelen spektrumların veri tabanı ile karşılaştırılarak tanımlama yapılır. Organizmanın spektral kütüphanesinin herhangi bir organizma için beklenen doğal değişkenliği hesaba katacak kadar güçlü olması için çeşitli koşullar altında geliştirilen her tür için yeterli sayıda izolat içermesi çok önemlidir. İlk olarak 1996 yılında Holland ve ark. (1996) tarafından kullanılan bu yöntem ile bakteri hücrelerinden spektral parmak izleri elde edilmiştir. Bu teknolojiyle gram pozitif, gram negatif, aerobik ve anaerobik bakterilerin yanı sıra mikobakteriler, mayalar ve küller tür düzeyinde, geleneksel yöntemler kadar iyi ve genellikle daha yüksek bir doğruluk oranıyla tanımlanabilmektedir (Rychert, 2019). Mikroorganizmaların MALDI-TOF MS ile tanımlanması özellikle son 15 yılda çok fazla ilgi görmüş ve rutin olarak laboratuvarlarda uygulanmaya başlanmıştır (Gantzias ve ark., 2020).

Bu yöntemin olumlu özellikleri; karmaşık örnek hazırlama adımlarının olmaması, kullanım kolaylığı, verilerin nispeten hızlı bir şekilde elde edilmesi ve analiz başına düşük maliyettir (Freiwald ve Sauer, 2009). Hassas bir teknik olduğundan, analiz için sadece az miktarda mikrobiyal biyokütle (bakteriler için 10^4 - 10^6 kob) gereklidir. Bu sayede iyi izole edilmiş tek bir koloni olduğu sürece testler genellikle birincil kültürden yapılabilir (Wieser ve ark., 2012). Yöntemle kısa süre içerisinde çok sayıda örneğin sonucu cins ve bazen de tür bazında tanımlanabilmektedir. (Carbonnelle ve ark., 2011). Kullanılan pek çok gen tabanlı yöntemle göre daha az masraflı olması ve hızlı ve güvenilir sonuç vermesi nedeniyle, diğer tanımlama yöntemlerine göre iyi bir alternatif olarak değerlendirilmektedir (Nacef ve ark., 2016). Ayrıca bu yöntemle geleneksel yöntemlerle ayrılması zor olan bakteriler ile 16S rRNA gen sekansı ile ayrımı yapılamayan benzer türlerin ayrımının yapılabildiği bildirilmiştir (Kılıç Kanak ve Öztürk Yılmaz, 2018).

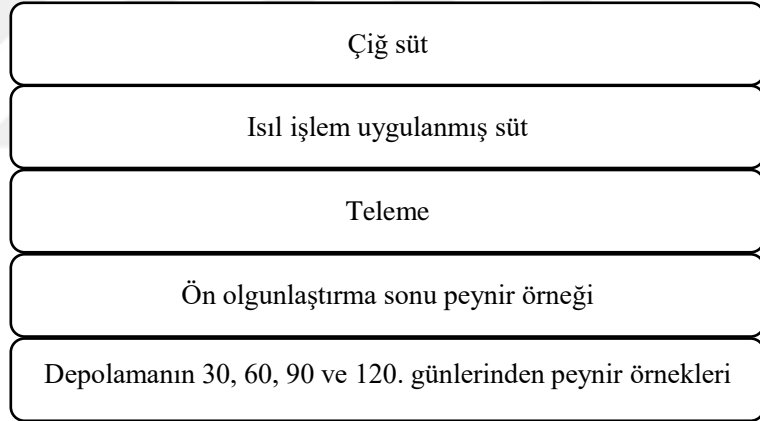
Bununla birlikte yöntemin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bu yöntemle tanımlamanın başarı oranı, özellikle referans alınan veri tabanının genişliğine bağlıdır. İyi tasarlanmış bir referans veri tabanı baz alınarak, tanımlanmak istenen bakterilerin MALDI-TOF MS profilleri, referans spektrumlarına karşı spektral benzerlikleri puanlanarak hızlı ve kolay bir şekilde karakterize edilebilirler (Freiwald ve Sauer, 2009). Ancak yöntemin tanımlama ilkesinin bir üreticiden diğerine farklı veri tabanlarına dayanması ve bu veri tabanlarının bazılarının kısıtlı olabilmesi sorun teşkil edebilmektedir. Bu durumlarda, tür düzeyinde yanlış bir tanımlama elde edilmekte veya hiç tanımlamama yapılamamaktadır. Bu sebeple bakteriyel MALDI-TOF MS referans spektrumlarının dünya çapında tek bir veri tabanının kurulumu ile daha büyük bir mikrobiyal suş setinden ve/veya gıda endüstrisi için özel bir veri tabanından genomik verilerle ilişkilendirilmesi, bu bakteri tanımlama yönteminin yayılmasında önemli bir ilerleme olacağı belirtilmiştir. Bunun yanı sıra izole edilen mikroorganizmaların mutlaka taze kültür olarak kullanılması gerekliliği, hassas bir örnek hazırlama süreci gerektirmesi ve filogenetik olarak birbirine yakın mikroorganizmaların ayırımının zor olması yöntemin olumsuz yanlarından bazılarıdır (Nacef ve ark., 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örnekleme

Örnekler, Balıkesir ilinde faaliyet göstermekte olan bir süt ve süt ürünleri işletmesinden temin edilmiştir. Örnek toplama işlemleri her mevsimin ortasında bir kere olmak üzere bir yıllık bir zaman periyoduna yayılmıştır. Araştırma grubunu oluşturan örnekler Şekil 3.1.'de ve örnek alım periyotları Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırma grubunu oluşturan örnekler.

Tablo 3.1. Örnek alım periyotları.

İlkbahar 2020			Yaz 2020			Sonbahar 2020			Kış 2021		
Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat
-	✓	-	-	✓	-	-	✓	-	-	✓	-

3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Kimyasallar

3.1.2.1. Besiyerleri

Bu çalışmada kullanılan besiyerleri Tablo 3.2.'de verilmiştir. Besiyerlerinin hazırlanmaları üretici firmaların talimatları doğrultusunda yapılmıştır.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri.

Besiyeri Adı	Üretici Firma	Katalog No.
de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agar	Merck	1.10660
de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Broth	Merck	1.10661
M17 Agar	Merck	1.15108
M17 Broth	Merck	1.15029
Maximum Recovery Diluent (MRD)	Merck	1.12535
Kanamycin Esculin Azide (KEA) Agar	Merck	1.05222
Plate Count Skim Milk Agar (PCA)	Merck	1.15338
Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar	Merck	1.00466
Trypcase Soy Agar (TSA)	Biomerieux	43011
Tryptic Soy Broth (TSB)	Merck	105459
Mueller-Hinton Agar (MHA)	Oxoid	CM0337

3.1.2.2. Kimyasallar

Laktoz Çözeltisi

Çözeltinin hazırlanmasında ilk olarak 10 g laktoz (Oxoid, L70) tartılarak, 100 ml suda çözündürüldü. Ardından steril filtreden (Merck, Millipore) süzülerek, hazırlanan MRS agar ve M17 agar besiyerlerine %5 oranında ilave edildi.

Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Çözeltisi

Çözelti için 3 ml analitik saf (%35'lik) hidrojen peroksit (H₂O₂) 100 ml'lik balon jøjeye aktarıldı. Balon jöje içeriği distile su ile 100 ml çizgisine tamamlandı. Isınan balon jöje oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Çözelti 24 saat bekletildikten sonra kullanıldı.

Gliserol

Ticari gliserol (Merck, 104057) otoklavda sterilize edildikten (121°C'de 15 dk) sonra kullanıldı.

3.1.2.3. Antibiyotik Diskleri

Çalışmada kullanılan ticari antibiyotik diskleri (Oxoid, İngiltere) Tablo 3.3.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan antibiyotik diskleri.

Antibiyotik Disk Adı	Disk kodu	Konsantrasyon (µg/disk)
Ampisilin	CT0003B	10
Gentamisin	CT0024B	10
Streptomisin	CT0047B	10
Kloramfenikol	CT0013B	30
Eritromisin	CT0066B	5
Tetrasiklin	CT0054B	30
Vankomisin	CT0058B	30
Kanamisin	CT0026B	30
Klindamisin	CT0064B	2
Siprofloksasin	CT0425B	5

3.1.2.4. Gram Boyama Çözeltileri

Gram boyama yönteminde kullanılan reaktif çözeltiler set halinde Advanced Diagnostics & Research (A.D.R) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Toplanması ve Analize Alınması

Süt örnekleri steril vida kapaklı şişelere (200 ml), teleme ve peynir örnekleri ise peynir kalıbının iç bölgesinden steril stomacher torbalarına (200 g) alınarak soğuk zincirde ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) en kısa sürede laboratuvara getirilerek aynı gün içinde analize alındı. Analizler Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

Süt örneklerinden 10 ml, teleme ve klasik beyaz peynir örneklerinden 10 gram aseptik koşullar altında stomacher torbaları içerisine alınarak üzerlerine 90'ar ml maximum recovery diluent (MRD) ilave edildi. Stomacherde (IUL, 400) 2 dakika süreyle homojenize edildi. Bu şekilde 1:10'luk dilüsyonu elde edilen örneklerin homojenatından 1 ml alınarak, önceden hazırlanan 9 ml steril MRD içeren tüplere aktarıldı. Vortekste (Velp, ZX3) homojenize edilerek örneklerin desimal seri dilüsyonları hazırlandı.

3.2.2.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Sayımı

Hazırlanan dilüsyonlardan plate count skim milk agara (PCA) 1 ml dökme plak yöntemi ile ekim yapıldı. Petrilerin 37°C 'de 48 saat inkübe edilmesinin ardından,

besiyerinde gelişen tüm koloniler sayıldı. Sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak \log_{10} kob/g olarak kaydedildi (TS EN ISO 4833-1, 2014).

3.2.2.2. Toplam Aerobik Psikrofilik Bakteri (TAPB) Sayımı

Hazırlanan dilüsyonlardan PCA'ya 1 ml dökme plak yöntemi ile ekim yapıldı. Petrilerin 4°C'de 14 gün süre ile inkübe edilmesinin ardından, besiyerinde gelişen tüm koloniler sayıldı. Sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak \log_{10} kob/g olarak kaydedildi (TS EN ISO 4833-1, 2014).

3.2.2.3. Maya Sayımı

Hazırlanan dilüsyonlardan dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agara 0.1 ml yayma plak yöntemi ile ekim yapıldı. 25°C'de 5 gün inkübasyonun ardından, besiyerinde gelişen koloniler sayıldı. Sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak \log_{10} kob/g olarak kaydedildi (TS ISO 21527-2, 2014).

3.2.2.4. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Lactobacillus spp. izolasyonu için, hazırlanan seri dilüsyonlardan 100 µl alınarak steril laktoz solüsyonu (%10 w/v) içeren de man, ragosa and sharpe (MRS) agara ekim yapıldı. Steril drigalski spatülü ile yüzeye yayma işleminin ardından, petriler anaerobik koşullarda 37 °C'de 48-72 saat inkübe edildi (de Man ve ark., 1960).

Lactococcus/Streptococcus spp. izolasyonu için, hazırlanan seri dilüsyonlardan 100 µl alınarak, steril laktoz solüsyonu (%10 w/v) içeren M17 agara ekim yapıldı. Steril drigalski spatülü ile yüzeye yayma işleminin ardından, petriler anaerobik koşullarda 30 °C'de 48-72 saat inkübe edildi (Terzaghi ve Sandine, 1975).

Enterococcus spp. izolasyonu için ise hazırlanan seri dilüsyonlardan 100 µl alınarak kanamycin esculin azide (KEA) agara ekim yapıldı. Steril drigalski spatülü

ile yüzeye yayma işleminin ardından, petriker 37 °C'de 48 saat inkübe edildi (Pesavento ve ark., 2014).

Anaerob ortam koşullarının sağlanması için anaerocult A (Merck, 1.13829) poşetleri kullanıldı. Anaerocult A poşeti yatay tutularak 15-20 saniye süre içinde poşetin her yanını ıslatacak şekilde 35 mL su ilave edilerek jara yerleştirildi ve jar kapağı kapatılarak istenilen sıcaklıkta inkübasyona bırakıldı. Anaerobik ortamın sağlanıp sağlanmadığı anaerotest şeridi (Merck, 1.15112) ile kontrol edildi. Yaklaşık 4 saat sonunda şeridin mavi renginin renksiz olması, anaerobik ortamın sağlandığını gösterdi.

İnkübasyon sonunda her bir örnek için petrikerde LAB olma potansiyeli bulunan farklı görünüşlü 5-10 tekli koloni saflaştırma amacıyla seçilerek identifikasyon testlerine tabi tutuldu.

3.2.3. LAB İzolatlarının İdentifikasyonu

3.2.3.1. LAB İzolatlarının Ön İdentifikasyonu

Koloni Morfolojisi

İnkübasyon sonunda petrikerdeki koloni görünüşlerine göre izolat seçimi, renk ve şekle göre yapıldı. *Lactobacillus* spp. için krem renkli, mat, düzgün kenarlı koloniler, *Lactococcus/Streptococcus* spp. için beyaz, düzgün kenarlı ve parlak koloniler, *Enterococcus* spp. için ise en az 1 cm çapında siyah zonlarla çevrili, küçük, yuvarlak, beyaz veya gri koloniler seçilerek ışık mikroskobunda (Novex, Holland) incelendi.

Gram Boyama

LAB şüpheli kolonilerden spesifik agar besiyerlerine ekim yapılarak, 24 saat inkübe edildi ve inkübasyon sonunda gelişen aktif kolonilerden iğne uçlu öze ile alındı. Temiz bir lam üzerine bir damla FTS ile yayılarak kurutuldu ve alevden 2-3 kez hızla geçirilerek fikse edildi. Preparat üzerine kristal viyole boyası damlatılarak 2-3 dakika bekletildi. Ardından saf su ile yıkanarak lügol damlatıldı ve 1-2 dakika bekletildi. Sonra lam saf su ile yıkandı ve saf alkol damlatılarak 15-20 saniye kadar dekolore edildi. Son olarak saf su ile yıkandıktan sonra safraninle 30 saniye bekletildi. Preparat su ile yıkanarak boyası giderildikten sonra kuruması beklendi ve ışık mikroskopunda (Novex, Holland) 100x'lik büyütmede immersiyon yağı (Merck, 104699) damlatılarak incelendi. Mikroskop incelemesi sonucunda mavi-mor renkli koloniler Gram pozitif, pembe renkli koloniler ise Gram negatif olarak kabul edildi. Gram pozitif olan izolatlar LAB şüpheli olarak seçildi (Bartholomew ve Mittwer, 1952).

Katalaz Testi

Gram pozitif LAB şüpheli kolonilerden steril boş petriye bir öze dolusu alınarak üzerine Pastör pipeti ile bir-iki damla %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatıldı. Gaz kabarcıklarının oluşup oluşmadığı gözlemlendi. Gaz kabarcıkları oluşturan örnekler katalaz pozitif, herhangi bir reaksiyon göstermeyen izolatlar ise negatif olarak değerlendirildi. LAB, H_2O_2 'yi su ve oksijene dönüştüren katalaz enzimi üretmediklerinden dolayı, negatif sonuç veren izolatlar LAB şüpheli olarak seçildi.

Glikozdan CO_2 Oluşturma Testi

LAB'ın heterofermentatif veya homofermentatif olup olmadıklarını belirlemek amacıyla, 10'ar mL MRS ve M17 broth içeren tüplere ters konumda Durham tüpleri yerleştirilerek otoklavda sterilize edildi. Aktifleştirilmiş izolatlardan alınarak 10'ar mL MRS ve M17 broth içeren tüplere ekim yapıldı ve 30°C'de 7 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda Durham tüplerinde gaz oluşumu olup olmadığı kontrol

edildi. Ortamda gaz oluşturan izolatlar heterofermantatif, gaz oluşumu meydana getirmeyen izolatlar ise homofermantatif olarak değerlendirildi.

LAB İzolatlarının Saklanması

Sonraki analizlerde kullanılmak üzere; *Lactobacillus* spp. olduğu düşünülen koloniler MRS broth, *Lactococcus/Streptococcus* spp. olduğu düşünülen koloniler M17 broth ve *Enterococcus* spp. olduğu düşünülen koloniler ise tryptic soy broth (TSB)'da aktifleştirildi. İzolatlar, örneklerin temin edildiği zaman dilimine göre izolasyon numaraları içerecek şekilde adlandırıldı. İzolatların her biri steril eppendorf tüplerinde 800 µl izolatın zenginleştirme brothu ve 200 µl steril gliserol ilave edilerek homojenize edildi ve kullanılmaya kadar -80 °C derin dondurucuda saklandı.

3.2.3.2. LAB İzolatlarının Moleküler İdentifikasyonu

Ön identifikasyon testlerinin ardından seçilen izolatların genotipik olarak tanımlanması için MALDI-TOF MS yöntemi kullanıldı.

Örneklerin MALDI-TOF-MS ile Analizi

MALDI-TOF-MS analizleri için; HCCA (α -siyano-4-hidroksisinnamik asit; Bruker), ACN (asetonitril; HPLC saflıkta, Sigma-Aldrich), TFA (trifloroasetik asit; Sigma-Aldrich), FA (formik asit; Sigma-Aldrich), DNA az ve RNA az içermeyen 0.1 Bruker güvenli filtrelenmiş ultra saf su (Sigma-Aldrich), *Escherichia coli*, RNAaz ve myoglobin protein profilleri içeren BTS (bakteriyel test solüsyonu) solüsyonu kullanıldı. HCCA matris çözeltisi, 250 µL standard solvent çözeltisi (50 µL asetonitril + 47.5 µL ultra saf su + 2.5 µL trifluoroasetik asit) ile son konsantrasyonu 10 mg HCCA/mL oranında olacak şekilde hazırlandı.

MALDI TOF MS ile mikrobiyal biyokütle analizi için, steril kürdan ucu ile tek bir koloniden (24-48 saat inkübe edilmiş kültürden) alınan kültür, özel bir çelik 96

MSP-MALDI (Bruker Daltonics) plakasına (direkt transfer yöntemi) uygulanarak kuruduktan sonra üzerine 1 µl HCCA matris çözeltisi ilavesi yapıldı. 96 MSP MALDI plakasında kuruyan her bir örnek spotunun üzerine HCCA matris çözeltisinden 1 µL ilave edilerek oda sıcaklığında tamamen kuruması sağlandı. Son olarak, örnek yüklü 96 MSP plaka MALDI TOF MS cihazına (Bruker Microflex LT, Almanya) yerleştirilerek okuma gerçekleştirildi. Sistem, doğrusal pozitif iyon modu ile çalıştırılarak optimize edilmiş yöntem olan 2.000-20.000 Da kütle aralığında tarama yapacak, iyon kaynağı olarak 337 nm'de 60 Hz'lik bir nitrojen lazer kullanılacak ve spektrumları elde etmek için her bir numunenin ölçümünde 240'lık 40 paketten oluşan lazer atımları yapıldı ve her örnek için üç çalışma yapılarak tekrarlanan okumalarda en yüksek puanın elde edildiği sonuçlar dikkate alındı. BTS (Bakteriyel test solüsyonu) ile kütle kalibrasyonu numunelerle eş zamanlı olarak gerçekleştirildi.

İzolatların Tanımlanması

Bakterilerin tanımlanması, Flex Control 3.0 yazılımı (Bruker Biotyper; Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) kullanılarak yapıldı. Spektrumlar MALDI Biotyper otomasyon kontrollü (flexAnalysis Version 3.4; Biotyper Compass Explorer 1.4 software), yazılımı ve kütüphanesi (MALDI Biotyper 3.1; 8500 entries; Bruker Daltonics) kullanılarak analiz edildi. Kullanılan tanımlama puan (skor) ölçütleri imalatçı firma (Bruker) tarafından önerilen prosedüre göre uygulandı.

3.2.4. İzolatların Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanan izolatlardan, süt endüstrisinde beyaz peynir üretiminde en yaygın kullanılan ve skor değeri en yüksek 20 izolat seçilerek teknolojik özellikleri ve starter kültür olarak kullanım olanakları değerlendirildi.

3.2.4.1. Asit Üretim Kapasitesi

İzolatların asit üretim yetenekleri pH ölçümü ve titrasyon yoluyla laktik asit cinsinden yüzde asitlik hesaplanarak belirlendi. Bunun için 30°C’de 15 gün ve 55°C’de 7 gün inkübe edilen ve inkübasyon sonrası ambalajlarında sızıntı ve bombaj görülmeyen UHT yağsız sütler kullanıldı. Steril deney tüpleri içerisine konulan 10 mL UHT yağsız sütlere 18 saatlik aktif kültürlerden 0,1 mL (v/v) ilave edildikten sonra *Lactococcus/Streptococcus* spp. için 30 °C; *Enterococcus* spp. ve *Lactobacillus* spp. ise 37°C’de 3, 6, 9 ve 24 saat inkübe edildi. Her inkübasyon süresinin sonunda aseptik olarak tüplerden 2’şer ml örnek alınarak önce pH metre (HANNA, HI2211) ile pH ölçümü yapıldı. Titrasyon yoluyla laktik asit cinsinden yüzde asitlik hesaplamak için ise, alınan her örneğin üzerine 1-2 damla fenolftalein indikatörü damlatıldı ve 0.1 N NaOH ile hafif pembe renge kadar titre edildi. Aşağıdaki formülden yararlanılarak izolatların asitlik değerleri % laktik asit cinsinden hesaplandı (Sarantinopoulos ve ark., 2001).

$$\text{Laktik asit (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times F_{\text{NaOH}} \times 90 \times 10^{-3} \times 100}{m}$$

V: Harcanan NaOH miktarı (ml)

m: Süt miktarı (ml)

F: 0.1N NaOH çözeltisinin faktörü

N: NaOH normalitesi

3.2.4.2. Proteolitik Aktivite

İzolatların proteolitik aktivitesini belirlemek amacıyla %10 skim milk (Oxoid, LP0031) ilave edilmiş MRS agar hazırlanarak, üzerine steril Whatman kâğıt diskleri yerleştirildi. Her bir diske 20 µL’lik taze kültür eklenerek 37°C’de 24 saat inkübasyondan sonra, disklerin etrafındaki açık renkli opak bölgeler proteoliz oluştuğunun bir göstergesi olarak değerlendirildi (Harrigan, 1998).

3.2.4.3. Farklı Sıcaklık Derecelerinde Gelişebilme

İzolatların farklı sıcaklık derecelerinde gelişebilme kabiliyetini belirlemek için sıcaklık dayanıklılık testi yapıldı. Bu amaçla izolatlar 10 mL M17 ve MRS broth besiyerlerine %1 oranında inoküle edilerek 10°C, 15°C ve 45°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda besiyerinde bulanıklık oluşturarak gelişme gösteren izolatlar pozitif, bulanıklık oluşturmayanlar ise negatif olarak kabul edildi.

3.2.4.4. Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişebilme

Farklı NaCl konsantrasyonlarında bakteri üreme kabiliyetini belirlemek için tuz dayanıklılık testi yapıldı. Bu amaçla izolatlar %2 ve %6.5 konsantrasyonunda NaCl içeren M17 ve MRS broth besiyerlerine %1 oranında inoküle edilerek 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından besiyerinde bulanıklık oluşturarak gelişme gösteren izolatlar pozitif, bulanıklık oluşturmayanlar ise negatif olarak kabul edildi.

3.2.4.5. Farklı pH Değerlerinde Gelişebilme

İzolatların farklı pH değerlerinde gelişebilme kabiliyetini belirlemek için iki farklı pH değerinde (9.6 ve 3.9) gelişebilme durumları değerlendirildi. pH 9.6 değerinde gelişebilme testi için; 1 N NaOH yardımı ile 10 ml M17 broth'un pH değeri 9.6'ya ayarlanarak steril edildi. 24 saatlik aktif kültürlerden %1 oranında inoküle edilerek 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bulanıklık gözlenen tüplerde gelişim test sonucu pozitif, olmayanlarda ise negatif olarak kabul edildi. pH 3.9 da gelişebilme testi için ise; 1 N HCl yardımı ile 10 ml MRS broth'un pH'ı 3.9'a ayarlanarak steril edildi. Aktifleştirilmiş izolatlardan %1 oranında inoküle edilerek 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Bulanıklık görülen tüplerde test pozitif, görülmeyenlerde ise test sonucu negatif olarak değerlendirildi.

3.2.4.6. Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi

İzole edilen LAB'ın antibiyotiklere karşı direncini saptamak için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanıldı (Bauer ve ark., 1966). Bunun için yaygın olarak kullanılan ampisilin (10 µg), gentamisin (120 µg), streptomisin (10 µg), kloramfenikol (30 µg), eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), vankomisin (30 µg), kanamisin (30 µg), klindamisin (2 µg) ve siprofloksasin (5 µg) antibiyotik diskleri kullanıldı (Tablo 3.3). Mueller-Hinton agarda 37°C'de 24 saat inkübasyon süresi sonunda oluşan zonlar ölçüldü. Sonuçlar, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, M100-ED31:2021) kriterlerine göre zon çaplarına bağlı olarak dirençli (R), orta duyarlı (I) ve duyarlı (S) olmak üzere değerlendirildi.

3.2.4.7. Antimikrobiyal Aktivite

LAB'nin antimikrobiyel aktivite testleri için; *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 35150, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 referans suşları kullanıldı. Bu suşlar Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı bakteri kültür koleksiyonundan temin edildi. Antimikrobiyal etkileri test edilecek olan izolatlar falkon tüplerde, 50 ml'lik broth ortamında ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kültür sıvıları 8000 rpm'de +4°C soğutmalı santrifüjde (Hettich, Universal 320R) 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüj işleminden sonra kültür süpernatantları pelletten ayrılarak, steril şırıngalarla çekildi ve 0.45 µl por çaplı, steril membran filtreden (Merck, Millipore) süzüldü. Süzüntüler (CFS, cell-free supernatant) steril deney tüplerinde toplandı. Her bir patojen bakteri izolatı için uygun agar ortamları hazırlandıktan sonra, bakteri süspansiyonları steril eküvyon çubuğu ile inkübe edildi. Petrilere 6 mm çaplı kuyucuklar açılarak CFS'lerden 180 µl konuldu ve patojen bakteriler için uygun sıcaklıklarda 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek kaydedildi (Pringsulaka ve ark., 2012).

3.2.5. Kimyasal Analizler

3.2.5.1. Süt Örneklerinin Kimyasal Analizleri

Süt örneklerinin kimyasal değerlerinin belirlenmesi için Lactoscan MCCW cihazı kullanıldı. Bu cihaz ile süt örneklerinde yağ, donma noktası, tuz, pH, protein ve yağsız kuru madde değerleri analiz edildi.

3.2.5.2. Peynir Örneklerinin Kimyasal Analizleri

Peynir örneklerinde, kuru madde (TS EN ISO 5534/T1, 2008), yağ (TS ISO 3433, 2015), protein (TS EN ISO 8968-1, 2014), titrasyon asitliği (TS 591/T3, 2019), pH (TS 591/T3, 2019) ve tuz tayinleri (TS EN ISO 5943, 2007) yapıldı.

Titrasyon Asitliğinin Belirlenmesi

Peynir örneklerinin asitliği titrimetrik metotla belirlendi ve % laktik asit cinsinden ifade edildi (TS 591/T3, 2019). Bunun için 10 g örnek tartılarak 100 ml distile eklendi ve homojenize edildi. Süzüntüden 25 mL alınarak üzerine 2-3 damla fenolftalein indikatörü damlatıldı ve 0.1 N NaOH ile hafif pembe renk en az 30 sn kalıcı oluncaya kadar titre edildi. Aşağıdaki formülden yararlanılarak izolatların % laktik asit değerleri hesaplandı (Sarantinopoulos ve ark., 2001).

$$\text{Laktik asit (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times F_{\text{NaOH}} \times 90 \times 10^{-3} \times 100}{m}$$

V: Harcanan NaOH miktarı (ml)

m: Örnek miktarı (g)

F: 0.1N NaOH çözeltisinin faktörü

N: NaOH normalitesi

pH Değerinin Belirlenmesi

pH metre (HANNA, HI2211) pH 4 ve 7'lik buffer solüsyonlarıyla kalibre edildikten sonra, 10 g peynir örneği tartılarak küçük bir beher içine konuldu. Distile suyla 1:1 oranında sulandırıldı ve homojenize edildi. pH metre elektrotu karışımın içine daldırılarak sabit değere ulaştıktan sonra okuma yapılarak kaydedildi (TS 591/T3, 2019).

Kuru Madde Oranlarının Belirlenmesi

Peynir örneklerinin kuru madde miktarı TS EN ISO 5534/T1 (2008) standardına göre referans yöntem ile belirlendi. Kurutma kaplarına yaklaşık 3 g peynir numunesi tartıldı ve 105°C'ye ayarlanmış etüve konularak 4 saat kurutuldu. Süre sonunda kaplar desikatöre alınarak soğutulduktan sonra tartıldı. Ardından tekrar etüve konularak, 30 dakikalık aralıklarla kurutulup tartıldı. Ağırlık sabit hale geldiğinde son tartım dikkate alınarak örneğin % kuru madde miktarı hesaplandı.

Yağ Oranlarının Belirlenmesi

Yağ oranları TS ISO 3433 (2015) standardına göre Van Gulik yöntemi ile % olarak belirlendi. 0-40 ölçüm aralıklı özel peynir bütirometresinin kadehçesine peynir örneğinden 3 g tartılarak üzerine 10 ml sülfürik asit (%90; d: 1.55 g/ml) ilave edildi. 65°C'lik su banyosuna yerleştirilerek peynirdeki kazein ve çözüner maddelerin tamamen erimesi sağlandı. Daha sonra üzerine 1 ml amil alkol ilave edilerek çalkalandı ve bütirometrenin 35 çizgisine kadar aynı özgül ağırlıktaki sülfürik asitten ilave edildi. Bütirometrenin ağzı kapatılarak 10 dakika santrifüj edildi. 65 °C'lik su banyosunda 5 dakika tutulduktan sonra bütirometre skalasından % olarak yağ miktarı okundu.

Protein Oranının Belirlenmesi

Peynir örneklerinde azot içeriği tayini Kjeldahl metodu ile tespit edildi (TS EN ISO 8968-1, 2014). Bunun için homojen hale getirilmiş peynir örneklerinden yakma tüpünün içerisine 5 g tartıldı. Üzerine 2 adet (7 g) Kjeldahl katalizör tableti (Gerhardt Kjelcat S), 25 ml H₂SO₄ ve pastör pipeti ile 2 damla parafin likit damlatıldı. Tüpler yağ yakma ünitesine yerleştirilerek sıcaklık kademeli olarak yükseltildi. Yakma işlemi bittikten sonra 1 saat soğumaya bırakıldı ve yağ yakma tüplerinin her birine 50 ml distile su eklendi. Distilasyon işlemi Gerhardt distilasyon cihazında otomasyon ile gerçekleştirildi. Distilasyon aşamasında 60 ml %4'lük borik asit (Merck) ve %40'luk 75 ml NaOH (Merck) eklenerek amonyum borat destilatı oluşturuldu. Oluşan her bir destilat ayrı ayrı 500 ml'lik beherlere konularak titrasyon aşamasına geçildi. Bu aşamada beherlere pastör pipeti ile 4 damla indikatör çözelti eklendi. İndikatör çözelti olarak 7 ml metilen mavisi ve 3 ml metilen kırmızısından oluşan bir çözelti kullanıldı. Çözelti erlenlere eklendikten sonra oluşan yeşilimsi renkli distilat, manyetik karıştırıcı üzerinde 0.1 N HCl (Merck) ile açık mor-leylak renk elde edilinceye kadar titre edildi. % azot değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (IDF, 1993).

$$\% \text{ Azot} = \frac{(V_1 - V_0 \times N \times 0.014)}{m} \times 100$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Azot} \times F$$

V₁: Titrasyonda harcanan HCl çözeltisi miktarı (mL)

V₀: Kör deneme titrasyonunda harcanan HCl çözeltisi miktarı (mL)

N: Titrasyonda kullanılan HCl çözeltisinin normalitesi (0.1 N)

0.014: azotun mili ekivalent ağırlığı

m: alınan örnek miktarı (g veya mL)

F: % azot içeriğine göre kullanılan faktör (süt ve süt ürünleri için 6.38)

Tuz Oranının Belirlenmesi

Beyaz peynir örneklerinde tuz tayini TS EN ISO 5943 (2007) standardına göre potansiyometrik titrasyon metodu ile yapıldı. Peynir örnekleri rendelenerek bir havanda 5 g tartıldı ve sıcak distile su ile iyice ezilerek sulu kısmı 500 mL'lik bir

balona aktarıldı. Aynı işlem tuzun tamamen suya geçmesi amacıyla 5-6 kez tekrarlandı. Balondaki su soğuyunca 500 mL çizgisine kadar saf su ile dolduruldu ve kaba filtre kağıdı yardımıyla süzölmeye bırakıldı. Süzöntüden erlene 25 mL alınarak üzerine 0.5 mL %5'lik K₂CrO₄ indikatörü ilave edildi ve 0.1 N AgNO₃ çözeltisi ile kiremit kırmızısı renk oluşuncaya kadar titre edildi. Tuz değeri aşğıdaki formölden yararlanılarak hesaplandı.

$$\% \text{ Tuz} = \frac{G \times 0.585}{P} \times 100$$

G: Titrasyonda sarf edilen 0.1 N AgNO₃ miktarı

P: Titre edilen süzöntü içindeki peynir miktarı, g
0.585:1 mL 0,1 N AgNO₃ titre ettiğı NaCl

Su Aktivitesinin Belirlenmesi

Peynir örneklerinin su aktivitesi (a_w) değeri Novasina Labtouch-Aw su aktivitesi ölçüm cihazı ile belirlendi.

3.2.6. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin tek yönlü varyans analizleri SPSS paket programı (IBM SPSS Statistics 26, IBM Corporation, New York, USA) kullanılarak yapıldı. Örneklerin ortalama değeri arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlendi. İki bağımsız gruba ait farklılıklar ise Independent t-testi ile değerlendirildi. Elde edilen istatistiksel analiz sonuçlarının p<0.05 önem düzeylerine göre değerlendirmesi ve yorumlamaları yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

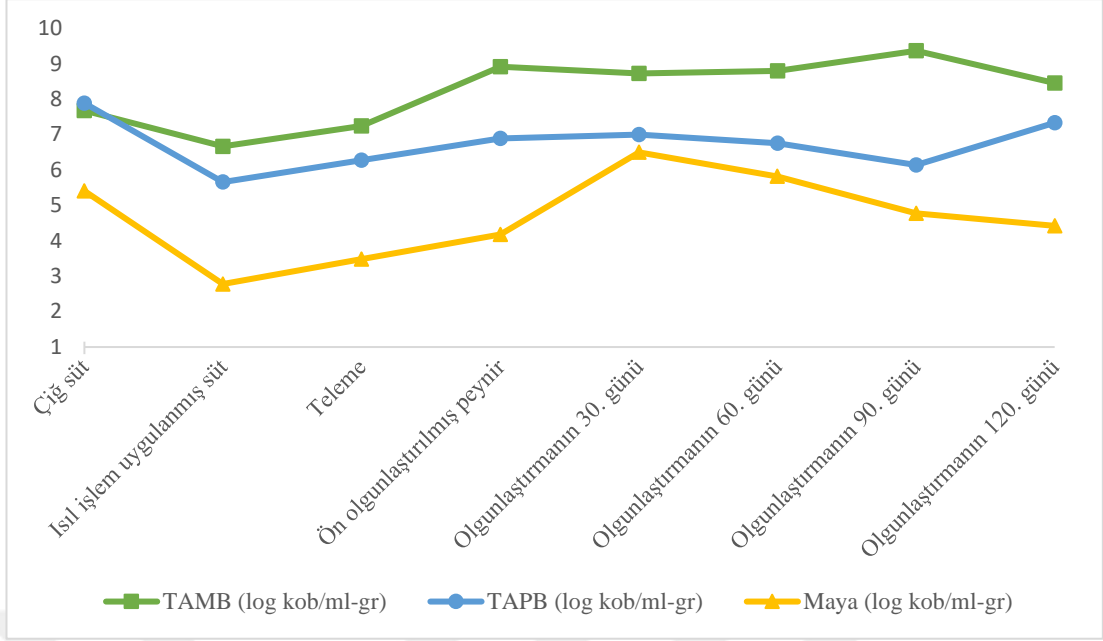
4.1.1. TAMB, TAPB ve Maya Sayım Sonuçları

Klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaştırma süresince toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), toplam aerobik psikrofilik bakteri (TAPB) ve maya sayısındaki değişimler Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaştırma süresince TAMB, TAPB ve maya sayısı değişimi.

Örnek	TAMB (log kob/ml-gr)	TAPB (log kob/ml-gr)	Maya (log kob/ml-gr)
Üretim aşaması			
Çiğ süt	7.68±0.26 ^{bc}	7.89±0.12 ^a	5.41±0.13 ^{ab}
Isıl işlem uygulanmış süt	6.67±0.42 ^d	5.66±0.36 ^b	2.78±0.27 ^d
Teleme	7.25±0.38 ^{cd}	6.28±0.17 ^{ab}	3.48±0.35 ^{cd}
Ön olgunlaştırılmış peynir	8.92±0.36 ^a	6.89±0.50 ^{ab}	4.18±0.38 ^{bcd}
Olgunlaştırma süresi			
Olgunlaştırmanın 30. günü	8.73±0.14 ^a	7.00±0.47 ^{ab}	6.50±0.33 ^a
Olgunlaştırmanın 60. günü	8.80±0.17 ^a	6.76±0.42 ^{ab}	5.82±0.82 ^{ab}
Olgunlaştırmanın 90. günü	9.37±0.36 ^a	6.14±1.41 ^{ab}	4.78±1.11 ^{abc}
Olgunlaştırmanın 120. günü	8.46±0.27 ^{ab}	7.34±0.62 ^{ab}	4.42±0.62 ^{bcd}

^{a,b,c,d}: Farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ($p < 0.05$).



Şekil 4.1. Klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaştırma süresince TAMB, TAPB ve maya sayısı değişimi.

Klasik beyaz peynir üretim aşamasında alınan örnekler arasında (çiğ süt, ısıtılmış işlem uygulanmış süt, teleme ve ön olgunlaştırılmış peynir örnekleri) TAMB sayısı bakımından istatistiksel olarak fark bulunmuştur ($p < 0.05$; Tablo 4.1; Şekil 4.1). Üretim aşamasında TAMB sayısında en düşük değer ısıtılmış işlem uygulanmış süt örneklerinde ortalama 6.67 log kob/ml ve en yüksek değer ise ön olgunlaştırılmış peynir örneklerinde ortalama 8.92 log kob/gr düzeyinde tespit edilmiştir. Olgunlaştırma süresince ise alınan örneklerde (olgunlaştırmanın 30, 60, 90 ve 120. günü) TAMB sayısı bakımından günler arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$; Tablo 4.1; Şekil 4.1).

Klasik beyaz peynirin üretim aşamasında TAPB sayısı bakımından çiğ süt örnekleri ile diğer örnekler arasında istatistiksel fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$; Tablo 4.1; Şekil 4.1). Bu aşamada en düşük TAPB sayısı ortalama 5.66 log kob/ml düzeyinde ısıtılmış işlem uygulanmış süt örneklerinde tespit edilmiştir. Olgunlaştırma süresince ise örneklerde TAPB sayısı bakımından günler arasında bir fark tespit edilememiştir ($p > 0.05$; Tablo 4.1; Şekil 4.1).

Maya sayısı açısından peynir üretim aşamasından alınan çiğ süt, ısıtılmış işlem uygulanmış süt ve teleme örnekleri arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmuştur

($p < 0.05$; Tablo 4.1; Şekil 4.1). Çiğ süt örneklerindeki maya sayısı ortalama 5.41 log kob/ml iken ısıtma işlemi uygulanmış süt örneklerinde 2.79 log kob/ml'ye düştüğü, ancak üretimin ilerleyen aşamalarında bu değerin tekrar yükseldiği saptanmıştır. Olgunlaştırma aşamasında da maya sayısında günler arasında fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$; Tablo 4.1; Şekil 4.1). Ön olgunlaştırma aşamasından, olgunlaştırmanın 30. gününe kadar olan sürede maya sayısında yaklaşık 2.3 log artış gözlenmiş ancak bu değerin olgunlaştırmanın 120. gününde 4.42 log kob/g'ya kadar düştüğü belirlenmiştir.

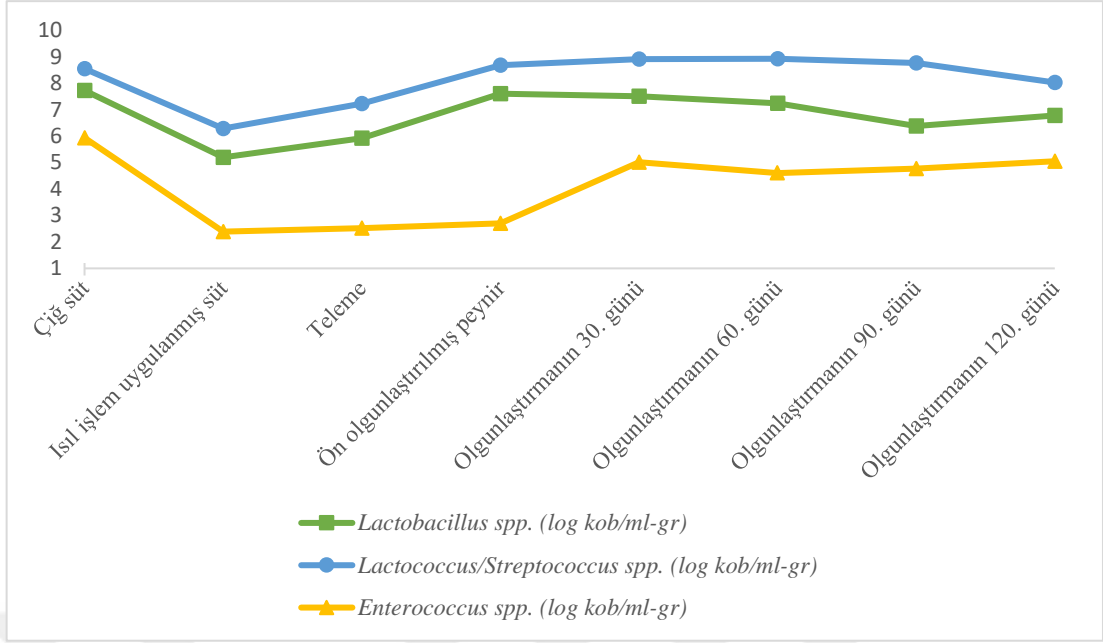
4.1.2. LAB Sayım Sonuçları

Klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaştırma süresince *Lactobacillus* spp., *Streptococcus/Lactococcus* spp. ve *Enterococcus* spp. sayısındaki değişimler Tablo 4.2 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaştırma süresince LAB sayısı değişimi.

Örnek	<i>Lactobacillus</i> spp. (log kob/ml-gr)	<i>Lactococcus/ Streptococcus</i> spp. (log kob/ml-gr)	<i>Enterococcus</i> spp. (log kob/ml-gr)
Üretim aşaması			
Çiğ süt	7.73±0.11 ^a	8.55±0.34 ^{ab}	5.94±0.13 ^a
Isıtma işlemi uygulanmış süt	5.20±0.57 ^c	6.29±0.16 ^c	2.39±0.40 ^b
Teleme	5.92±0.13 ^{bc}	7.23±0.04 ^{bc}	2.52±0.52 ^b
Ön olgunlaştırılmış peynir	7.61±0.64 ^a	8.69±0.38 ^a	2.70±0.71 ^b
Olgunlaştırma süresi			
Olgunlaştırmanın 30. günü	7.51±0.26 ^a	8.92±0.52 ^a	5.02±0.39 ^a
Olgunlaştırmanın 60. günü	7.24±0.52 ^{ab}	8.93±0.95 ^a	4.61±0.13 ^a
Olgunlaştırmanın 90. günü	6.39±0.48 ^{abc}	8.77±0.17 ^a	4.77±0.22 ^a
Olgunlaştırmanın 120.günü	6.79±0.36 ^{ab}	8.03±0.17 ^{ab}	5.05±0.49 ^a

^{a,b,c}: Farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ($p < 0.05$).



Şekil 4.2. Klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaştırma süresince LAB sayısı değişimi.

Klasik beyaz peynir üretim aşamasında çiğ süt örnekleri ile ısıtılmış süt örnekleri arasında ve teleme örnekleri ile ön olgunlaştırılmış peynir örnekleri arasında *Lactobacillus* spp. sayısı açısından istatistiksel olarak fark saptanmıştır ($p < 0.05$; Tablo 4.2; Şekil 4.2). Isıl işlem uygulanmış süt örneklerinde *Lactobacillus* spp. sayısında yaklaşık 2.5 log azalma olmuşsa da, teleme ve ön olgunlaştırma aşamalarında tekrar artış gösterdiği belirlenmiştir. Olgunlaştırmanın 30. gününden itibaren *Lactobacillus* spp. sayısında bir azalma gözlenmiş ancak bu istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$; Tablo 4.2; Şekil 4.2).

Lactococcus/Streptococcus spp. sayısı bakımından peynir üretim aşamalarından alınan örnekler arasında istatistiksel olarak fark saptanmıştır ($p < 0.05$; Tablo 4.2; Şekil 4.2). Isıl işleminden sonra *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayısının azaldığı ancak sonrasında ön olgunlaştırma aşamasına kadar ise arttığı tespit edilmiştir. Ön olgunlaştırılmış peynir örnekleri ile olgunlaştırma süresince alınan peynir örneklerinde ise *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayısı bakımından istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$; Tablo 4.2; Şekil 4.2).

Peynirin üretim aşamalarından alınan örneklerde *Enterococcus* spp. sayısı bakımından istatistiksel olarak fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$; Tablo 4.2; Şekil 4.2). Isıl

işlem sonrası *Enterococcus* spp. sayısının azaldığı, peynir üretiminin ilerleyen aşamalarında ise anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Ön olgunlaştırılmış peynirden olgunlaştırmanın 30. gününe kadar *Enterococcus* spp. sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir. Olgunlaştırmanın devamında ise günler arasında *Enterococcus* spp. sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$; Tablo 4.2; Şekil 4.2).

4.2. LAB İzolasyonu

Toplamda dört farklı zaman diliminde (Nisan, Temmuz, Ekim, Ocak) 8 farklı aşamadan alınan 32 örnekten izole edilen ve spesifik besiyerlerinde inkübasyon süreleri sonunda seçilerek ön tanımlama testleri uygulanan ve sonucunda LAB olarak değerlendirilen 319 izolatın dağılımı Tablo 4.3.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Örneklerden izole edilen LAB izolat sayısı.

	Örnek	İzolat sayısı
Üretim		
Çiğ süt	4	39
Isıl işlem uygulanmış süt	4	14
Teleme	4	32
Ön olgunlaştırılmış peynir	4	38
Olgunlaştırma Süresi		
Olgunlaştırmanın 30. günü	4	49
Olgunlaştırmanın 60. günü	4	52
Olgunlaştırmanın 90. günü	4	46
Olgunlaştırmanın 120. günü	4	49
TOPLAM	32	319

4.3. MALDI-TOF MS Yöntemi ile İzolatların Tanımlama Sonuçları

Örneklerden elde edilen 319 izolatın MALDI-TOF MS yöntemine göre tür düzeyinde tanımlanma sonuçları Tablo 4.4.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. MALDI-TOF MS yöntemi ile izolatların tanımlama sonuçları.

Kaynak	Zaman	Belirlenen Bakteri (En iyi 1. Tercih)
1 Çiğ süt	Nisan	<i>Enterococcus faecalis</i>
2 Çiğ süt	Nisan	<i>Enterococcus faecalis</i>
3 Çiğ süt	Nisan	<i>Enterococcus faecalis</i>
4 Çiğ süt	Nisan	<i>Lactococcus lactis</i>
5 Çiğ süt	Nisan	<i>Lactococcus lactis</i>
6 Çiğ süt	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
7 Çiğ süt	Nisan	<i>Lactococcus lactis</i>
8 Çiğ süt	Nisan	<i>Lactococcus lactis</i>
9 Çiğ süt	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i>
10 Çiğ süt	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i>
11 Çiğ süt	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i>
12 Çiğ süt	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i>
13 Çiğ süt	Temmuz	<i>Lactobacillus paracasei</i>
14 Çiğ süt	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i>
15 Çiğ süt	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i>
16 Çiğ süt	Temmuz	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>
17 Çiğ süt	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
18 Çiğ süt	Ekim	<i>Enterococcus faecalis</i>
19 Çiğ süt	Ekim	<i>Lactococcus lactis</i>
20 Çiğ süt	Ekim	<i>Enterococcus faecalis</i>
21 Çiğ süt	Ekim	<i>Enterococcus faecalis</i>
22 Çiğ süt	Ekim	<i>Enterococcus faecalis</i>
23 Çiğ süt	Ekim	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
24 Çiğ süt	Ekim	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
25 Çiğ süt	Ekim	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
26 Çiğ süt	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
27 Çiğ süt	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
28 Çiğ süt	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
29 Çiğ süt	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
30 Çiğ süt	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
31 Çiğ süt	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
32 Çiğ süt	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
33 Çiğ süt	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
34 Çiğ süt	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
35 Çiğ süt	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tablo 4.4. (devam) MALDI-TOF MS ile izolatların tanımlama sonuçları.

36	Çiğ süt	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
37	Çiğ süt	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
38	Çiğ süt	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
39	Çiğ süt	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
40	Isıl işlem uyg. süt	Nisan	<i>Streptococcus thermophilus</i>
41	Isıl işlem uyg. süt	Nisan	<i>Streptococcus thermophilus</i>
42	Isıl işlem uyg. süt	Temmuz	<i>Streptococcus thermophilus</i>
43	Isıl işlem uyg. süt	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
44	Isıl işlem uyg. süt	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i> ssp. <i>macedonicus</i>
45	Isıl işlem uyg. süt	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
46	Isıl işlem uyg. süt	Temmuz	Tanımlanamadı
47	Isıl işlem uyg. süt	Ekim	<i>Lactococcus lactis</i>
48	Isıl işlem uyg. süt	Ekim	<i>Lactococcus lactis</i>
49	Isıl işlem uyg. süt	Ekim	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
50	Isıl işlem uyg. süt	Ekim	<i>Lactococcus lactis</i>
51	Isıl işlem uyg. süt	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
52	Isıl işlem uyg. süt	Ekim	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
53	Isıl işlem uyg. süt	Ekim	<i>Lactococcus lactis</i>
54	Teleme	Nisan	<i>Streptococcus thermophilus</i>
55	Teleme	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
56	Teleme	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
57	Teleme	Nisan	<i>Streptococcus thermophilus</i>
58	Teleme	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
59	Teleme	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
60	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus thermophilus</i>
61	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus thermophilus</i>
62	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
63	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus equinus</i>
64	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
65	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
66	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
67	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i> ssp. <i>macedonicus</i>
68	Teleme	Temmuz	<i>Streptococcus equinus</i>
69	Teleme	Ekim	<i>Streptococcus suis</i>
70	Teleme	Ekim	<i>Lactococcus lactis</i>
71	Teleme	Ekim	<i>Lactococcus lactis</i>
72	Teleme	Ekim	<i>Lactococcus lactis</i>
73	Teleme	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
74	Teleme	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
75	Teleme	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
76	Teleme	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
77	Teleme	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
78	Teleme	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
79	Teleme	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
80	Teleme	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
81	Teleme	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>

Tablo 4.4. (devam) MALDI-TOF MS ile izolatların tanımlama sonuçları.

82	Teleme	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
83	Teleme	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
84	Teleme	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
85	Teleme	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
86	Ön olg. peynir	Nisan	<i>Staphylococcus sciuri</i>
87	Ön olg. peynir	Nisan	<i>Enterococcus faecalis</i>
88	Ön olg. peynir	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
89	Ön olg. peynir	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
90	Ön olg. peynir	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
91	Ön olg. peynir	Nisan	<i>Staphylococcus cohnii</i>
92	Ön olg. peynir	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
93	Ön olg. peynir	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
94	Ön olg. peynir	Temmuz	<i>Enterococcus faecium</i>
95	Ön olg. peynir	Temmuz	<i>Streptococcus thermophilus</i>
96	Ön olg. peynir	Temmuz	<i>Enterococcus faecium</i>
97	Ön olg. peynir	Temmuz	Tanımlanamadı
98	Ön olg. peynir	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
99	Ön olg. peynir	Temmuz	<i>Weissella paramesenteroides</i>
100	Ön olg. peynir	Temmuz	<i>Streptococcus infantarius</i>
101	Ön olg. peynir	Temmuz	<i>Weissella paramesenteroides</i>
102	Ön olg. peynir	Ekim	<i>Streptococcus thermophilus</i>
103	Ön olg. peynir	Ekim	<i>Streptococcus thermophilus</i>
104	Ön olg. peynir	Ekim	<i>Enterococcus faecium</i>
105	Ön olg. peynir	Ekim	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
106	Ön olg. peynir	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
107	Ön olg. peynir	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
108	Ön olg. peynir	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
109	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Lactobacillus vini</i>
110	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
111	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
112	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
113	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Enterococcus faecium</i>
114	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
115	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Enterococcus faecium</i>
116	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
117	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
118	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Enterococcus faecium</i>
119	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
120	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
121	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
122	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
123	Ön olg. peynir	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
124	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Lactococcus lactis</i>
125	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Lactococcus lactis</i>
126	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Lactococcus lactis</i>
127	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Lactococcus lactis</i>
128	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tablo 4.4. (devam) MALDI-TOF MS ile izolatların tanımlama sonuçları.

129	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
130	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
131	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
132	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
133	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
134	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
135	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
136	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
137	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Enterococcus casseliflavus</i>
138	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecalis</i>
139	Olg. 30. günü	Nisan	Tanımlanamadı
140	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
141	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
142	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
143	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
144	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
145	Olg. 30. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
146	Olg. 30. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
147	Olg. 30. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
148	Olg. 30. günü	Temmuz	<i>Enterococcus durans</i>
149	Olg. 30. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
150	Olg. 30. günü	Temmuz	<i>Streptococcus thermophilus</i>
151	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
152	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecium</i>
153	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
154	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
155	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
156	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
157	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
158	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
159	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
160	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
161	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
162	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecium</i>
163	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecium</i>
164	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
165	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
166	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
167	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
168	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
169	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecium</i>
170	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Enterococcus gallinarium</i>
171	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Enterococcus gallinarium</i>
172	Olg. 30. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
173	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
174	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
175	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>

Tablo 4.4. (devam) MALDI-TOF MS ile izolatların tanımlama sonuçları.

176	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
177	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
178	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus thermophilus</i>
179	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
180	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
181	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
182	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
183	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
184	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
185	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Lactobacillus curvatus</i>
186	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Lactobacillus curvatus</i>
187	Olg. 60. günü	Nisan	Tanımlanamadı
188	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
189	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
190	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Lactobacillus curvatus</i>
191	Olg. 60. günü	Nisan	<i>Lactobacillus cornyformis ssp.torquens</i>
192	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
193	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
194	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Lactobacillus agilis</i>
195	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
196	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Enterococcus faecium</i>
197	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Enterococcus faecium</i>
198	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Enterococcus faecium</i>
199	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Enterococcus faecalis</i>
200	Olg. 60. günü	Ekim	<i>Enterococcus faecalis</i>
201	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
202	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
203	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
204	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
205	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
206	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
207	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
208	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
209	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
210	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
211	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
212	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
213	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
214	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
215	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
216	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
217	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Enterococcus gallinarium</i>
218	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Enterococcus gallinarium</i>
219	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecium</i>
220	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
221	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
222	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tablo 4.4. (devam) MALDI-TOF MS ile izolatların tanımlama sonuçları.

223	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
224	Olg. 60. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
225	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
226	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Enterococcus faecium</i>
227	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
228	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
229	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
230	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
231	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
232	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
233	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus infantarius</i>
234	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
235	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
236	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
237	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
238	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
239	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
240	Olg. 90. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
241	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
242	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
243	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
244	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
245	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i>
246	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Lactococcus lactis</i>
247	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
248	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
249	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
250	Olg. 90. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecium</i>
251	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Lactobacillus gasseri</i>
252	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Lactobacillus gasseri</i>
253	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Lactobacillus coryniformis</i>
254	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
255	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
256	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
257	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
258	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
259	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
260	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
261	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
262	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
263	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
264	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
265	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
266	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
267	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Lactococcus lactis</i>
268	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
269	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tablo 4.4. (devam) MALDI-TOF MS ile izolatların tanımlama sonuçları.

270	Olg. 90. günü	Ocak	<i>Enterococcus faecalis</i>
271	Olg. 120. günü	Nisan	<i>Streptococcus equinus</i>
272	Olg. 120. günü	Nisan	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
273	Olg. 120. günü	Nisan	<i>Lactobacillus paracasei ssp. paracasei</i>
274	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
275	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
276	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
277	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
278	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
279	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
280	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
281	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
282	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Streptococcus lutetiensis</i>
283	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecium</i>
284	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
285	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
286	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
287	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus graminis</i>
288	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
289	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Lactobacillus curvatus</i>
290	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Enterococcus gallinarium</i>
291	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Enterococcus gallinarium</i>
292	Olg. 120. günü	Temmuz	<i>Enterococcus faecalis</i>
293	Olg. 120. günü	Ekim	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
294	Olg. 120. günü	Ekim	<i>Lactobacillus paracasei</i>
295	Olg. 120. günü	Ekim	<i>Lactobacillus paracasei</i>
296	Olg. 120. günü	Ekim	<i>Lactobacillus paracasei</i>
297	Olg. 120. günü	Ekim	<i>Lactobacillus paracasei</i>
298	Olg. 120. günü	Ekim	<i>Pediococcus acidilactici</i>
299	Olg. 120. günü	Ekim	<i>Enterococcus faecalis</i>
300	Olg. 120. günü	Ekim	<i>Enterococcus gallinarium</i>
301	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
302	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Streptococcus gallolyticus</i>
303	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Streptococcus equinus</i>
304	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
305	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
306	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
307	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
308	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
309	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
310	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
311	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
312	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
313	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus plantarum</i>
314	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
315	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
316	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>

Tablo 4.4. (devam) MALDI-TOF MS ile izolatların tanımlama sonuçları.

317	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
318	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Pediococcus acidilactici</i>
319	Olg. 120. günü	Ocak	<i>Lactobacillus brevis</i>

LAB şüpheli izolatların MALDI-TOF MS yöntemi ile identifikasyon sonuçlarına göre; 319 izolatın 56'sı (%17.55) *Lactobacillus* spp., 38'i (%11.91) *Lactococcus* spp., 107'si (%33.54) *Streptococcus* spp., 36'sı (%11.29) *Pediococcus* spp., 73'ü (%22.88) *Enterococcus* spp., 1'i (%0.31) *Leuconostoc* spp., 2'si (%0.63) *Weissella* spp. ve 2'si (%0.63) *Staphylococcus* spp. olarak tanımlanmıştır. Toplam 4 (%1.25) izolatın ise skor değerleri MALDI-TOF MS cihazının cut-off değeri olan 1.7'nin altında kaldığı için tanımlaması yapılamamıştır.

Lactobacillus spp. olarak tanımlanan 56 izolatın tür düzeyinde dağılımında; 27'si (%48.21) *Lb. plantarum*, 14'ü (%25.23) *Lb. curvatus*, 6'sı (%10.71) *Lb. paracasei*, 2'si (%3.57) *Lb. gasseri*, 2'si (%3.57) *Lb. coryniformis*, 1'i (%1.79) *Lb. brevis*, 1'i (%1.79) *Lb. vini*, 1'i (%1.79) *Lb. agilis*, 1'i (%1.79) *Lb. graminis* ve 1'i (%1.79) ise *Lb. rhamnosus* olarak tespit edilmiştir. Bu izolatların 1'i (%1.79) çiğ süttten, 1'i (%1.79) ön olgunlaştırılmış peynirden ve 54'ü (%96.42) ise olgunlaştırmanın farklı aşamalarından (6'sı olgunlaşmanın 30. günü, 18'i olgunlaşmanın 60. günü, 6'sı olgunlaşmanın 90. günü ve 24'ü olgunlaşmanın 120. günü) elde edilmiştir (Tablo 4.6).

Lactococcus spp. izolatlarının 38'i de (%100) *Lc. lactis* olarak tanımlanmıştır. Bu izolatların 16'sı (%42.11) çiğ süttten, 4'ü (%10.53) ısıtılmış süttten, 3'ü (%7.89) telededen, 5'i (%13.16) ön olgunlaştırılmış peynirden, 10'u (%26.32) ise olgunlaşmanın farklı aşamalarından (3'ü olgunlaşmanın 30. günü, 1'i olgunlaşmanın 60. günü, 6'sı olgunlaşmanın 90. günü) izole edilmiştir (Tablo 4.6).

Tanımlanan 107 *Streptococcus* spp. izolatının 41'i (%38.32) *S. gallolyticus*, 27'si (%25.23) *S. lutetiensis*, 14'ü (%13.08) *S. equinus*, 12'si (%11.21) *S. thermophilus*, 10'u (%9.35) *S. infantarius*, 2'si (%1.87) *S. macedonicus* ve 1'i (%0.93) ise *S. suis* olarak belirlenmiştir. Bu izolatların 7'si (%6.54) çiğ süttten, 8'i (%7.48) ısıtılmış süttten, 24'ü (%22.43) telededen, 10'u (%9.35) ön olgunlaştırılmış

peynirden ve 58'i (%54.21) ise olgunlaştırmanın farklı aşamalarından (12'si olgunlaşmanın 30. günü, 15'i olgunlaşmanın 60. günü, 20'si olgunlaşmanın 90. günü ve 11'i olgunlaşmanın 120. günü) elde edilmiştir (Tablo 4.6).

Pediococcus spp. izolatlarının 36'sı da (%100) tür düzeyinde *P. acidilactici* olarak tanımlanmıştır. Bu izolatların 1'i (%2.78) ısıtılmış sütte, 5'i (%13.89) teleden, 6'sı (%16.67) ön olgunlaştırılmış peynirden, 24'ü (%66.67) ise olgunlaştırmanın farklı aşamalarından (9'u olgunlaşmanın 30. günü, 3'ü olgunlaşmanın 60. günü, 4'ü olgunlaşmanın 90. günü ve 8'i olgunlaşmanın 120. günü) elde edilmiştir (Tablo 4.6).

Tanımlanan 73 *Enterococcus* spp. izolatının 37'si (%50.68) *E. faecalis*, 27'si (%36.99) *E. faecium*, 7'si (%9.59) *E. gallinarium*, 1'i (%1.37) *E. casseliflavus* ve 1'i de (%1.37) *E. durans* olarak tespit edilmiştir. Bu izolatların 14'ü (%19.18) çiğ sütte, 11'i (%15.07) ön olgunlaştırılmış peynirden, 48'i (%65.75) ise olgunlaşmanın farklı aşamalarından (17'si olgunlaşmanın 30. günü, 15'i olgunlaşmanın 60. günü, 10'u olgunlaşmanın 90. günü ve 6'sı olgunlaşmanın 120. günü) elde edilmiştir (Tablo 4.6).

Leuconostoc spp. olarak tanımlanan 1 (%100) izolat *Ln. pseudomesenteroides* olarak tanımlanmıştır. Bu izolat çiğ sütte elde edilmiştir (Tablo 4.6).

Weissella spp. olarak tanımlanan 2 (%100) izolat da *W. paramesenteroides* olarak tanımlanmıştır. İzolatların ikisi de ön olgunlaştırılmış peynirden elde edilmiştir (Tablo 4.6).

Staphylococcus spp. olarak tanımlanan 2 (%100) izolatın biri *S. sciuri* (%50) diğeri ise *S. cohnii* (%50) olarak tanımlanmıştır. Bu izolatların her ikisi de ön olgunlaştırılmış peynirden elde edilmiştir (Tablo 4.6).

MALDI-TOF MS yöntemi ile identifikasyon sonuçlarına göre LAB izolat sayılarının cins düzeyinde dağılımı Şekil 4.3'te, cins ve tür düzeyinde dağılımı Tablo 4.5'de ve örneklerle göre cins düzeyinde dağılımı Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Tanımlanan LAB izolatlarının cins ve tür düzeyinde dağılımı.

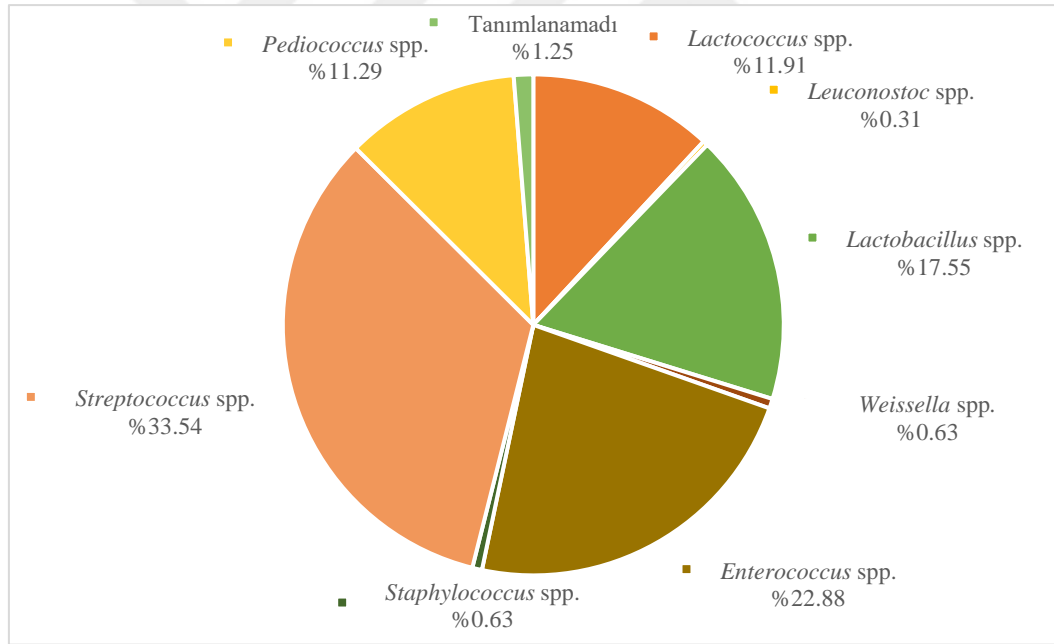
	İzolat Sayısı	Cins (%)*	Toplam (%)**
Lactobacillus spp.	56	100	17.55
<i>Lb. plantarum</i>	27	48.21	8.46
<i>Lb. curvatus</i>	14	25.00	4.39
<i>Lb. paracasei</i>	6	10.71	1.88
<i>Lb. gasseri</i>	2	3.57	0.63
<i>Lb. coryniformis</i>	2	3.57	0.63
<i>Lb. brevis</i>	1	1.79	0.31
<i>Lb. vini</i>	1	1.79	0.31
<i>Lb. agilis</i>	1	1.79	0.31
<i>Lb. graminis</i>	1	1.79	0.31
<i>Lb. rhamnosus</i>	1	1.79	0.31
Lactococcus spp.	38	100	11.91
<i>Lc. lactis</i>	38	100	11.91
Streptococcus spp.	107	100	33.54
<i>S. gallolyticus</i>	41	38.32	12.85
<i>S. lutetiensis</i>	27	25.23	8.46
<i>S. equinus</i>	14	13.08	4.39
<i>S. thermophilus</i>	12	11.21	3.76
<i>S. infantarius</i>	10	9.35	3.13
<i>S. macedonicus</i>	2	1.87	0.63
<i>S. suis</i>	1	0.93	0.31
Pediococcus spp.	36	100	11.29
<i>P. acidilactici</i>	36	100	11.29
Enterococcus spp.	73	100	22.88
<i>E. faecalis</i>	37	50.68	11.60
<i>E. faecium</i>	27	36.99	8.46
<i>E. gallinarium</i>	7	9.59	2.19
<i>E. casseliflavus</i>	1	1.37	0.31
<i>E. durans</i>	1	1.37	0.31
Leuconostoc spp.	1	100	0.31
<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	1	100	0.31
Weissella spp.	2	100	0.63
<i>W. paramesenteroides</i>	2	100	0.63
Staphylococcus spp.	2	100	0.63
<i>S. sciuri</i>	1	50	0.31
<i>S. cohnii</i>	1	50	0.31
Tanımlanamadı	4	100	1.25
Toplam	319	-	100

* Aynı cins içerisindeki türlerin % dağılımı.

** Tür ve cinslerin tüm izolatlar içerisindeki % dağılımı.

Tablo 4.6. Tanımlanan LAB izolatlarının örneklere göre cins düzeyinde dağılımı.

Türler	İzolat Sayısı								Toplam
	Çiğ süt	Isıl iş. uy.süt	Teleme	Ön olg.	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	
<i>Lactobacillus</i> spp.	1	-	-	1	6	18	6	24	56
<i>Lactococcus</i> spp.	16	4	3	5	4	-	6	-	38
<i>Streptococcus</i> spp.	7	8	24	10	12	15	20	11	107
<i>Pediococcus</i> spp.	-	1	5	6	9	3	4	8	36
<i>Enterococcus</i> spp.	14	-	-	11	17	15	10	6	73
<i>Leuconostoc</i> spp.	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Weissella</i> spp.	-	-	-	2	-	-	-	-	2
<i>Staphylococcus</i> spp.	-	-	-	2	-	-	-	-	2
Tanımlanamadı	-	1	-	1	1	1	-	-	4
Toplam	39	14	32	38	49	52	46	49	319



Şekil 4.3. Tanımlanan LAB izolatlarının cins düzeyinde dağılımı.

4.4. Bazı LAB İzolatlarının Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Tanımlanan LAB izolatlarından süt endüstrisinde beyaz peynir üretiminde en yaygın kullanılan ve MALDI-TOF MS yöntemi ile analiz sonuçlarına göre en yüksek

skor değere [yüksek olasılıklı tür tanımlama (2.3-3)] sahip 20 izolat seçilerek teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Seçilen izolatlar Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Teknolojik özellikleri bakımından değerlendirmeye alınan LAB izolatları.

No	İzolat	Kaynak	
1	<i>Lb. plantarum</i>	Ekim	Çiğ süt
2	<i>Lb. plantarum</i>	Ocak	Olgunlaştırmanın 60. günü
3	<i>Lb. curvatus</i>	Ekim	Olgunlaştırmanın 30. günü
4	<i>Lb. curvatus</i>	Temmuz	Olgunlaştırmanın 90. günü
5	<i>Lb. curvatus</i>	Nisan	Olgunlaştırmanın 60. günü
6	<i>Lb. paracasei</i>	Temmuz	Çiğ süt
7	<i>Lb. paracasei</i>	Ekim	Olgunlaştırmanın 120. günü
8	<i>Lb. brevis</i>	Ocak	Olgunlaştırmanın 120. günü
9	<i>Lb. rhamnosus</i>	Ekim	Olgunlaştırmanın 120. günü
10	<i>Lc. lactis</i>	Temmuz	Çiğ süt
11	<i>Lc. lactis</i>	Temmuz	Olgunlaştırmanın 30. günü
12	<i>S. thermophilus</i>	Ekim	Ön olgunlaştırılmış peynir
13	<i>S. thermophilus</i>	Nisan	Isıl işlem uygulanmış süt
14	<i>P. acidilactici</i>	Ocak	Çiğ süt
15	<i>P. acidilactici</i>	Ocak	Teleme
16	<i>E. faecalis</i>	Ocak	Çiğ süt
17	<i>E. faecalis</i>	Ekim	Olgunlaştırmanın 30. günü
18	<i>E. faecium</i>	Temmuz	Ön olgunlaştırılmış peynir
19	<i>E. faecium</i>	Temmuz	Ön olgunlaştırılmış peynir
20	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	Temmuz	Çiğ süt

4.4.1. Asit Üretim Kapasitesi

Seçilen LAB izolatlarının yağsız UHT sütte 0, 3, 6, 9 ve 24. saatlik inkübasyon süresince oluşan pH ve % laktik asit değerleri Tablo 4.8’de gösterilmiştir. Ölçümler alınırken birbirinden bağımsız üç tekrarın aritmetik ortalaması alınmıştır.

Tablo 4.8. LAB İzolatların 0, 3, 6, 9 ve 24. saatlerde pH ve % laktik asit değerleri.

No	İzolatlar	pH					% laktik asit				
		0. Saat	3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat	0. Saat	3. Saat	6. Saat	9. Saat	24. Saat
1	<i>Lb. plantarum</i>	6.61	6.52	5.81	5.51	4.12	0.22	0.25	0.36	0.45	1.37
2	<i>Lb. plantarum</i>	6.61	6.47	5.73	5.53	5.18	0.22	0.25	0.22	0.22	0.91
3	<i>Lb. curvatus</i>	6.61	6.52	5.76	5.48	4.30	0.22	0.25	0.22	0.22	1.14
4	<i>Lb. curvatus</i>	6.61	6.54	5.75	5.54	4.42	0.22	0.20	0.25	0.29	1.35
5	<i>Lb. curvatus</i>	6.61	6.55	5.75	5.47	4.32	0.22	0.20	0.25	0.45	1.6
6	<i>Lb. paracasei</i>	6.61	6.50	5.74	5.48	4.62	0.22	0.25	0.25	0.27	1.26
7	<i>Lb. paracasei</i>	6.61	6.51	5.72	5.46	4.65	0.22	0.22	0.22	0.27	1.33
8	<i>Lb. brevis</i>	6.61	6.47	6.44	5.54	4.26	0.22	0.22	0.22	0.48	1.37
9	<i>Lb. rhamnosus</i>	6.61	6.51	5.77	5.47	4.25	0.22	0.22	0.25	0.27	1.37
10	<i>Lc. lactis</i>	6.61	6.44	5.75	5.45	4.87	0.22	0.22	0.25	0.34	1.1
11	<i>Lc. lactis</i>	6.61	6.47	5.72	5.45	4.34	0.22	0.22	0.27	0.41	1.28
12	<i>S. thermophilus</i>	6.61	6.37	5.87	5.48	4.27	0.22	0.25	0.29	0.5	1.56
13	<i>S. thermophilus</i>	6.61	6.52	5.83	5.48	4.78	0.22	0.20	0.25	0.39	1.05
14	<i>P. acidilactici</i>	6.61	6.31	5.67	5.48	4.31	0.22	0.22	0.39	0.48	1.21
15	<i>P. acidilactici</i>	6.61	6.53	5.72	5.57	4.26	0.22	0.20	0.22	0.32	1.42
16	<i>E. faecalis</i>	6.61	6.55	5.70	5.40	4.87	0.22	0.22	0.27	0.48	1.54
17	<i>E. faecalis</i>	6.61	6.48	5.71	5.40	4.28	0.22	0.22	0.29	0.48	1.46
18	<i>E. faecium</i>	6.61	6.26	5.78	5.45	4.74	0.22	0.25	0.25	0.29	0.82
19	<i>E. faecium</i>	6.61	6.45	5.71	5.46	4.27	0.22	0.22	0.27	0.27	1.53
20	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	6.61	6.51	6.41	5.54	4.23	0.22	0.22	0.25	0.27	1.39

pH değerini 6 saatlik inkübasyon sonunda en çok düşüren izolatların sırasıyla *P. acidilactici* (0.94), *E. faecalis* (0.91 ve 0.9) ve *E. faecium* (0.9) olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan 24 saatlik inkübasyon sonunda ise pH değerini en çok düşüren izolatların *Lb. plantarum* (2.49), *Ln. pseudomesenteroides* (2.38) ve *Lb. rhamnosus* (2.36) olduğu; bunları *Lb. brevis* (2.35) ile *P. acidilactici* (2.35) izolatlarının takip ettiği tespit edilmiştir. İzolatlardan 13'ünün, 24 saatlik inkübasyon sonunda Δ pH değerini 2'nin üzerine çıkarabildiği belirlenmiştir.

4.4.2. Proteolitik Aktivite

Seçilen LAB izolatlarının proteolitik aktivitesinin belirlenmesi amacıyla %10 skim milk içeren MRS agara yerleştirilen Whatman kâğıt disklerin etrafında oluşan zonların çapları Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. LAB izolatlarının proteolitik aktivite değerleri.

No	İzolat	Zon apı (mm)
1	<i>Lb. plantarum</i>	23
2	<i>Lb. plantarum</i>	18
3	<i>Lb. curvatus</i>	12
4	<i>Lb. curvatus</i>	15
5	<i>Lb. curvatus</i>	12
6	<i>Lb. paracasei</i>	24
7	<i>Lb. paracasei</i>	20
8	<i>Lb. brevis</i>	14
9	<i>Lb. rhamnosus</i>	25
10	<i>Lc. lactis</i>	14
11	<i>Lc. lactis</i>	15
12	<i>S. thermophilus</i>	10
13	<i>S. thermophilus</i>	12
14	<i>P. acidilactici</i>	8
15	<i>P. acidilactici</i>	9
16	<i>E. faecalis</i>	14
17	<i>E. faecalis</i>	17
18	<i>E. faecium</i>	15
19	<i>E. faecium</i>	18
20	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	16

Proteolitik aktivite seviyesi, berrak hidroliz bölgesinin çapına gore; duuk (<10 mm), orta (≥ 10 mm ve <20 mm) ve yuksek (≥ 21 mm) proteolitik aktiviteyi gosterecek şekilde değerlendirilmiştir. Buna gore test edilen izolatların tamamında (%100) proteolitik aktivite saptanmıştır. İzolatların 3'unun (%15) yuksek, 2'sinin (%10) zayıf ve 15'inin (%75) orta duzeyde proteolitik aktivite gosterdiği belirlenmiştir. Yuksek aktivite gosteren izolatların *Lb. rhamnosus*, *Lb. paracasei* ve *Lb. plantarum* olduğu, duuk aktivite gosteren izolatların ise her ikisinin de *P. acidilactici* olduğu tespit edilmiştir.

4.4.3. Farklı Sıcaklık Değerlerinde Gelişebilme

Seçilen LAB izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişebilme özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla 10, 15 ve 45°C'de 48 saat inkübasyon sonunda gelişebilme durumları Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. LAB izolatlarının farklı sıcaklıklarda gelişebilme değerleri.

No	İzolat	10°C	15°C	45°C
1	<i>Lb. plantarum</i>	+	+	+
2	<i>Lb. plantarum</i>	+	+	+
3	<i>Lb. curvatus</i>	+	+	+
4	<i>Lb. curvatus</i>	+	+	+
5	<i>Lb. curvatus</i>	+	+	+
6	<i>Lb. paracasei</i>	+	+	+
7	<i>Lb. paracasei</i>	+	+	+
8	<i>Lb. brevis</i>	+	+	+
9	<i>Lb. rhamnosus</i>	+	+	+
10	<i>Lc. lactis</i>	+	+	+
11	<i>Lc. lactis</i>	+	+	+
12	<i>S. thermophilus</i>	+	+	+
13	<i>S. thermophilus</i>	+	+	+
14	<i>P. acidilactici</i>	+	+	+
15	<i>P. acidilactici</i>	+	+	+
16	<i>E. faecalis</i>	+	+	+
17	<i>E. faecalis</i>	-	+	+
18	<i>E. faecium</i>	+	+	+
19	<i>E. faecium</i>	-	+	+
20	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	+	+	+

Değerlendirmeye alınan izolatların tamamının (%100) 15°C ve 45°C sıcaklıklarda gelişebildiği belirlenmiştir. İzolatların 18'i (%90) 10°C'de gelişirken, 2 *Enterococcus* spp. izolatının (1 *E. faecalis* ve 1 *E. faecium*) ise gelişme gösteremediği tespit edilmiştir. Bu izolatların sırasıyla ekim ayında üretilen peynir örneğinin olgunlaştırmasının 30. gününden ve temmuz ayında üretilen peynirin ön olgunlaştırılma aşamasından alındığı belirlenmiştir.

4.4.4. Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişebilme

Seçilen LAB izolatlarının farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişebilme özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla %2 ve %6.5 NaCl içeren broth besiyerlerinde 24 saat inkübasyondan sonra gelişebilme durumları Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. LAB izolatlarının farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişebilme değerleri.

No	İzolat	%2	%6.5
1	<i>Lb. plantarum</i>	+	+
2	<i>Lb. plantarum</i>	+	+
3	<i>Lb. curvatus</i>	+	-
4	<i>Lb. curvatus</i>	+	-
5	<i>Lb. curvatus</i>	+	-
6	<i>Lb. paracasei</i>	+	+
7	<i>Lb. paracasei</i>	+	+
8	<i>Lb. brevis</i>	+	+
9	<i>Lb. rhamnosus</i>	+	+
10	<i>Lc. lactis</i>	+	+
11	<i>Lc. lactis</i>	+	+
12	<i>S. thermophilus</i>	+	+
13	<i>S. thermophilus</i>	+	+
14	<i>P. acidilactici</i>	+	+
15	<i>P. acidilactici</i>	+	+
16	<i>E. faecalis</i>	+	+
17	<i>E. faecalis</i>	+	+
18	<i>E. faecium</i>	+	+
19	<i>E. faecium</i>	+	+
20	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	+	+

İzolatların tamamının (%100) %2, 17’sinin (%85) ise %6.5 NaCl konsantrasyonunda geliştikleri belirlenmiştir. Bunların aksine %6.5 NaCl konsantrasyonunda gelişim gösteremeyen üç izolatın ise *Lb. curvatus* olduğu saptanmıştır.

4.4.5. Farklı pH Değerlerinde Gelişebilme

Seçilen LAB izolatlarının farklı pH değerlerinde gelişebilme özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla pH değeri 3.9 ve 9.6'ya ayarlanan broth ortamlarında gelişebilme durumları Tablo 4.12'de gösterilmiştir.

Tablo 4.12. LAB izolatlarının farklı pH'larda gelişebilme değerleri.

No	İzolat	3.9	9.6
1	<i>Lb. plantarum</i>	-	+
2	<i>Lb. plantarum</i>	+	+
3	<i>Lb. curvatus</i>	-	+
4	<i>Lb. curvatus</i>	-	+
5	<i>Lb. curvatus</i>	-	+
6	<i>Lb. paracasei</i>	+	+
7	<i>Lb. paracasei</i>	+	+
8	<i>Lb. brevis</i>	-	+
9	<i>Lb. rhamnosus</i>	-	+
10	<i>Lc. lactis</i>	+	+
11	<i>Lc. lactis</i>	+	+
12	<i>S. thermophilus</i>	+	+
13	<i>S. thermophilus</i>	+	+
14	<i>P. acidilactici</i>	-	+
15	<i>P. acidilactici</i>	-	+
16	<i>E. faecalis</i>	+	+
17	<i>E. faecalis</i>	+	+
18	<i>E. faecium</i>	+	+
19	<i>E. faecium</i>	+	+
20	<i>Ln. pseudomesenteroides</i>	-	+

Toplam 20 izolatın tamamının (%100) pH 9.6'da, 11'inin (%55) ise pH 3.9'da gelişebildiği tespit edilmiştir. Diğer yandan pH 3.9'da gelişim gösteremeyen izolatların 1'inin *Lb. plantarum*, 3'ünün *Lb. curvatus*, 1'inin *Lb. brevis*, 1'inin *Lb. rhamnosus*, 2'sinin *P. acidilactici* ve 1'inin *Ln. pseudomesenteroides* olduğu belirlenmiştir.

4.4.6. Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi

Seçilen LAB izolatlarının kullanılan 10 farklı antibiyotiğe karşı dirençlilik durumları Tablo 4.13'te gösterilmiştir.

Tablo 4.13. LAB İzolatlarının antibiyotik direnç değerleri.

İzolat	Antibiyotik Diskleri										
	VA	CIP	S	K	C	AMP	CN	DA	TE	E	
1 <i>Lb. plantarum</i>	S	I	I	R	S	R	S	R	R	I	
2 <i>Lb. plantarum</i>	R	R	S	R	S	R	S	S	I	S	
3 <i>Lb. curvatus</i>	S	S	I	R	S	R	S	R	S	S	
4 <i>Lb. curvatus</i>	S	I	I	R	S	R	S	S	S	S	
5 <i>Lb. curvatus</i>	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	
6 <i>Lb. paracasei</i>	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	
7 <i>Lb. paracasei</i>	R	R	I	R	I	R	R	S	S	S	
8 <i>Lb. brevis</i>	S	S	I	R	S	R	S	R	S	S	
9 <i>Lb. rhamnosus</i>	R	S	S	I	S	R	S	S	S	S	
10 <i>Lc. lactis</i>	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	
11 <i>Lc. lactis</i>	R	I	S	S	S	R	S	R	S	R	
12 <i>S. thermophilus</i>	R	S	S	I	S	R	S	R	S	I	
13 <i>S. thermophilus</i>	S	I	I	R	S	R	S	S	S	R	
14 <i>P. acidilactici</i>	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	
15 <i>P. acidilactici</i>	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	
16 <i>E. faecalis</i>	I	R	R	R	I	R	R	R	S	S	
17 <i>E. faecalis</i>	R	R	R	R	I	R	R	R	S	R	
18 <i>E. faecium</i>	S	I	S	R	S	R	S	R	S	S	
19 <i>E. faecium</i>	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	
20 <i>Ln. pseudomesenteroides</i>	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	

(S: Duyarlı, I: Orta Duyarlı, R: Dirençli, VA: vankomisin, CIP: siprofloksasin, S: streptomisin, K: kanamisin, C: kloramfenikol, AMP: ampisilin, CN: gentamisin, DA: klindamisin, TE: tetrasiklin, E: eritromisin)

Değerlendirmeye alınan 20 LAB izolatının tamamının (%100) ampisiline, 17'sinin (%85) kanamisine, 10'unun (%50) klindamisine, 7'sinin (%35) vankomisine dirençli olduğu belirlenmiştir. Çoklu antibiyotik dirençli izolatların *Lb. curvatus* (1), *Lb. paracasei* (1), *Lc. lactis* (1), *E. faecalis* (2) ve *E. faecium* (1) türleri olduğu tespit edilmiştir. Cins bazında değerlendirildiğinde ise *Lactobacillus* spp. izolatlarının tamamının (%100) ampisiline, 8'inin (%88.9) kanamisine ve 4'ünün (%44.4) vankomisine dirençli olduğu belirlenmiştir. *Lc. lactis* (2) izolatlarının ampisilin, klindamisin ve eritromisine; *S. thermophilus* (2) izolatlarının ampisiline; *P. acidilactici* (2) ve *Ln. pseudomesenteroides* (1) izolatlarının kanamisin ve ampisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir. *Enterococcus* spp. izolatlarının ise tamamının (%100) kanamisin, ampisilin ve klindamisine; 3'ünün (%75) streptomisine ve gentamisine dirençli olduğu belirlenmiştir. Vankomisin direncine sahip 7 izolattan 4'ünün (%57.1) *Lactobacillus* spp. (1'i *Lb. plantarum*, 1'i *Lb. curvatus*, 1'i *Lb. paracasei*, 1'i *Lb.*

rhamnosus), 1'inin *Lc. lactis* (%14.3), 1'inin *S. thermophilus* (%14.3) ve 1'inin (%14.3) *E. faecalis* olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.13).

4.4.7. Antimikrobiyal Aktivite

LAB izolatlarının *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* O157:H7 ATCC 35150, *S. Typhimurium* ATCC 14028'a karşı antimikrobiyal aktivitelerinin agar kuyucuk difüzyon (agar well diffusion) testi ile değerlendirilme sonuçları Tablo 4.14'te gösterilmiştir.

Tablo 4.14. LAB İzolatlarının antimikrobiyal aktivite değerleri.

	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 35150	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
1 <i>Lb. plantarum</i>	+	++	++	-
2 <i>Lb. plantarum</i>	+	++	++	-
3 <i>Lb. curvatus</i>	+	++	++	-
4 <i>Lb. curvatus</i>	+	++	++	-
5 <i>Lb. curvatus</i>	+	++	++	-
6 <i>Lb. paracasei</i>	+	++	++	++
7 <i>Lb. paracasei</i>	+	++	++	-
8 <i>Lb. brevis</i>	+	++	+	-
9 <i>Lb. rhamnosus</i>	+	++	++	-
10 <i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
11 <i>Lc. lactis</i>	-	-	-	-
12 <i>S. thermophilus</i>	-	-	-	-
13 <i>S. thermophilus</i>	-	-	-	-
14 <i>P. acidilactici</i>	+	++	+	-
15 <i>P. acidilactici</i>	-	-	-	-
16 <i>E. faecalis</i>	-	-	-	-
17 <i>E. faecalis</i>	-	-	-	-
18 <i>E. faecium</i>	-	-	-	-
19 <i>E. faecium</i>	-	-	-	-
20 <i>Ln. pseudomesenteroides</i>	+	++	++	-

(-: inhibisyon zonu görülmedi. +: 10-15 mm arasında inhibisyon zonu gözlemlendi. ++: 15 mm ve üstü inhibisyon zonu gözlemlendi.)

Değerlendirmeye alınan 20 izolattan 11'inin (%55) [*Lactobacillus* spp. (9), *P. acidilactici* (1), *Ln. pseudomesenteroides* (1)] patojen bakterilerden en az birine karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan dört patojene

de etkin olan tek türün *Lb. paracasei* izolatlarından biri olduğu saptanmıştır. *Lb. plantarum* (2), *Lb. curvatus* (3), *Lb. paracasei* (1), *Lb. brevis* (1), *Lb. rhamnosus* (1), *P. acidilactici* (1) ve *Ln. pseudomesenteroides* (1) izolatlarının *S. aureus* hariç diğer üç patojene karşı etkin olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan 9 izolatın [*Lc. lactis* (2), 2 *S. thermophilus*, 1 *P.acidilactici*, 2 *E. faecalis* ve *E. faecium* (2)] ise test edilen patojenlere karşı antimikrobiyal etkinlikleri belirlenememiştir (Tablo 4.14).

4.5. Kimyasal Analiz Sonuçları

4.5.1. Süt Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları

Klasik beyaz peynirin üretiminde kullanılan çiğ ve ısıtılmış süt örneklerinin kimyasal analiz sonuçları Tablo 4.15'te gösterilmiştir.

Tablo 4.15. Süt örneklerinin kimyasal analiz sonuçları.

Analiz	Çiğ süt	Isıl işlem uygulanmış süt
pH	6.38±0.01 ^b	6.23±0.06 ^a
Kuru madde	11.95±0.04 ^b	11.69±0.13 ^a
Yağ	3.62±0.09 ^a	3.50±0.13 ^a
Protein	3.13±0.005 ^b	3.07±0.03 ^a
Laktoz	4.5±0.08 ^a	4.47±0.07 ^a
Donma noktası	-0.54±0.03 ^a	-0.52±0.009 ^a

^{a,b}: Farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ($p<0.05$).

Klasik beyaz peynir üretiminde kullanılan çiğ süt örnekleri ile ısıtılmış süt örnekleri arasında pH, kuru madde, protein değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$; Tablo 4.15). Yağ, laktoz ve donma noktası değerleri arasında ise fark tespit edilememiştir ($p>0.05$).

4.5.2. Peynir Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları

Klasik beyaz peynirlerde olgunlaştırma süresince kimyasal analizler sonucunda meydana gelen değişimler Tablo 4.16'da verilmiştir.

Bu çalışmada 120 günlük olgunlaştırma süresi boyunca pH değerlerinin 5.12 ile 5.49 aralığında değiştiği görülmüştür. Örneklerde olgunlaşma süresince pH değerinin istatistiksel olarak azalma gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0.05$; Tablo 4.16).

Klasik beyaz peynirin olgunlaştırma süresince laktik asit cinsinden asitlik değerinde artış meydana geldiği ve bu değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$; Tablo 4.16).

Çalışmada klasik beyaz peynir örneklerinde 120 günlük olgunlaşma süresi boyunca kuru madde değerinin arttığını ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0.05$; Tablo 4.16).

Klasik beyaz peynir örneklerinin ortalama protein değerleri olgunlaşma süresince boyunca azalsa da bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$; Tablo 4.16).

Depolamanın ilk ayında klasik beyaz peynir örneklerinin yağ içeriğinde azalma gözlenmiş ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Olgunlaşmanın 30. gününden sonra klasik beyaz peynir örneklerinin yağ oranlarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik tespit edilememiştir ($p > 0.05$; Tablo 4.16).

Klasik beyaz peynir örneklerinde olgunlaşmanın ilk ayında tuz değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde ise tuz değerindeki artışın yavaşladığı ve anlamlı bir fark oluşturmadığı belirlenmiştir ($p < 0.05$; Tablo 4.16).

Çalışmada klasik beyaz peynirin üretim aşaması ve olgunlaşma süresince su aktivitesi değerinde anlamlı bir değişiklik tespit edilememiştir ($p > 0.05$; Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Peynir örneklerinin olgunlaştırma süresince kimyasal analiz sonuçları.

	Asitlik (%la)	pH	Kuru madde (%)	Yağ (%)	Protein (%)	Tuz (%)	Su aktivitesi (a_w)
Ön Olgunlaştırılmış Peynir	0.56±0.04 ^a	5.39±0.10 ^{ab}	47.91±2.01 ^a	25.05±0.82 ^a	15.34±1.05 ^a	4.52±0.29 ^a	0.92±0.007 ^a
Olgunlaştırmanın 30. günü	0.60±0.04 ^a	5.49±0.04 ^a	49.04±1.77 ^a	20.42±0.82 ^b	14.23±0.91 ^a	5.92±0.34 ^b	0.91±0.009 ^a
Olgunlaştırmanın 60. günü	0.66±0.06 ^a	5.31±0.08 ^{ab}	51.24±3.84 ^a	19.5±0.4 ^b	13.88±1.14 ^a	6.41±0.38 ^b	0.91±0.007 ^a
Olgunlaştırmanın 90. günü	0.71±0.06 ^a	5.22±0.11 ^{ab}	55.79±2.06 ^a	19.87±0.65 ^b	13.54±1.38 ^a	6.42±0.43 ^b	0.90±0.007 ^a
Olgunlaştırmanın 120. günü	0.72±0.19 ^a	5.12±0.13 ^b	55.46±2.38 ^a	20.81±2.25 ^b	13.93±1.56 ^a	5.92±0.56 ^b	0.91±0.008 ^a

^{a,b}: Farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir ($p < 0.05$).

5. TARTIŞMA

Peynir olgunlaşması, bir dizi biyokimyasal reaksiyonları içeren kompleks bir süreçtir. Peynir mikroflorasında bulunan mikroorganizmalar peynirin olgunlaşma süresince önemli bir rol oynamakta ve her peynir çeşidinin farklı özellikler kazanmasına katkıda bulunmaktadır (Beresford ve ark., 2001; Cogan ve Beresford, 2002). Peynir mikroflorası iki gruba ayrılmaktadır; starter laktik asit bakterileri ve ikincil mikroorganizmalar. Starter laktik asit bakterileri, üretim sırasında asit üretimine katılmakta ve olgunlaşma sürecine de katkıda bulunan birinci gruptur. İkincil mikroorganizmalar ise üretim sırasında asit üretimine fazla katkısı bulunmayan, ancak olgunlaşma sırasında önemli bir rol oynayan ikinci gruptur. İkincil mikroflora, çoğu peynir çeşidinde dahili olarak gelişen NSLAB ve farklı türlere ait bakteri, maya ve küflerden oluşmaktadır (Beresford ve ark., 2001). Bu çalışmada, starter kültür kullanılmadan üretilen klasik beyaz peynirin üretim aşaması ve olgunlaşma süresince alınan örneklerden izole edilen starter olmayan laktik asit bakterileri tanımlanarak, bazı türlerin teknolojik özellikleri belirlenmiştir.

5.1. Mikrobiyolojik Analizler

Klasik beyaz peynir üretim aşamaları ve olgunlaştırma süresince TAMB sayılarında istatistiksel olarak fark bulunmuştur. Çiğ süte ısıl işlem uygulaması sonrası düşen TAMB sayısı, teleme ve ön olgunlaştırma aşamalarında artış göstermiştir. Bu çalışmada olgunlaştırılmış klasik beyaz peynir örneklerinde ortalama TAMB sayısı 8.46 log kob/g düzeyinde belirlenmiştir. Gaglio ve ark. (2014) starter kültür kullanılmadan üretilen ve taze olarak tüketime sunulan geleneksel peynir örneklerinde TAMB sayısının 7.5-8.9 log kob/gr arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Muruzović ve ark. (2018) geleneksel Sırp peynir örneklerinde TAMB sayısını 1.8×10^7 ve 1.2×10^8 kob/g arasında tespit etmişlerdir. Kamber ve Çelik (2007) Gorcola peynir örneklerinde; Kamber (2008) ise geleneksel Mihaliç peynir örneklerinde TAMB sayısını sırasıyla 1.9×10^7 kob/g ve 7.69 log kob/g düzeylerinde tespit ettiklerini rapor

etmişlerdir. Yukarıdaki araştırmacıların sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları uyumlu bulunmuştur.

Çalışmada, iğ süt örneklerinde ortalama TAPB sayısı 7.89 log kob/ml iken uygulanan ısıl işlem sonrası 5.66 log kob/ml'ye düşüş gözlenmişse de, teleme ve n olgunlaştırma aşamaları ile olgunlaştırma süresince tekrar artış gösterdiği belirlenmiştir. Olgunlaştırmanın 120. gününde peynir örneklerindeki ortalama TAPB sayısı 7.34 log kob/g olarak belirlenmiştir. Kırdar ve ark. (2018) iğ sütten üretilen keş peynirlerinde 90 günlük olgunlaşma süresince psikrofilik bakteri sayısının arttığını ve bunun da düşük olgunlaşma sıcaklığının (6°C) bir sonucu olabileceğini bildirmişlerdir. Morul ve İşleyici (2012) Divle tulum peynirlerinde; Kara ve Akkaya (2015) ise Afyon tulum peynirlerinde ortalama TAPB sayısını sırasıyla 2.70-8.48 log kob/g ve 3.07-5.83 log kob/g düzeyinde tespit etmişlerdir. Tomar ve ark. (2018) 90 gün olgunlaştırılan tulum peynir örneklerinin tamamında depolama süresince TAPB sayısının artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Psikrotrofik bakteriler çiğ süte sağım ekipmanları, su, toprak ve hava yoluyla bulaşmaktadır. Bu bakteriler tarafından sentezlenen ısıya dayanıklı lipolitik ve proteolitik enzimler süt ürünlerinin kalitesini etkileyebilmektedir. Bu nedenle söz konusu bakterilerin peynirlerde varlığı işleme sırasındaki kontaminasyonla ilişkilendirilebilir ve acı tat gibi kalite kusurlarına neden olabilir (Sørhaug ve Stepaniak, 1997). Bundan dolayı sözü edilen çalışmalar arasındaki farklılıkların, üretimde kullanılan sütün mikrobiyal kalitesi ve üretim ve olgunlaştırma sırasında hijyen ve sanitasyon koşullarındaki farklılıklardan kaynaklı olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, klasik peynir üretiminde kullanılan çiğ süt örneklerinde 5.41 log kob/ml olan maya sayısında ısıl işlemele 2.78 log kob/ml düzeyine kadar azalma gözlenmiştir. Ancak olgunlaştırmanın 30. gününe kadar maya sayısında yaklaşık 3.7 log artış olduğu ve ardından olgunlaşma periyodu boyunca yaklaşık 2 log azalma olduğu saptanmıştır. Çalışmada olgunlaştırılmış klasik beyaz peynirlerin maya sayısı ortalama 4.42 log kob/gr olarak belirlenmiştir. Benzer olarak; ner ve ark. (2006), çiğ sütten üretilen ve 105 gün olgunlaştırılan salamura beyaz peynir örneklerinde maya-küf sayısının 5.37'den 4.05 log kob/g değerine kadar azaldığını rapor etmişlerdir. Kamber ve elik (2007) Gorcola peynir örneklerinde maya-küf sayısını 1.4×10^5 kob/g olarak ve Partovi ve ark. (2015) starter kültür kullanılmadan üretilen ve 6 ay

olgunlaştırılan İran peynir örneklerinde ortalama maya-küf sayısını 6.4×10^4 kob/g olarak belirlemiştir. Ercan ve ark. (2014) deneysel olarak üretimi yapılan sepet peynirlerinin maya sayılarının 3 aylık olgunlaşma periyodu sonunda 2.9 log kob/g olarak tespit etmiştir. Bu değer çalışmamızdan düşük bulunmuştur. Bunun nedeni peynir cinsinin ve buna bağlantılı olarak uygulanan üretim yönteminin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Maya sayısının başlangıçta yüksek olması, mayaların aerobik olmaları, geniş bir pH ve asitlik aralığı ile düşük sıcaklıkta gelişebilme yetenekleriyle açıklanabilmektedir. Aygun ve ark. (2005) Carra peynirinde, olgunlaşma sırasında düşük pH ve nem içeriği ile yüksek tuz seviyesinin yüksek sayıda maya varlığında rol oynadığını belirtmişlerdir. Olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde ise maya sayısındaki azalmanın, ortamda azalan oksijen miktarına bağlı olarak anaerobik koşulların oluşması nedeniyle olduğu düşünülmüştür. Tosun (2009) beyaz peynir örneklerinde toplam maya sayısının olgunlaşma periyodu boyunca arttığını ve maya sayılarındaki farkın peynir yapım esnasındaki farklı hijyenik koşullar nedeniyle peynirden peynire çok farklılık gösterdiğini rapor etmiştir. Çok sayıda çalışmada özellikle geleneksel peynirlerde çeşitli maya türleri izole edilmiş olsa da peynir olgunlaşmasında oynadıkları roller tam olarak anlaşılmış değildir (Zheng ve ark., 2021). Mayalar geleneksel olarak olgunlaştırılarak piyasaya sürülen peynirlerde doğal olarak bulunmakta veya kontrollü olarak sekonder (ikincil, adjunct) kültür olarak ilave edilmektedir. Bu mikroorganizmalar ortamdaki laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan laktik asiti kullanarak pH'yı yükseltip, olgunlaşmaya katkı sağlamaktadırlar. Mayalar, peynir aromalarıyla doğrudan ilişkili karbonil ve kükürt bileşikleri, yağ asidi türevleri ve fenolik bileşikler gibi peynirin kalitesi için çok önemli olan birçok ikincil metaboliti etkili bir şekilde üretebilirler (Dzialo ve ark., 2017). Mayaların süt proseslerinde yaygın olarak bulunmakta olduğu ve sıklıkla çiğ süt, teleme, üretim yüzeyleri, peynir teknesi ve bezi, kesme bıçağı gibi ekipmanlardan ayrıca olgunlaştırma odalarının duvarları, rafları ve havasında da bulunabildiği bildirilmiştir (Geronikou ve ark., 2020). Buna ilaveten peynir salamurasının maya kontaminasyonu için bilinen en önemli kaynak olduğu ifade edilmektedir (Kesenkaş ve Akbulut, 2006).

Çalışmada, çiğ süt örneklerinde 7.73 log kob/ml seviyesindeki *Lactobacillus* spp. sayısının ısıtma işlem sonrası yaklaşık 2.5 log azaldığı gözlenmiştir. Ancak teleme ve ön olgunlaştırma aşamasından başlayarak olgunlaştırma süresince *Lactobacillus*

spp. sayısında artış görülmüşse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$; Tablo 4.2). Uzun olgunlaşma periyoduna sahip peynirlerde *Lactobacillus* spp. sayısında artış görülmektedir. Bu artışı süttten veya çevreden bulaşan *Lactobacillus* spp. düşük pH, 8-10°C sıcaklık ve yüksek tuz konsantrasyonu gibi seçici koşullar altında kolayca gelişme yeteneğine sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca bu türlerin diğer bir artış nedeni besin kaynağı olarak starter bakterilerin otolizinden veya yağ globüllerinin zarlarından salınan bileşikleri kullanmaları olduğu bildirilmiştir (Wouters ve ark., 2002; Caridi ve ark., 2003; Marilley ve Casey, 2004). Bu çalışmada, olgunlaşma süreleri arasında istatistiksel fark olmamasına karşın, olgunlaşmanın son döneminde *Lactobacillus* spp. sayısında bir azalma görülmüştür. Benzer olarak Navidghasemizad ve ark. (2009) starter kültür kullanmadan üretilen İran peynir örneklerinde çiğ süttten ön olgunlaşmaya kadar *Lactobacillus* spp. sayısının arttığını, ancak 3 aylık olgunlaşmanın sonunda bu sayıların azaldığını rapor etmişlerdir. Kırdar ve ark. (2018) çiğ süttten üretilen keş peynirlerinde *Lactobacillus* spp. sayısının olgunlaşmanın 60. gününe kadar arttığını, ancak olgunlaşmanın son döneminde (90. gün) azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu bulgular mevcut çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızdaki bulguların aksine; Coeuret ve ark. (2003), Emmental peynir örneklerinde *Lactobacillus* spp.'nin olgunlaşma süresince su aktivitesi, tuza karşı olan duyarlılıkları ve türlerin otoliz gücüne bağlı olarak miktarlarında azalma olduğunu belirtmişlerdir. Bulgular arasındaki farklılıkların peynir üretim prosesi ve olgunlaştırma koşullarındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Diğer yandan farklı olgunlaştırma periyoduna sahip peynirlerden izole edilen *Lactobacillus* spp.'nin özellikle olgunlaşmanın son döneminde baskın olduğu birçok araştırmacı (Mannu ve ark., 2002; Marino ve ark., 2003; Terzic-Vidojevic ve ark., 2007) tarafından bildirilmiştir. *Lactobacillus* spp. peynirlerde olgunlaşma sırasında düşük su aktivitesi, yüksek tuz konsantrasyonu, anaerobik ortam ve azalan besin ortamları gibi seçici koşullarda sitrat fermantasyonu, proteoliz ve diğer enzimatik işlemlere katıldıkları rapor edilmiştir (Mannu ve ark., 2002; Marino ve ark., 2003). Ayrıca bu çalışmada, olgunlaşmanın sonunda (120. gün) peynir örneklerindeki ortalama *Lactobacillus* spp. sayısı 6.79 log kob/g olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara benzer olarak, *Lactobacillus* spp. sayısını Muruzović ve ark. (2018) geleneksel Sırp peynir örneklerinde ve Kırdar ve ark. (2018) geleneksel keş peynir örneklerinde sırasıyla $1.3-3.2 \times 10^7$ kob/g ve 7.16 log kob/g seviyelerinde tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, çiğ süt örneklerinde 8.55 log kob/ml düzeyindeki *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayısının ısıl işlem sonrası yaklaşık 2.2 log azaldığı gözlenmiştir. Teleme aşamasından itibaren olgunlaştırmanın 60. gününe kadar *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayısında artış görülmüş ancak 60. günden itibaren olgunlaşmanın sonuna kadar ise bir azalma görülmüştür. Hem bu artış hem de azalma istatistiksel olarak bir anlam ifade etmemektedir (Tablo 4.2). Bu çalışmada *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayısının belirlenmesinde M17 agar kullanılmıştır. Ancak gerek ulusal gerekse uluslararası çalışmalarda bu agarda üreyen koloniler genellikle *Lactococcus* spp. olarak değerlendirilmiştir. Dolayısıyla bu çalışmanın bulguları, diğer çalışmaların *Lactococcus* spp. sayısı bulguları ile tartışılmıştır. Bu çalışmada, *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayısının üretim ve olgunlaşma boyunca *Lactobacillus* spp. sayısından yüksek olduğu ve olgunlaşma aşamasında *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayısının azaldığı belirlenmiştir. Hayaloğlu ve ark. (2002), geleneksel olarak üretilen beyaz peynirlerde *Lactococcus* spp., sayısının *Lactobacillus* spp. sayısından daha yüksek olduğu ve *Lactococcus* spp.'nin olgunlaşma aşamasında kademeli olarak azaldığını bildirmişlerdir. Bunun nedenini son ürünlerdeki asitliğinin *Lactococcus* spp. üzerinde baskılayıcı etkisinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Karabey ve ark. (2018), starter kültür kullanılmadan üretilen İzmir tulum peynir örneklerinde 3 aylık olgunlaşma sonrası *Lactococcus* spp.'nin azaldığı, ancak bu dönemde *Lactobacillus* spp. ve *Enterococcus* spp.'nin baskın hale geldiğini bildirmişlerdir. Navidghasemizad ve ark. (2009), geleneksel İran peynir örneklerinde çiğ süttten ön olgunlaşmaya kadar *Lactococcus* sayılarının arttığını, ancak 3 aylık olgunlaşmanın sonunda bu sayıların azaldığını rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, olgunlaşmış peynirlerde *Lactococcus* spp. sayısı 8.03 kob log/g düzeyinde belirlenmiştir. Kamber ve Çelik (2007), Gorcola peynirlerinde 1.0×10^7 kob/g; Kamber (2008), geleneksel Mihaliç peynirlerinde 5.9 log kob/g; Kırdar ve ark. (2018) ise çiğ süttten üretilen keş peynirlerinde 7.54 log kob/g *Lactococcus* spp. tespit etmişlerdir. İşleyici ve Akyüz (2009), Van Otlu peynir örneklerinde ortalama 5.42 log kob/g oranında *Lactococcus* spp. identifiye ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, çiğ süt örneklerinde 5.94 log kob/ml düzeyindeki *Enterococcus* spp. sayısının ısıl işlem sonrası 3.5 log azaldığı gözlenmiştir (Tablo 4.2). Bu durum, bazı *Enterococcus* spp.'nin pastörizasyon sıcaklıklarına dayanıklı olabilmeleri ve pastörizasyon işlemi ile tamamen ortadan kaldırılamamalarından kaynaklı

olabilmektedir (McAuley ve ark., 2012). Olgunlaştırma süresince *Enterococcus* spp. sayısında artış tespit edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda da geleneksel olarak üretilen peynirlerde üretim aşaması ve olgunlaşma süresince *Enterococcus* spp. sayılarının genellikle artış gösterdiği bildirilmiştir (Andrighetto ve ark., 2001; Giraffa, 2003). Navidghasemizad ve ark. (2009), starter kültür kullanmadan üretilen İran peynirlerinde çiğ süttten 1 günlük olgunlaşmaya kadar *Enterococcus* sayılarının arttığını, ancak 3 aylık olgunlaşmanın sonunda bu sayıların azaldığını rapor etmişlerdir. Karabey ve ark. (2018), starter kültür kullanılmadan üretilen İzmir tulum peynirlerinin olgunlaşmaları esnasında *Enterococcus* spp. sayılarının arttığını bildirmişlerdir. Bunun sebebinin *Enterococcus* spp.'nin yüksek tuz ve düşük pH seviyelerine toleransları olduğunu ileri sürmüşlerdir. *Enterococcus* spp.'nin özellikle Akdeniz ülkelerinde geleneksel yöntemlerle üretilen birçok peynir çeşidinin olgunlaşmasında rol oynadığı ve farklı peynirlerde sayılarının 10^4 - 10^6 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Foulquie Moreno ve ark., 2006). Bu çalışmada, olgunlaştırılan klasik beyaz peynir örneklerinde ortalama *Enterococcus* spp. sayısı 5.05 log kob/gr seviyelerinde belirlenmiştir. Benzer olarak Partovi ve ark. (2015), starter kültür kullanılmadan üretilen ve 6 ay olgunlaştırılan İran peynirlerinde ortalama *Enterococcus* spp. sayısını 1.3×10^6 kob/g tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bazı *Enterococcus* spp.'nin peynirlerin olgunlaşmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Bu türler proteolitik ve esterolitik fonksiyonlarının yanı sıra diasetil üretimleri nedeniyle, fermente süt ürünlerinin olgunlaşmasına ve ürüne ait tipik tat ve aromanın oluşumuna ve gelişimine katkı sağlamaktadırlar (Foulquie Moreno ve ark., 2006; Jurkovic ve ark., 2006). Ayrıca, bazı *Enterococcus* spp.'nin peynirleri bozulma bakterilerine karşı koruyabilen çeşitli enterosin adını verilen bakteriyosinler üretebildiği bildirilmiştir (Ercan ve ark., 2014). Bazı *Enterococcus* spp. fekal kontaminasyonla ilişkili olup, süt ürünlerinde varlığı fekal indikatör olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca çiğ süttün sağım ve işleme koşullarının hijyenik olmamasının da bu tür bakterilere gelişim olanağı sağladığı düşünülmektedir. Bu türlerin starter kültür olarak kullanılabilmeleri için virülens faktörleri belirlenerek potansiyel patojenite risklerinin tespit edilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada, klasik beyaz peynir üretim aşamaları ve olgunlaşma süresince farklı basamaklardan alınan örneklerden izole edilen LAB şüpheli izolatların MALDI-TOF MS yöntemiyle identifikasyonu yapılmıştır. İdentifikasyon sonuçlarına göre; 319

izolatın %17.55'i *Lactobacillus* spp., %11.91'i *Lactococcus* spp., %22.88'i *Enterococcus* spp., %33.54'ü *Streptococcus* spp., %11.29'u *Pediococcus* spp., %0.63'ü *Weissella* spp., %0.63'ü *Staphylococcus* spp. ve %0.31'i *Leuconostoc* spp. olarak tanımlanmıştır. Toplam 4 (%1.25) izolatın skor değerleri MALDI-TOF MS cihazının cut-off değeri olan 1.7'nin altında kaldığı için tanımlaması yapılamamıştır. Bu tanımlamaya göre izolatların LAB içerisinde farklı cins ve türlere ait yüksek çeşitlilik gösterdiği görülmektedir.

Çalışmada tanımlanan LAB izolatlarının %17.55'inin *Lactobacillus* spp.'ye ait olduğu ve bunların örneklerdeki LAB mikroflorası içinde en baskın 3. cins olduğu belirlenmiştir. Tanımlanan *Lactobacillus* spp. izolatlarının tür düzeyinde dağılımı; %48.21'i *Lb. plantarum*, %25.23'ü *Lb. curvatus*, %10.71'i *Lb. paracasei*, %3.57'si *Lb. gasseri*, %3.57'si *Lb. coryniformis*, %1.79'u *Lb. brevis*, %1.79'u *Lb. vini*, %1.79'u *Lb. agilis*, %1.79'u *Lb. graminis* ve %1.79'u *Lb. rhamnosus* olarak tespit edilmiştir. *Lactobacillus* spp., uzun süre olgunlaştırılmış birçok peynir türünde baskın NSLAB cinsi olarak belirlenmiştir. Bu türler genellikle peynir matrisinde tek bir türün baskın olmadığı heterojen bir popülasyon olarak gelişmektedirler (Swearingen ve ark., 2001; Domingos-Lopes ve ark., 2017). Özellikle mezofilik *Lactobacillus* spp., hem sitratı fermente ederek hem de proteoliz ve diğer enzimatik işlemlerle peynirin olgunlaşmasında önemli rol alırlar (Crow ve ark., 2001). Bunun yanı sıra peynir lezzetini etkileyen lipaz ve esteraz aktivitelerine de sahiptirler (Beresford ve Williams, 2004). Gürses ve Erdoğan (2006), Tulum peyniri örneklerinden izole ettikleri LAB izolatlarının baskın olarak *Lactobacillus* spp. içinde yer alan türler olduğunu bildirmişlerdir. Kara ve Akkaya (2015), tulum peynir örneklerinden izole edilen LAB türlerinde baskın olarak (%53) *Lactobacillus* spp. tespit ettiklerini ve bunun %15.66'sının *Lb. paracasei ssp paracasei*, %13.25'inin *Lb. brevis*, %7.22'sinin *Lb. plantarum* ve %15'inin *Lb. paracasei* olduğunu bildirmişlerdir. *Lb. plantarum*, çeşitli gıda ürünlerinde uzun bir doğal mevcudiyet ve güvenli kullanım geçmişine sahiptir (Partovi ve ark., 2015). Bu çalışmaya benzer olarak Rantsiou ve ark. (2008), Feta peynir örneklerinde olgunlaşma sürecinde baskın LAB türünün *Lb. plantarum* olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bakterinin yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı olduğu ve uzun süre olgunlaşmış peynirlerde gelişebildiği bildirilmiştir. Yüksek proteolitik ve lipolitik aktivitelere sahip olduğundan olgunlaşmış peynirlerin aromasının gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Peláez ve Requena,

2005). Partovi ve ark. (2015), starter kültür kullanılmadan üretilen ve 6 ay olgunlaştırılan İran peynir örneklerinden izole edilen LAB izolatlarının %81.6'sının *Lactobacillus* spp. olduğunu, en baskın tür olarak ise %41.6'sının *Lb. plantarum* olduğunu ve onu %39.2 ile *Lb. brevis* ve %0.8 ile *Lb. parabuchneri* türlerinin takip ettiğini bildirmişlerdir. *Lb. curvatus* birçok fermente ürünün mikrobiyotasının bir parçasıdır. Antimikrobiyal özelliğe sahip metabolitler olan curvacin ve sakasin adı verilen bakteriyosinleri üretmekte ve antilisterial aktiviteleri ile karakterize edilmektedirler (de Souza Barbosa ve ark., 2015). *Lb. curvatus* aynı zamanda pastörizasyona dirençli bir tür süt mikrobiyotasını temsil etmektedir (Martley ve Crow, 1993). Bu çalışmada, ısıtılmış sütlerde bu bakterinin tespit edilememiş olması var olmayacağı anlamına gelmemektedir. Ehsani ve ark. (2014), geleneksel peynirlerden izole ettikleri *Lactobacillus* spp. izolatlarının %24'ünü *Lb. plantarum* ve %18'ini *Lb. agillis* olarak belirlemişlerdir. Williams ve Withers (2010), geleneksel peynir örneklerinden izole ettikleri LAB türlerinde en baskın tür olarak *Lb. paracasei* yer aldığını ve bunun yanı sıra *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum* ve *Lb. rhamnosus* türlerini de izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, örneklerden izole edilen izolatlar içinde *Streptococcus* spp. türleri %33.54 ile en yüksek oranı temsil etmektedir. Çiğ sütte doğal olarak bulunabilen *Streptococcus* spp. ile peynirin olgunlaşmasının her aşamasında tespit edilebileceği bildirilmiştir (Karabey ve ark., 2018). *Streptococcus* spp. izolatlarının %11.21'i *S. thermophilus* olarak tanımlanmıştır. Baruzzi ve ark. (2002), Aponte ve ark. (2008) ve Settanni ve ark. (2012) gibi bazı araştırmacılar starter kültür kullanılmadan üretilen İtalyan peynir örneklerinde mikroflorada *S. thermophilus*'un baskın tür olduğunu tespit etmişlerdir. Bu tür, süt endüstrisinde özellikle termofilik starter kültür olarak kullanılmaktadır.

Streptococcus spp. izolatlarının %38.32'si *S. gallolyticus* olarak tespit edilmiş ve bunların %4.88'inin *S. gallolyticus* ssp. *macedonicus* olduğu belirlenmiştir. *S. gallolyticus* ssp. *macedonicus* gibi bazı türler, geleneksel peynirlerde starter kültür popülasyonunun bir parçası olarak belirlenmiş ve gıdaya uygunluğu kabul edilmiştir. Aynı zamanda *S. macedonicus* türlerinin peynir üretiminde starter kültür olarak uygulanabilirliği açısından olumlu bir özellik olarak kabul edilen macedocin adlı bir lantibiyotik ürettiği de belirtilmiştir (du Toit ve ark., 2014). *S. macedonicus*'un peynir

yapım ve olgunlaşma süreçlerinde lipolitik ve peptidolitik aktivite gibi teknolojik özelliklere sahip olduğundan yardımcı kültür olarak kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (Georgalaki ve ark., 2000; Lombardi ve ark., 2004; De Vuyst ve Tsakalidou, 2008). Pacini ve ark. (2006) 51 geleneksel İtalyan peynir örneğinin %31.4'ünde *S. macedonicus* tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Gaglio ve ark. (2014); starter kültür kullanılmadan üretilen peynir örneklerinde en çok *S. gallolyticus* ssp. *macedonicus* ve *S. thermophilus* türlerinin baskın olduğunu belirlemiştir. Renye ve ark. (2011) hem çiğ süttten hem de pastörize süttten üretilen geleneksel Meksika peyniri örneklerinde *S. macedonicus* türünü tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızdan elde edilen izolatlar bu sonuçlarla uyumluluk göstermektedir.

Streptococcus spp. izolatlarının %25.23'ü *S. lutetiensis*, %13.08'i *S. equinus*, %9.35'i *S. infantarius* ve %0.93'ü *S. suis* olarak belirlenmiştir. Bunlardan *S. lutetiensis* ve *S. infantarius*, gıda ile ilgili fırsatçı patojenler grubu olan *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* kompleksinin (SBSEC) bir parçasıdır. Bu türlerin kendiliğinden fermente olan süttlerde ve geleneksel süt ürünlerinde yaygın olarak bulunabildiği belirlenmiştir. Jans ve ark. (2012) *S. infantarius* ssp. *infantarius*'un Afrika'da üretilen geleneksel fermente ürünlerde sıklıkla bulunduğunu belirtmişlerdir. Gaglio ve ark. (2014) geleneksel İtalyan peynirlerinden *S. lutetiensis* ve *S. infantarius*; Medeiros ve ark. (2016) geleneksel Coalho peynirlerinden *S. lutetiensis* ve *S. infantarius* ssp. *infantarius* türlerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ülkemizde ise Orşahin (2012) yöresel Armola peyniri örneklerinde *S. lutetiensis* ve *S. equinus* türlerini, Karabey ve ark. (2018) tulum peyniri örneklerinde *S. infantarius* ssp. *infantarius* ve *S. equinus* türlerini tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bunun sebebinin peynir üretim ve olgunlaştırma aşamalarındaki kontaminasyonlar ve yetersiz hijyen kaynaklı olabileceği düşünülmüştür.

Bu çalışmada, klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaştırma süresince farklı örneklerden izole edilen *Lactococcus* spp. izolatlarının %100'ü *Lc. lactis* olarak tanımlanmıştır. Büyükyörük ve Soyutemiz (2010) çiğ süttten üretilen İzmir tulum peynirlerinden izole ettikleri izolatların %20'sinin *Lc. lactis* ssp. *lactis* olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da *Lc. lactis* izolatlarının %5.3'sinin *Lc. lactis* ssp. *lactis* olduğu belirlenmiştir. Çelik ve Uysal (2009), olgunlaşmanın başlangıcında peynir florasında *Lc. lactis* ssp. *lactis*'in baskın tür olduğunu

belirtmişlerdir. Öner ve ark. (2004), yapmış oldukları çalışmada tulum peynirlerinden %15.8 oranında *Lactococcus* spp. tespit etmişlerdir. Karabey ve ark. (2018) starter kültür kullanılmadan 12 ay olgunlaştırılarak üretilen İzmir tulum peynirlerinde baskın flora olarak *Lc. lactis* ssp. *lactis* ve *Lc. garvieae* tespit ettiklerini belirtmişlerdir. *Lactococcus* spp., çeşitli proteolitik enzimler ve asitler üreterek peynir ürünlerinin lezzetini ve dokusunu etkilemektedir. Peynir yapım sürecinde bu türler sütün pH'ını düşürerek, sütün pıhtılaşmasını hızlandırmaktadırlar (Peláez ve Requena, 2005). *Lc. lactis* süt fermantasyonları için kullanılan mezofilik süt starter kültürlerin ana bileşenlerinden biridir (Settanni ve Moschetti, 2010). Bunun sebebi bu türlerin sahip oldukları ısı direnci olabilmektedir. Bu türe ait bazı izolatların 60°C'de 30 dakika ısı işleminden sonra da gelişebildikleri bildirilmiştir (Gaglio ve ark., 2014). Çalışmamızda da *Lc. lactis* izolatlarının %10.5'inin ısı işlem uygulanmış süttten elde edilmesi bu bilgiyi destekler niteliktedir.

Bu çalışmada, tanımlanan LAB izolatlarının %11.29'sının *Pediococcus* spp. olduğu ve tür olarak ise %100'ünün *P. acidilactici* olduğu belirlenmiştir. Tzora ve ark. (2021), Feta peynirlerinde olgunlaşmanın altıncı ayından elde edilen izolatların %4.3'ünün *P. acidilactici* olduğunu bildirmişlerdir. Partovi ve ark. (2015), İran peynir örneklerinden elde edilen LAB izolatlarının %1.6'sını *Pediococcus* spp. olarak tespit etmişlerdir. Gurira ve Buys (2005), Güney Afrika çiftlik peynirlerinden izole ettikleri LAB izolatlarının %18'inin *Pediococcus* spp. ve bunların da %44.5'inin *P. acidilactici* olduğunu rapor etmişlerdir. *Pediococcus* spp. geleneksel olarak üretilen fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanılabilen ve peynir olgunlaşmasına katkıda bulunan NSLAB grubu bakteriler olarak değerlendirilmektedir (Gurira ve Buys, 2005). Bu bakteri cinsinin proteolitik, lipolitik ve esterolitik aktiviteleriyle peynir yapım sürecini hızlandırabilecekleri bildirilmiştir (Holzapfel ve ark., 2006). Ayrıca diasetil ve asetaldehit üretimi ile peynirin organoleptik profiline katkıda bulunabilmektedirler (Tzora ve ark., 2021). Bunun yanı sıra bazı *Pediococcus* spp.'nin, ürettikleri pediosinlerle patojen bakterilere karşı geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumu sergiledikleri bildirilmiştir (Khorshidian ve ark., 2021). Çalışmamızda ısı işlem uygulanmış süttten 1 *P. acidilactici* tanımlanması dikkat çekici bulunmuştur.

Bu çalışmada, tanımlanan LAB izolatlarının %22.88'i *Enterococcus* spp. olarak belirlenmiş ve ikinci baskın flora bakterisi olarak tespit edilmiştir. Süt

ürünlerinde en sık bulunan *Enterococcus* spp.'nin; *E. faecium* ve *E. faecalis*, *E. casseliflavus*, *E. durans* ve *E. gallinarum* olduğu bildirilmiş (Settanni ve ark., 2012; Gaglio ve ark., 2016) olup, çalışmada da *Enterococcus* spp. izolatlarının %50.68'i *E. faecalis*, %36.99'u *E. faecium*, %9.59'u *E. gallinarum*, %1.37'si *E. casseliflavus* ve %1.37'si *E. durans* olarak belirlenmiştir. Aquilanti ve ark. (2006) geleneksel Canestrato Pugliese peynir örneklerinden izole edilen LAB izolatlarının %81.2'sini *Enterococcus* spp. olarak tespit etmiş olup, bu türlerin olgunlaşmış peynirlerin tadı, aroması, rengi ve dokusunu olumlu yönde etkilediğini belirtmiştir. Gelsomino ve ark. (2001), çiftlik peyniri örneklerinden üretim ve olgunlaşmanın çeşitli aşamalarında (1. gün ile 2, 4, 6 ve 8. haftalar) izole ettikleri *Enterococcus* spp. izolatlarında baskın türün *E. casseliflavus* olduğunu ve onu *E. faecalis*'in takip ettiğini rapor etmişlerdir. Partovi ve ark. (2015), İran peynir örneklerinde %13.6'sını *E. faecium* ve %3.2'sini *E. durans* türlerini; Navidghasemizad ve ark. (2009), İran peynirlerinin üretim ve olgunlaştırma periyodu boyunca elde ettikleri LAB izolatlarının %21.1'ini *E. faecium* ve %13.3'ünü *E. faecalis* olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ülkemizde ise Ercan ve ark. (2014), sepet peynirlerinde *E. casseliflavus* türünü tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmada tanımlanan *Enterococcus* spp. izolatlarının 14'ü (%19.18) çiğ süttten, 11'i (%15.07) ön olgunlaştırılmış peynirden, 48'i (%65.75) ise olgunlaşmanın farklı aşamalarından (17'si olgunlaşmanın 30. günü, 15'i olgunlaşmanın 60. günü, 10'u olgunlaşmanın 90. günü ve 6'sı olgunlaşmanın 120. günü) elde edilmiştir. *Enterococcus* spp.'nin üretimin tüm aşamalarından elde edilebilmesi, düşük pH, yüksek tuz konsantrasyonu ve sıcaklık gibi zorlu çevre koşullarına karşı diğer LAB türlerine göre daha dirençli olarak peynirde hayatta kalmaları ile açıklanabilmektedir (Navidghasemizad ve ark., 2009). Pastörize süttten üretilen peynirlerde bu türlerin varlığı genellikle ısıtılma işleminden sonra yeniden kontaminasyondan veya sahip oldukları ısıtılma dirençlerinden kaynaklandığı bildirilmektedir. Birçok araştırmacı bazı *Enterococcus* spp. suşlarının peynirlerin olgunlaşması sırasında lezzet gelişimine olumlu katkıları olduğunu ve bazı peynirlerde oldukça faydalı olabileceğini öne sürmektedir. Bu nedenle *Enterococcus* spp. çiğ veya pastörize sütte üretilen geleneksel peynirlerin üretiminde doğal veya kontrollü olarak yer alabilmektedir (Giraffa, 2002). Bu türlerin geleneksel peynirlerde bazen baskın flora olarak bazen de yaygın olarak bulunduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte süt ve süt ürünlerinde *Enterococcus* spp.'nin varlığı, uzun zamandır süttün üretimi ve işlenmesi sırasında

yetersiz hijyen ve sanitasyon koşullarının bir göstergesi olarak kabul edilmiş ve fekal indikatör olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca bazı *Enterococcus* spp.'nin sahip olduğu virülens faktörleri ve sahip oldukları antibiyotik direnç genleri endişe konusu olmaktadır. Bu sebeple identifiye edilen *Enterococcus* spp. izolatlarının virülens faktörleri ve patojenite testleri yapılarak potansiyel riskleri tespit edildikten sonra starter kültür üretiminde kullanılabileceği düşünülmüştür.

Çalışmada tanımlanan LAB izolatlarının %0.3'ü *Ln. pseudomesenteroides* olarak identifiye edilmiştir. *Ln. pseudomesenteroides*'in özellikle fermente süt ürünlerinde yaygın olarak bulunabildiği rapor edilmiştir. Süt teknolojisinde *Ln. pseudomesenteroides* suşları, *Lactococcus* spp. ve *Ln. mesenteroides* ile birlikte doğal mezofilik starter kültürlerde bulunur. Bu türün varlığının teknolojik açıdan birçok faydası bulunmaktadır. Viskoziteyi artırarak doku ve tat algısına ve ürünlerin nihai stabilitesine katkıda bulunan dekstranlar üretirler. Ayrıca birçok süt ürününün organoleptik özelliklerine katkıda bulunan diasetil, asetaldehit ve asetoin gibi aromatik bileşikler üretirler (Meslier ve ark., 2012). Çalışmamıza benzer olarak Abrioul ve ark. (2008) geleneksel Alberquilla peynirlerinden ve Renye ve ark. (2011) geleneksel Meksika peyniri örneklerinden *Ln. pseudomesenteroides* izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, tanımlanan LAB izolatlarının %0.63'ünün *Weissella* spp. olduğu belirlenmiş olup, ikisinin de (%100) *W. paramesenteroides* olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.5). Her iki izolat da ön olgunlaştırılmış peynirden izole edilmiştir. Ercan ve ark. (2014), starter kültür kullanılmadan, olgunlaştırılarak üretilen sepet peynirlerinden fenotipik olarak *W. paramesenteroides* izole ettikleri bildirmişlerdir. Gerasi ve ark. (2003), taze Manura peynirlerinin hem yüzeyinden hem de içinden yüksek oranda *W. paramesenteroides* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca peynir olgunlaşması sırasında izole edilen baskın LAB türlerinden biri olduğunu ve Manura peyniri üretiminde önemli rolü olduğunu vurgulamışlardır. *Weissella* spp.'nin sıklıkla kendiliğinden fermente olan gıdalardan izole edildiği ve fermente ürünün karakteristiklerine katkıda buldukları bildirilmiştir. Bu türler gıdaların güvenlik, beslenme ve duyuşsal özelliklerini artırabilen geniş bir işlevsel ve teknolojik özelliklere sahiptirler (Fessard ve Remize, 2017). Tüm bu özelliklere rağmen potansiyel biyojenik amin üretimi, antibiyotik dirençliliği veya enfeksiyon tehlikesi nedeniyle *Weissella*

spp.'nin ticari starter kültür olarak kullanımı hala araştırılmaktadır. Bu sebeple bu türler GRAS olarak tanınmamaktadır. Yine de *Weissella* spp. suşlarının güvenlik yönleri araştırıldıktan sonra gıda fermantasyonu için potansiyel güçlü starterler olabileceği bildirilmiştir (Fessard ve Remize, 2017).

Bu çalışmada, tanımlanan LAB izolatlarının 0.63'ü *Staphylococcus* spp. olarak tanımlanmış olup bunlardan %50'si *S. sciuri* ve %50'si *S. cohnii* olarak tanımlanmıştır (Tablo 4.5). İzolatların ikisinin de ön olgunlaştırılmış peynirlerden izole edildiği tespit edilmiştir. Bu iki tür gibi bazı *Staphylococcus* spp.'nin olgunlaşma sırasında yerleşik bakteri olduğundan ve fermantasyonda yer alarak peynirin duyuşal özelliklerine katkıda olduğu ifade edilmiştir (Casalta ve ark., 2009; Voidarou ve ark., 2020). Çalışmamıza benzer olarak Colares de Andrade ve ark. (2019) geleneksel Coalho peynirlerinin %8.8'inde *S. cohnii* ve %2.1'inde *S. sciuri* tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Bu özelliklerinin yanı sıra *Staphylococcus* spp. gıda zehirlenmesi salgınlarında en sık yer alan patojenik bakterilerden biridir. Gıda ile uğraşanlar (çoğunlukla asemptomatik taşıyıcılar) ve hayvanlar, özellikle mastitisli süt inekleri tarafından bulaşmaktadır (Colares de Andrade ve ark., 2019). *Staphylococcus* spp. genellikle patojen olarak değerlendirildikleri için süt endüstrinde istenmeyen bakterilerdir. Çiğ süt veya yetersiz ısı işlem görmüş sütlerden elde edilen geleneksel peynirler bu bakterinin kaynağı olabilmektedir. Geleneksel şekilde üretilen klasik beyaz peynirde çiğ süte uygulanan ısı işlem patojen inaktivasyonu için yeterli gelmeyebilir. Ayrıca pastörizasyon sonrası üretim aşamasında personelden veya üretim ortamından peynire kontamine olabilmektedir.

5.2. Teknolojik Özellikler

Bu çalışmada, klasik beyaz peynir üretim aşaması ve olgunlaşma süresince tanımlanan 20 yerli (otokton) LAB izolatı, peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılabilirlik yönünden teknolojik özellikleri değerlendirildi.

Peynir üretiminde asitlik gelişimi önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Optimal bir starter LAB kültürünün, sütü kısa bir süre içinde yüksek oranda asitleştirebilen izolatlar içermesi gerektiği bildirilmiştir (Franciosi ve ark., 2009). Genel olarak endüstriyel LAB veya starter kültürler için, minimum besin gereksinimleri ile ham maddeleri hızlı ve yüksek oranda laktik aside dönüştürme yeteneği istenen özelliklerdir. Hammaddenin hızlı asitlenmesi, istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engellemekte, ayrıca son ürünün doku ve aromasının oluşmasını sağlamaktadır (Akabanda ve ark., 2014). Starter bakteriler, 30-37°C'de 6 saatte sütün pH'sını 5.3'e düşürmek için yeterli asit üreten izolatlar olarak tanımlanabilir (Beresford ve ark., 2001). Bu çalışmada, asit üretim kapasitesi test edilen izolatlar arasında 6 saatlik inkübasyon sonunda pH değerini en çok düşüren izolatlar sırasıyla *P. acidilactici* (0.94), *E. faecalis* (0.91 ve 0.9) ve *E. faecium* (0.9) olduğu belirlense de izolatların hiçbiri 6 saatin sonunda pH'yı 5.3 ve altına düşürememiştir. Beresford ve ark. (2001), geleneksel peynirlerden elde edilen mezofilik bakteri izolatlarının çoğunun, tek tek test edildiğinde peynir yapmak için yeterli asit üretmediğini ve bu nedenle "starter" bakteri tanımına uymadığını belirtmektedir. Ancak bu izolatların diğer spesifik starter suşlarla kombinasyon halinde kullanıldıklarında asit üretimine katkıda bulunmalarının mümkün olabileceğini bildirmişlerdir.

Dağdemir (2006), salamura beyaz peynir örneklerinden izole ettiği *Enterococcus* spp. izolatlarının ilk 6 saatte Δ pH değerinin 0.10-1.11 arasında, 24 saatin sonunda ise 0.35-2.22 arasında değiştiğini; *Lactococcus* spp. izolatlarının ise 6 saatte 0.36-1.10 ve 24 saatin sonunda 1.63-2.25 aralığında değiştiğini belirlemiştir. *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* izolatlarının ise 6 ve 24. saatler sonunda asit üretim aktivitelerinin daha düşük olduğunu bildirmiştir. Elçioğlu (2010), Kargı tulum peynirinden izole etmiş olduğu 96 izolatın 6 saatlik inkübasyon sonunda ortam pH'sını 5.81-5.97 arasına düşüren 2 *Lb. plantarum*, 2 *E. durans* ve 1 *E. faecium* izolatı tespit etmiş ve bu izolatların ortamı hızlı asitleştirebilme özellikleriyle, starter kültür hazırlamada kullanılacaklarının düşünülebileceğini vurgulamıştır.

pH değerini 24 saatlik inkübasyon sonunda ise en çok düşüren *Lb. plantarum* (2.49), *Ln. pseudomesenteroides* (2.38) ve *Lb. rhamnosus* (2.36) olduğu; bunları *Lb. brevis* (2.35) ile *P.acidilactici* (2.35) izolatlarının takip ettiği tespit edilmiştir.

İzolatlardan 13'ünün 24 saatlik inkübasyon sonunda Δ pH değerinin 2'nin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmaların bulgularına benzer olarak Akoğlu ve ark. (2017), geleneksel Mengen peynirlerinden izole ettikleri 117 LAB izolatının 35'inin 24 saat sonunda Δ pH değerini 2'nin üzerinde tespit etmiş ve bu suşların yüksek asidifikasyon aktiviteleri nedeni ile starter kültür olarak kullanılabilme potansiyeli olduğunu bildirmişlerdir. Ertürkmen ve Öner (2015), starter kültür kullanmadan ürettikleri 7 beyaz peynir örneğinden tanımladıkları 77 LAB izolatının 24 saat sonunda *Lc. lactis* ssp. *lactis* PeLc2'nin 2.09 ile Δ pH değerini en fazla düşüren izolat olduğunu ve yüksek asidifikasyon özelliği nedeni ile endüstriyel fermantasyonlar için potansiyel suş olabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmada test edilen LAB izolatlarının %100'ünde proteolitik aktivite belirlenmiştir. Bu izolatlardan %10'unun (2 *P. acidilactici*) zayıf, %75'inin orta, %15'inin (1 *Lb. rhamnosus*, 1 *Lb. paracasei* ve 1 *Lb. plantarum*) ise yüksek proteolitik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmanın bulgularına benzer olarak Lim ve ark. (2019), Malezya'da fermente gıdalardan izole ettikleri 17 LAB izolatının %100'ünde; Akabanda ve ark. (2014), Gana'da kendiliğinden fermente olmuş sığır sütünden izole edilen 373 LAB izolatının %80'inin; García-Cano ve ark. (2019), süt ürünlerinden elde ettikleri LAB izolatının %61.3'ünün; Campagnollo ve ark. (2018), geleneksel Brezilya peynirlerinden izole edilen 466 LAB izolatının %30.7'sinin; Nespolo ve Brandelli (2010), Brezilya'da koyun sütü ve türevleri örneklerinden izole ettikleri 112 LAB izolatının %51'inin proteolitik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. LAB türlerinin proteolitik aktivitesi, bu bakterilerin sütte gelişebilmeleri ve farklı fermente süt ürünlerinin organoleptik özelliklerinin kazanımı açısından büyük önem taşımaktadır. Proteinlerdeki peptit bağlarının hidrolizi ile serbest amino asit oluşumu ve ardından dekarboksilasyon, deaminasyon, transaminasyon ve desülfürizasyon reaksiyonlarına katılım, gıda aromasının belirlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır (Savijoki ve ark., 2006). Starter bakterilerin proteolitik aktivitelerinde sahip oldukları enzimi ve proteoliz sonucu oluşan amino asitler yüksek kaliteli fermente süt ürünlerinin aromasını doğrudan ya da dolaylı olarak etkilemektedir (Akabanda ve ark., 2014). Fermente süt ürünlerinde süt proteini proteolizi ile ürünlerin sindirilebilirliği artmaktadır. Bunun yanı sıra süt proteininin proteolizinden elde edilen biyoaktif peptitlerin mikrobiyal enfeksiyonları azaltmada rol oynadığı bildirilmiştir (Atanasova ve ark., 2014). Peynir üretiminde kullanılacak

suşların proteolitik aktivite değerleri peynir çeşidine göre değişkenlik göstermektedir. Proteolitik aktivitesi yüksek suşlar sert yapıda ve uzun olgunlaştırma süresi gerektiren peynirler için kullanılırken, olgunlaştırılmadan tüketime sunulan ya da beyaz peynir gibi kısa süreli olgunlaştırılan peynirlerin yapımında ise düşük proteolitik aktiviteye sahip suşlar kullanılmaktadır (Turhan ve Öner, 2014).

Bu çalışmada 20 izolatın tamamının %2 NaCl konsantrasyonunda geliştiği ancak bu izolatlardan 3'ünün (*Lb. curvatus*) %6 tuz konsantrasyonunda gelişemediği tespit edilmiştir. Her bir LAB cinsinin, farklı NaCl konsantrasyonu içeren ortamlarda gelişim için farklı toleransları vardır (Vos ve ark., 2009). Düşük tuz konsantrasyonunun *Lb. curvatus*'un gelişimini ve bakteriyosin üretimini olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir (Verluyten ve ark., 2004). *Pediococcus* türlerinin halofilik olduğu; bazı *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* cinsi bakterilerin ise, yüksek tuzlu fermantasyon ortamlara dayanıklı olabileceği bildirilmiştir (Barrangou ve ark., 2002). Çalışmada da söz konusu türlerin her iki tuz değerinde gelişebildiği belirlenmiştir.

LAB türleri gelişebilmeleri için farklı optimum gelişme sıcaklıklarına gereksinim duymaktadırlar. Genellikle 10-45°C sıcaklık aralığında gelişebilen mezofilik bakteriler olarak sınıflandırılırlar. Optimum gelişme sıcaklıklarının ise 30-45°C olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada, değerlendirmeye alınan 20 izolatın 18'inin 10, 15 ve 45°C sıcaklıklarda gelişebildiği belirlenmiştir. İki izolatın (*E. faecalis* ve *E. faecium*) ise 10°C'de gelişme gösteremediği belirlenmiştir. Bu izolatların sırasıyla ekim ayında üretilen peynir örneğinin olgunlaşmasının 30. gününden ve temmuz ayında üretilen peynirin ön olgunlaştırılma aşamasından alındığı belirlenmiştir. 10°C sıcaklık *Enterococcus* spp. için sınır değer olarak değerlendirilebileceğinden bazı türlerin bu sıcaklık değerinde gelişmemesi normal olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada, değerlendirmeye alınan 20 izolatın tamamının pH 9.6'da, 11'inin ise pH 3.9'da gelişebildiği tespit edilmiştir. *Lb. plantarum* (1), *Lb. curvatus* (3), *Lb. brevis* (1), *Lb. rhamnosus* (1), *P.acidilactici* (2) ve *Ln. pseudomesenteroides* (1) izolatlarının pH 3.9'da gelişemediği belirlenmiştir. Pek çok bakteri türü en iyi nötr pH (7.0) koşullarında gelişebilmektedir. pH 4'ün altında asidik koşullarda ise az

bakteri türü gelişebilmektedir (György ve Laslo, 2021). *Leuconostoc* spp.'nin hayatta kalmak için ortam pH değerinin 4.8 veya üstü, *Pediococcus* spp. için ise bu değer 4.5 veya üstü olması gerektiği bildirilmiştir (Feiner, 2006). Bu çalışmada da bu bulguları destekler şekilde *Ln. pseudomesenteroides* ve *P.acidilactici* izolatlarının pH 3.9 değerinde gelişemediği belirlenmiştir.

Bu çalışmada, değerlendirmeye alınan 20 LAB izolatının %100'ünün ampisiline, %85'inin kanamisine, %50'sinin klindamisine, %35'inin vankomisine dirençli olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlardan çoklu antibiyotik dirençliliği olanların; *Lb. curvatus* (1), *Lb. paracasei* (1), *Lc. lactis* (1), *E. faecalis* (2) ve *E. faecium* (1) olduğu tespit edilmiştir. Cins bazında değerlendirildiğinde ise *Lactobacillus* spp. izolatlarının %100'ünün ampisiline, %88.8'inin kanamisine ve %44'ünün vankomisine dirençli olduğu belirlenmiştir. *Lc. lactis* (2) izolatlarının ampisilin, klindamisin ve eritromisine dirençli olduğu; *S. thermophilus* (2) izolatlarının ampisiline; *P. acidilactici* (2) ve *Ln. pseudomesenteroides* (1) izolatlarının kanamisin ve ampisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca değerlendirmeye alınan *Enterococcus* spp. izolatlarının %100'ünün kanamisin, ampisilin ve klindamisine, %75'inin ise streptomisin ve gentamisine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Vankomisin direncine sahip izolatların 4'ünün *Lactobacillus* spp. (1'i *Lb. plantarum*, 1'i *Lb. curvatus*, 1'i *Lb. paracasei*, 1'i *Lb. rhamnosus*), 1'inin *Lc. lactis*, 1'inin *S. thermophilus* ve 1'inin *E. faecalis* olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.13). Genel olarak, *Lactobacillus* spp'nin, vankomisine karşı yüksek bir doğal dirence sahip olabileceği bildirilmiştir (Abriouel ve ark., 2015). Çalışmamıza benzer olarak Guo ve ark. (2017) fermente süt örneklerinden izole ettikleri 33 *Lactobacillus* spp. izolatının, özellikle 11 *Lb. plantarum*'un tamamı ve 11 *Lb. casei*'nin 6'sı olmak üzere %84.9'unda vankomisin direnç insidansı gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Çoklu antibiyotik direncine sahip izolatlarda *Enterococcus* spp.'nin üstünlüğü dikkat çekici bulunmuştur. Yapılarındaki plazmitler gibi genetik elementlerin ve kromozomal değişikliklerin *Enterococcus* spp.'nin antibiyotik direncinde rol oynadığı bildirilmiştir. (Hegstad ve ark., 2010).

Antibiyotiklerin yaygın olarak kullanımı; insanlar, hayvanlar ve çevreyle ilişkili patojen ve patojen olmayan bakterilerde antibiyotik direncinin ortaya çıkmasına, gelişimine ve yayılmasına yol açmıştır (Hernando-Amado ve ark., 2019). Günümüzde bakterilerde antimikrobiyal direncin gelişmesi hem halk sağlığı hem de

gıda güvenliği açısından küresel bir problem olarak kabul edilmektedir. Gıda zinciri, hayvanlar ve insanlar arasında antibiyotiğe dirençli bakterilerin bulaşmasının ana yollarından biri olarak kabul edilmiştir. Her ne kadar LAB, GRAS statüsünde yer almakta ise de antibiyotik direnç genine sahip olmaları durumunda bu genleri başta patojen bakteriler olmak üzere gıdanın florasında bulunan diğer bakterilere aktarma potansiyelleri bulunmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı antimikrobiyal direnç genlerinin rezervuarı olarak kabul edilirler (Gaglio ve ark., 2016; Sirichoat ve ark., 2020). Bu nedenle gıda sanayinde kullanılacak LAB'ın antibiyotik direnç geni açısından incelenmeleri önem arz etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) de gıda endüstrisinde kullanılan LAB türlerinin antibiyotik dirençli olmamasını önermektedir (Álvarez-Cisneros ve Ponce-Alquicira, 2018).

Bu çalışmada 20 izolatın 11'inin değerlendirmeye alınan patojen bakterilerden en az birine karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan dört patojene karşı antimikrobiyal etkinlik gösteren en etkin türün *Lb. paracasei* izolatlarından biri olduğu saptanmıştır. Ayrıca *Lb. plantarum* (2), *Lb. curvatus* (3), *Lb. paracasei* (1), *Lb. brevis* (1), *Lb. rhamnosus* (1), *P. acidilactici* (1) ve *Ln. pseudomesenteroides* (1) izolatlarının da *S. aureus* hariç diğer üç patojene karşı antimikrobiyal etkinliği belirlenmiştir. Heredia-Castro ve ark. (2015), Meksika Cocido peynirinden izole edilen *Lactobacillus* spp.'nin *S. aureus*, *Listeria innocua*, *E. coli* ve *S. Typhimurium*'a karşı inhibitör aktivite gösterdiğini belirtmiştir. Gaglio ve ark. (2014), starter kültür kullanılmadan üretilen geleneksel Vastedda della valle del Belice peynir örneklerinden elde edilen LAB içinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi *Ln. lactis* izolatının gösterdiğini belirlemiştir. Pisano ve ark. (2015), çiğ süt ve geleneksel Sardunya peynirlerinden izole edilen *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşlarının, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria* spp. ve *Staphylococcus* spp.'ye karşı inhibitör aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

LAB türleri organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip farklı metabolitler üretmektedirler. Bu özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde patojen bakterilere karşı koruyucu biyoajanlar olarak kullanılmaktadır (Espeche ve ark., 2012; Fraga Coteló ve ark., 2013). Konsantrasyon veya miktara bağlı olarak indikatör mikroorganizmaları inhibe edebilmektedir (Wakil ve Osamwonyi, 2012; Akabanda ve ark., 2014). Bu bakteriler tarafından üretilen

antimikrobiyal bileşiklerin *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* gibi patojen mikroorganizmaları inhibe edebildiği bildirilmiştir (Muruzovic ve ark., 2018; Le ve Yang, 2019). Bu özellikleri nedeniyle gıdaların korunmasında önemli bir rol oynamaktadırlar.

5.3. Kimyasal Analizler

Gerçekleştirilen bu çalışmada klasik beyaz peynirin olgunlaştırma süresince laktik asit cinsinden asitlik değerinde artış meydana geldiği ve bu değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$; Tablo 4.16). Peynirin olgunlaşması sırasında asitlik artışına, LAB florasının laktoz fermantasyonu sonucu oluşan organik asitlerin yanı sıra proteoliz ve lipoliz sonucunda ortaya çıkan parçalanma ürünlerinin de neden olduğu düşünülmüştür. Peynir asitliği, üründeki baskın mikrobiyota ve biyokimyasal reaksiyonlarla doğrudan ilişkili olduğu için büyük önem taşımaktadır (Moreira ve ark., 2020). Olgunlaşmada asitlik; laktik asidin istenmeyen mikroorganizmalar üzerine inhibisyon etkisinin yanı sıra peynirlerde istenen tat, aroma ve tekstür gibi duyuşsal özellikler kazandırmasında etkilidir. Spontan fermantasyon ile üretilen peynirlerde açığa çıkan laktik asit miktarları değişkenlik göstereceğinden, son ürünün duyuşsal özellikleri de buna bağılı olarak değişkenlik gösterebilmektedir.

Çalışmada beyaz peynir örneklerinde 120 günlük olgunlaşma süresince pH değerinin istatistiksel olarak azalma gösterdiği görülmektedir ($p<0.05$; Tablo 4.16). TS 591 Beyaz Peynir Standardı'na (TS 591/T3, 2019) göre pH değerinin minimum 4.50 olması istenmektedir. 120 günlük olgunlaştırma süresi boyunca peynir örneklerinin ortalama pH değerleri 5.12 ile 5.49 aralığında değişmiş olup, ilgili standarda uygun bulunmuştur. Çalışmada pH değerinin azalmasına, olgunlaşma aşamasında laktozun fermente edilmesine bağılı olarak ortamdaki laktik asitin ve yağların hidrolizine bağılı olarak yağ asitlerinin artışının neden olduğu düşünülmüştür. pH değeri peynirin olgunlaştırma süresi için önemli bir etken olarak değerlendirilmektedir. Peynirin pH'sı, kazeinlerin çözünürlüğünü etkileyerek pıhtının dokusunu doğrudan etkilemektedir. Bunun yanı sıra olgunlaşma için gerekli enzimlerin aktivitesini etkileyerek peynirin dokusunu ve lezzetini dolaylı olarak

değiştirmektedir (Creamer ve ark., 1985; Mamo, 2017). pH'daki artışın peynirin reolojik özelliklerini önemli ölçüde değiştirerek daha yumuşak pıhtı oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir (McSweeney, 2004). Ercan ve ark. (2011) starter kültür kullanılmadan, olgunlaştırılarak üretilen sepet peynirlerinin pH değerinin çalışmamıza benzer olarak olgunlaşma boyunca azaldığını rapor etmiştir.

Bu çalışmada, klasik beyaz peynir örneklerinde 120 günlük olgunlaşma süresi boyunca kuru madde değerinin arttığı tespit edilmiştir. Peynir örneklerinin toplam kuru madde değerleri TS 591/T3 (2019) Beyaz Peynir Standardı'nda belirtilen %40'lık değere uygun olarak belirlenmiştir. Kuru maddedeki artış, ortamdaki tuzun peynire geçişinden ileri gelebilmektedir. Benzer olarak García ve ark. (2016), keçi peyniri örneklerinde 75 gün olgunlaşma süresi boyunca ortalama nem miktarının azaldığını bildirmiştir. Tayar (1995), 90 günlük olgunlaşma süresince kuru madde değerlerinin bir geleneksel beyaz peynir örneğinde artarken, ikisinde azaldığını bildirmiştir. Kuru madde değerlerindeki farklılıkların üretimde kullanılan sütün bileşimi ile standart bir peynir üretim teknolojisi ve olgunlaşma prosesi olmamasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Bu çalışmada, olgunlaşma süresi boyunca peynir örneklerinin yağ oranlarında azalma gözlenmiş ve bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$; Tablo 4.16). Bu azalmanın olgunlaşma süresince mikrobiyal kaynaklı lipaz enzimlerinin trigliseritleri hidrolize etmesinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Hayaloğlu ve ark. (2002), ülkemizde üretilen taze ve olgun salamura beyaz peynirlerdeki yağ miktarlarının %14.55 ile %22.75 arasında değişim gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada da olgunlaştırılmış beyaz peynir örneklerin ortalama yağ değeri bu aralıkta bulunmuştur.

Bu çalışmada, klasik beyaz peynir örneklerinin ortalama protein değerleri olgunlaşma süresince boyunca azalsa da bu fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$; Tablo 4.16). Protein değeri peynirin besin değeri bakımından önem arz etmektedir. Peynir kuru maddesini oluşturan bileşenler arasında yağdan sonra en yüksek oranı süt proteinleri oluşturmakta olup, peynirin en önemli ve değerli besin ögesidir. Topçu ve Saldamlı (2006) da pastörize inek sütünden üretilen beyaz peynirlerde yapılan

kimyasal analiz sonucunda 90 günlük olgunlaşma süresinde toplam azot oranlarında istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmada peynir örneklerinde olgunlaşma süresi boyunca tuz içeriğinde artış görülmüş olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$; Tablo 4.16). Tuz artışında asıl farkın olgunlaşmanın ilk aylarında görüldüğü belirlenmiştir. TS 591 Beyaz Peynir Standardı'na (TS 591/T3, 2019) göre standardına göre kuru maddede tuz içeriğinin en yüksek %10 olması öngörülmektedir. Bu çalışmada elde ettiğimiz kuru maddede tuz değerleri standarda uygun bulunmuştur. Çalışmamıza benzer olarak Kırdar ve ark. (2018), Keş peynirlerinde 90 günlük olgunlaşma süresince tuz değerinin arttığını bildirmişlerdir. Tuzlama beyaz peynir üretiminin önemli biri basamağı olup, peynire lezzet vermesinin yanı sıra, patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaları inhibe ederek peynirin raf ömrünün uzamasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca peynir mayası ve mikrobiyal enzimler gibi enzimlerin aktivitesi üzerindeki etkisi sayesinde peynir olgunlaşmasını modüle etmektedir (IDF, 2017). Klasik beyaz peynirinin standart bir üretim şekli olmadığından tuz içeriği üreticinin tercihine bağlı olarak; eklenen tuz miktarı, tuzlama metodu, tuzun dağılımı, ambalaj materyali ve olgunlaşma süresi ve koşullarına göre değişkenlik gösterebilmektedir.

Çalışmada klasik beyaz peynirin üretim aşaması ve olgunlaşma süresince su aktivitesi değeri azalsa da bu değişiklik anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$; Tablo 4.16). Kırdar ve ark. (2018), çiğ süttten üretilen keş peynirlerinde 90 günlük olgunlaşma süresince su aktivitesi değerinin azaldığını rapor etmişlerdir. Olgunlaşma sırasında a_w 'nin azalması, atmosferle temas halinde olan peynir yüzeyinden su kaybı (Bontinis ve ark., 2008), mikroorganizmaların faaliyeti veya tuzun yüksek ozmotik basıncına bağlı olarak suyun serbest kalmasına neden olması ile açıklanabilmektedir (García ve ark., 2016).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Geleneksel gıda ürünleri, niteliklerini o yöreye özgü doğal koşullardan veya o yörede o ürünü üretenlerin bilgi, beceri, yöntem ve tekniklerden alan ürünlerdir. Bir ülkenin kimliğinin ve kültürünün önemli bir parçası olarak kabul edilirler (Guerrero ve ark., 2009). Yöresel süt ürünleri üretimi ise bazıları antik zamanlardan beri bilinen, bazıları ise yüzyıllardır devam etmekte olan çok çeşitli geleneklerdir. Belirli bir coğrafi bölgeden gelen tüm peynirlerin, potansiyel bir ulusal hazineyi ve kültürel mirası temsil ettiği bildirilmiştir (Terzić-Vidojević ve ark., 2020). Geleneksel gıdaların orijinal özelliklerini koruyarak endüstriyel üretime aktarılması günümüz çalışma alanlarından biridir. Bu sayede yöresel tatların korunarak daha geniş kitlelere ulaşması ve kırsal alanların kalkınma ile sürdürülebilirliğine katkıda bulunması hedeflenmektedir. Bu bağlamda, belirli bir peynirin kendine özgü özelliklerinin korunarak standardizasyonu ve endüstriyelendirilmesi için yapılabilecek tek yeniliğin, üretimde otokton mikroorganizmaların kullanımı olduğu bildirilmiştir (Gaglio ve ark., 2014). Geleneksel süt ürünlerinde bulunan otokton LAB florası, fermente süt ürünleri üretimi için kullanılabilir teknolojik özelliklere sahip yeni suşların iyi bir kaynağı olabilmektedir. Özellikle geleneksel peynirler, içerdikleri farklı fonksiyonel özellikler itibarıyla zengin bir LAB kaynağı olarak değerlendirilmektedir.

Balıkesir, coğrafi konumu ve iklim koşulları nedeniyle hayvancılık yönünden gelişmiş bir ilimizdir. Bu sebeple süt ve süt ürünleri üretimi açısından ülkenin önde gelen illerinden biri olma avantajı da göz önünde bulundurularak, geleneksel ürünlerinde LAB florasının belirlenmesi ve uygun izolatların endüstrinin hizmetine sunulması büyük önem arz etmektedir. Balıkesir’de geleneksel olarak üretilen ve beğenilerek tüketilen klasik beyaz peynirin üretiminde belirli bir standart bulunmamaktadır. Buna bağlı olarak üretilen peynirlerin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyu özellikleri farklılık gösterebilmektedir. Yapılan literatür taramalarında, bazı geleneksel peynirlerin mikroflorasının belirlenmesi ve starter kültür oluşturmaya yönelik çalışmalara rastlansa da klasik beyaz peynir mikrobiyotasına yönelik sınırlı sayıda veri bulunmuştur. Bu tez çalışmasında, klasik

beyaz peynir üretiminin standardizasyonunun sağlanması amacıyla, peynirin kendine has lezzetinden sorumlu işletmeye özgü mikrofloranın belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Balıkesir ilinde ısıtılmış inek sütünden starter kültür kullanılmadan üretilen ve 120 gün olgunlaştırılan klasik beyaz peynir örneklerinin üretim aşaması ve olgunlaşma süresince baskın LAB florasının izolasyonu, elde edilen izolatların önce fenotipik ardından MALDI-TOF MS yöntemi ile genotipik olarak identifikasyonu yapıldı. Tanımlanan bu izolatlara bazı teknolojik testler uygulanarak, klasik peynir üretiminde starter ve/veya yardımcı kültür olarak kullanım potansiyeli araştırıldı. Çalışmanın sonucunda aynı süt işletmesinde starter kültür kullanılmadan üretilen klasik peynirlerde, üretim aşaması ve olgunlaşma süresince mikrobiyatanın değişkenlik gösterdiği görüldü. Olgunlaştırılmış klasik beyaz peynirlerde üretim aşaması ve olgunlaşma süresince baskın florayı *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. ve *Lactobacillus* spp. cinsi laktik asit bakterilerinin oluşturduğu belirlendi. Tür düzeyinde en baskın laktik asit bakterilerinin ise *S. gallolyticus*, *Lc. lactis*, *E. faecalis* ve *P. acidilactici* olduğu saptandı. Teknolojik testler sonucunda ise bu izolatların bazılarının süt endüstrisinde peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılabilme potansiyeli olduğu kanısına varıldı.

Konuyla ilgili gelecekte yapılacak çalışmalarda, öncelikle bu çalışmada identifikasyonu yapılan diğer izolatların da teknolojik özellikleri belirlenecektir. Potansiyel starter kültür olarak belirlenen suşların faj duyarlılıkları, lipolitik aktivite ve aroma profili gibi starter kültür olma özellikleri daha detaylı incelenecektir. Bunun yanı sıra virülens faktörleri ve antibiyotik dirençlilikleri gen düzeyinde belirlenecektir. Teknolojik özellikleri uygun olan LAB izolatlarının kontrollü şartlarda farklı kombinasyonları ile peynir üretim denemeleri yapılarak, söz konusu peynirin üretimine uygunlukları araştırılacaktır. Klasik beyaz peynirin karakteristik tat ve aroması üzerinde etkili olan diğer bileşenler saptanarak lezzet profili tespit edilecektir. Ayrıca geniş katılımcı grupları ile deneysel olarak üretilen peynirlerin duyu değerlendirmeleri yapılarak, arzu edilen yapı, tat ve aromanın yakalanması sağlanacaktır. Farklı kombinasyonlarla üretilen klasik beyaz peynirlerde standardizasyon sağlandığı takdirde, kullanılan bu izolatların işletmenin de onayı ile “Ulusal Gıda Starter Kültür Gen Bankası” bünyesine kaydedilerek muhafaza altına alınması önerilecektir.

KAYNAKLAR

- Abriouel, H., del Carmen Casado Muñoz, M., Lavilla Lerma, L., Pérez Montoro, B., Bockelmann, W., Pichner, ... Benomar, N. (2015). New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus* species from fermented foods. *Food Research International*, 78, 465-481. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.016>
- Abriouel, H., Martín-Platero, A., Maqueda, M., Valdivia, E. and Martínez-Bueno, M. (2008). Biodiversity of the microbial community in a Spanish farmhouse cheese as revealed by culture-dependent and culture-independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 127(3), 200-208. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.004>
- Akabanda, F., Owusu-Kwarteng, J., Tano-Debrah, K., Parkouda, C. and Jespersen, L. (2014). The use of lactic acid bacteria starter culture in the production of *Nunu*, a spontaneously fermented milk product in Ghana. *International Journal of Food Science*, 2014, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2014/721067>
- Akoğlu, A., Yaman, H., Coşkun, H. ve Sarı, K. (2017). Mengen peynirinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler tanımlanması ve bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(2), 453. <https://doi.org/10.19113/sdubed.11073>
- Albenzio, M., Corbo, M. R., Rehman, S. U., Fox, P. F., De Angelis, M., Corsetti, A., ... Gobbetti, M. (2001). Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey. *International Journal of Food Microbiology*, 67(1-2), 35-48. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00533-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00533-X)
- Al-kotami, S., Abou-Ghorrah, S. and Yazaji, S. (2015). Detection and isolation of lactic acid bacteria and its use as local starters in Syrian Akawi cheese processing. *International Food Research Journal*, 22(4), 1699-1704.
- Álvarez-Cisneros, Y. M. and Ponce-Alquicira, E. (2018). Antibiotic resistance in lactic acid bacteria. Y. Kumar (Der.), *Antimicrobial resistance-A global threat* içinde (ss. 53-73). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.80624>
- Anandharaj, M. ve Sivasankari, B. (2014). Isolation of potential probiotic *Lactobacillus oris* HMI68 from mother's milk with cholesterol-reducing property. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 118(2), 153-159. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.01.015>
- Andrighetto, C., Knijff, E., Lombardi, A., Torriani, S., Vancanneyt, M., Kersters, K., ... Dellaglio, F. (2001). Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian cheeses. *The Journal of Dairy Research*, 68(2), 303-316. <https://doi.org/10.1017/s0022029901004800>
- Antonsson, M., Molin, G. and Ardö, Y. (2003). *Lactobacillus* strains isolated from Danbo cheese as adjunct cultures in a cheese model system. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 159-169. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(02\)00536-6](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00536-6)
- Aponte, M., Fusco, V., Andolfi, R. and Coppola, S. (2008). Lactic acid bacteria occurring during manufacture and ripening of Provolone del Monaco cheese: Detection by different analytical approaches. *International Dairy Journal*, 18(4), 403-413. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.10.011>
- Atanasova, J., Moncheva, P. and Ivanova, I. (2014). Proteolytic and antimicrobial activity of lactic acid bacteria grown in goat milk. *Biotechnology, Biotechnological Equipment*, 28(6), 1073-1078. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.971487>

Aquilanti, L., Dell'Aquila, L., Zannini, E., Zocchetti, A. and Clementi, F. (2006). Resident lactic acid bacteria in raw milk Canestrato Pugliese cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 43(2), 161-167. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01935.x>

Arias, C. A. and Murray, B. E. (2012). The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. *Nature Reviews. Microbiology*, 10(4), 266-278. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2761>

Awad S., Hassan A.N. and Muthukumarappan K. (2005). Application of exopolysaccharide-producing cultures in reduced-fat cheddar cheese: Texture and melting properties. *Journal of Dairy Science*, 88(12), 4204-4213.

Aygun, O., Aslantas, O. and Oner, S. (2005). A survey on the microbiological quality of Carra, a traditional Turkish cheese. *Journal of Food Engineering*, 66(3), 401-404. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.04.013>

Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., ... and Ibrahim, S. A. (2020). Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications. *Dairy*, 1(3), 202-232. <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>

Bal Onur, B. ve Aksoy Biber, N. (2017). *50 Peynirli şehir Balıkesir*. Balıkesir: Balıkesir Büyükşehir Belediyesi Kırsal Hizmetler Daire Başkanlığı Yayınları.

Banwo, K., Sanni, A. and Tan, H. (2013). Functional properties of *Pediococcus* species isolated from traditional fermented cereal gruel and milk in Nigeria. *Food Biotechnology*, 27(1), 14-38. <https://doi.org/10.1080/08905436.2012.755626>

Barrangou, R., Yoon, S.-S., Breidt, Jr., F., Fleming, H. P. and Klaenhammer, T. R. (2002). Characterization of six *Leuconostoc fallax* bacteriophages isolated from an industrial sauerkraut fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(11), 5452-5458. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.11.5452-5458.2002>

Bartholomew, J. W. and Mittwer, T. (1952). The gram stain. *Bacteriological Reviews*, 16(1), 1-29.

Baruzzi, F., Matarante, A., Morea, M. and Cocconcelli, P. S. (2002). Microbial community dynamics during the Scamorza Altamura cheese natural fermentation. *Journal of Dairy Science*, 85(6), 1390-1397. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74206-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74206-9)

Batt, C. A. (2014). Lactobacillus | Introduction. C. A. Batt and M. L. Tortorello (Der.) *Encyclopedia of Food Microbiology* içinde (ss. 409-411). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00176-2>

Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C. and Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496.

Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L. and Cogan, T. M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 259-274. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00056-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00056-5)

Beresford, T. and Williams, A. (2004). The microbiology of cheese ripening. P.F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan and T.P. Guinee (Der.) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* içinde (ss. 287-317). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80071-X](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80071-X)

Billroth, T. (1874). *Untersuchungen über die vegetationsformen von Coccobacteria septica und der Antheil, welchen sie an der entstehung und verbreitung der accidentellen Wundkrankheiten haben*. Berlin: G. Reimer. 02.02. 2022 tarihinde <https://books.google.be/books?vid=GENT900000224569&printsec=frontcover&hl=tr#v=onepage&q&f=false> adresinden erişildi.

Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665-684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>

Björkroth, J.A., Dicks, L.M.T.D. and Endo, A. (2014) The genus *Weissella*. W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood (Der). *Lactic acid bacteria, biodiversity and taxonomy* içinde (ss. 418–428). Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell.

Bontinis, T. G., Mallatou, H., Alichanidis, E., Kakouri, A. and Samelis, J. (2008). Physicochemical, microbiological and sensory changes during ripening and storage of Xinotyri, a traditional Greek cheese from raw goat's milk. *International Journal of Dairy Technology*, 61(3), 229-236. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00404.x>

Broome, M. C., Powell, I. B. and Limsowtin, G. K. Y. (2011). Cheese | Starter cultures: Specific properties. J.W. Fuquay, P. F. Fox and P. L. H. McSweeney (Der.) *Encyclopedia of Dairy Sciences* içinde (ss. 559-566). London: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00067-4>

Burns, P., Cuffia, F., Milesi, M., Vinderola, G., Meinardi, C., Sabbag, N. and Hynes, E. (2012). Technological and probiotic role of adjunct cultures of non-starter lactobacilli in soft cheeses. *Food Microbiology*, 30(1), 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.09.015>

Büyükyörük, S. ve Soyutemiz, G. E. (2010). Geleneksel olarak üretilmiş İzmir tulum peynirinden *Lactococcus lactis* (*Lactococcus lactis* alttür *lactis* ve alttür *cremoris*) suşlarının izolasyonu, fenotipik ve moleküler teknikler ile identifikasyonu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(2), 81-87.

Campagnollo, F. B., Margalho, L. P., Kamimura, B. A., Feliciano, M. D., Freire, L., Lopes, L. S., ... Sant'Ana, A. S. (2018). Selection of indigenous lactic acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. *Food Microbiology*, 73, 288-297. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.006>

Capozzi, V., Russo, P., Dueñas, M. T., López, P. and Spano, G. (2012). Lactic acid bacteria producing B-group vitamins: A great potential for functional cereals products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(6), 1383-1394. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4440-2>

Carbonnelle, E., Grohs, P., Jacquier, H., Day, N., Tenza, S., Dewailly, A., ... Raskine, L. (2012). Robustness of two MALDI-TOF mass spectrometry systems for bacterial identification. *Journal of Microbiological Methods*, 89(2), 133-136. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.03.003>

Carbonnelle, E., Mesquita, C., Bille, E., Day, N., Dauphin, B., Beretti, J.-L., Ferroni, A., ... Nassif, X. (2011). MALDI-TOF mass spectrometry tools for bacterial identification in clinical microbiology laboratory. *Clinical Biochemistry*, 44(1), 104-109. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2010.06.017>

Cardamone, L., Quiberoni, A., Mercanti, D. J., Fornasari, M. E., Reinheimer, J. A. and Guglielmotti, D. M. (2011). Adventitious dairy *Leuconostoc* strains with interesting technological and biological properties useful for adjunct starters. *Dairy Science & Technology*, 91(4), 457-470. <https://doi.org/10.1007/s13594-011-0022-9>

Caridi, A., Micari, P., Caparra, P., Cufari, A. and Sarullo, V. (2003). Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal*, 13(2-3), 191-200. [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(02\)00157-7](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(02)00157-7)

Casalta, E. and Montel, M. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactococcus* genus. *International Journal of Food Microbiology*, 126(3), 271-273. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.013>

Casalta, E., Sorba, J.-M., Aigle, M. and Ogier, J.-C. (2009). Diversity and dynamics of the microbial community during the manufacture of Calenzana, an artisanal Corsican cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 133(3), 243-251. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.022>

Cavicchioli, V. Q., Camargo, A. C., Todorov, S. D. and Nero, L. A. (2019). Potential control of *Listeria monocytogenes* by bacteriocinogenic *Enterococcus hirae* ST57ACC and *Pediococcus pentosaceus* ST65ACC strains isolated from artisanal cheese. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(2), 696-704. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9449-0>

Chhatwal, G. S. and Graham, R. (2008). Streptococcal diseases. H.K. Heggenhougen and S. Quah (Der.), *International encyclopedia of public health* içinde (ss. 231–241). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012373960-5.00616-X>

Cho, Y., Kim, E., Lee, Y., Han, S.-K., Kim, C.-G., Choo, D.-W., ... Kim, H.-Y. (2017). Rapid and accurate identification of species of the genus *Pediococcus* isolated from Korean fermented foods by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight MS with local database extension. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(3), 744-752. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001626>

Clinical Laboratory Standards Institute. (2021). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st Edition* (CLSI M100-ED31:2021). 22 Kasım 2021 tarihinde <https://www.treata.academy/wp-content/uploads/2021/03/CLSI-31-2021.pdf> adresinden erişildi.

Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M. and Vernoux, J. P. (2003). Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Le Lait*, 83(4), 269-306. <https://doi.org/10.1051/lait:2003019>

Cogan, T. M. and Beresford, T. P. (2002). Microbiology of hard cheese. R.K. Robinson (Der.) *Dairy microbiology handbook* içinde (ss. 515-560). New York: John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/0471723959.ch11>

Cogan, T. M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P. S., Fernandes, I., ... Rodriguez, E. (1997). Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64(3), 409-421. <https://doi.org/10.1017/S0022029997002185>

Colares de Andrade, A. P., Teixeira de Figueiredo, E. A., Borges, M. de F. and Arcuri, E. F. (2019). Diversity of Staphylococcus coagulase- positive and negative strains of coalho cheese and detection of enterotoxin encoding genes. *Boletim Do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 36(1). <https://doi.org/10.5380/bceppa.v36i1.57553>

Collins, M. D., Samelis, J., Metaxopoulos, J. and Wallbanks, S. (1993). Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: Description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *The Journal of Applied Bacteriology*, 75(6), 595-603. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1993.tb01600.x>

Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H. and Wilkinson, M. G. (2004). Lipolysis and catabolism of fatty acids in cheese. P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan and T. P. Guinee (Der.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* içinde (ss. 373-389). Boston: Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80075-7](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80075-7)

Cordain, L., Eaton, S. B., Sebastian, A., Mann, N., Lindeberg, S., Watkins, B. A ... Brand-Miller, J. (2005). Origins and evolution of the Western diet: Health implications for the 21st century. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(2), 341-354. <https://doi.org/10.1093/ajcn.81.2.341>

Cotter, P. D., Hill, C. and Ross, R. P. (2005). Bacterial lantibiotics: Strategies to improve therapeutic potential. *Current Protein & Peptide Science*, 6(1), 61-75. <https://doi.org/10.2174/1389203053027584>

Creamer, L. K., Lawrence, R. C. and Gilles, J. (1985). Effect of acidification of cheese milk on the resultant Cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 20, 185-203.

Crow, V., Curry, B. and Hayes, M. (2001). The ecology of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and their use as adjuncts in New Zealand Cheddar. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 275-283. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00057-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00057-7)

Çakmakçı, S. (2011). Türkiye peynirleri. A. A. Hayaloğlu ve B. Özer. (Der.). *Peynir biliminin temelleri* içinde (ss. 585-614). İzmir: Sidas.

Çelik, Ş. ve Uysal, Ş. (2009). Beyaz peynirin bileşim, kalite, mikroflora ve olgunlaşması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(1), 141-151.

- Dağdemir, E. (2006). *Salamura beyaz peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve seçilen bazı izolatların kültür olarak kullanılabilme imkanları*. (Yayımlanmamış doktora tezi). Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., ... Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*, 8(3), 92. <https://doi.org/10.3390/foods8030092>
- de Man, J. C., Rogosa, M. and Sharp, M.E. (1960). A medium of the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135.
- de Filippis, F., Pasolli, E. and Ercolini, D. (2020). The food-gut axis: Lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(4), 454-489. <https://doi.org/10.1093/femsre/uaa015>
- de Souza Barbosa, M., Todorov, S. D., Ivanova, I., Chobert, J.-M., Haertlé, T. and de Melo Franco, B. D. G. (2015). Improving safety of salami by application of bacteriocins produced by an autochthonous *Lactobacillus curvatus* isolate. *Food Microbiology*, 46, 254-262. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.08.004>
- De Vuyst, L. and Tsakalidou, E. (2008). *Streptococcus macedonicus*, a multi-functional and promising species for dairy fermentations. *International Dairy Journal*, 18(5), 476-485. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.10.006>
- Deegan, L. H., Cotter, P. D., Hill, C. and Ross, P. (2006). Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *International Dairy Journal*, 16(9), 1058-1071. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.026>
- Deeth, H. C., and Fitz-Gerald, C. H. (1983). Lipolytic enzymes and hydrolytic rancidity in milk and milk products. P. F. Fox (Der.), *Developments in dairy chemistry—2: Lipids* içinde (ss. 195-239). Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-010-9231-9_6
- Diep, D. and Nes, I. (2002). Ribosomally synthesized antibacterial peptides in gram positive bacteria. *Current Drug Targets*, 3(2), 107-122. <https://doi.org/10.2174/1389450024605409>
- Domingos-Lopes, M. F. P., Stanton, C., Ross, P. R., Dapkevicius, M. L. E. and Silva, C. C. G. (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiology*, 63, 178-190. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.014>
- du Toit, M., Huch, M. Cho, G.S. and Franz, C.M.A.P. (2014). The genus *Streptococcus*. W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood (Der). *Lactic acid bacteria, biodiversity and taxonomy* içinde (ss. 457-506). Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Dzialo, M. C., Park, R., Steensels, J., Lievens, B. and Verstrepen, K. J. (2017). Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(Supp_1), 95-128. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux031>
- EFSA. (2020). Statement on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 12: suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2020. *EFSA Journal*, 18(7), 6174. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6174>
- Ehsani, A., Mahmoudi, R., Hashemi, M. and Raeisi, M. (2014). Identification of lactobacillus species isolated from traditional cheeses of west Azerbaijan. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 8(1), 38-43.
- Elçioğlu, Ö. (2010). *Kargı tulum peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin starter ve probiyotik kültür özelliklerinin belirlenmesi*. (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi). Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.

- Ercan, D., Korel, F. and Orşahin, H. (2014). Microbiological quality of artisanal Sepet cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 384-393. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12125>
- Ercan, D., Korel, F., Karagül Yüceer, Y. and Kınık, Ö. (2011). Physicochemical, textural, volatile, and sensory profiles of traditional Sepet cheese. *Journal of Dairy Science*, 94(9), 4300-4312. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3941>
- Ertürkmen, P. ve Öner, Z. (2015). Beyaz peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(3). <https://doi.org/10.19113/sdufbed.25545>
- Espeche, M. C., Pellegrino, M., Frola, I., Larriestra, A., Bogni, C. and Nader-Macías, M. E. F. (2012). Lactic acid bacteria from raw milk as potentially beneficial strains to prevent bovine mastitis. *Anaerobe*, 18(1), 103-109. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.01.002>
- Eugster, E., Fuchsmann, P., Schlichtherle-Cerny, H., Bütikofer, U. and Irmeler, S. (2019). Formation of alanine, a-aminobutyrate, acetate, and 2-butanol during cheese ripening by *Pediococcus acidilactici* FAM18098. *International Dairy Journal*, 96, 21-28.
- FAO/WHO. (2006). *Probiotics in food: Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria*. Rome: World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 23 Ağustos 2021 tarihinde <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf> adresinden erişildi.
- FDA. (2021). *GRAS Notices*. 13 Ocak 2021 tarihinde, https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&sort=GRN_N adresinden erişildi.
- Feiner, G. (2006). The microbiology of specific bacteria. *Meat Products Handbook* içinde (ss. 595-615). Cambridge: Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781845691721.3.595>
- Ferrer Valenzuela, J., Pinuer, L. A., García Cancino, A. and Bórquez Yáñez, R. (2015). Metabolic fluxes in lactic acid Bacteria-A review. *Food Biotechnology*, 29(2), 185-217. <https://doi.org/10.1080/08905436.2015.1027913>
- Fessard, A. and Remize, F. (2017). Why are *Weissella* spp. not used as commercial starter cultures for food fermentation? *Fermentation*, 3(3), 38. <https://doi.org/10.3390/fermentation3030038>
- Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(5), 4745-4767. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
- Flórez, A. B., Campedelli, I., Delgado, S., Alegría, Á., Salvetti, E., Felis, G. E., ... Torriani, S. (2016). Antibiotic susceptibility profiles of dairy *Leuconostoc*, analysis of the genetic basis of atypical resistances and transfer of genes in vitro and in a food matrix. *PLoS ONE*, 11(1), e0145203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145203>
- Foulquié Moreno, M. R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E. and De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106(1), 1-24. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.026>
- Fox, P. F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72(6), 1379-1400. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79246-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79246-8)
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. and McSweeney, P. L. H. (2017) Starter cultures. *Fundamentals of cheese science* içinde (ss. 121-183). Boston: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9_6
- Fraga Cotelo, M., Perelmutter Schein, K., Giacaman Salvo, S. S., Zunino Abirad, P. M. and Carro Techera, S. B. (2013). Antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from Uruguayan artisan

cheese. *Food Science and Technology*, 33, 801-804. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000400029>

Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A. and Poznanski, E. (2009). Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*, 19(1), 3-11. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.008>

Freire, T. T., Silva, A. L. T., Ferreira, B. K. O. and dos Santos, T. M. (2021). Bactérias ácido lácticas suas características e importância: Revisão. *Research, Society and Development*, 10(11), e513101119964. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19964>

Freiwald, A. and Sauer, S. (2009). Phylogenetic classification and identification of bacteria by mass spectrometry. *Nature Protocols*, 4(5), 732-742. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.37>

Fusco, V., Quero, G. M., Cho, G.-S., Kabisch, J., Meske, D., Neve, H., ... Franz, C. M. A. P. (2015). The genus *Weissella*: Taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Frontiers in Microbiology*, 6, 155, 1-22. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00155>

Gaglio, R., Couto, N., Marques, C., de Fatima Silva Lopes, M., Moschetti, G., Pomba, C. and Settanni, L. (2016). Evaluation of antimicrobial resistance and virulence of enterococci from equipment surfaces, raw materials, and traditional cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 236, 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.020>

Gaglio, R., Francesca, N., Di Gerlando, R., Cruciata, M., Guarcello, R., Portolano, B., ... Settanni, L. (2014). Identification, typing and investigation of the dairy characteristics of lactic acid bacteria isolated from "Vastedda della valle del Belice" cheeses. *Dairy Science & Technology*, 94(2), 157-180. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0150-5>

Gantzias, C., Lappa, I. K., Aerts, M., Georgalaki, M., Manolopoulou, E., Papadimitriou, K., ... Vandamme, P. (2020). MALDI-TOF MS profiling of non-starter lactic acid bacteria from artisanal cheeses of the Greek island of Naxos. *International Journal of Food Microbiology*, 323, 108586. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108586>

García, V., Rovira, S., Boutoial, K., Ferrandini, E. and López, M. B. (2016). Physicochemical, microbiological, textural and sensory changes during the ripening of pasteurised goat milk cheese made with plant coagulant (*Cynara scolymus*). *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 96-102. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12225>

García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E. and Jiménez-Flores, R. (2019). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(13), 5243-5257. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>

García-Solache, M. and Rice, L. B. (2019). The enterococcus: A model of adaptability to its environment. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(2), e00058-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-18>

Gelsomino, R., Vancanneyt, M., Condon, S., Swings, J. and Cogan, T. M. (2001). Enterococcal diversity in the environment of an Irish Cheddar-type cheesemaking factory. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2-3), 177-188. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00620-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00620-1)

Georgalaki, M. D., Sarantinopoulos, P., Ferreira, E. S., De Vuyst, L., Kalantzopoulos, G. and Tsakalidou, E. (2000). Biochemical properties of *Streptococcus macedonicus* strains isolated from Greek Kasseri cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 88(5), 817-825. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01055.x>

Gerasi, E., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Tzanetakis, N. (2003). Microbiological study of Manura, a hard cheese made from raw ovine milk in the Greek island Sifnos. *International Journal of Dairy Technology*, 56(2), 117-122. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2003.00085.x>

- Geronikou, A., Srimahaeak, T., Rantsiou, K., Triantafillidis, G., Larsen, N. and Jespersen, L. (2020). Occurrence of yeasts in white-brined cheeses: Methodologies for identification, spoilage potential and good manufacturing practices. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582778>
- Ghahremani, E., Mardani, M. and Rezapour, S. (2015). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria from traditional cheese in Khorramabad City of Iran with probiotic potential. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175(5), 2516-2527. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1434-9>
- Ghosh, T., Beniwal, A., Semwal, A. and Navani, N. K. (2019). Mechanistic insights into probiotic properties of lactic acid bacteria associated with ethnic fermented dairy products. *Frontiers in Microbiology*, 10, 502. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00502>
- Giraffa, G. (2002). Enterococci from foods. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(2), 163-171. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00608.x>
- Giraffa, G. (2003). Functionality of enterococci in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3), 215-222. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00183-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00183-1)
- Guerrero, L., Guàrdia, M. D., Xicola, J., Verbeke, W., Vanhonacker, F., Zakowska-Biemans, S., ... Hersleth, M. (2009). Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. *Appetite*, 52(2), 345-354. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.11.008>
- Guo, H., Pan, L., Li, L., Lu, J., Kwok, L., Menghe, B., ... Zhang, W. (2017). Characterization of antibiotic resistance genes from *Lactobacillus* isolated from traditional dairy products. *Journal of Food Science*, 82(3), 724-730. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13645>
- Gupta, R., Jeevaratnam, K. and Fatima, A. (2018). Lactic acid bacteria: Probiotic Characteristic, selection criteria, and its role in human health (A review). *International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 5(10), 411-424.
- Gurira, O. Z. and Buys, E. M. (2005). Characterization and antimicrobial activity of *Pediococcus* species isolated from South African farm-style cheese. *Food Microbiology*, 22(2-3), 159-168. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.08.001>
- Gürses, M. and Erdoğan, A. (2006). Identification of lactic acid bacteria isolated from tulum cheese during ripening period. *International Journal of Food Properties*, 9(3), 551-557. <https://doi.org/10.1080/10942910600596126>
- György, É. and Laslo, É. (2021). Microbial diversity of traditionally processed cheese from northeastern region of Transylvania (Romania). M. Laranjo (Der.), *Fermentation—processes, benefits and risks* içinde (ss. 1-23). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.97591>
- Harrigan, W. F. (1998). *Laboratory methods in food microbiology* (3rd. ed.). San Diego: Academic Press.
- Hayaloğlu, A. A., Güven, M. and Fox, P. F. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. *International Dairy Journal*, 12(8), 635-648. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00055-9](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00055-9)
- Hegstad, K., Mikalsen, T., Coque, T. M., Werner, G. and Sundsfjord, A. (2010). Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 16(6), 541-554. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03226.x>
- Heredia-Castro, P. Y., Méndez-Romero, J. I., Hernández-Mendoza, A., Acedo-Félix, E., González-Córdova, A. F. and Vallejo-Cordoba, B. (2015). Antimicrobial activity and partial characterization of

bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus spp.* isolated from artisanal Mexican cheese. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8285-8293. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10104>

Hernando-Amado, S., Coque, T. M., Baquero, F. and Martínez, J. L. (2019). Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nature Microbiology*, 4(9), 1432-1442. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0503-9>

Hofvendahl, K. and Hahn-Hägerdal, B. (2000). Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(2-4), 87-107. [https://doi.org/10.1016/s0141-0229\(99\)00155-6](https://doi.org/10.1016/s0141-0229(99)00155-6)

Høier, E., Janzen, T., Rattray, F., Sørensen, K., Børsting, M. W., Brockmann, E. and Johansen, E. (2010). The production, application and action of lactic cheese starter cultures. B. A. Law and A. Y. Tamime (Der.). *Technology of Cheesemaking* içinde (ss. 166-192). Chichester, West Sussex: Wiley Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781444323740.ch5>

Holland, R. D., Wilkes, J. G., Rafii, F., Sutherland, J. B., Persons, C. C., Voorhees, K. J. and Lay, J. O. (1996). Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: RCM*, 10(10), 1227-1232. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19960731\)10:10<1227::AID-RCM659>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19960731)10:10<1227::AID-RCM659>3.0.CO;2-6)

Holzappel, W. H., Franz, C. M. A. P., Ludwig, W., Back, W. and Dicks, L. M. T. (2006). The genera *Pediococcus* and *Tetragenococcus*. M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer and E. Stackebrandt (Der.), *The prokaryotes: Volume 4: Bacteria: firmicutes, cyanobacteria &* (ss. 229-266). New York: Springer https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_8

Hudson, A., Wong, T. and Lake, R. (2003). Pasteurisation of dairy products: Times, temperatures and evidence for control of pathogens. New Zealand Food Safety Authority. 13. 12. 2021 tarihinde <https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/25877-Pasteurisation-of-dairy-products-Times-temperatures-and-evidence-for-control-of-pathogens> adresinden erişildi.

International Dairy Federation. (1993). *Milk determination of nitrogen content*. (IDF: 20B). Brussels: International Dairy Federation

International Dairy Federation. (2017). *The importance of salt in the manufacturing and ripening of cheese* (IDF Fact Sheet 001/2017/03). 06 Şubat 2022 tarihinde https://www.fil-idf.org/wp-content/uploads/2017/03/Factsheet-001_2017-The-importance-of-salt-in-the-manufacturing-and-ripening-of-cheese.pdf adresinden erişildi.

International Dairy Federation. (2019). *Türk Sütçülük Sektörü*. 19 Mart 2019 tarihinde <https://idfws2019.com/tr/turk-sutculuk-sektoru> adresinden erişildi.

Irlinger, F., Layec, S., Hélinck, S. and Dugat-Bony, E. (2015). Cheese rind microbial communities: Diversity, composition and origin. *FEMS Microbiology Letters*, 362(2), 1-11. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnu015>

İşleyici, Ö. ve Akyüz, N. (2009). Van ilinde satışa sunulan otlu peynirlerde mikrofloranın ve laktik asit bakterilerinin belirlenmesi. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2), 59-64.

Jans, C., Lacroix, C. and Meile, L. (2012). A novel multiplex PCR/RFLP assay for the identification of *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex members from dairy microbial communities based on the 16S rRNA gene. *FEMS Microbiology Letters*, 326(2), 144-150. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02443.x>

Jurkovic, D., Krizková, L., Dusinský, R., Belicová, A., Sojka, M., Krajcovic, J. and Ebringer, L. (2006). Identification and characterization of enterococci from bryndza cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 42(6), 553-559. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01918.x>

Kafaoğlu, Z. (2017). Sunuş. B. Bal Onur ve N. Aksoy Biber (Der.), *50 peynirli şehir Balıkesir* içinde (ss. 8) Balıkesir: Balıkesir Büyükşehir Belediyesi Kırsal Hizmetler Daire Başkanlığı Yayınları.

Kalantzopoulos, G. (1997). Fermented products with probiotic qualities. *Anaerobe*, 3(2-3), 185-190. <https://doi.org/10.1006/anae.1997.0099>

Kamber, U. (2008). The traditional cheeses of Turkey: Cheeses common to all regions. *Food Reviews International*, 24(1), 1-38. <https://doi.org/10.1080/87559120701761833>

Kamber, U. (2015). Traditional Turkey cheeses and their classification. *Van Veterinary Journal*, 26(3), 161-171.

Kamber, U. and Çelik, T.H. (2007). Some microbiological and chemical characteristics of Gorcola cheese. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(1), 87-92.

Kara, R. ve Akkaya, L. (2015). Afyon tulum peynirinin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal özellikleri ile laktik asit bakteri dağılımlarının belirlenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 15(1), 1-6.

Karabey, B., Eroglu, D., Vural, C., Ozdemir, G., Yerlikaya, O. and Kinik, O. (2018). Determination of the microbial flora in traditional İzmir Tulum cheeses by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Journal of Food Science and Technology*, 55(3), 956-963. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-3003-z>

Kesenkaş, H. ve Akbulut, N. (2006). Mayaların peynir üretiminde destek starter kültür olarak kullanımı. *Ege Üniversitesi Ziraat Dergisi*, 43(2), 165-174.

Khemariya, P., Singh, S., Nath, G. and Gulati, A. K. (2017). Probiotic *Lactococcus lactis*: A review. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(6), 556-562. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i6.556-562.690>

Khorshidian, N., Khanniri, E., Mohammadi, M., Mortazavian, A. M. and Yousefi, M. (2021). Antibacterial activity of pediocin and pediocin-producing bacteria against *Listeria monocytogenes* in meat products. *Frontiers in Microbiology*, 12, 709959. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.709959>

Kılıç Kanak, E. and Öztürk Yılmaz, S. (2018). Identification of lactic acid bacteria isolated from traditionally produced local cheese by MALDI-TOF MS and determination of antibiotic resistants. *Sakarya University Journal of Science*, 1055-1062. <https://doi.org/10.16984/saufenbilder.346212>

Kılıç, S. (2011). Peynir starter kültürleri. A. A. Hayaloğlu ve B. Özer. (Der.). *Peynir biliminin temelleri* içinde (ss. 121-172). İzmir: Sidas.

Kılıç, S. (2021). Peynir starter kültürleri. A. A. Hayaloğlu ve B. Özer. (Der.). *Peynir biliminin temelleri* (2. bs.) içinde (ss.151- 216). Ankara: Atlas Akademik Basım

Kırdar, S. S., Kuşun Yurdakul, O., Kalit, S. and Tudor Kalit, M. (2018). Microbiological changes throughout ripening of Keş cheese. *Journal of Central European Agriculture*, 19(1), 61-71. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/19.1.2024>

Kim, W. (2014). The genus *Lactococcus*. W.H. Holzapfel and B.J.B Wood. (Der.), *Lactic acid bacteria, biodiversity and taxonomy* içinde (ss. 429-444). Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell.

Le, B. and Yang, S.-H. (2019). Identification of a Novel potential probiotic *Lactobacillus plantarum* FB003 isolated from salted-fermented shrimp and its effect on cholesterol absorption by regulation of NPC1L1 and PPAR α . *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(3), 785-793. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9469-9>

Lim, Y. H., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R. and Abdullah, N. (2019). Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0323-z>

- Liu, W., Pang, H., Zhang, H. and Cai, Y. (2014). Biodiversity of lactic acid bacteria. H. Zhang and Y. Cai (Der.), *Lactic Acid Bacteria* içinde (ss. 103-203). Netherlands: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-02>
- Lombardi, A., Gatti, M., Rizzotti, L., Torriani, S., Andrighetto, C. and Giraffa, G. (2004). Characterization of *Streptococcus macedonicus* strains isolated from artisanal Italian raw milk cheeses. *International Dairy Journal*, 14(11), 967-976. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.04.005>
- Lopez, C., Maillard, M.-B., Briard-Bion, V., Camier, B. and Hannon, J. A. (2006). Lipolysis during ripening of emmental cheese considering organization of fat and preferential localization of bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(16), 5855-5867. <https://doi.org/10.1021/jf060214l>
- Lorenzo, J. M., Muneke, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A. and Franco, D. (2018). Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability. F. J. Barba, A. S. Sant'Ana, V. Orlie, M. Koubaa (Der.) *Innovative Technologies for Food Preservation* İçinde (ss. 53-107). Elsevier Academic Press . <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811031-7.00003-0>
- Lubelski, J., Rink, R., Khusainov, R., Moll, G. N. and Kuipers, O. P. (2008). Biosynthesis, immunity, regulation, mode of action and engineering of the model lantibiotic nisin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(3), 455-476. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7171-2>
- Mamo, A. (2017). Cheddar cheese characterization and its biochemical change during ripening. *International Journal of Advanced Scientific Research and Management*, 2(5), 53-59.
- Mannu, L., Riu, G., Comunian, R., Fozzi, M. C. and Scintu, M. F. (2002). A preliminary study of lactic acid bacteria in whey starter culture and industrial Pecorino Sardo ewes' milk cheese: PCR-identification and evolution during ripening. *International Dairy Journal*, 12(1), 17-26. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00163-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00163-7)
- Marilley, L. and Casey, M. G. (2004). Flavours of cheese products: Metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*, 90(2), 139-159. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00304-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00304-0)
- Marino, M., Maifreni, M. and Rondinini, G. (2003). Microbiological characterization of artisanal Montasio cheese: Analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 229(1), 133-140. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00816-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00816-4)
- Martley, F. G. and Crow, V. L. (1993). Interactions between non-starter microorganisms during cheese manufacture and ripening. *International Dairy Journal*, 3(4-6), 461-483. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(93\)90027-W](https://doi.org/10.1016/0958-6946(93)90027-W)
- McAuley, C. M., Gobius, K. S., Britz, M. L. and Craven, H. M. (2012). Heat resistance of thermotolerant enterococci isolated from milk. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 162-168. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.033>
- McSweeney, P. L. H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 127-144. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00147.x>
- McSweeney, P. L. H. and Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80(3), 293-324. <https://doi.org/10.1051/lait:2000127>
- Medeiros, R. S., Araújo, L. M., Queiroga Neto, V., Andrade, P. P., Melo, M. A., & Gonçalves, M. M. B. P. (2016). Identification of lactic acid bacteria isolated from artisanal Coalho cheese produced in the Brazilian Northeast. *CyTA - Journal of Food*, 14(4), 613-620. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1185468>
- Mende, S., Rohm, H. and Jaros, D. (2016). Influence of exopolysaccharides on the structure, texture, stability and sensory properties of yoghurt and related products. *International Dairy Journal*, 52, 57-71. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.08.002>

Meslier, V., Loux, V. and Renault, P. (2012). Genome sequence of *Leuconostoc pseudomesenteroides* Strain 4882, isolated from a dairy starter culture. *Journal of Bacteriology*, 194(23), 6637-6637. <https://doi.org/10.1128/JB.01696-12>

Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S. ... Yadav, H. (2008). Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of Digestive Diseases*, 9(4), 190-198. <https://doi.org/10.1111/j.1751-2980.2008.00345.x>

Mokoena, M. P. (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review. *Molecules*, 22(8), 1255. <https://doi.org/10.3390/molecules22081255>

Montel, M.-C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N. and Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136-154. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>

Montville, T. J. and Chen, Y. (1998). Mechanistic action of pediocin and nisin: Recent progress and unresolved questions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50(5), 511-519. <https://doi.org/10.1007/s002530051328>

Moreira, R. V., Costa, M. P., Frasao, B. S., Sobral, V. S., Cabral, C. C., Rodrigues, B. L., ... Conte-Junior, C. A. (2020). Effect of ripening time on bacteriological and physicochemical goat milk cheese characteristics. *Food Science and Biotechnology*, 29(4), 459-467. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00682-w>

Morul F. and İşleyici, Ö. (2012). Chemical and microbiological properties of Divle tulum cheese. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(2), 71-76.

Muruzović, M. Ž., Mladenović, K. G., Žugić-Petrović, T. D. and Čomić, L. R. (2018). Characterization of lactic acid bacteria isolated from traditionally made Serbian Cheese and evaluation of their antagonistic potential against Enterobacteriaceae. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(4), e13577. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13577>

Nacef, M., Chevalier, M., Chollet, S., Drider, D. and Flahaut, C. (2016). MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of lactic acid bacteria isolated from a French cheese: The Maroilles. *International Journal of Food Microbiology*, 247, 2-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.005>

Navidghasemizad, S., Hesari, J., Saris, P. and Nahaei, M. R. (2009). Isolation of lactic acid bacteria from Lighvan cheese, a semihard cheese made from raw sheep milk in Iran. *International Journal of Dairy Technology*, 62(2), 260-264. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00462.x>

Nespolo, C. R. and Brandelli, A. (2010). Production of bacteriocin-like substances by lactic acid bacteria isolated from regional ovine cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), 1009-1018. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822010000400020>

OECD-FAO. (2020). *Dairy and dairy products*. OECDFAO Agricultural Outlook 2020-2029 içinde. Paris: OECD Publishing. <https://doi.org/10.1787/aa3fa6a0-en>

OECD-FAO. (2021). *OECD-FAO agricultural outlook 2021-2031*. 17 Ocak 2020 tarihinde, https://stats.oecd.org/Index.aspx?datasetcode=HIGH_AGLINK_2020# adresinden erişildi.

Okafor, N. (2011). *Environmental microbiology of aquatic and waste systems*. Dordrecht: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-1460-1>

Orşahin, H. (2012). *Quality characteristics and shelf-life of 'Armola' cheese*. (Unpublished Master Thesis). Graduate School of Engineering and Sciences, İzmir Institute of Technology, İzmir.

- Østlie, H. M., Eliassen, L., Florvaag, A. and Skeie, S. (2005). Phenotypic and PCR-based characterization of the microflora in Präst cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 15(6), 911-920. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.020>
- Öner, Z., Gül Karahan, A. and Aloğlu, H. (2006). Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *LWT - Food Science and Technology*, 39(5), 449-454. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.03.015>
- Öner, Z., Sağdıç, O. and Şimşek, B. (2004). Lactic acid bacteria profiles and tyramine and tryptamine contents of Turkish tulum cheeses. *European Food Research and Technology*, 219(5), 455-459. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-0962-x>
- Pacini, F., Cariolato, D., Andrighetto, C. and Lombardi, A. (2006). Occurrence of *Streptococcus macedonicus* in Italian cheeses. *FEMS Microbiology Letters*, 261(1), 69-73. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00330.x>
- Papagianni, M. and Anastasiadou, S. (2009). Pediocins: The bacteriocins of Pediococci. sources, production, properties and applications. *Microbial Cell Factories*, 8(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-3>
- Peláez, C. and Requena, T. (2005). Exploiting the potential of bacteria in the cheese ecosystem. *International Dairy Journal*, 15(6), 831-844. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.12.001>
- Partovi, R., Gandomi, H., Akhondzadeh Basti, A., Noori, N., Nikbakht Borujeni, G. and Kargozari, M. (2015). Microbiological and chemical properties of Siahmazgi cheese, an Iranian artisanal cheese: Isolation and identification of dominant lactic acid bacteria: Microbiological properties of Siahmazgi cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 871-880. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12298>
- Perez, R. H., Zendo, T. and Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): Various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 13(Suppl 1), S3. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S3>
- Pesavento, G., Calonico, C., Ducci, B., Magnanini, A. and Lo Nostro, A. (2014). Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat. *Food Microbiology*, 41, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.01.008>
- Pisano, M. B., Fadda, M. E., Melis, R., Ciusa, M. L., Viale, S., Deplano, M. and Cosentino, S. (2015). Molecular identification of bacteriocins produced by *Lactococcus lactis* dairy strains and their technological and genotypic characterization. *Food Control*, 51, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.005>
- Popović, N. T., Kazazić, S. P., Strunjak-Perović, I. and Čož-Rakovac, R. (2017). Differentiation of environmental aquatic bacterial isolates by MALDI-TOF MS. *Environmental Research*, 152, 7-16. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.09.020>
- Porto, M. C. W., Kuniyoshi, T. M., Azevedo, P. O. S., Vitolo, M. and Oliveira, R. P. S. (2017). *Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnology Advances*, 35(3), 361-374. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.03.004>
- Pringsulaka, O., Thongngam, N., Suwannasai, N., Atthakor, W., Pothivejkul, K. and Rangsiruji, A. (2012). Partial characterisation of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat and fish products. *Food Control*, 23(2), 547-551. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.08.029>
- Rantsiou, K., Urso, R., Dolci, P., Comi, G. and Cocolin, L. (2008). Microflora of Feta cheese from four Greek manufacturers. *International Journal of Food Microbiology*, 126(1-2), 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.031>

- Rebaza-Cardenas, T. D., Silva-Cajaleón, K., Sabater, C., Delgado, S., Montes-Villanueva, N. D. and Ruas-Madiedo, P. (2021). “Masato de Yuca” and “Chicha de Siete Semillas” two traditional vegetable fermented beverages from Peru as source for the isolation of potential probiotic bacteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09836-x>
- Renye, J. A., Somkuti, G. A., Van Hekken, D. L. and Guerrero Prieto, V. M. (2011). Short communication: Characterization of microflora in Mexican Chihuahua cheese. *Journal of Dairy Science*, 94(7), 3311-3315. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4177>
- Riboldi, G. P., Frazzon, J., d’Azevedo, P. A. and Frazzon, A. P. G. (2009). Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* spp isolated from food in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(1), 125-128. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000100021>
- Ruppitsch, W., Nisic, A., Hyden, P., Cabal, A., Sucher, J., Stöger, A., ... and Martinović, A. (2021). Genetic diversity of *Leuconostoc mesenteroides* isolates from traditional Montenegrin brine cheese. *Microorganisms*, 9(8), 1612. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081612>
- Rychert, J. (2019). Benefits and limitations of MALDI-TOF Mass Spectrometry for the identification of microorganisms. *Journal of Infection*, 2(4), 1-5. <https://doi.org/10.29245/2689-9981/2019/4.1142>
- Salas-Jara, M., Ilabaca, A., Vega, M. and García, A. (2016). Biofilm gorming *Lactobacillus*: New challenges for the development of probiotics. *Microorganisms*, 4(3), 35. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4030035>
- Samanta, I. and Bandyopadhyay, S. (2020). Chapter 17 – *Streptococcus*. *Antimicrobial resistance in agriculture. perspective, policy and mitigation* içinde (ss. 217-232). Academic Press.
- Sandine, W. E. and Elliker, P. R. (1970). Microbially induced flavors and fermented foods. Flavor in fermented dairy products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(4), 557-562. <https://doi.org/10.1021/jf60170a023>
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G. and Tsakalidou, E. (2001). Citrate metabolism by *Enterococcus faecalis* FAIR-E 229. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(12), 5482-5487. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.12.5482-5487.2001>
- Savijoki, K., Ingmer, H. and Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(4), 394-406. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0427-1>
- Schrezenmeir, J. and de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics—Approaching a definition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2 Suppl), 361-364. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.361s>
- Settanni, L. and Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27(6), 691-697. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.023>
- Settanni, L., Di Grigoli, A., Tornambé, G., Bellina, V., Francesca, N., Moschetti, G. and Bonanno, A. (2012). Persistence of wild *Streptococcus thermophilus* strains on wooden vat and during the manufacture of a traditional Caciocavallo type cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 155(1-2), 73-81. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.022>
- Shahbandeh, M. (2021, Ocak 19). Leading countries in cheese production 2020. 30 Aralık 2021 tarihinde <https://www.statista.com/statistics/195809/cheese-production-in-selected-countries-2009/> adresinden erişildi.
- Shin, S.-Y. and Han, N. S. (2015). *Leuconostoc* spp. as starters and their beneficial roles in fermented foods. M.-T. Liang (Der.), *Beneficial Microorganisms in Food and Nutraceuticals* içinde, Microbiology Monographs (C. 27, ss. 111-132). Cham: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23177-8_5

Singla, V., Mandal, S., Anand, S. and Sharma, Y. (2018a). Sugar fermentation profile of *Pediococcus* strains from diverse sources. *Indian Journal of Dairy Science*, 71(3), 317-319.

Singla, V., Mandal, S., Sharma, P., Anand, S. and Tomar, S. K. (2018b). Antibiotic susceptibility profile of *Pediococcus* spp. From diverse sources. *3 Biotech*, 8(12), 489. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1514-6>

Sirichoat, A., Flórez, A. B., Vázquez, L., Buppasiri, P., Panya, M., Lulitanond, V. and Mayo, B. (2020). Antibiotic susceptibility profiles of lactic acid bacteria from the human vagina and genetic basis of acquired resistances. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7), 2594. <https://doi.org/10.3390/ijms21072594>

Smit, G., Smit, B. A. and Engels, W. J. M. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3), 591-610. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2005.04.002>

Sørhaug, T. and Stepaniak, L. (1997). Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 8(2), 35-41. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(97\)01006-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01006-6)

Sousa, M. J., Ardö, Y. and McSweeney, P. L. H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 327-345. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00062-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00062-0)

Sridhar, V. R., Hughes, J. E., Welker, D. L., Broadbent, J. R. and Steele, J. L. (2005). Identification of endopeptidase genes from the genomic sequence of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32 and the role of these genes in hydrolysis of model bitter peptides. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6), 3025-3032. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3025-3032.2005>

Swearingen, P. A., O'Sullivan, D. J. and Warthesen, J. J. (2001). Isolation, characterization and influence of native, nonstarter lactic acid bacteria on Cheddar cheese quality. *Journal of Dairy Science*, 84(1), 50-59. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74451-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74451-7)

Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Müdürlüğü. (2021). *Süt ve süt ürünleri durum ve tahmin raporu 2021*. 03. 01. 2022 tarihinde <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Durum-Tahmin%20Raporlar%C4%B1/2021%20Durum-Tahmin%20Raporlar%C4%B1/C3%BCt%20ve%20S%C3%BCt%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Durum%20Tahmin%20Raporu%2021-331%20TEPGE.pdf> adresinden erişildi.

Tayar, M. (1995). Beyaz peynirlerin olgunlaşması süresince kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerindeki değişimler. *Gıda*, 20(2), 97-101.

Teixeira, C. G., da Silva, R. R., Fusieger, A., Martins, E., de Freitas, R. and de Carvalho, A. F. (2021). The *Weissella* genus in the food industry: A review. *Research, Society and Development*, 10(5), e8310514557. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14557>

Tekinşen, K. K. ve Uçar, G. (2006). Konya yöresinde üretilen mahalli tulum peynirleri. *Akademik Gıda*, 4(6), 33-37.

Tekinşen, O. C. (2005). *Süt ürünleri teknolojisi* (3. Baskı). Konya: Selçuk Üniversitesi Basım Evi.

Tekinşen, O. C. ve Tekinşen, K. K. (2005). *Süt ve süt ürünleri: Temel bilgiler, teknoloji, kalite kontrolü*. Konya: Selçuk Üniversitesi Basım Evi.

Terzaghi, B. E. and Sandine, W. E. (1975). Improved medium for lactic Streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology*, 29(6), 807-813.

Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., ... Golić, N. (2020). Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan

Countries-Technological and probiotic properties. *Food Research International*, 136, 109494. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109494>

Terzic-Vidojevic, A., Vukasinovic, M., Veljovic, K., Ostojic, M. and Topisirovic, L. (2007). Characterization of microflora in homemade semi-hard white Zlata cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1), 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.038>

Thunell, R. K. (1995). Taxonomy of the Leuconostocs. *Journal of Dairy Science*, 78(11), 2514-2522. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76881-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76881-3)

Tomar, O., Akarca, G., Beykaya, M. ve Çağlar, A. (2018). Some characteristics of Erzincan Tulum cheese produced using different probiotic cultures and packaging material. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(5), 647-654. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.19596>

Topçu, A. and Saldamli, I. (2006). Proteolytical, chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Turkish white cheese made of pasteurized cows' milk. *International Journal of Food Properties*, 9(4), 665-678. <https://doi.org/10.1080/10942910500542238>

Tosun, İ. (2009). *Beyaz peynirin uçucu flavor bileşikleri üzerine, starter kültür ve olgunlaştırmanın etkisi*. (Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Fen Bilimleri Enstitüsü, Uludağ Üniversitesi, Bursa.

TS 591/T3 (2019). *Beyaz peynir*. Türk Standartları Enstitüsü.

TS EN ISO 4833-1. (2014). *Gıda zinciri mikrobiyolojisi - Mikroorganizmaların sayımı için yatay yöntem - Bölüm 1: Dökme plak tekniğiyle 30°C'ta koloni sayımı*. Türk Standartları Enstitüsü.

TS EN ISO 5534/T1. (2008). *Peynir ve işlenmiş peynir- Toplam kuru madde içeriği tayini (referans yöntem)*. Türk Standartları Enstitüsü.

TS EN ISO 5943. (2007). *Peynir ve eritme peynir ürünleri- Klorür miktarı tayini- Potansiyometrik titrasyon metodu*. Türk Standartları Enstitüsü.

TS EN ISO 8968-1. (2014). *Süt ve süt ürünleri-Azot içeriği tayini-Bölüm 1: Kjeldahl prensibi ve ham protein hesaplanması*. Türk Standartları Enstitüsü.

TS ISO 21527-2. (2014). *Gıda zinciri mikrobiyolojisi - Mikroorganizmaların sayımı için yatay yöntem - Bölüm 2: Su aktivitesi 0,95'e eşit veya daha düşük olan ürünlerde koloni sayım tekniği*. Türk Standartları Enstitüsü.

TS ISO 3433. (2015). *Peynir- Yağ muhtevası tayini - Van Gulik yöntemi*. Türk Standartları Enstitüsü.

Turhan, İ. and Öner, Z. (2014). Determination of starter culture properties of lactic acid bacteria isolated from cheese. *Gıda*, 39(1), 9-15.

Türk Gıda Kodeksi. (2015). *Peynir Tebliği*. 10 Şubat 2019 tarihinde <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/02/20150208-16.htm> adresinden erişildi.

Türk Patent ve Marka Kurumu. (2020). *Manyas kelle peyniri*. 30.01.2022 tarihinde <https://ci.turkpatent.gov.tr/cografi-isaretler/detay/926> adresinden erişildi.

Türkiye İstatistik Kurumu. (2020a) *Süt ürünleri istatistikleri*. 17 Ocak 2020 tarihinde, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=85&locale=tr> adresinden erişildi.

Türkiye İstatistik Kurumu. (2020b) *Hayvansal üretim istatistikleri*. 17 Ocak 2020 tarihinde, <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/DownloadIstatistikselTablo?p=9NcKtulyVtMkPwDPTpCuRfHlG65N/4bS55WXnTtvysxSsPtCzofxirAKE8TiHkbZ> adresinden erişildi.

Twomey, D., Ross, R. P., Ryan, M., Meaney, B. and Hill, C. (2002). Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: Structure, function and applications. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 82(1-4), 165-185.

- Tzora, A., Nelli, A., Voidarou, C., Fthenakis, G., Rozos, G., Theodorides, G., ... Skoufos, I. (2021). Microbiota “Fingerprint” of Greek feta cheese through ripening. *Applied Sciences*, 11(12), 5631. <https://doi.org/10.3390/app11125631>
- Urbonaviciene, D., Viskelis, P., Bartkiene, E., Juodeikiene, G. and Vidmantiene, D. (2015). The use of lactic acid bacteria in the fermentation of fruits and vegetables—Technological and functional properties. D. Ekinici (Der.), *Biotechnology içinde*. InTech. <https://doi.org/10.5772/59938>
- van Mastrigt, O., Abee, T. and Smid, E. J. (2017). Complete genome sequences of *Lactococcus lactis* subsp. Lactis bv. Diacetylactis FM03 and *Leuconostoc mesenteroides* FM06 isolated from cheese. *Genome Announcements*, 5(28), e00633-17. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00633-17>
- Vemuri, P. K., Velampati, R. H. P. and Tipparaju, S. L. (2014). Probiotics: A novel approach in improving the values of human life. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(1),41-43.
- Verluyten, J., Messens, W. and De Vuyst, L. (2004). Sodium chloride reduces production of curvacin a, a bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus* strain LTH 1174, originating from fermented sausage. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4), 2271-2278. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2271-2278.2004>
- Vlahović, B., Popović-Vranješ, A. and Mugoša, I. (2014). International cheese market - Current state and perspective. *Economic Insights - Trends and Challenge, III(LXVI)*, 35-43.
- Voidarou, C., Antoniadou, M., Rozos, G., Tzora, A., Skoufos, I., Varzakas, T., ... Bezirtzoglou, E. (2020). Fermentative foods: Microbiology, biochemistry, potential human health benefits and public health issues. *Foods*, 10(1), 69. <https://doi.org/10.3390/foods10010069>
- Vos, D.P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W, Rainey, F.A., ... Whitman, W.B. (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. New York: Springer Dordrecht Heidelberg.
- Wakil, S.M. and Osamwonyi, U.O. (2012). Isolation and screening of antimicrobial producing lactic acid bacteria from fermentating millet gruel. *International Research Journal of Microbiology*, 3(2), 072-079.
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., ... Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 1-19. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Wels, M., Siezen, R., van Hijum, S., Kelly, W. J. and Bachmann, H. (2019). Comparative genome analysis of *Lactococcus lactis* indicates niche adaptation and resolves genotype/phenotype disparity. *Frontiers in Microbiology*, 10(4), 1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00004>
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., and Schubert, S. (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-Identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(3), 965-974. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3783-4>
- Williams, A. G. and Withers, S. E. (2010). Microbiological characterisation of artisanal farmhouse cheeses manufactured in Scotland. *International Journal of Dairy Technology*, 63(3), 356-369. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00596.x>
- Wouters, J. T. M., Ayad, E. H. E., Hugenholtz, J. and Smit, G. (2002). Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12(2-3), 91-109. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00151-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00151-0)
- Yaygın, H. (1988). Süt endüstrisinde konsantre dondurulmuş starter kültür kullanımı. *Gıda*, 13(2), 93-98.
- Zaunmüller, T., Eichert, M., Richter, H. and Uden, G. (2006). Variations in the energy metabolism of biotechnologically relevant heterofermentative lactic acid bacteria during growth on sugars and organic

acids. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72(3), 421-429. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0514-3>

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., ... Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

Zheng, X., Shi, X. and Wang, B. (2021). A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese. *Frontiers in Microbiology*, 12, 703284. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703284>

Zhou, H., Fang, J., Tian, Y. and Lu, X. Y. (2014). Mechanisms of nisin resistance in Gram-positive bacteria. *Annals of Microbiology*, 64(2), 413-420. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0679-9>

Zielińska, D. and Kolożyn-Krajewska, D. (2018). Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties: Review. *BioMed Research International*, 2018, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2018/5063185>



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Nisanur EKTİK
Eğitim	
Lise	Balıkesir Sırrı Yırcalı Anadolu Lisesi (2005-2009)
Lisans	Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2009-2013)
Yüksek Lisans	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (2013-2015)
Doktora	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı (2016-2022)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	İyi derecede



Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...



Balıkesir Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanlık Binası
Çalış Yerleşkesi/BALIKESİR



(0 266) 612 14 62
sagbilen@balikesir.edu.tr
<http://www.balikesir.edu.tr>

