



**ERZURUM KÜFLÜ CİVİL PEYNİRİ'NİN (GÖĞERMİŞ
PEYNİR) LAKTİK ASİT BAKTERİ MİKROBİYOTASI
İLE BAZI MİKROBİYOLOJİK VE FİZİKOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Neslihan ARSLAN

Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

2020

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**ERZURUM KÜFLÜ CİVİL PEYNİRİ’NİN (GÖĞERMİŞ PEYNİR) LAKTİK ASİT
BAKTERİ MİKROBİYOTASI İLE BAZI MİKROBİYOLOJİK VE
FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

(Determination of Lactic Acid Bacteria Microbiota and Some Microbiological and
Physicochemical Properties of Erzurum Moldy Civil Cheese (Göğermiş peynir))

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Neslihan ARSLAN

Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Erzurum
Temmuz, 2020

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Neslihan ARSLAN tarafından hazırlanan “Erzurum Küflü Civil Peyniri’nin (Göğermiş Peynir) laktik asit bakteri mikrobiyotası ile bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi” başlıklı çalışması 09/ 07/ 2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında, yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. İhsan BAKIRCI
Atatürk Üniversitesi
Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN
Atatürk Üniversitesi
Jüri Üyesi: Dr. Öğr. Üyesi Ayla ARSLANER
Bayburt Üniversitesi

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../.... tarih ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

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

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Bülent ÇETİN danışmanlığında sunulan “Erzurum Küflü Civil Peyniri’nin (Göğermiş Peynir) laktik asit bakteri mikrobiyotası ile bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	7	30
Kuramsal Temeller	14	30
Materyal ve Yöntem	13	35
Bulgular	6	20
Tartışma	11	20
Tezin Geneli	16	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5’den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Neslihan ARSLAN	Prof. Dr. Bülent ÇETİN
19.7.2020	19.7.2020
İmza:	İmza:

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın oluşması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi aşamasında her türlü bilgi ve birikiminden yararlandığım, yardım ve desteğini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bülent ÇETİN'e...

Laboratuvar çalışmalarım sırasında her türlü bilgi ve birikimlerinden faydalandığım Arş. Gör. Burcu BAZU ÇIRPICI, Arş. Gör. Hacer MERAL, Arş. Gör. Haktan AKTAŞ ve Dr. Öğr. Neslihan AYAĞ hocalarıma...

Hayatımın her alanında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme...

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Neslihan ARSLAN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERZURUM KÜFLÜ CİVİL PEYNİRİ'NİN (GÖĞERMİŞ PEYNİR) LAKTİK ASİT BAKTERİ MİKROBİYOTASI İLE BAZI MİKROBİYOLOJİK VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Neslihan ARSLAN

Danışman: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Amaç: Bu çalışmada yöresel bir ürünümüz olan Küflü Civil Peynir'in mikrobiyotasında yer alan Laktik asit bakterileri başta olmak üzere mikrobiyal çeşitliliği ortaya konulmaya çalışılmıştır. Böylece geleneksel ürünümüz olan Küflü Civil Peynir'in üretiminde kullanılabilecek muhtemel starter kültür türleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada 27 Küflü Civil Peynir örneği kullanılmış olup, mikrobiyolojik ve fizikokimyasal analizlere tabi tutulmuştur. Analizi gerçekleştirilen mikrobiyolojik parametrelerden TAMB, Laktik basil, Laktik kok, Enterokok, Maya, Küf, *S. aureus* ve Koliform grubu bakterilerin sayımı gerçekleştirilmiş ve ayrıca su aktivitesi, pH, tuz ve asitlik gibi fizikokimyasal özellikleri de incelenmiştir. Ürünün bakteriyel mikrobiyotasının belirlenmesi amacıyla izole edilen suşlar RAPD-PCR ile gruplandırılarak 16S rRNA işlemine göre tanımlanmıştır.

Bulgular: Peynir örneklerindeki TAMB, Laktik basil, Laktik kok, Enterokok, Maya, Küf, *S. aureus* ve Koliform grubu bakterilerin ortalama sayım sonuçları sırasıyla 7,3; 6,8; 6,9; 4,7; 5,8; 5,3; <2 ve <1 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Yapılan tuz, pH, asitlik ve su aktivitesi ortalama değerleri sırasıyla % 7,34; 5,25; % 0,48 ve 0,89 olduğu belirlenmiştir. Ayrıca izole edilen LAB türlerinin, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus lactis* ve *Enterococcus durans* olduğu, NLAB suşların ise *Psychrobacter* sp. ve *Staphylococcus equorum* 'a ait olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Yapılan çalışma ile ürünün genel mikrobiyal ve fizikokimyasal karakteristiğinin önceki çalışmalarla benzer olduğu teyit edilmiştir. Öte yandan Küflü Civil Peynir'in üretiminde rol alabilecek bakteri mikrobiyotası ilk olarak tespit edilmiş ve ürünün geliştirilmesine yönelik kullanılabilecek değerli bir kültür koleksiyonu oluşturulmuştur.

Anahtar Kelimeler: küflü civil peynir, mikrobiyota, laktik asit bakterileri

Temmuz 2020, 78 sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

DETERMINATION OF LACTIC ACID BACTERIA MICROBIOTA AND SOME MICROBIOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF ERZURUM MOLDY CIVIL CHEESE (GÖĞERMiŞ PEYNİR)

Neslihan ARSLAN

Supervisor: Prof. Dr. Bülent ÇETİN

Purpose: In this study, microbial diversity, especially Lactic acid bacteria in the microbiota of moldy civil cheese, which is a local product, is tried to be revealed. Thus, possible starter culture strains that can be used in the production of moldy civil cheese, which is our traditional product, are tried to be determined.

Method: In this study, 27 moldy civil cheese samples were used and subjected to microbiological and physicochemical analyzes. TAMB, Lactic bacilli, cocci Lactic acid bacteria, Enterococcus, Yeast, Mold, *S. aureus* and Coliform group bacteria were counted as microbiological parameters and their physicochemical properties such as water activity, pH, salt and acidity were also examined. The strains isolated from the product to determine the bacterial microbiota were grouped by RAPD-PCR and identified according to the 16S rRNA process.

Findings: The average count results of TAMB, Lactic bacilli, cocci Lactic acid bacteria, Enterococcus, Yeast, Mold, *S. aureus* and Coliform bacteria in cheese samples were 7,3; 6,8; 6,9; 4,7; 5,8; 5,3; <2 and <1 log cfu/g, respectively. The average values of salt, pH, acidity and water activity were 7,34%; 5,25; 0,48 % and 0,89 respectively. The isolated LAB species were identify as *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus lactis* and *Enterococcus durans*, and *Psychrobacter* sp. and *Staphylococcus equorum* were NLAB.

Results: The study results were confirmed by the previous studies in term of general microbiological and physicochemical characteristics of the product. On the other hand, bacterial microbiota, which can play a role in the production of moldy civil cheese, was firstly identified and a valuable culture collection that will be used for the development of the product was created.

Keywords: moldy civil cheese, microbiota, lactic acid bacteria

July 2020, 78 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	4
MATERYAL VE YÖNTEM	26
Materyal	26
Yöntem.....	28
Mikrobiyolojik analizler.....	28
Genetik analizler	32
Fizikokimyasal analizler	34
İstatistiksel analizler.....	35
ARAŞTIRMA BULGULARI	36
Genetik Bulgular	38
Fizikokimyasal Bulgular	45
TARTIŞMA.....	51
SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR.....	56
EKLER	62
EK-1. Çalışmada Tanısı Yapılan Türlerle Ait Kromotogram Görüntüleri	62
ÖZGEÇMİŞ.....	66

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

Kısaltmalar

ACNFP	: Advisory Committee on Novel Foods and Processes
BHI	: Brain Heart Infusion Broth
BPA	: Baird-Parker Agar
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EPS	: Ekzopolisakkarit
GRAS	: Generally Recognized As Safe
KAA	: Kanamycin Aesculin Azide Agar
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
MRS	: de Man, Rogosa, Sharpe
NLAB	: Laktik olmayan bakteriler
NCBI	: Nation Center for Biotechnology Information
PAS	: Peyniraltı Suyu
PCA	: Plate Count Agar
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	: Potato Dekstrose Agar
RAPD	: Rastgele Amplifiye Edilmiş Polimerik DNA
rDNA	: Ribozomal Deoksiribozomal Nükleik Asit
RNA	: Ribonükleik Asit
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SFTS	: Steril Fizyolojik Tuzlu Su
TAMB	: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri
TE	: Tris-EDTA
UV	: Ultraviole
VRB	: Violet Red Bile

Simgeler

°C	: Santigrat Derece
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
d	: Dakika
g	: Gram

kob	: Koloni Oluşturan Birim
log	: Logaritma
N	: Normalite
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
pH	: Asitlik Bazlık Birimi (Power of hydrogen)
s	: Saniye
V	: Volt
°SH	: Soxhlet Henkel
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
CO₂	: Karbondioksit
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
(+)	: Pozitif
(-)	: Negatif

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Erzurum Küflü Civil Peyniri'nin üretim aşamaları.....	8
Şekil 2. LAB üyelerinin filogenetik olarak gruplandırılması.....	10
Şekil 3. Bakterilerde 16s rRNA geni ve üzerindeki değişken bölgeler.....	16
Şekil 4. Çalışmada kullanılan Lorlu ve Lorsuz Küflü Civil Peynir'lerine ait görüntüler	27
Şekil 5. Tipik <i>S. aureus</i> kolonileri.....	30
Şekil 6. Çalışmada izole edilen bazı LAB'ların MRS besiyerinde gelişimi	31
Şekil 7. KAA üzerinde tipik <i>Enterococcus</i> spp.....	31
Şekil 8. Koagülasyon testi tüp sonuçlarının değerlendirilmesi	32
Şekil 9. İzolatlara ait farklı grupların agaroz jel parmak izleri	39
Şekil 10. Denemede izole edilen bazı bakterilere ait mikroskop görüntüleri	40
Şekil 11. Temsili suşların 16S- rRNA PCR işlemine ait bantlar	41
Şekil 12. İzolatlara ait dendrogram (filogenetik ağaç)	45

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Türkiye’de üretilen belli başlı yöresel peynirler ve üretim yerleri	2
Tablo 2. Küfle olgunlaştırılmış peynirlerin sınıflandırılması	4
Tablo 3. Erzurum Civil Peyniri’nin kimyasal özellikleri	6
Tablo 4. Erzurum Küflü Civil Peyniri (Göğermiş Peynir) yapımında kullanılan Lor Peyniri’nin özellikleri.....	7
Tablo 5. Erzurum Göğermiş Peyniri’nin kimyasal özellikleri.....	8
Tablo 6. Gıda sanayiinde kullanılan fonksiyonel starter kültürler veya yardımcı kültürler tipik örnekler ve sağladıkları avantajlar	12
Tablo 7. Deneme örneklerinin özellikleri, üretim tipi ve yöresi.....	26
Tablo 8. Küflü Civil Peynir örneklerinde yapılan mikrobiyolojik sayım sonuçları	36
Tablo 9. İzolatların genel özellikleri ve sayısal dağılımları.....	39
Tablo 10. Denemede kullanılan Göğermiş Peynir’lerin LAB mikrobiyotası	43
Tablo 11. Denemede kullanılan peynir örneklerinin bazı fizikokimyasal parametreleri.....	46
Tablo 12. Çalışmada incelenen analiz parametreleri arasındaki korelasyon	48

GİRİŞ

Çok eski zamanlardan beri insan beslenmesinde yer alan peynirin orjininin tam olarak aydınlatılamaması bu konuda farklı birçok görüşün ortaya çıkmasına neden olmuştur. Herodot, Hipokrat ve Straben ilk peynirin ekşitme yoluyla İskit Türkleri tarafından yapıldığını (MÖ 600-200); R.W. Menges ise, ilk peynirin bir Arap gezgininin koyun midesinden yapılmış tulum içinde taşınan sütün tesadüfen pıhtılaşması sonucu oluştuğunu ifade etmektedir (Ekinci 2016). Peynir ilk üretildiği tarihten itibaren eski dünya üzerine yayılmış ve yayıldığı bölgelerde hammadde, üretim, depolama koşulları ve ambalaj materyalindeki farklılıklarından dolayı binlerce çeşidi ortaya çıkmıştır. Ancak bunların oldukça kısıtlı sayıda olanları sosyokültürel ve ekonomik nedenlerden dolayı ticari önem kazanmıştır. Örneğin Ülkemizde yüzlerce peynir çeşidi belirlenmiş olmakla beraber piyasada hakim olan Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirleri dikkat çekmektedir.

Peynir ile ilgili yapılan ilk çalışmalarda genellikle hammadde, üretim, depolama koşulları ve farklı ambalaj materyallerinin ürün üzerindeki etkileri incelenirken son yıllarda kalitede etkili olabilecek katkı maddeleri ve spesifik mikrobiyal suşların kullanımı ile çeşitlilik ve özgünlüğün geliştirilmesine yönelik incelemelerin arttığı görülmektedir. Bu amaçla özellikle yöresel peynirler yeni üretim tekniği ve ürün çeşitliliği açısından önemli bir çalışma alanı oluşturmaktadır. Buna verilebilecek en iyi örneklerden birisi Rokfor Peyniri'dir. Rokfor Peyniri, Güney Fransa'nın Roquefort kasabasında üretilen, doğal mağaralarda olgunlaştırılan, içi küflü, kendine has tat ve kokuya sahip bir peynirdir. Başlangıçta yöresel olarak üretimi ve tüketimi gerçekleştirilen bu peynir üzerinde gerçekleştirilen araştırma ve incelemeler sonucunda dünya ekonomisinde katma değeri yüksek olan bir ürün olarak yer almıştır. Ülkemizde de yöresel üretimi gerçekleştirilen birçok peynir çeşidi bulunmakla beraber kendine has tekstür ve aromasıyla Erzurum Küflü Civil Peyniri dikkat çekmektedir. Dünyadaki benzer örneklerinde olduğu üzere Küflü Civil Peyniri hakkında yeterli kalite ve sayıda araştırmanın yapılması ile tüketici istekleri doğrultusunda standardizasyonunun sağlanması bu peynirin hem ekonomik değerini hem de piyasadaki pazar payını arttırabilecektir.

Sütün, özellikle rennin enzimi aktivitesi ve laktik asit fermentasyonu sonucu oluşan peynir (Jay 1996), hem bileşimi hem besin içeriği hem de aroması bakımından zengin olmasının yanı sıra dayanıklı olan süt ürünlerinden birisidir. Dünya çapında kendine has görünüş, bileşim, tat ve aromaya sahip 2000'den fazla peynir çeşidinin olduğu bilinmektedir (Hayaloğlu 2008; Çinicioğlu 2017). Türkiye'de ise ticari (Beyaz, Kaşar, Tulum) peynirlerin

yanı sıra çoğu zaman küçük işletmeler ya da mandıralarda üretilen yöresel peynirler olmak üzere 193 çeşit peynir olduğu bildirilmektedir. Yöresel peynirlerin üretimi daha çok ilkel şartlarda olup genellikle üretildiği yerde de tüketilmektedir (Özgören 2012; Ekinci 2016). Tablo 1’de Türkiye’de üretilen belli başlı mahalli (yöresel) peynirler ve başlıca üretim yöreleri verilmiştir.

Tablo 1. Türkiye’de üretilen belli başlı yöresel peynirler ve üretim yerleri (Ünsal 2016; Ekinci 2016; Anonim 2020)

Peynir çeşidi	Üretim yöresi
Abaza Peyniri	Sinop, Bursa
Adıyaman Kaynamış Peyniri	Adıyaman
Antakya Küflü Sürkü	Hatay
Antakya Sürkü	Hatay
Antakya Künefelik Peyniri	Hatay
Antep (Sıkma) Peyniri	Gaziantep
Bergama Tulum Peyniri	İzmir
Burdur Küflü Çökelek (Keş) Peyniri	Burdur
Carra (Testi) Peyniri	Hatay
Civil (tel, çeçil) Peyniri	Kars, Ağrı, Bayburt
Çamur Peyniri	Tire
Çayır Peyniri	İstanbul ve çevresi
Çimi Tulum Peyniri	Serik, Akseki, Manavgat
Çirek Peyniri	Hakkari
Çökelek Peyniri	Akdeniz ve Güney Doğu Anadolu
Çömlek Peyniri	Aksaray, Niğde, Nevşehir, Kırşehir
Dil Peyniri	İç Anadolu Bölgesi
Diyarbakır Örgü Peyniri	Diyarbakır
Dorak (Tomas, Serto) Peyniri	Bingöl, Tunceli, Elazığ
Erzurum Civil Peyniri	Erzurum
Erzurum Küflü Civil Peyniri (Göğermiş Peynir)	Erzurum
Erzincan Tulum Peyniri	Erzincan
Edirne Beyaz Peynir	Edirne
Ezine Peyniri	Çanakkale
Ezine İnek Peyniri	Çanakkale
Golot Peyniri	Trabzon, Rize
Gümüşhane Deleme Peyniri	Gümüşhane
Hanak Tel Peyniri	Ardahan
Hatay Kaynamış (Ezme-Sıkma) Peyniri	Hatay
Isparta Küflü Çömlek Peyniri	Isparta
İspir Kuru Peyniri	Erzurum
İspir Kurun Peyniri	Erzurum
İvriz Tulum Peyniri	Konya Ereğli
İzmir Tulum Peyniri	İzmir ve civarı
Kahramanmaraş Keçi Peyniri	Kahramanmaraş
Karaman Divle Obruğu Tulum Peyniri	Karaman
Kargı Tulum Peyniri	Çorum
Karın Kaymağı Peyniri	Gümüşhane, Bayburt ve Sarıkamış
Kars Kaşar Peyniri	Kars
Kazıklı Peyniri	Milas

Tablo 1. (devamı)

Kırklareli Beyaz Peyniri	Kırklareli
Kırklareli Eski Kaşar Peyniri	Kırklareli
Kirlihanım Peyniri	Ayvalık
Kopanisti Peyniri	Karaburun, Çeşme
Küflü (Yeşil) Peynir	Konya
Küp Peyniri	Sivas
Küpecik Peyniri	Çankırı
Lor Peyniri	Marmara ve Doğu Bölgesi
Malatya Kaynamış Peyniri	Malatya
Malkara Eski Kaşar Peyniri	Tekirdağ
Manyas Kelle Peyniri	Balıkesir
Maraş (parmak, sıkma) Peyniri	Kahramanmaraş
Mengen Peyniri	Bolu
Mersin Kaynamış Peyniri	Mersin ve civarı
Mihaliç (Kelle) Peyniri	Bursa, Balıkesir
Minzi Peyniri	Trabzon, Rize, Artvin
Otlı Peynir	Siirt, Kars, Diyarbakır
Örgü Peyniri	Mardin, Siirt, Şanlıurfa
Özatan Çömlek Peyniri	Kayseri
Pınarbaşı Uzunyayla Çerkes Peyniri	Kayseri
Sakarya Abhaz (Abaza) Peyniri	Sakarya
Selçuklu Tulum Peyniri	Konya
Sepet Peyniri	Karaburun, Foça, Ayvalık
Şafak Peyniri	Erzincan
Şavak Peyniri	Elazığ
Tepti Peyniri	Çanakkale
Urfa Peyniri	Şanlıurfa
Vakfikebir Külek Peynir	Trabzon
Van Otlı Peyniri	Van
Yozgat Çanak Peyniri	Yozgat

Sunulan bu çalışmada Erzurum Küflü Civil Peyniri'nin laktik mikrobiyotası araştırılmış olup literatürdeki önemli bir boşluk doldurulmaya çalışılmıştır. Bu çerçevede örneklerde TAMB, laktik basil ve koklar, enterokok, maya, küf, *S. aureus* ve koliform grubu bakterilerin sayımı gerçekleştirilmiştir. İlgili besiyerlerinden izole edilen LAB'ların 16S-rRNA tekniği ile tanıları yapılmıştır. Böylece ürünün standardizasyonunda kullanılabilecek ve üreticilere önerilebilecek muhtemel starter kültürler ortaya koyulmuştur. Ayrıca ürünün mikrobiyal gelişmesine etki eden pH, su aktivitesi, tuz ve asitlik değerleri de belirlenmiştir.

KURAMSAL TEMELLER

Dünyada ve Türkiye’de üretilen peynir çeşitlerinden birisi de küflü peynirlerdir. Farklı şekillerde üretim olanaklarına sahip olan küflü peynirlerin iç ve dış kısımlarında küflerin bulunması özgün görünmesini sağlarken, proteoliz ve lipoliz olaylarının diğer peynir çeşitlerine oranla daha fazla gerçekleşmesine sebebiyet vermektedirler. Ayrıca küflerin yüksek biyokimyasal aktivitelerinden dolayı oluşumuna neden olduğu bileşikler bu tip peynirlerin kendine has tat ve kokusunu oluşturmaktadır (Özgören 2012; Çinicioğlu 2017).

Küflü peynirler; peynirlerin kendiliğinden küflendirilmeye bırakılması veya peynire küf inoküle edilmesi sonucu kontrollü bir şekilde olgunlaştırılmasıyla elde edilmektedirler. Bu nedenle bu çeşit peynirler için “küfle olgunlaştırılmış (mould-ripened)” teriminin kullanılması daha uygun olmaktadır (Kırtıl 2018).

Küflü peynirler genel olarak iç kısmı küflendirilmiş peynirler ve yüzeyi küflendirilmiş peynirler olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadırlar (Galli *et al.* 2016). Bu tip peynirler Tablo 2’deki gibi sınıflandırılmaktadırlar.

Peynir üretiminde önemli bir yere sahip olan küflü peynirler (özellikle Roquefort-mavi damarlı) en çok Fransa ve İtalya gibi Avrupa ülkelerinde üretilip tüketilmektedir (Kırtıl 2018).

Tablo 2. Küfle olgunlaştırılmış peynirlerin sınıflandırılması (Kırtıl 2018)

İç Kısımları Küflendirilmiş Peynirler	Yüzeyi Küflendirilmiş Peynirler
▪ Mavi damarlı (yeşil) Roquefort, Danablu (Danish Blue), Gorgonzola, Cabrales, Stilton ▪ Norveç tipi Gamalost	▪ Yüzeyi beyaz küflü (yumuşak) Camembert, Brie ▪ Çamurumsu yüzey (yarı sert ve sert) Taleggio, Brick, Limburger, Saint-Nectaire, Tomme de Savoie, Cantal, Salers, Rodez

Türk Gıda Kodeksi; küflü peynirler için “Küf kültürleri ile olgunlaştırılan peynir” ifadesini kullanmakta olup, “kullanımına izin verilen küf kültürleri ile olgunlaştırılan, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren peynir” şeklinde tanımlama yapmaktadır (Anonim 2015). Ancak ülkemizde bu tip peynirler daha çok kontrolsüz şekilde küflendirilmeye bırakılmaktadır (Kırtıl 2018).

Ülkemizin daha çok iç ve doğu bölgelerinde birçok küflü peynir üretilmekte olup, halk tarafından sevilerek tüketilmekte dahası mavi-yeşil renkli küflerin sağlığa yararlı etkileri

olduğuna inanılmaktadır. Bu tip peynirler yarı sert bir yapıda olup genellikle dikdörtgen biçiminde ve 300-500 g ağırlığındadırlar (Hayaloglu and Kirbag 2007; Çinicioğlu 2017).

Küfle olgunlaştırılan bu peynirlerden Erzurum Küflü Civil Peyniri (Göğermiş Peynir), Karaman Divle Obruğu Tulum Peyniri ve Antakya Küflü Sürkü (Çökeleği) Coğrafi İşaret belgesi alıp tescillendirilmişlerdir (Anonim 2020). Ülkemizde üretilen küflü peynirler şunlardır (Özgören 2012; Çinicioğlu 2017; Kırtıl 2018).

- Antakya Küflü Sürkü (Çökeleği)
- Ardahan Küflü Peyniri
- Ayvalık Kirli Hanım Peyniri
- Burdur Küflü Çökelek (Keş)
- Dorak (Tomas, Serto) Peyniri
- Erzurum Küflü Civil Peyniri (Göğermiş Peynir)
- Isparta Küflü Çömlek Peyniri
- Karaman Divle Obruğu Tulum Peyniri
- Kayseri Çömlek Peyniri
- Konya Küflü (Yeşil) Peyniri
- Minzi Peyniri
- Yağlıdere Küflü Tulum Peyniri
- Yusufeli Küflü Köylü Peyniri

Erzurum ve çevresinde kahvaltı sofralarının vazgeçilmezi olan Küflü Civil Peynir, Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından 2010 yılında Coğrafi İşaret (Mahreç İşareti) almıştır. Yöre halkı tarafından sevilerek tüketilen Göğermiş Peynir; Erzurum Civil Peyniri'nin didilerek Lor Peyniri ile ya da sade Erzurum Civil Peyniri'nin plastik bidonlara basılması ve bidonun ters çevrilmesiyle suyunun uzaklaşması, daha sonra spontan olarak küflendirilmeye bırakılmasıyla elde edilmektedir (Anonim 2010).

Erzurum Küflü Civil Peynir düşük yağ içeriğinden dolayı yüksek kolesterol ve benzer hastalığı olanlar tarafından talep edilmektedir (Cakmakci *et al.* 2012). Aynı zamanda yağ içeriği düşük olan Lor ve Civil Peynir'den yapıldığı için bu peynirin protein, kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) bakımından zengin olduğu bilinmekte olup çocuk ve yaşlı beslenmesinde önem arz etmektedir (Cambaztepe 2006; Anonim 2010).

Erzurum Küflü Civil Peyniri'nin imal edilmesinde yararlanılan Civil Peynir 2009 yılında Coğrafi İşaret alan Erzurum Civil Peyniri olup Tablo 3'deki özelliklere sahip olması gerekmektedir (Anonim 2009). Kullanılacak olan Lor peyniri ise Tablo 4'deki özellikleri taşıması gerekmektedir.

Tablo 3. Erzurum Civil Peyniri'nin kimyasal özellikleri (Anonim 2009)

	En Az	En Çok
Kurumadde	38,06	40,35
Yağ (%)	0,15	0,30
Yağ (KM)	0,37	0,74
Kül	6,98	7,83
Tuz (%)	5,80	6,14
Tuz (KM)	14,37	17,18
Protein	28,87	32,20
Asitlik (°SH)	13,77	32,66
pH	5,46	6,32

Göğermiş Peynir'in ana bileşeni Civil Peynir olup, yağ oranının düşüklüğü nedeniyle diyet amaçlı kullanıma uygun olduğu için tercih edilmektedir. Besin değerinin yüksek olması ve yağsız sütün değerlendirilmesine olanak sağladığı için de ülke ekonomisine önemli katkıda bulunmaktadır (Cambaztepe 2006).

Civil Peynir daha çok küçük aile işletmeleri ya da yöre halkı tarafından mevsimlik olarak geleneksel metotlar kullanılarak üretilmektedir (Cambaztepe 2006). Fakat Erzurum Civil peyniri 2009 yılında Coğrafi İşaret olarak üretimi standart metotlara göre yapılmaktadır. Süt seperatörlerden geçirilerek yağı alındıktan sonra yağsız sütün asitliği, ya PAS ilavesi ya da bekletme sonucu 22 °SH derecesine getirilir. Yavaş yavaş ısıtılarak 30 °C'de 100 mL süte 4 mL rennet (sıvı şirden mayası) ilave edilerek mayalanması sağlanır. Isıtmaya devam edilirken 52-53 °C'de pıhtı oluşumu gözlenir ve 65-70 °C'ye kadar ısıtmaya devam edilir. Oluşan pıhtı parçaları tahta bir kepçe yardımıyla karıştırılarak bir araya gelmesi sağlanır. Oluşan pıhtıya yoğurma ve çekme işlemleri uygulanarak tel haline gelmesi sağlanır ya da pıhtı yoğurulup uzaması için askılara alınır ardından askıdan toplanarak tekrar askıya alınır ve bu işlem birkaç kez tekrar edilir. Bu işlem sayesinde peynir lifli (tel) bir yapı kazanır. Daha sonra temiz bir zemin üzerine aktararak suyunun uzaklaşması sağlanır. Tüm bu işlemlerin ardından oluşan peynir Erzurum Civil Peyniri olup taze olarak tüketilebildiği gibi salamura, kuru tuzlama, vakum ambalaj yapılarak veya Lor Peyniri ile birlikte basılarak olgunlaştıktan sonra da tüketilebilmektedir (Anonim 2010).

Lor peyniri, sütün peynire işlenmesi sonucu geriye kalan peyniraltı suyundan (PAS) elde edilmektedir (Üstün vd 2006). Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde üretimi gerçekleştirilen Lor Peyniri (Kamber 2008), içerisinde barındırdığı gıda bileşenleri ve

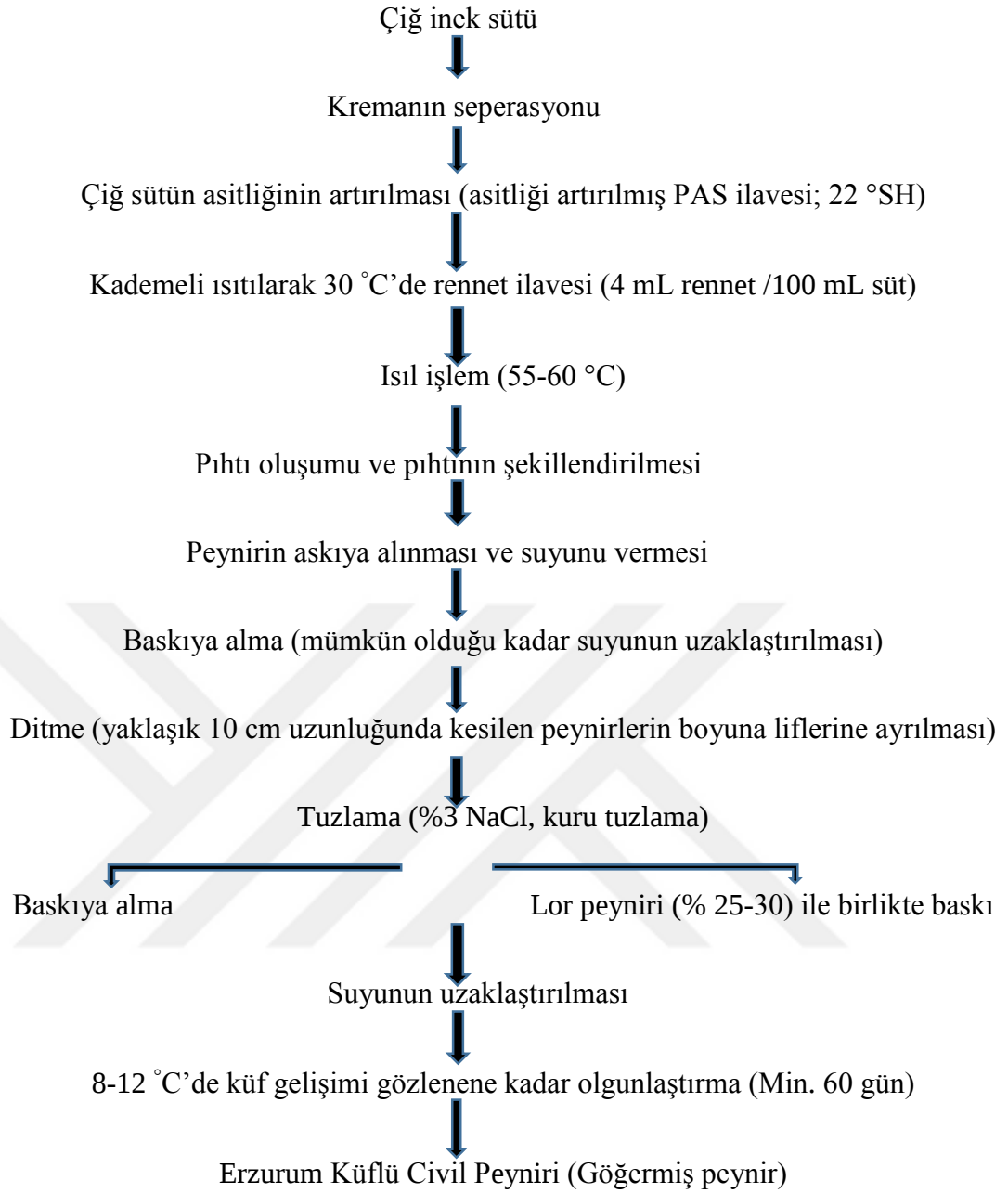
hayvansal kaynaklı protein nedeniyle biyolojik değeri yüksek olan peynir çeşitlerinden birisidir.

Tablo 4. Erzurum Küflü Civil Peyniri (Göğermiş Peynir) yapımında kullanılan Lor Peyniri'nin özellikleri (Anonim 2010)

	En Az	En Çok	Ortalama
Kurumadde (%)	25,73	39,75	32,27
Yağ (%)	1,0	5,5	2,6
Protein (%)	9,96	16,70	13,80
Kül (%)	1,4	5,76	3,86
Tuz (%)	1,06	5,68	3,48
Asitlik (°SH)	21,87	56,23	38,46
pH	4,28	5,57	4,71

Lor peyniri üretiminde ilk olarak PAS tanka alınır ve 50-55 °C'ye kadar ısıtılıp asitliği ayarlanır. Pişirme kazanına alınan PAS'ın sıcaklığı 82-85 °C'ye ulaşınca % 2-3 tuz ilavesi yapılır ve sürekli olarak yavaş yavaş karıştırılır. Bu arada serum proteinleri pıhtılaşarak beyaz tanecikler halinde yüzeyde toplanmaya başlar. Sıcaklık 90-95 °C'ye yükseltilerek 15 d bu sıcaklıkta beklenir. Oluşan pıhtı cendere bezi serilmiş olan süzme kapları ya da süzme torbalarına aktararak suyunun uzaklaşması sağlanır. Böylece Lor Peyniri'nin üretimi gerçekleştirilmiş olmaktadır (Anonim 2010).

Erzurum Küflü Civil Peyniri'nin üretimi Şekil 1'de görülmekte olup ya sade Erzurum Civil Peyniri'nin didilerek ya da %70-75 oranında Civil peyniri ve % 25-30 oranında Lor Peyniri'nin birlikte plastik bidonlara basılması ile gerçekleştirilebilmektedir. Daha sonra bidonun kapağı sıkıca kapatılarak delinir ya da bidonun ağzına cendere bezi konulup suyunun uzaklaştırılmasını sağlamak için ters çevrilir. Bidonlar 8-12 °C'de kendiliğinden küf gelişimi gözlenene kadar (minimum 60 gün) muhafaza edilerek olgunlaşması sağlanır. Olgunlaşması biten Küflü Civil Peynir'ler tüketilinceye kadar 4 °C'de muhafaza edilir. Tablo 5'de Göğermiş Peynir'in sahip olması gereken kimyasal özellikler verilmiştir (Anonim 2010).



Şekil 1. Erzurum Küflü Civil Peyniri’nin üretim aşamaları (Anonim 2010; Özaltın 2011; Gürkan 2013; Cakmakci *et al.* 2014)

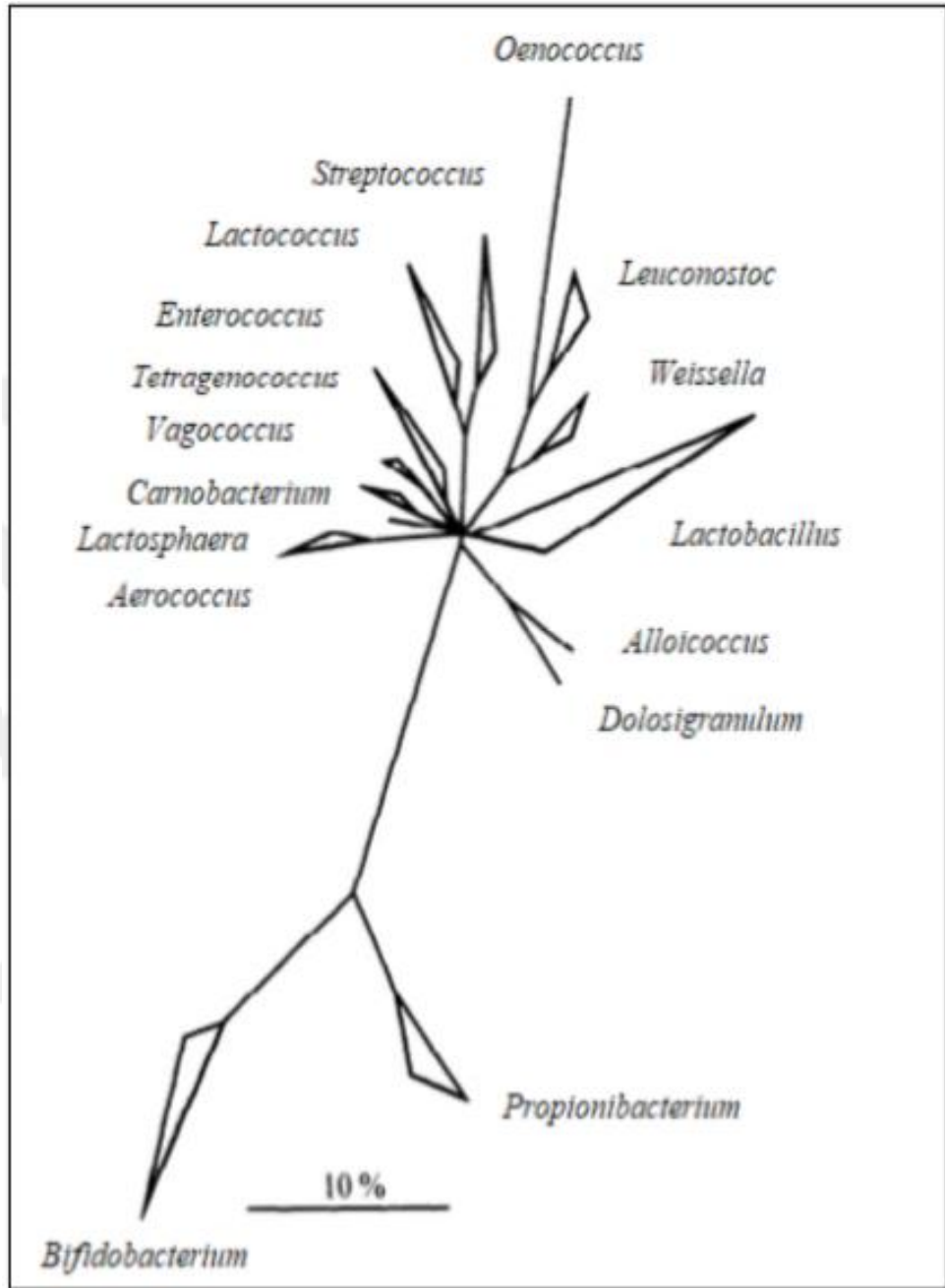
Tablo 5. Erzurum Göğermiş Peyniri’nin kimyasal özellikleri (Anonim 2010)

	En Az	En Çok
Kuru madde (%)	45,00	65,00
Yağ (%)	3,00	6,00
Protein (%)	23,00	35,00
Tuz (%)	3,00	5,00
Olgunluk derecesi (%)	10,00	30,00
Asitlik (% laktik asit)	0,55	1,70
pH	5,1	5,6

Laktik asit bakterileri; gram (+), spor oluşturmeyan, katalaz (-), aerotolerant, asit-tolerant, glukozdan önemli bir son ürün olarak laktik asit üreten, kok ve çubuk şeklindeki bakterilerdir. Doğada yaygın olarak bulunan ve gıda teknolojisinde çok önemli bir yere sahip olan LAB, bazı gıdaların üretimi ve olgunlaşmasında önemli rol oynamaktadırlar (Kanagawa *et al.* 2018). LAB, fermentasyon yoluyla yeni gıdaların üretimine olanak sağlarken fermente gıdalara da istenen yapı ve özellikleri kazandırmaktadırlar.

Çoğu gıdada doğal olarak bulunabildiği gibi starter kültür olarak da kullanılabilen LAB, gıda koruyucu olarak patojen ve saprofit mikroorganizmalara karşı antagonistik aktivite göstermektedirler. Fermente gıdaların tat ve aroma, yapı ve raf ömürlerine katkı sağlayan laktik asit bakterileri, fermentasyon boyunca hidrojen peroksit (H₂O₂), diasetil, asetaldehit, bakteriyosin ve D- izomer amino asit gibi antimikrobiyal bileşikler ve ekzopolisakkarit (EPS) gibi kıvam artırıcı bileşikler de üretirler. Bu bakterilerin koruyucu etkisi, pH'nın düşmesine başlıca neden olan organik asit üretilmelerinden kaynaklanmaktadır (Arık 2018; Özlü and Atasever 2019).

Büyük çoğunluğu gıdalarda kullanımı açısından güvenilir kabul edilen (generally recognized as safe (GRAS)) laktik asit bakterilerine ait birçok tür starter olarak kullanılmaktadır (Reuben *et al.* 2020). LAB'ın üyeleri genel olarak *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Tetragonococcus*, *Carnobacterium*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactosphaera*, *Melissococcus*, *Aerococcus* ve *Oenococcus* cinsleri olup filogenetik olarak gruplandırılması Şekil 2'deki gibidir (Arık 2018).



Şekil 2. LAB üyelerinin filogenetik olarak gruplandırılması (Stiles and Holzapfel 1997; Arık 2018)

LAB karbonhidratları kullanabilme şekillerine göre homo- ve hetero- fermentatif olmak üzere iki farklı gruba ayrılmaktadırlar. Karbonhidrat kaynaklarını fermentasyon sonucunda % 90 oranında laktik aside dönüştürebilenler homo-fermentatif LAB olarak adlandırılıp, *Pediococcus* ve *Lactococcus* cinsleri bu grubun tipik örnekleridir. Karbon kaynaklarının en fazla % 50'sini laktik aside dönüştürebilenler ise hetero-fermentatif LAB olarak gruplandırılıp, *Weissella* ve *Leuconostoc* cinsleri örnek olarak verilebilir. Bu tür bakteriler laktik asit dışında CO₂, formik ve asetik asit gibi bazı organik asitler ve etanol de üretirler (Carr *et al.* 2002; Ringo *et al.* 2018; Arık 2018).

LAB'ların gıda sanayii açısında en önemli özelliklerinden birisi de probiyotik özellikteki mikroorganizmaların bu gruptan olmasıdır. Yeterli miktarda alındıklarında konakçısı üzerinde olumlu etkilere sahip tek ya da karışık kültürden oluşan canlı mikroorganizmalar 'probiyotik' olarak adlandırılmaktadır. Kandaki kolesterol seviyesini düşürme, antioksidan vb. bileşiklerin seviyelerini artırma, kolon kanserini önleme ve bağırsak mikrobiyotası ile olumlu etkileşimi probiyotik mikroorganizmaların sağladıkları avantajlardan bazılarıdır. LAB'lardan *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Streptococcus* cinsleri probiyotik olarak en yaygın bilinen bakterilerden olup, ayrıca süt ve ürünlerinde bol miktarlarda bulunan *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* ve *Enterococcus durans* gibi alt türlerin probiyotik özellikte olduğu keşfedilmiştir (Priyodip *et al.* 2017; Aktaş 2018).

Geleneksel ürünlerin güvenliğini ve kalitesini artırmak için starter kültürleri genel bir bilimsel ve endüstriyel ilgi vardır. LAB, yoğurt ve peynir gibi süt ürünlerinde ve turşu ve alkolik içecekler gibi çeşitli fermente gıdalarda starter kültür olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Kanagawa *et al.* 2018). Laktik asit bakterileri fermentasyon ile amino asitler üretir, folat gibi B-grubu vitaminlerin mevcudiyetini artırır, antihipertansif etkiye sahip biyoaktif peptit oluşturur ve fitik asit gibi antinutrisyonel bileşikleri parçalayarak demir, çinko ve kalsiyum emilimini dolaylı olarak artırmaktadırlar (Garbowska *et al.* 2019; Väkeväinen *et al.* 2020).

Starter kültür, fermentasyon sürecini hızlandırarak ve yönlendirerek fermente bir gıda elde etmek için hammaddeye eklenebilecek en az bir mikroorganizmanın çok sayıda hücresinin mikrobiyal preparatı olarak tanımlanmaktadır. Fermentasyon işleminde merkezi bir role sahip olan LAB, temel olarak laktik asit gibi organik asit üretimi yoluyla hammaddede hızlı asitliğe yol açarlar. Ayrıca oluşturdıkları aroma bileşikleri, bakteriyosin, ekzopolisakkarit ve çeşitli enzimler aracılığıyla son ürünün, raf ömrünü ve mikrobiyal güvenliğini artırır, yapısını iyileştirir, duyu özelliklerine de katkı sağlarlar. En sık rastlanılan starter kültürler genellikle *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* ve *Enterococcus* cinsi bakterilerdir. Tablo 6'da gıda sanayiinde kullanılan fonksiyonel starter laktik kültürler ve sağladıkları avantajlar verilmiştir (Beresford *et al.* 2001; Leroy and Vuyst 2004; Ashaolu 2019).

Tablo 6. Gıda sanayiinde kullanılan fonksiyonel starter kültürler veya yardımcı kültürlere tipik örnekler ve sağladıkları avantajlar (Leroy and Vuyst 2004)

Avantaj	İşlevsellik	Laktik Asit Bakterileri
Gıda koruma	Süt ürünlerinde bakteriyosin üretimi	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Enterococcus</i> spp.
		<i>Lb. curvatus</i>
	Fermente et ürünlerinde bakteriyosin üretimi	<i>Lb. sakei</i> <i>P. acidilactici</i> <i>E. faecium</i>
	Fermente zeytinde bakteriyosin üretimi	<i>L. plantarum</i>
	Fermente sebzelerde bakteriyosin üretimi	<i>L. lactis</i>
Organoleptik	Ekzopolisakkarit üretimi	<i>Lactobacillus</i> spp. ve <i>Streptococcus</i> spp.
	Amilaz üretimi	Çeşitli <i>Lactobacillus</i> spp.
	Aroma üretimi	Çeşitli suşlar
	Homoalanini fermente ederek tatlılığın gelişimini sağlayan starter	<i>L. lactis</i>
	Malolaktik fermantasyonu sağlayan starter	<i>O. oeni</i>
Teknolojik	Bakteriyofaj direnci	Çeşitli suşlar
	Yoğurtta aşırı asitliği önleme	Laktoz negatif <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
	Otoliz (fajlarla)	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
	Otoliz (Bakteriyosinlerle)	<i>L. lactis</i>
Besinsel	Düşük kalorili şeker (sorbitol, mannitol gibi) üretimi	<i>Lb. plantarum</i> <i>L. lactis</i>
	Oligosakkarit üretimi	<i>L. lactis</i>
	Folik asit gibi B grubu vitaminlerinin üretimi	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>L. lactis</i> , <i>S. thermophilus</i>
	Biyoaktif peptidlerin oluşumu	Çeşitli suşlar
	L(+)-laktik asit izomerini üretme	L(+)-laktik asit üreten suşlar
	Laktoz ve galaktozu parçalama	<i>S. thermophilus</i>
	Rafinozu parçalama	Çeşitli suşlar
	Fitik asit içeriğini azaltma	<i>Lb. plantarum</i>
	Polifenolik bileşikler	<i>Lb. acidophilus</i>
	Biyojen amin üretimini azaltma	<i>E. faecalis</i>

E. = *Enterococcus*, *L.* = *Lactococcus*, *Lb.* = *Lactobacillus*, *O.* = *Oenococcus*, *P.* = *Pediococcus*, *S.* = *Streptococcus*.

Peynirin olgunlaşması sırasında, peynirde bulunan LAB'ın proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin yanı sıra sütün yapısında bulunan enzimlerin yardımıyla çeşitli aromatik bileşikler üretilmektedir. Starter ve starter olmayan LAB (NSLAB), çeşitli aromatik bileşiklerinin üretimini gerçekleştirdikleri ve yüksek biyosentetik kapasiteye sahip olduklarından tat oluşumunda önemli bir yere sahiptirler. İlave kültür olarak NSLAB peynirde; serbest amino asit, peptidler ve serbest yağ asitlerini üreterek keskin bir tada yol açmakta ve olgunlaşma sürecini de hızlandırmaktadırlar. *Lactobacillus* ve *Lactococcus* suşları hem peynirin olgunlaşma sürecini kısaltırlar hem de organoleptik özelliklerini geliştirirler (Leroy and Vuyst 2004; Khattab *et al.* 2019).

Lactococcus lactis subsp. *cremoris* belirli peptidazları fazla üreterek peynirin duysal kalitesine katkıda bulunurken (Leroy and Vuyst 2004); *L. lactis* ssp. *cremoris* ve *L. lactis* ssp. *lactis* tat oluşumu için sitratı metabolize ederek diasetil, CO₂, 2-bütanon ve 2,3-bütanediol gibi aromatik bileşikler oluşturmaktadırlar (Hassan and Frank 2001; Khattab *et al.* 2019). *Lb. casei*/*Lb. paracasei*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* ve *Lb. curvatus*, peynirde karşılaşılan *Lactobacillus* cinsi bakterilerden iken *Pediococcus acidilactici* ve *P. pentosaceus* ise en fazla bulunan *Pediococcus* cinsi bakterilerdendir. Olgunlaştırılan peynirlerde *Lb. plantarum*, *Lb. paracasei*, *Lb. brevis* ve *Lb. fermentum* izole edilen *Lactobacillus* cinsi bakterilerinden bazılarıdır (Beresford *et al.* 2001).

Lb. fermentum, çeşitli gıda fermantasyonlarında ve temel olarak fermente sebze endüstrisi ile yakından ilişkili olmasına rağmen bazı peynir türlerinde de sekonder flora olarak bulunmaktadır. *Lb. fermentum*, fermente süt ve farklı tip peynirlerin dokusal ve organoleptik özelliklerini geliştirmek için ortama salgılanabilen (slime EPS) veya hücre duvarına (kapsüller polisakkaritler veya CPS) bağlı kalabilen ekzoselüler polimerler veya ekzopolisakkaritler (EPS) üretebilir. Yüksek su tutma özellikleri nedeniyle bazı EPS'ler yoğurtlarda ve az yağlı süt ürünlerinde istenen özellikleri geliştirirler (Ale *et al.* 2020).

Farklı tip peynirlerde mevcut olan *Enterococcus* cinsi bakteriler oluşturdukları bakteriyosin (enterosin) ve diğer önemli bileşikler yoluyla fermente gıdaların organoleptik özelliklerine katkı sağlamaktadırlar. Bazı peynir çeşitlerinde starter ya da yardımcı kültür olarak kullanılan *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. durans* en bilinen suşlardan olup *E. faecium* K77D suşu İngiliz ACNFP (Advisory Committee on Novel Foods and Processes) tarafından fermente süt ürünlerinde starter kültür olarak kabul edilmiştir. *E. durans* Beyaz ve Salamura Beyaz Peynir'lerde yardımcı kültür (Co-culture) olarak işlev görürken *E. faecalis* ise Çedar Peyniri'nde önem arz etmektedir (Foulquie Moreno *et al.* 2006).

Laktik asit bakterileri gelişebilmek için özel gereksinimlere ihtiyaç duymaktadırlar. Uygun besiyerlerinde saf olarak izole edilen bakteriler gram reaksiyonu, katalaz aktiviteleri ve mikroskopik ölçekte morfolojileri ile LAB kolaylıkla diğer bakterilerden ayrılabilirler. Bu incelemelerin sonucunda gram (+), katalaz (-), sporsuz basil ve kok şeklindeki bakteriler LAB olarak değerlendirilmektedir. Bu bakteriler, biyokimyasal ve fizikokimyasal testler ile cins ve suş bazında tanımlanmaktadır. Farklı pH, sıcaklık ve tuz derişimlerinde gelişebilme durumları gibi fenotipik testler ve oksijeni tolere edebilme yetenekleri, besin maddelerine olan istekleri, antibiyotiklere karşı hassasiyetleri, şekerleri kullanabilme durumları gibi biyokimyasal testler ile mikroskopik morfolojileri ve boya maddelerine verdikleri tepkiler dikkate alınarak LAB tür ve alt türlerine ayrılmaktadırlar (Ertürkmen ve Öner 2015).

LAB genel itibariyle birbirlerine yakın türlerden oluşan birçok suşu kendi içinde barındıran bir gruptur. Çoğu zaman herhangi bir ürün için suş seviyesinde farklılıklar dahi oldukça önemli olmaktadır. Örneğin, yoğurt ve tereyağı üretiminde yer alan *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*, *L. lactis* spp. *cremoris* suşları bunlardan bazılarıdır. Bu nedenle LAB'ın doğru ve hassas bir şekilde tanımlanması önem arz etmektedir. Starter kültür çalışmalarının yapıldığı ilk yıllarda bu farklılıkların belirlenmesine yönelik besiyerinde gelişme, makroskopik ve mikroskopik özelliklerin belirlenmesi, farklı biyokimyasal testler gibi geleneksel tanı metotları kullanılırken günümüzde farklı enerji kaynağı kullanım profilinin belirlenmesi (API ve BIOLOG), yağ asit kompozisyonunun teşhisi (MIS) (Şengül 2006) , genetik (16S rRNA), immünolojik (ELISA) ve Kromotografik (MALDI-TOF) (Kanak and Yılmaz 2018) metotlar yoğun olarak kullanılmaktadır.

Laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında geleneksel yöntemler, genetik temelli metotlara kıyasla nispeten az güvenilir ve yüzeysel sonuç vermektedir. Bu nedenle konuyla ilgili mevcut literatür incelendiğinde LAB'ların identifikasyonunda genetik temelli metotların yoğun olarak kullanıldığı görülmektedir. Özellikle izolat sayısının fazla olduğu çalışmalarda ön gruplandırma amacıyla RAPD-PCR (Randomly Amplified Polymorphic DNA) gerçekleştirildiği ardından ilgili suşların 16S rRNA dizi analizi ile tür hatta suş seviyesinde tanımlarının yapıldığı görülmektedir. Böylece RAPD-PCR, 16S rRNA ile beraber ihtiyaç duyulan tanı seviyesinde düşük maliyetli uygun bir metot olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Gevers *et al.* 2001).

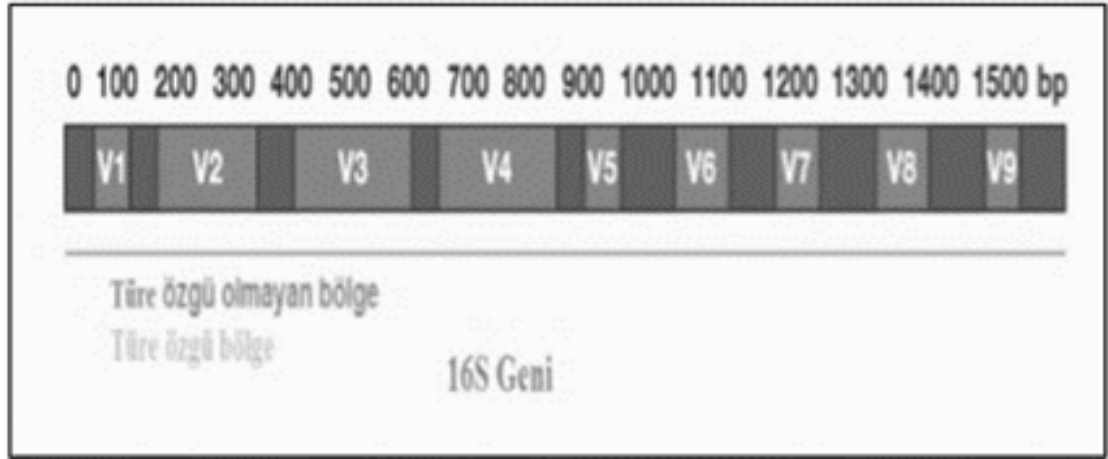
Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), indikatör mikroorganizmalardan hedef DNA'nın spesifik sekanslarını, çeşitli tespit cihazlarıyla insan gözü tarafından görülebilecek bir miktara yükseltmenin basit bir yoludur (Maurer 2006). PCR işlemi gıdaların içeriğinin tespitinde ve

mikroorganizmaların tanımlanmasında yinelenebilir, kolay, çok yönlü ve spesifik olmasından dolayı sıklıkla kullanılmaktadır (Bilginer 2018).

PCR işlemi genel olarak, DNA'nın çift zincirinin sıcaklığın etkisiyle (94-98 °C) denatürasyonu, sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (37-65 °C) ve daha sonra zincirin uzaması (72 °C) aşamalarından oluşmaktadır. PCR reaksiyonu bu işlemlerin 25-40 defa tekrarı (döngü, siklus) ile oluşur. Her döngüde DNA miktarı iki katına çıkmaktadır. Siklus sayısı ve başlangıç DNA miktarına bağlı olarak istenilen sayıda DNA kopyasına ulaşılabilir. PCR işleminin tamamlanabilmesi için öncelikle DNA/RNA'nın izolasyonu yapılmakta ardından ilgili sekans PCR işlemi ile çoğaltılmakta ve daha sonra bunlar görüntülenmektedir. Görüntüleme işlemi DNA'nın Ethidium bromide ile boyanarak UV ışık eşliğinde yapılmaktadır (Çetin 2016).

RAPD- PCR genellikle kısa dizilime sahip (10-15 baz) primer kullanılarak, düşük bağlanma sıcaklığı ile DNA amplikasyonu sağlamaktadır. Primer rastgele bağlanmakta ve mevcut genomik DNA sekansı tarafından yönlendirilmektedir. Başarılı bir amplifikasyon, primerin her iki iplikçiğe de bağlanarak genomik parmak izi (fingerprint) oluşturmasıyla sağlanmaktadır. Kolay uygulanabilmesi, minimum gereksinimi, düşük maliyetli olması ve zamandan tasarruf sağlaması nedeniyle RAPD-PCR, genetikte yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle bakteri vb. cinslerin alttür varyasyonları başarılı bir şekilde gruplandırılabilmekte ve tanımlanabilmektedir (Felbinger *et al.* 2020).

Bakterilerin sınıflandırılmasında genetik bilginin korunumundan dolayı 16S rRNA geni özel öneme sahiptir. Dolayısı ile bu gen bakteri türüne spesifik olduğundan taksonomik olarak sınıflandırmada son derece önemli olmaktadır. 1500 bp (Şekil 3) uzunluğunda olan bu gen sekanslamada kolaylık sağlamakta ve düşük maliyet nedeniyle sıkça kullanılmaktadır (İspirli 2016).



Şekil 3. Bakterilerde 16s rRNA geni ve üzerindeki değişken bölgeler (İspirli 2016)

Tarihin ilk dönemlerinden beri üretimi yapılan peynir; sütteki protein, yağ ve vitaminleri yoğun olarak içerisinde barındırmasından dolayı beslenmede önemli bir rol oynayan süt ürünlerinden birisidir. Süt ve süt ürünleri, uzun zamanlardan beri besin içeriği, kimyasal bileşimi ve mikrobiyotasının zenginliğinden dolayı çeşitli araştırmalara konu olmuştur. Günümüzde de bu çalışmalar artarak devam etmektedir. Geleneksel peynirler üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar ise ürünün zenginleşerek gelişimine önemli katkılar sağlamaktadır. Konuyla ilgili yapılan önemli bazı çalışmalar bu kısımda sunulmuştur.

Ülkemizin önemli geleneksel peynirlerinden birisi olan Küflü Civil Peyniri'nin kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini belirlemeye ve kompozisyonundaki uçucu bileşiklerinin ise tanımlanmasına yönelik yapılan bir araştırmada 41 peynir örneği incelenmiştir. Bu örneklerdeki maksimum ve minimum pH değerinin sırasıyla 5,12 ve 7,93 olduğu gözlenmişken 6,51 ortalama değer olarak bulunmuştur. İlgili peynir örneklerindeki titrasyon asitliği ise maksimum, minimum ve ortalama değerleri sırasıyla % laktik asit cinsinden 1,41, 0,32 ve 0,77 olarak ölçülmüştür. Bu peynirler mikrobiyolojik olarak test edildiklerinde ise TAMB sayısının 6,36-8,91 log kob/g, psikrofilik bakterileri sayısının 6,03 - 8,67 log kob/g, maya ve küf sayısının 4,20-8,71 log kob/g, muhtemel laktik basil sayısının 5,44-7,92 log kob/g, muhtemel laktik kok sayısının 5,86-8,88 log kob/g, enterokok sayısının <2-7,78 log kob/g, koliform sayısının <1-2,55 log kob/g arasında değiştiği *Staphylococcus aureus* sayımının ise 2 log kob/g'den düşük olduğu gözlenmiştir (Cakmakci *et al.* 2012).

Farklı tipte dört Küflü Civil Peyniri Cakmakci *et al.* (2014) tarafından üretilmiş ve 180 gün olgunlaştırılmıştır. Olgunlaşma sırasında kimyasal ve mikrobiyolojik parametreleri belirli periyotlarla ölçülmüş ve değişim kaydedilmiştir. Bu sonuçlara göre peynir örneklerinin toplam kurumaddesi, protein içeriği, yağ içeriği, asitliği, pH'sı ve tuz içeriği zamanla artarak olgunlaşma bitiminde ortalama olarak sırasıyla % 46,97, % 36,55, % 1,72, % 0,72, 6,48, %

7,21 olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde mikrobiyolojik parametrelerden TAMB sayısını 7,33 log kob/g, laktik basil sayısını 5,78 log kob/g, laktik kok sayısını 6,47 log kob/g, enterokok sayısını 4,53 log kob/g, psikrofilik bakteri sayısını 7,82 log kob/g, maya ve küf sayısını 7,66 log kob/g ve ayrıca küf sayısını 6,80 log kob/g ortalama değer olarak bulmuşlardır.

Erzurum ve çevresinde üretilen Küflü Civil Peyniri'nin aroma bileşikleri ve biyojen amin varlığını konu alan bir çalışmada Gürkan (2013), Küflü Civil Peynir'de 89 aroma bileşiği tespit etmiş ve biyojen amin miktarının ise dikkate değer oranda yüksek olmadığını vurgulamıştır. Kontrolsüz bir üretim yöntemine sahip olan bu peynir çeşidinin araştırmalar sonucunda biyojen amin açısından insan sağlığı için büyük bir risk teşkil etmediği sonucuna varılmıştır.

Erzurum yöresine ait geleneksel Küflü Peynir'lerinde toplam aflatoksin ve aflatoksin M1 varlığının araştırılmasına yönelik yapılan bir çalışmada ise 100 Küflü Peynir örneği Erzurum piyasasından temin edilmiştir. Aflatoksin analizleri, Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay (ELISA) tekniği ile gerçekleştirilmiş olup örneklerin kurumadde, pH, asitlik ve yağ gibi kimyasal parametreleri de ölçülmüştür. Bu ölçümlere dayalı olarak bu örneklerin ortalama değerleri % 48,5 kuru madde, % 1,25 asitlik, 5,1 pH, % 4 yağ içeriği olarak saptanmış ve resmi gazetede yayımlanan tescil ilanında Erzurum Göğermiş Peyniri için belirlenen kimyasal özellikler ile uyumlu olduğu vurgulanmıştır (Çinicioğlu 2017).

Gurkan *et al.* (2018) farklı *Penicillium roqueforti* suşları kullanılarak üretilen Küflü Civil Peynir'lerin olgunlaşması sırasında uçucu bileşiklerini ve biyojen amin varlığını belirlemek istemişlerdir. Bu doğrultuda farklı *Penicillium roqueforti* suşları ile Civil Peyniri üretimi gerçekleştirilmiş ve 4 ve 10 °C 'de 90 gün olgunlaştırılmıştır. Üretimin başlangıcında nem içeriği % 54,77, toplam protein miktarı %31,48, titrasyon asitliği % 0,97, tuz içeriği % 3,91, pH 4,95 olarak ölçülmüş olup 3 hafta sonra tekrar pH'sı ölçüldüğünde 6,0 olarak tespit edilmiş, 90 gün sonrasına kadar aynı kaldığı bulunmuştur. Bu peynirlerde 67 uçucu bileşik tanımlanmış ayrıca biyojen amin varlığının ise toksik bir doz oluşturmadığı gözlemlenmiştir.

Küflü Civil Peyniri'nin hakim küf florası olarak bilinen *Penicillium roqueforti* suşlarının mikotoksin üretim kapasiteleri araştırılmış ve 41 peynir örneğinde 140 *Penicillium roqueforti* izole edilmiştir. İzolatların rofortin C, penisilik asit, MPA ve patulin gibi mikotoksin oluşturmaları incelenmiş ve en düşük ve en yüksek toplam mikotoksin oluşumu sırasıyla 0,1 ve 1,2 mg/kg olarak tespit edilmiştir (Cakmakci *et al.* 2015).

Civil Peynir'lerin olgunlaşması sırasında mikrobiyolojik, kimyasal ve duyu kalitesi üzerinde bazı teknolojik parametrelerin etkisi Cambaztepe *et al.* (2009) tarafından araştırılmıştır. Dört farklı tipte Civil peyniri üretim ve olgunlaştırılmalarının gerçekleştirildiği araştırmada, üretiminden itibaren çeşitli aralıklarla mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri incelenmiştir. Yapılan testlerin sonucunda pH değerinin 5,13- 5,90, asitliğinin % 0,33- 1,38, tuz içeriğinin % 3,27-6,25 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Mikrobiyolojik özellikleri incelendiğinde ise 90 gün olgunlaşma sonrasında, en düşük ve en yüksek TAMB, LAB, koliform grubu bakteriler ve maya küf için sırasıyla 5,46- 6,48; 4,92-5,26; 2,94-3,63; 3,90-5,22 log kob/g arasında değiştiği gözlenmiştir.

Civil Peynir'deki LAB'ların izolasyonunun ve identifikasyonunun konu olduğu bir çalışmada ilgili peynirlerdeki TAMB değerinin $3,0 \times 10^8$ kob/g, Maya ve Küf sayısının $2,0 \times 10^6$ kob/g, LAB (laktik basil) sayısının $1,4 \times 10^7$ kob/g ve *Staphylococcus aureus* sayısının ise $4,10 \times 10^4$ kob/g olduğu gözlenmiştir. Diğer taraftan bu peynir örneklerinden 72 *Lactobacillus* suşu elde edilmiş ve MIS yöntemine dayalı olarak identifiye edilmiştir. Yapılan testin sonucunda izolatların çoğunluğunun *Lb. malefermentans*, *Lb. fermentum*, *Lb. parabuchneri* ve *Lb. vaccinnostercus* olduğu görülürken *Lb. oris*, *Lb. bifermentans*, *Lb. delbruecki* subsp. *bulgaricus*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. hilgardii*, *Lb. paracasei* subsp. *tolerans* da tanımlanmıştır (Şengül 2006).

Sert ve Kıvanç (1985) tarafından yapılan bir çalışmada taze Civil ve Lor Peyniri'nin mikrobiyolojik parametreleri araştırılarak, insan sağlığı üzerinde potansiyel tehlike oluşturan *S. aureus*, *E. coli*, fekal streptokok, *Salmonella*, *Brucella* gibi bakterilerin de sayımı gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde Civil Peynir örneklerinde *Salmonella* ve *Brucella*'ya rastlanılmamış olup, 1 g örnekte ortalama TAMB sayısı $8,5 \times 10^8$, koliform sayısı $1,1 \times 10^3$, *E. coli* sayısı $4,37 \times 10^2$, *S. aureus* sayısı $1,92 \times 10^1$, Maya ve Küf sayısı ise $3,7 \times 10^6$ kob/g olarak rapor edilmiştir.

Yağsız süte katılan PAS'ın Erzurum Civil Peyniri'nin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik parametreleri üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığı gözlemlenmek istenmiştir. Bu amaçla süt asitlendirilerek ve asitlendirilmiş süte PAS ilave edilerek iki farklı tipte Civil Peyniri üretilmiş ve 90 gün buzdolabında depolanmıştır. Olgunlaşma boyunca çeşitli aralıklarla kimyasal ve mikrobiyolojik testlere tabi tutulan bu örneklerin tuz, asitlik, kurumadde ve yağ analizleri yapılmış ve tuz oranı % 8,78-11,10, asitliği % 0,28-0,64, kurumadde oranı % 29,18-35,55 ve yağ oranı ise % 1,65-5,50 aralığında bulunmuştur. İlgili örnekler mikrobiyolojik olarak incelendiğinde örneklerde *E. coli* O157:H7 tespit edilememiştir. Bu örneklerin TAMB sayısı 7,66-8,46 log kob/g aralığında, toplam laktik asit

bakteri sayısı 7,56-8,77 log kob/g aralığında, Koliform grubu bakteri sayısı <2-5,38 log kob/g arasında, *S. aureus* sayısı ise <2-5,25 log kob/g aralığında olduğu belirlenmiştir. PAS ilavesiyle üretilen peynirlerde *S. aureus* sayısı 2 log kob/g'den daha az bulunmuştur (Özaltın 2011).

Erzurum Horasan ilçesinde tüketimine sunulan Civil Peynir'lerin kimyasal ve duyuşsal niteliklerinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada 100 Civil Peynir numunesi incelemeye tabi tutulmuştur. Bu amaçla numunelerin tuz, pH, asitlik, su aktivitesi, protein, yağ, kül, kurumadde ve nem oranları belirlenerek Civil Peyniri'nin kimyasal bileşimi tespit edilmeye çalışılmıştır. Uygulanan testlerin sonucuna göre ürünün pH'sı, su aktivitesi, asitliği ve tuz oranı sırasıyla 4,64-4,91 arasında, 0,923-0,929 arasında, % 0,51-0,92 arasında, % 2,60-4,79 arasında bulunmuştur. İlgili örneklerin duyuşsal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla enstrümental renk (L, a, b değerleri) ve tekstür (tekstür profil analizi (TPA)) değerlerinin yanı sıra örneklerin renk, koku, görünüm, kıvam ve lezzetleri panelist değerlendirmelerine göre incelenmiştir (Çavuşoğlu 2019).

Dikbaş vd (2006), Erzurum'da üretilen Çeçil Peynir'lerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirleyebilmek için 15 peynir örneği üzerinde incelemelerde bulunmuştur. Bu incelemelerin sonucunda örneklerin ortalama olarak kuru madde oranı % 49,59, yağ oranı % 6,80, kuru maddede yağ oranı % 13,41, protein oranı % 26,33, tuz oranı % 11,17, asitliği % 0,65, % kül oranı 12,6 ve pH'sı 5,37 olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre kimyasal içeriğinin Civil Peynir'le aynı olmadığı kanısına varılmıştır.

Ardahan ve yöresinde satılan Civil Peynir'in mikrobiyolojik, kimyasal parametreleri ile proteoliz düzeyleri Yenyol (2018) tarafından belirlenmek istenmiştir. Bu amaçla 40 peynir örneği materyal olarak kullanılmıştır. İlgili peynir örneklerindeki tuz, pH ve asitliği ortalama olarak sırasıyla % 4,94, 5,28 ve % 0,8 olarak saptanmıştır. Mikrobiyolojik olarak ise incelenmiş ve sonuçta TAMB, Maya ve Küf, Koliform sayımı yapılmış olup değerler ortalama olarak log kob/g cinsinden sırasıyla 7,36; 6,86 ve 1,76 olarak bulunmuştur.

Yangılar ve Kızılkaya (2015), Ardahan yöresinde üretilen Çeçil peynirlerinin mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri belirlemek istemiş ve bu amaçla 6 peynir örneği üzerinde çalışmışlardır. Yapılan mikrobiyolojik sayım sonuçlarına göre TAMB, muhtemel laktik basil, maya ve küf, *Staphylococcus aureus*, koliform grubu bakteri değerleri sırasıyla 7,97, 6,96, 3,12, 3,7 ve 3,51 log kob/g olarak bulunmuştur. Fizikokimyasal analiz bulgularından asitlik, pH ve tuz içerikleri ise sırasıyla % 0,55, 5,30, % 3,79 olarak ölçülmüştür.

Bayburt ilinde üretilen Civil peynirlerin mikrobiyolojik ve biyokimyasal profili ile mineral ve ağır metal içeriklerinin incelendiği bir çalışmada 20 Civil peynir örneği araştırmaya tabi tutulmuştur. Bu peynirlerde yapılan mikrobiyolojik incelemelerin sonucunda maksimum ve minimum TAMB değeri 8,83-5,93, maya ve küf değeri 10,14-4,37, koliform grubu bakteriler 3,52-<1, *E. coli* 1-<1 ve *S. aureus* <1 log kob/g olarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerin kimyasal kompozisyonu belirlenmek istenmiş ve bu kapsamda pH, asitlik, kurumadde, yağ, protein, kül ve tuz analizleri gerçekleştirilmiş olup tuz içeriği, pH ve asitlikleri minimum-maksimum değer olarak sırasıyla % 1,51-15,43; 5,36-6,07; % 0,21-1,25 aralığında olduğu gözlenmiştir (Arslaner ve Salık 2020).

Polat vd (2001), Ankara’da satılan 30 adet Civil Peynir’in mikrobiyolojik, kimyasal ve duysal karakteristiklerini belirlemek istemiştir. Bu nedenle yapılan incelemeler neticesinde ortalama TAMB sayısı $1,06 \times 10^8$ kob/g, maya ve küf sayısı $3,9 \times 10^7$ kob/g, koliform sayısı $1,05 \times 10^3$ EMS/g, *S. aureus* sayısı ise 100 den az bulunmuştur. İlgili örnekler kimyasal olarak incelendiklerinde ise yağ oranının düşük, protein ve tuz içeriğinin ise yüksek seviyede olduğu tespit edilmiş olup tuz, pH ve asitliği sırasıyla ortalama % 5,3; 4,7; % 0,93 olarak belirlenmiştir.

Küflü peynirlerden izole edilen küflerin moleküler tanımlanması ve karakterizasyonunu inceleyen Kırtıl (2018), Konya Küflü Tulum, Divle-Obruk Küflü Tulum, Erzurum Küflü Civil olmak üzere 17 geleneksel küflü peynirden küf izolasyonu yapılmış önceden de bazı küflü peynirlerden izole edilmiş 140 izolatı saflaştırmıştır. Daha sonra bu küf izolatları morfolojik özellikleri yönüyle incelenmiş ve farklı morfolojiye sahip küfler genotipik olarak tanılanarak mikotoksin üretme yetenekleri açısından araştırılmıştır.

Küflü peynirlerden izole edilen LAB’ların, küflerin oluşturduğu mikotoksin üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığı Güley (2008) tarafından araştırılmıştır. Konya Küflü (Yeşil) Peyniri üzerinde yaptığı incelemenin ardından tuz oranlarını % 3,97 ile % 6,66 arasında, kurumadde de tuz oranını ise % 5,66 ile % 15,21 arasında belirlemiştir. Yeşil Peynir’lerdeki pH ve asitliğin ise sırasıyla 5,00-6,50; 1,66-3,43 arasında olduğunu bildirmiştir. Ayrıca bu peynir örneklerinin mikrobiyotasında bulunan LAB sayısının yüksek olduğunu tespit etmiş olup, Laktobasillerin sayısının $4,45 \times 10^6$ ile $2,70 \times 10^7$ kob/g arasında, Leukonostokların sayısının $4,00 \times 10^6$ ile $2,55 \times 10^7$ kob/g arasında, Laktokokların sayısının $4,20 \times 10^6$ ile $6,45 \times 10^7$ kob/g arasında, Enterokokların sayısının ise $1,50 \times 10^5$ ile $3,50 \times 10^6$ kob/g arasında değiştiğini bildirmektedir. Bu çalışmada 24 tanesi Küflü Kars Eski Kaşarı ve Küflü Deri Tulum Peyniri’nden, geriye kalanlar da Konya Küflü Peynir’lerinden olmak üzere toplam 200 adet bakteri izole etmiş ve bunların 179’unu geleneksel, biyokimyasal metotlarla

tanımlamıştır. Ancak bu testlerde sonucun kesin olmaması ve bazı suşların ise sonucunun çıkmaması üzerine genetik olarak da 16S dizi analizlerine tabi tutulmuştur. Bu incelemelerin ardından izole ettiği suşların büyük çoğunluğunun Enterokok (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus durans*) olduğu belirlenip geri kalanının ise *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* / *Lactobacillus casei*, ve *Pediococcus parvulus* oldukları bildirilmiştir.

Özgören (2012) tarafından yapılan bir incelemede Türkiye’de ticari ölçekte üretilen bazı küflü peynirlerin toplam Aflatoksin, Aflatoksin M1 ve Okratoksin A düzeylerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışmada, en fazla tüketilen Erzurum Göğermiş Peyniri, Konya Küflü Peyniri, Mersin Küflü Tulum Peyniri, Kayseri Küflü Çömlek Peyniri, Isparta Küflü Çömlek Peyniri materyal olarak kullanılmıştır. Bu peynirlerde kuru madde, tuz, kuru maddede tuz, asitlik, pH, yağ ve kuru maddede yağ gibi kimyasal parametreler analiz edilmiştir. Sonuçlar sırasıyla ortalama olarak % 53,28, % 4,97, % 9,06, % 0,91, 5,31, % 16,26 ve % 27,64 rapor edilmiştir. Spesifik olarak Erzurum Göğermiş Peyniri’ne bakıldığında tuz içeriğinin % 4,86-6,51; asitliğinin 0,82-1,49; pH değerinin 4,52-4,90 arasında olduğu tespit edilmiştir.

Ekinci (2016) tarafından yapılan bir incelemede, Konya yöresine ait Küflü Peynir’lerde aflatoksin M1 varlığını incelenmiştir. Yapılan inceleme sonucunda Küflü Peynir’de aflatoksin M1 varlığı tespit edilememiştir. Ayrıca ilgili Küflü Peynir üzerinde araştırma yapan Sağdıç vd (2008) ilgili peynirlerin pH değeri 4,63-6,64, kuru madde oranı % 44,28- % 49,45; yağ oranı % 12,17- % 37,00 tuz oranını ise % 3,51- % 6,94 arasında bulunduğunu belirtmiştir. Bu peynirlerde yapılan mikrobiyolojik sayım sonuçlarını ise log kob/g cinsinden TAMB değerini 6,74-8,86; maya sayısını 3,55-6,64; küf sayısını 2,89-5,75; Koliform grubu bakteri sayısını ise <1-4,19 arasında olduğu bildirmiştir.

Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden rastgele temin edilen 30 küflü peynir, mikrobiyal kalitesi ve küf mevcudiyeti bakımından incelenmiştir. Bu örneklerin TAMB sayısı 8,26–10,69 log kob/g, koliform bakterileri sayısı <1–3,04 log kob/g, *S. aureus* sayısı <1–4,92, maya ve küf sayısı ise 4,83–6,95 log kob/g arasında olduğu bildirilmiştir. Peynir örneklerinin nem içeriğinin % 37,65-53,65, tuz oranının % 4,70- 10,07 ve pH değerinin ise 5,22-7,22 arasında değiştiği görülmüştür (Hayaloglu and Kirbag 2007).

İspirli (2016), Erzincan Tulum Peyniri’nden laktik asit bakterilerinin (LAB) izolasyonu, moleküler metotlarla tanımlanması ve ekzopolisakkarit (EPS) üretim potansiyellerinin genetik olarak belirlenmesine yönelik bir çalışmada bulunmuştur. Yapılan incelemelerin sonucunda ilgili örneklerden *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*,

Lactobacillus brevis, *Weissella paramesenteroides*, *Lactococcus garvieae* ve *Lactobacillus crustorum* suşları izole edilerek tanımlanmış ayrıca EPS üretim miktarları da belirlenmiştir.

Bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri bir polimerik yapı tabakasında yaşayan mikroorganizma toplulukları biyofilm olarak adlandırılmaktadır. Yapılan son çalışmalar LAB'ların biyofilm oluşturmalarının bağırsak kolonizasyonu ve probiyotik potansiyelinde önemli bir özellik olan yapışma özellikleri sağladığını göstermektedir. Salas-Jara *et al.* (2016) *Lactobacillus fermentum*'un biyofilm oluşturma ile sıcaklığa ve mide pH'sına artan direnci gibi yararlı etkileri olduğunu bildirmişlerdir. Akoğlu (2020), yerel Mengen Peyniri'nden izole ettiği *Enterococcus durans* EC4, *Enterococcus lactis* EC61, *Enterococcus faecalis* EC41, *Enterococcus faecium* EC63, *Lactococcus garvieae* LC61, *Lactococcus lactis* LC62'in biyofilm oluşturma yetenekleri ve çevresel faktörlerin biyofilm oluşumu üzerinde etkilerini araştırmıştır. İlgili suşların hepsinin biyofilm oluşturduğu ancak *Enterococcus lactis* EC61 ve *Enterococcus faecalis* EC41 suşları, çok çeşitli çevresel koşullar altında (pH 6,5; 7,0; 7,5; ve 8,0; % 4 ve % 6,5 gibi tuz konsantrasyonları; % 0,5 glukoz konsantrasyonu ve % 0,5-1,5 ve % 2,5 laktoz konsantrasyonları) iyi bir biyofilm üreticisi olduğu kanıtlanmıştır. Öte yandan peynir üretimi sırasında kullanılan LAB'ların oluşturduğu biyofilmin peynirin karakteristik tat ve lezzetinin oluşmasında etkili olduğu ifade edilmiştir. Bu açıdan bakıldığında, söz konusu bakterilerin starter kültür olarak kullanılması durumunda, bu özelliklerin önemli bir avantaj sağladığı da düşünülmektedir.

Geleneksel kefir danelerinden izole edilen laktik asit bakterileri ve mayaların tanımlanması ve izolatların bazı fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesini konu alan bir çalışmada Purutoğlu (2018), Türkiye'nin beş farklı şehirden temin ettiği altı kefir danesinden LAB ve maya türleri izole etmiştir. Daha sonra muhtemel LAB olduğu düşünülen izolatlara RAPD-PCR işlemine göre türler arasında gruplandırma yapılmış ve temsili suşlar 16S rRNA genine göre tanımlanmıştır. Tanılama sonucunda suşların *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefirgranum*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus otakiensis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *hordniae*, *Acetobacter fabarum*, *Enterococcus durans*, *Acetobacter okinawensis*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus paracasei* ve *Acetobacter orientalis* olduğu belirlenmiş ve ayrıca *L. lactis*'in *L. kefir* ve *L. kefiranofaciens* ile birlikte kefir danelerinde baskın olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan *L. diolivorans* KF2, *L. lactis* KF17, *L. otakiensis* KF23, *L. paracasei* KF39 ve *E. durans* KF65 gibi suşların heteropolimerik EPS ile birlikte bir fruktan tipi EPS ürettiği belirtilmiştir. Ek olarak izole edilen suşların önemli düzeyde antibakteriyel ve antifungal özellikte olduğu da ortaya konmuştur.

Çeşitli gıdalardan izole edilen LAB'ların identifikasyonunu ve biyofilm oluşturma yetenekleri ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada, köy peyniri, yeşil zeytin gibi farklı gıdalardan muhtemel LAB olduğu düşünülen 40 izolatın moleküler yöntemlerle tür ve alt tür seviyesinde tanımlanması sağlanmıştır. Bu doğrultuda 16S rRNA bölgesi PCR ile 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') ve 1492R (5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3') primerleri kullanılarak çoğaltılmış ve elde edilen PCR ürünleri sekanslanmıştır. Daha sonra tanımlanması yapılan suşların biyofilm üretme yetenekleri de araştırılmıştır. İncelenen 4 adet köy peynirinden elde edilen suşlar sekanslama sonucunda *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus graminis*, *Lactobacillus sakei* ve *Leuconostoc mesenteroides* olarak belirlenmişlerdir (Arık 2018).

Beresford *et al.* (2001)'e göre, İngiltere'de üretilen ve 6-9 ay olgunlaştırılan Çedar Peyniri'nde Williams ve Banks (1997) hakim kültür olarak *Lb. paracasei*/*Lb. casei* ve *Lb. plantarum* izole etmişken; *Lb. curvatus*, *Lb. brevis*, *Lb. helveticus*, *Lb. fermentum*, *Lb. bifementans*, *Lb. buchneri*, *Lb. parabuchneri*, *Lb. farciminis* ve *Lb. kefir* diğer suşlar olarak ortaya konulmuştur.

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin edilen çiğ süt ve peynir numunelerinden izole edilen LAB'ların antimikrobiyal etkilerini konu alan bir çalışmada, 63 LAB izolatının *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite seviyeleri test edilmek istenmiştir. Yapılan ilgili testlerin ardından izolatlardan 6'sının sadece *Listeria monocytogenes*'e, 7'sinin *S. aureus*'a, 25'inin ise her ikisine karşı pozitif etki gösterdikleri görülmüştür. Ayrıca antimikrobiyal etki seviyesi yüksek olan 7 izolat biyokimyasal testler vasıtasıyla 4'ü *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, 2'si *Lactobacillus plantarum* ve geriye kalan biri de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* olarak tanımlanmıştır. Ayrıca 26 numaralı izolatın diğerlerine kıyasla etki gücü çok daha yüksek antimikrobiyal madde ürettiği tespit edilmiş ve bu suş incelendiğinde *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* olduğu belirlenmiştir. Süt ve ürünlerinde çok daha yaygın bulunan *Lactococcus lactis*'in nisin bakteriyosinini ürettiği ve çok sayıda mikroorganizma üzerinde inhibisyon yeteneğinin olduğu da yapılan araştırmalar sonucunda belirlenmiştir (Altuntaş vd 2010).

Süt ürünlerinde ve özellikle de peynirde yüksek seviyede bulunan biyojen aminler, biyolojik aktiviteye sahip olan düşük molekül ağırlıklı organik bileşiklerdendir. Çeşitli peynir tiplerinde çokça araştırma konusu olan biyojen aminler, özellikle peynirin olgunlaşması sırasında proteoliz gibi uygun ortam sağlandığında oluşmaktadırlar. Yıldız *et al.* (2010) yaptıkları bir çalışmada Erzurum Civil Peynir örneklerinin mikrobiyal ve kimyasal

özelliklerini belirlemiş ve bu örneklerdeki biyogen amin tiplerini ve miktarlarını da tespit etmişlerdir. 20 peynir örneği üzerinde çalışan ekip, kurumadde, yağ, kuru maddede yağ, laktik asit, tuz ve pH değerlerini sırasıyla % 35,19; % 2,30; % 6,50; % 35,19; % 2,39 ve 4,53 tespit etmişlerdir. Ayrıca bu örneklerin protein içeriklerini (32,40) ve su aktivitelerini (0,96) yüksek bulmuşken tuz içeriklerini (% 0,23) ve yağ içeriklerini (% 2,30) düşük bulmuşlardır. Civil Peynir'deki *Enterobacteriaceae* spp, TAMB ve LAB sayılarını ortalama olarak sırası ile 2,00, 7,44, 6,41 log kob/g olarak tespit etmişlerdir. 100 g örnekteki toplam biyogen amin miktarını ise 1,31 mg olarak saptamışlardır.

İran'ın kuzey doğusunda bulunan Kuzey Horasan bölgesine özgü olan Kürt Peyniri'nin olgunlaşmasında 16S rRNA yöntemi kullanılarak LAB'ların izolasyonu ve identifikasyonunu konu alan bir araştırma Milani *et al.* (2017) tarafından gerçekleştirilmiştir. İlgili peynir örneklerinde 105 LAB izolatu elde edilmiş ve izolatlar biyokimyasal ve moleküler düzeyde alt tür seviyesinde tanımlanmaya çalışılmıştır. İzolatlar elektroforezde yürütülmüş ve ardından 16S rRNA ile tanımlanmıştır. Bu doğrultuda ilgili suşlar *Enterococcus faecium* (% 29,5), *Lactobacillus plantarum* (% 16,2), *Enterococcus faecalis* (% 13,3), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (% 11,4), *Enterococcus durans* (% 8,6), *Lactobacillus pentosus* (% 8,6), *Lactobacillus casei* (%3,8), *Enterococcus hirae* (% 2,9), *Lactobacillus paracasei* (% 2,9), *Lactobacillus helveticus* (% 1,9) olarak tanımlanmıştır. Bu peynirlerde olgunlaşmanın başlangıcında *L. lactis* ssp *lactis*'in baskın olduğu gözlenirken daha sonraki evrelerde *Enterococcus faecium* ve *Lactobacillus plantarum*'un baskın olduğu görülmüştür.

Starter kültür ilavesi ile starter ilave edilmeden üretilen dört farklı peynir örneğinde histidin dekarboksilaz pozitif suşları ve histamin oluşumu araştırılmıştır. Bu peynirlerden toplamda 60 LAB izole edilmiş ve biyokimyasal olarak tanımlanmıştır. Histidin dekarboksilaz geni ise PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Bu peynirlerdeki LAB sayısı 6,40-8,52 log kob/g aralığında bulunmuştur. Starter ilavesiz peynirlerden elde edilen izolatlar, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. casei*, *Lb. buchneri* ve *L. lactis* olarak tanımlanırken, starter ilavesi olan peynirlerdeki izolatlar ise *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. casei* ve *Lb. curvatus* olarak identifiye edilmiştir (Del Valle *et al.* 2018)

Bulut (2003) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada geleneksel Çömlek Peyniri'ndeki LAB'ların izolasyonu ve tanımlanması hedeflenmiştir. Bu amaçla izolatlar fenotipik (gram, fizyolojik ve biyokimyasal testler) ve genotipik (PCR-RFLP) yöntemler uygulanarak karakterize edilmeye çalışılmıştır. İzole edilen tüm laktik koklar *L. Lactis* ssp. *lactis* olarak, enterokoklar *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. avium* olarak, laktik basiller *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, *Lb. casei* ve *Lactobacillus* spp. olarak belirlenmiştir.

Türkiye'nin yanı sıra Orta Asya Ülkeleri'nde üretilen geleneksel fermente süt ürünlerinden olan kurut ve kımız üzerinde yapılan bir çalışmada; kuruttan, *Lactobacillus fermentum*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus durans*; kımızdan ise *Lactobacillus helveticus* ve *Lysinibacillus* spp. ile birlikte *L. fermentum* izolasyonunu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca *L. fermentum* ve *L. helveticus* suşlarının EPS üretimi incelenmiştir (İspirli and Dertli 2018).

Matti *et al.* (2019) Endonezya'ya ait balık ve pirinçten yapılan fermente bir ürün olan 20 chao örneğinden morfolojik, fenotipik olarak 60 adet LAB izole etmiş ve daha sonra biyokimyasal test olarak bu isolatları API 50 CHL (Biomerieux, France) ile gruplandırmışlardır. Gruplandırmanın ardından Rep-PCR'a dayalı olarak 16S rRNA gen bölgesini sekansa tabi tutulmuş ve Ags1-3 izolatu *Lactobacillus plantarum*, Ags7-3 izolatu ise *Pediococcus acidilactici* olarak tespit edilmiştir.

LAB fermantasyon sırasında asidik koşullarda yaşayabilmek için savunma mekanizması olarak GABA (Gamma-Amino Butyric Acid) üretirler. Son yıllarda GABA'nın çeşitli hastalıklara yararlı etkilerinden dolayı ilgi gittikçe artmaktadır. İnhibitör bir nörotransmitter olarak işlev görebilen GABA, antianksiyete, antidepresan ve antihipertansif özelliklere sahip olmanın yanı sıra GABA tüketimi kanser hücrelerinin çoğalmasını da engelleyebilmektedir. Bunlara ek olarak Alzheimer ve Parkinson hastalığının tedavisinde de kullanılabilir, tiroid hormon seviyeleri düzenleyebilir ve bağışıklık sistemini de iyileştirebilmektedir. Çay yaprakları, fermente balıklar, kimchi ve yoğurttan çeşitli GABA üreten bakteriler *Lactococcus lactis* ve *Lb. fermentum* izole edilmiştir (Santos-Espinosa *et al.* 2020).

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

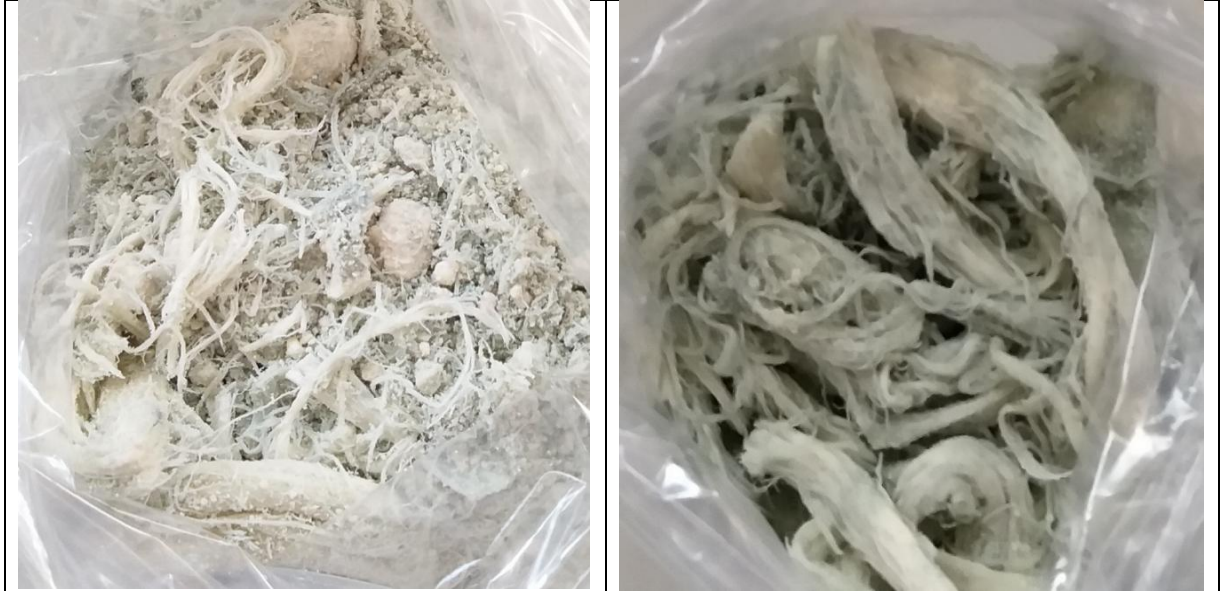
Araştırmada, Erzurum ve yöresinden 11'i piyasadan 16'sı da ev tipi olmak üzere toplamda 27 adet geleneksel Küflü Civil Peynir materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler hızlı bir şekilde laboratuvara getirilerek +4 °C'de muhafaza edilmiş ve en kısa sürede mikrobiyolojik ve fizikokimyasal analizleri gerçekleştirilmiştir. Tablo 7'de deneme örneklerin özellikleri, üretim tipi ve yöresi görülmektedir. Çalışmada kullanılan Küflü Civil Peynir'lerine ait görüntüler Şekil 4'de görülmektedir.

Tablo 7. Deneme örneklerinin özellikleri, üretim tipi ve yöresi

Örnek No	Üretim Tipi	Yöresi	Ürün Özellikleri
1	Ev	Karayazı / Erzurum	Küflenmemiş, lorsuz
2	Ev	Pasinler / Erzurum	Küflenmemiş, lorsuz
3	Ev	Pasinler / Erzurum	Küflü, lorlu
4	Endüstriyel	Palandöken / Erzurum	Küflü, lorsuz
5	Ev	Karayazı / Erzurum	Küflenmemiş, lorlu
6	Ev	Karayazı / Erzurum	Küflenmemiş, lorlu
7	Ev	Yakutiye / Erzurum	Hafif küflü, lorlu
8	Ev	Yakutiye / Erzurum	Küflü, lorlu
9	Ev	Pasinler / Erzurum	Hafif küflü, lorlu
10	Ev	Karayazı / Erzurum	Hafif küflü, lorlu
11	Ev	Yakutiye / Erzurum	Küflü, çoğunluğu lor
12	Ev	Yakutiye / Erzurum	Hafif küflü, lorsuz
13	Ev	Pasinler / Erzurum	Küflenmemiş, lorlu
14	Ev	Pasinler / Erzurum	Küflü, lorlu
15	Endüstriyel	Palandöken / Erzurum	Küflü, çoğunluğu lor

Tablo 7. (devamı)

16	Ev	Karayazı / Erzurum	Küflenmemiş, lorlu
17	Ev	Yakutiye / Erzurum	Küflü, lorlu
18	Endüstriyel	Palandöken / Erzurum	Loru küflenmiş
19	Endüstriyel	Palandöken / Erzurum	Hafif küflü, lorlu
20	Endüstriyel	Yakutiye / Erzurum	Hafif küflü, lorlu
21	Endüstriyel	Yakutiye / Erzurum	Hafif küflü, lorlu
22	Endüstriyel	Yakutiye / Erzurum	Küflü, lorlu
23	Ev	Karayazı / Erzurum	Küflenmemiş, çoğunluğu lor
24	Endüstriyel	Palandöken / Erzurum	Küflü, lorlu
25	Endüstriyel	Palandöken / Erzurum	Küflü, lorlu
26	Endüstriyel	Palandöken / Erzurum	Küflü, lorlu
27	Endüstriyel	Palandöken / Erzurum	Küflü, lorlu



Şekil 4. Çalışmada kullanılan Lorlu ve Lorsuz Küflü Civil Peynir'lerine ait görüntüler

Yöntem

Bu araştırmada kullanılan peynir örneklerinin temel mikrobiyolojik parametrelerinin belirlenmesi için Laktik asit bakterileri, *Enterococcus*, Maya, Küf, Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB), *Staphylococcus aureus* ve Koliform grubu bakterilerin sayımı gerçekleştirilmiş olup laktik asit bakterileri izole edilmiştir. Öte yandan su aktivitesi, pH, titrasyon asitliği ve tuz analizleri de fizikokimyasal özelliklerin belirlenmesi ve mikrobiyota üzerinde etkisi olup olmadığını tespit etme amacıyla yapılmıştır.

Mikrobiyolojik analizler

Çalışmada Erzurum Küflü Civil Peyniri'nin temel mikrobiyolojik parametrelerinin belirlenmesi amacıyla TAMB, LAB, *Enterococcus*, Maya ve Küf, *Staphylococcus aureus*, Koliform grubu bakterilerin sayımı yapılmış, gram boyama ve katalaz testi sonucunda kuvvetle muhtemel laktik asit bakterisi olduğu anlaşılan suşlar izole edilmiştir. İzolatlar genetik tanısı yapılmasının ardından sonraki çalışmalarda kullanılmak amacıyla -80 °C'de saklanmıştır. Ayrıca ürün güvenliği açısından izole edilen *Staphylococcus* cinsi bakterilere ise koagülaz testi uygulanmıştır.

Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan her türlü besiyeri, çözeltiler, plastik, cam ve metal malzemeler 121 °C'de 15 d steril edildikten sonra kullanılmıştır.

Dilüsyonların hazırlanması

Dilüsyonların hazırlanması aşamasında ilk olarak peynir örneklerinden 10'ar g tartılıp steril stomacher poşetine alındıktan sonra üzerine % 0,85 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su (SFTS)'dan 90 mL ilave edilmiştir. Homojenizasyon işlemi Stomacher cihazı (MAYO HG400) kullanılarak (2 d) gerçekleştirilmiş ve 10^{-1} 'lik dilüsyonu elde edilmiştir. Seri dilüsyonların hazırlanması amacıyla 9'ar mL SFTS içeren tüpler aracılığıyla 10^{-5} 'e kadar desimal dilüsyonları hazırlanmıştır (Güley 2008).

Uygun dilüsyonlardan istenilen besiyerlerine yayma ve dökme yöntemine göre ekim işlemi iki paralel olacak şekilde yapılmış olup inkübasyon sonunda petri plaklarında gözlenen 30-300 arası koloniler sayılmış ve log kob/g şeklinde ifade edilmiştir (Harrigan 1998).

Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) sayımı

TAMB sayısının belirlenmesi amacıyla Plate Count Agar (PCA, Merck) dökülen petri plakları katılaştıktan sonra yayma yöntemine uygun olarak dilüsyonlardan 0,1'er mL ilave edilmiş olup 30-32 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda sayma

işlemi gerçekleştirilmiş ve sayım sonucu seyreltme faktörü ile çarpılarak 1 mL'deki TAMB sayısı belirlenmiştir (Özdemir ve Demirci 2006).

Laktik Asit Bakterilerin (LAB) sayımı

LAB (Laktik basil ve Laktik kok) için iki ayrı besiyeri kullanılmıştır. Laktik basiller için MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) agara (Merck) ekim yapılmış ve petrilere 37 °C'de 2-3 gün inkübe edilmiştir (Özdemir ve Demirci 2006).

Laktik koklar için de M17 agara (Merck) ekim yapıldıktan sonra 30-32 °C'de 1-2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kolonilerin katalaz testi, makroskopik ve mikroskopik incelemeleri ardından sayımı yapılmıştır (Güley 2008; Tağı 2013).

Enterococcus'ların sayımı

Enterococcus cinsi bakterilerin sayımı için Kanamycin Aesculin Azide Agar Base (KAA, Oxoid) (Reuter 1995) hazırlanıp Kanamycin Sulfat Suplement (Oxoid) ilave edilerek 121 °C'de 15 d steril edildikten sonra petrilere dökülmesi sağlanmış ve katılaştıktan sonra kullanılmıştır. Bu petrilere uygun dilüsyonlardan ekim yapıldıktan sonra 35-37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bitiminde petri plaklarında görülen siyah zonlu koloniler sayılıp dilüsyon faktörüyle çarpıldıktan sonra sonuçlar log kob/g şeklinde verilmiştir (Gözütok 2013).

Maya ve Küf sayımı

Maya ve küf sayımı için Potato Dekstroze Agar (PDA, Oxoid) hazırlanarak steril edilmiş ardından 45-50 °C'ye soğutulduktan sonra %10'luk steril tartarik asit ile pH 3,5'e erişinceye kadar asitlendirilmiştir (Welthagen and Viljoen 1997). Daha sonra petri plaklarına dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir. Katılaştıktan sonra uygun dilüsyonlardan ekim yapılmış olup 25 °C'de (oda sıcaklığı) 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda görülen koloniler makroskopik ve mikroskopik incelemelerden sonra sayılmıştır (Tağı 2013; Kırtıl 2018).

Staphylococcus aureus sayımı

Staphylococcus aureus sayımının gerçekleştirilebilmesi için Baird-Parker Agar (BPA, Oxoid) steril edilip soğutulduktan sonra Egg Yolk Tellurit (Oxoid) ilave edilmiştir. Daha sonra petri plaklarına dökülüp katılaşması beklenmiştir. Hazırlanan petrilere uygun dilüsyonlardan ekim yapılmış 35-37 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda dışbükey, 1-1,5 mm çapında, siyah, parlak, opak olan besiyerinde 2-5 mm kadar

genişleyebilen berrak (açık) zon oluşturan koloniler tipik *Staphylococcus aureus* (Şekil 5) olarak değerlendirilip sayılmıştır. Ayrıca tipik *Staphylococcus aureus* kolonileri gram, katalaz ve koagülaz kabiliyetlerinin belirlenmesi amacıyla ilgili testlere tabi tutulmuştur (Baer 1971; Baird and Lee 1995; De Buyser *et al.* 2003).



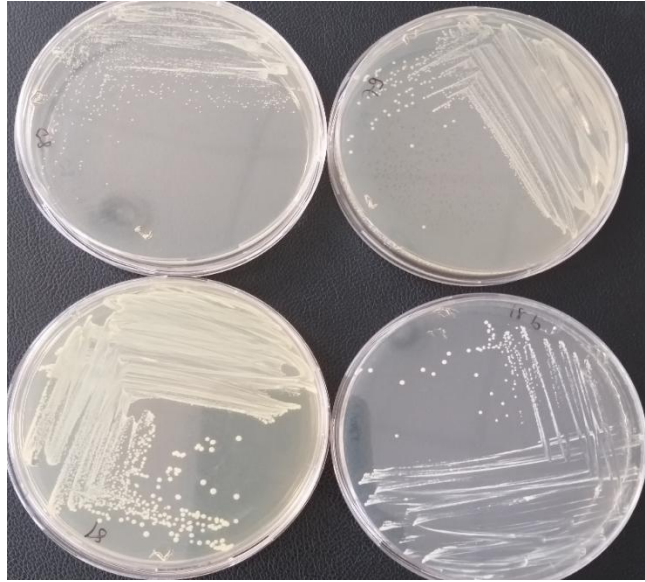
Şekil 5. Tipik *S. aureus* kolonileri

Koliform grubu bakterilerin sayımı

Koliform grubu bakterilerin sayımı için dökme plak yöntemine göre ekim yapılmıştır. Bu yöntemle önce uygun dilüsyonlardan steril petri plaklarına 1 mL ekilerek üzerine 45-50 °C'ye soğutulmuş Violet Red Bile (VRB, Merck) agardan 15 mL alınmış ve iyice homojen hale gelmesi sağlanmıştır. Katılaşmasının ardından 5 mL daha steril VRB agar dökülmüştür. İyice katılaştıktan sonra 37 °C'de 1 gün inkübasyona bırakılmıştır (Sert ve Kıvanç 1985). İnkübasyon sonunda 0,5-2 mm çaplı koyu kırmızı ve genellikle etrafında kızılımtırak haleler oluşturan koloniler tipik koliform olarak sayılmıştır (Harrigan 1998).

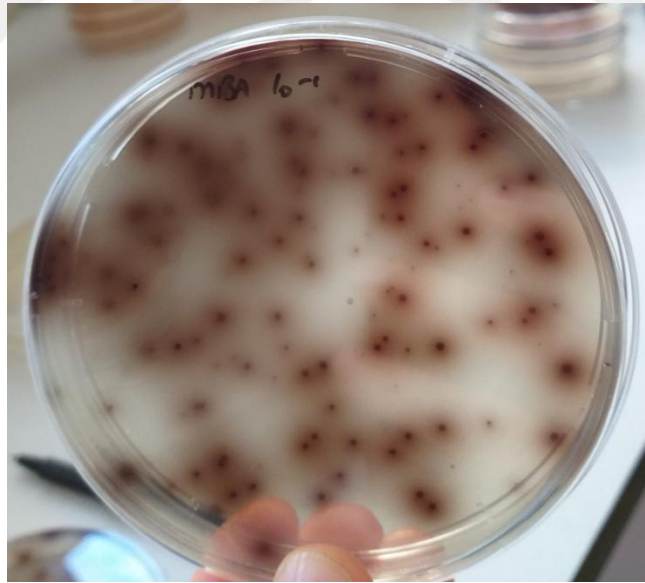
Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

LAB'ların izolasyonu için sayımı yapılan petrilerden (MRS ve M17) makroskobik ve mikroskobik farklılıklar gözetilerek farklı kolonilerden izolasyon gerçekleştirilmiştir. Ardından saf kültür elde edilene kadar uygun besiyerlerine üçlü çizimler yapılmıştır. Daha sonra izolatlar gram boyama ve katalaz testlerine tabi tutulmuşlardır (Reuben *et al.* 2020). Bu testlerin ardından laktik asit bakterisi olduğu kesinleşen suşlar derin dondurucuda (-80 °C) saklanmıştır. Şekil 6'da bazı LAB'ların saf hali verilmiştir.



Şekil 6. Çalışmada izole edilen bazı LAB'ların MRS besiyerinde gelişimi

Enterokokların izolasyonu için ise KAA'da seçilen tipik haleli koloniler (Şekil 7) tekrar KAA'a üçlü çizim yapılmış olup saf hale gelinceye kadar bu işleme devam edilmiştir. Daha sonra mikroskopik incelemelerde bulunulmuştur (Sert 2011). Ardından gram boyama ve katalaz testi uygulanarak genel laktik asit karakteristikleri teyit edilmiştir. Saf olarak elde edilen suşlar % 40'luk gliserol (Merck) içerisinde -80 °C'de saklanmıştır.



Şekil 7. KAA üzerinde tipik *Enterococcus* spp.

Gram boyama

Gram ismindeki Danimarka'lı bilim insanı tarafından bulunan bu metot ile hem mikroorganizmaların morfolojisi hem de gram özellikleri belirlenebilmektedir. Gram boyama işlemi için; hazırlanan preparat ateşte fıkse edilip kristal viyole ile 1 d boyandıktan sonra boyanın akıtılması sağlanmıştır. Boya akıtıldıktan sonra lugol ile muamele edilip 1 d

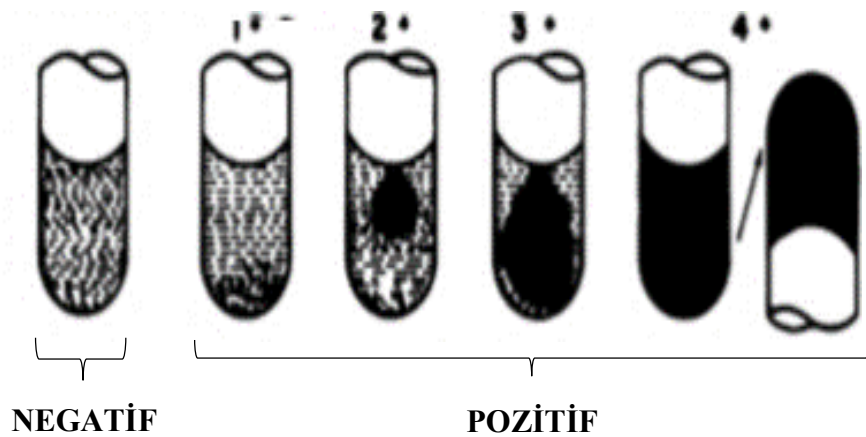
beklenmiş olup ardından lugol akıtılarak preparat rengi gidinceye kadar etil alkol ile 10-15 s yıkanmıştır. Su ile yıkandıktan sonra zıt olan sulu karbol füksin boyası ile 20-30 s muamele edilmiş olup boya su ile yıkanıp kurulanmış ve ortam sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparat ışık mikroskobu altında 40X objektif ile incelenmiş olup mor renkli olanlar gram (+), kırmızı renkli olanlar ise gram (-) olarak sınıflandırılmıştır (Sert 2011).

Katalaz testi

Katalaz enzimi çoğu mikroorganizma tarafından üretilen bir enzimdir. Bu nedenle mikroorganizmaları sınıflandırmak için de kullanılabilir. Bu testi uygulamak için, temiz bir lam üzerine % 3'lük H₂O₂ damlatılmış, daha sonra saf kültürden bir lop alınıp bu damla ile temas ettirilmiştir. Damlada kabarcık oluşumunun gözlenmesi katalaz (+), gözlenmemesi katalaz (-) olarak değerlendirilmiştir (Harrigan and McCance 1966).

Koagülaz testi

BPA'da saf olarak elde edilen muhtemel *Staphylococcus aureus* kolonileri BHI Broth da 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra bu kültürden 0,1 mL alınarak içinde 0,3 mL tavşan kanı plazması (Merck) bulunan deney tüplerine aktarılmıştır. Ardından tüpler 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar tavşan kanı plazması ve mikroorganizma süspansiyonunun 24 saat sonundaki koagülasyon durumu Şekil 8 dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Az sayıda organize olmamış topaklanmalar da negatif olarak kabul edilmiştir (Sperber and Tatini 1975; Pichhardt 2004; Alnakip *et al.* 2019).



Şekil 8. Koagülasyon testi tüp sonuçlarının değerlendirilmesi (Sperber and Tatini 1975)

Genetik analizler

Çalışmada izole edilerek -80 °C'de muhafaza edilen suşlar aşağıda belirtildiği gibi tekrar canlandırılarak saflıkları kontrol edilmiş ve moleküler tanıları gerçekleştirilmiştir.

Bunun için öncelikle DNA izolasyonu yapılmış, ardından RAPD-PCR ile tür ve suş bazında gruplandırılmışlardır. Daha sonra bu gruplardan birer tane örnek temsili olarak seçilerek PCR işlemi sonrası 16S rRNA sekans verilerine göre tanımlama gerçekleştirilmiştir.

İzolatların tekrar canlandırılması

Derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edilen izolatlar uygun besiyerlerine (MRS, M17, KAA) çizim yapılarak inkübe edilmiştir. Daha sonra besiyerinde gelişim özellikleri ve saflıkları kontrol edilmiştir. Ardından genç kültürler steril dd H₂O içerisine alınarak DNA izolasyonunda kullanılmak amacıyla -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için ilk olarak -20 °C’ de muhafaza edilen kültür süspansiyonundan 100 µL alınarak steril 1,5 mL’lik eppendorf tüpünde 500 µL steril saf su ile karıştırılmış ardından 5000×g, 4 °C’de 3 d santrifüj edilmiştir. Daha sonra üç defa fosfat tamponu ile yıkanan süspansiyona 0,5 mL 6 M üre ve 0,1 mL % 10 SDS ilave edilerek 37°C’de 20 d inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra bu solüsyon 95 °C’de 5 d tutulmuş olup 8000×g’de 25 °C’de 10 d santrifüj edilmiştir. Bu işlemin ardından süpernatant kısmı uzaklaştırılmış olup kalan kısım (pellet) üzerine 0,1 mL 0,2 N NaOH eklenerek 37 °C’de 10 d inkübe edilmiştir. 3000 g’de 25 °C’de 3 dakika santrifüj edilerek nükleik asit harici hücre parçalarının ayrılması amaçlanmıştır. DNA’nın saflaşması amacıyla 2,5 hacim absolute (mutlak) alkol ilave edilerek -20 °C’de 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra 13200 g’de, 4 °C’de 15 d santrifüj işlemine tabi tutulmuş olup %70’lik etanol ile yıkanmıştır. DNA pelletinin PCR işlemine hazır hale getirilmesi amacıyla oda sıcaklığında kuruması beklenmiş ve daha sonra 20 µL Tris-EDTA (TE) tamponunda tekrar süspanse edilmiştir (Singh and Ramesh 2009).

İzolasyonu takiben DNA konsantrasyonunun ve PCR işlemi için gerekli olan DNA süspansiyon miktarının belirlenebilmesi için, Take3 aparatı takılı Epoch (BioTek) cihazı yardımıyla 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan absorbans değerleri okunmuştur.

İzolatların moleküler yöntemlerle gruplandırılması

Tür ve suş bazında gruplandırılma yapılabilmesi için izolatlara RAPD PCR (randomly amplified polymorphic DNA) tekniği uygulanmış olup primer olarak (GTG)₅ primeri (5’GTGGTGGTGGTGGTG-3’) kullanılmıştır. PCR tüpleri içerisine 7,5 µL master mix, 1 µL template DNA, 1 µL primer ((GTG)₅) ve 5,5 µL su olacak şekilde toplamda 15 µL PCR karışımı hazırlanmıştır. PCR işleminde protokol ise; 95 °C’de 10 d denatürasyon ardından 35 siklüs olacak şekilde 95 °C’de 20 s ayrılma, 50 °C’de 60 s bağlanma ve 72 °C’de 90 s uzama

ve son olarak 72 °C’de 10 dakika uzama şeklinde uygulanmıştır. PCR işlemine tabi tutulan karışımdan 12-13 µL alınarak % 2’lik agaroz jele yüklenmiş olup 35 V’luk gerilimde 6 saat boyunca yürütülmüştür. Sonrasında UV ışık altında izolatların fingerprintleri belirlenmiş ve benzer suşlar gruplandırılmıştır. Oluşturulmuş olan her gruptan bir tane temsili suş seçilip sekans analizi için kullanılmıştır (Vasdinyei and Dea’k 2003).

İzolatların genotipik tanısı

Seçilen temsili suşlar genotipik tanılama için 16S rRNA-PCR işlemine tabi tutulmuş olup primer olarak 8F (5’-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3’) ve 534 R (5-ATT ACC GCG GCT GCT GGC-3’) primerleri kullanılmıştır. Bulut (2003)’un kullandığı yöntem modifiye edilerek PCR karışımı 50 µL olarak hazırlanmıştır. Ayrıca PCR işleminde kullanılan süre ve sıcaklıklar ise; 95°C’de 10 d denatürasyon, 35 siklüs olacak şekilde 95 °C’de 20 s ayrılma, 59,5 °C’de 60 s bağlanma ve 72 °C’de 90 s uzama ve son olarak 72 °C’de 10 dakika uzama şeklinde gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyonu tamamlanan örnekler dizi analizi için ilgili laboratuvara gönderilmiştir. Dizi analizi sonuçları ise NCBI (Amerikan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi), BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) algoritması kullanılarak analiz edilmiştir.

Fizikokimyasal analizler

Erzurum ve yöresinden temin edilen Küflü Civil (Göğermiş) Peynir örneklerinin mikrobiyotası üzerine etkisi olup olmadığını incelemek ve bazı fizikokimyasal özelliklerinin belirlemek amacıyla su aktivitesi, pH, titrasyon asitliği ve tuz tayini gibi analizler gerçekleştirilmiştir.

Su aktivitesi tayini

Peynir örneklerinin su aktivitesi 25 °C’de Novasina su aktivitesi ölçüm cihazı aracılığıyla ölçülmüştür. Ölçüm öncesi cihaz kendi standartları ile kalibre edilmiştir (Yildiz *et al.* 2010).

pH tayini

Küflü Civil Peyniri’nin pH’sının belirlenebilmesi için 10 g örnek 10 mL saf su ile iyice karıştırılmıştır. pH metre uygun tampon çözeltilerle kalibre edildikten sonra hazırlanan karışıma pH metrenin (Hanna pH-211) probunun daldırılması suretiyle peynir örneklerinin pH’sı belirlenmiştir (Cakmakci *et al.* 2012).

Titrasyon asitliği tayini

Peynirlerde % laktik asit cinsinden belirtilen bir değer olan titrasyon asitliğini belirlemek için; 10 g peynir tartılarak 40  C sıcaklığında bir miktar saf su ilave edilerek ezilmiştir. Suyu 100 mL’lik ölçü balonuna aktarıldıktan sonra bu işlem balonun çizgisi tamamlanana kadar tekrar edilmiş ardından s z lm şt r. S z nt den 25 mL alınarak 2-3 damla fenolftalein indikatörü ilave edildikten sonra 0,1 N NaOH  zeltisi ile en az 30 s kalıcı pembe renk elde edene kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarı aşağıdaki formülde yerine konularak Küflü Civil Peynir’in asitliği hesaplanmıştır (Kurt vd 2012; İspirli 2016).

$$\% \text{ Laktik asit} = \frac{\text{} \times 0,009}{P} \times 100$$

 = Harcanan NaOH miktarı (mL)

P = Titrasyonda kullanılan peynir miktarı (g), (10 g tartılmışsa bu değer 2,5 olur.)

Tuz tayini

Küflü Civil Peynir’de tuz tayini için 5 g peynir havanda tartılarak üzerine sıcak saf su ilave edilip iyice ezilmiş olup suyu 500 mL’lik ölçü balonuna aktarılmıştır. Bu işlem tüm tuzun suya geçmesini sağlamak amacı ile 5-6 kez tekrar edilmiştir. Balon soğuduktan sonra çizgisine kadar normal sıcaklıktaki saf su ile tamamlanmış ardından s z lm şt r. S z nt den 25 mL alınarak 1-2 damla potasyum kromat (K₂CrO₄) indikatörü eşliğinde 0,1 N gümüş nitrat (AgNO₃)  zeltisi ile kırmızı kiremit rengi oluşuncaya dek titre edilmiş ve harcanan AgNO₃ aşağıdaki formülde yerine konularak peynirdeki tuz miktarı hesaplanmıştır (Kurt vd 2012).

$$\% \text{ Tuz} = \frac{G \times 0,585}{P}$$

G = Harcanan AgNO₃ miktarı (mL)

P = Titrasyonda kullanılan peynir miktarı (g), (5 g tartılmışsa bu değer 0,25 grama tekabül eder.)

İstatistiksel analizler

Denemede elde edilen veriler ortalamaların değerlendirilmesi, varyans analizi ve korelasyon sonuçlarının elde edilmesi amacıyla SPSS 20.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sekans analiz sonuçları kullanılarak filogenetik ağacın oluşturulmasında MEGA5 programından yararlanılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmada Erzurum ve yöresinden 16'sı ev tipi olmak üzere toplam 27 Küflü Civil Peynir temin edilerek mikrobiyotasında bulunan TAMB, muhtemel Laktik asit bakterileri (Laktik basil ve kok ve *Enterococcus* spp.), Maya, Küf, *Staphylococcus aureus* ve Koliform grubu bakterilerin sayımı gerçekleştirilmiştir. Ayrıca muhtemel LAB olduğu düşünülen bakteriler izole edilerek tanımlanmıştır. Peynir örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacı ile su aktivitesi, pH, asitlik ve tuz tayini de gerçekleştirilmiştir.

Küflü Civil Peynir örneklerinde yapılan mikrobiyolojik sayım sonuçları log kob/g şeklinde Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Küflü Civil Peynir örneklerinde yapılan mikrobiyolojik sayım sonuçları (log kob/g)

Numune	Tekerrür	Laktik Basil	Laktik kok	Enterok	TAMB	Maya	Küf	<i>S. aureus</i>	Koliform
1	1	8,1	7,0	5,6	7,8	<2	<2	<2	<1
	2	8,2	7,2	5,7	7,9	<2	<2	<2	<1
2	1	7,6	6,9	6,0	6,7	6,5	<2	<2	<1
	2	7,7	7,0	6,5	6,8	6,7	<2	<2	<1
3	1	<2	<2	<2	6,1	<2	6,0	<2	<1
	2	<2	<2	<2	6,3	<2	5,8	<2	<1
4	1	7,5	7,3	5,6	7,5	<2	7,8	<2	<1
	2	7,6	7,5	5,4	7,6	<2	7,7	<2	<1
5	1	7,9	7,0	6,2	7,4	6,8	<2	2,5	2,0
	2	7,9	7,2	5,9	7,3	7,1	<2	2,7	1,7
6	1	7,8	7,8	5,5	7,7	6,9	<2	<2	<1
	2	7,9	7,9	5,4	7,8	7,0	<2	<2	<1
7	1	6,2	5,3	4,8	5,4	5,2	5,5	<2	<1
	2	6,3	5,3	4,5	5,4	5,1	5,4	<2	<1
8	1	6,8	8,4	6,3	7,3	7,5	6,8	2,5	1,8
	2	6,9	8,4	6,4	7,3	7,3	7,0	2,7	1,6
9	1	4,5	6,5	2,3	4,3	7,2	5,5	<2	<1
	2	4,0	6,9	2,6	4,0	7,3	5,4	<2	<1
10	1	8,0	8,0	5,8	8,3	7,8	6,8	<2	2,8
	2	8,1	8,1	5,6	8,2	7,8	7,0	<2	3,0
11	1	6,9	8,5	4,3	8,6	7,0	7,6	<2	2,1
	2	6,8	8,5	4,5	8,6	6,8	7,4	<2	2,2
12	1	7,2	6,0	4,1	6,5	6,0	5,8	<2	1,9
	2	7,0	6,0	4,1	6,6	5,9	6,0	<2	2,0
13	1	5,3	4,0	2,5	5,7	6,8	4,0	<2	1,9
	2	5,5	4,6	2,6	5,8	6,0	4,0	<2	2,0
14	1	7,4	8,3	4,3	8,6	8,3	7,4	<2	2,0
	2	7,5	8,3	4,0	8,6	8,1	7,3	<2	2,2

Tablo 8. (devamı)

15	1	6,9	6,8	5,7	6,6	7,8	6,9	<2	1,0
	2	7,0	6,8	5,7	6,8	7,9	7,1	<2	<1
16	1	5,9	4,0	<2	6,3	6,6	<2	<2	<1
	2	5,8	4,3	<2	6,8	7,0	<2	<2	<1
17	1	6,6	8,3	3,9	8,3	6,8	7,4	<2	<1
	2	6,3	8,4	3,9	8,4	6,9	7,3	<2	1,0
18	1	7,5	7,8	6,0	8,0	4,6	6,3	<2	2,6
	2	7,7	8,0	6,1	8,0	4,7	6,8	<2	2,4
19	1	7,2	8,5	6,0	8,9	8,6	6,7	<2	1,9
	2	7,2	8,6	6,0	8,8	8,5	6,7	<2	2,1
20	1	6,0	5,0	4,3	5,3	4,9	7,0	<2	<1
	2	6,0	4,9	4,3	5,3	5,1	6,7	<2	<1
21	1	6,8	8,0	5,4	8,0	7,8	7,2	<2	<1
	2	7,0	7,8	5,5	8,1	8,0	6,9	<2	1,0
22	1	7,0	7,3	5,6	7,1	7,0	7,7	<2	1,7
	2	6,8	7,4	5,7	7,2	7,1	7,7	<2	1,8
23	1	8,1	7,4	4,8	7,9	<2	<2	<2	<1
	2	8,2	7,3	4,9	8,0	<2	<2	<2	<1
24	1	7,6	7,4	5,8	7,8	6,0	7,7	<2	<1
	2	7,8	7,5	5,6	7,8	6,5	7,7	<2	<1
25	1	7,5	7,5	5,8	7,8	5,6	7,3	<2	<1
	2	7,4	7,7	5,9	7,8	5,5	7,4	<2	<1
26	1	7,5	7,7	5,5	7,6	7,4	7,7	<2	<1
	2	7,4	7,6	5,4	7,8	7,2	7,5	<2	<1
27	1	7,4	7,5	5,9	7,7	6,0	7,2	<2	<1
	2	7,4	7,3	5,9	7,6	6,5	7,2	<2	1,0
Maksimum		8,2	8,6	6,5	8,9	8,6	7,8	2,7	3,0
Minimum		<2	<2	<2	4,0	<2	<2	<2	<1
Standart Sapma		1,6	1,8	1,7	1,1	2,6	2,9	0,7	1,0
Ortalama		6,8	6,9	4,7	7,3	5,8	5,3	0,2	0,8

Yapılan incelemelerin ardından peynir örneklerinde, en yüksek TAMB sayısı 8,9 log kob/g, en düşük değer ise 4,0 log kob/g olarak belirlemiştir. Peynir örneklerindeki ortalama TAMB sayısı ise 7,3 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

LAB'lardan laktik basillerin sayısı en yüksek 8,2 log kob/g, en düşük ise 2 log kob/g den daha düşük olduğu gözlenirken, ortalama değer ise 6,8 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Örneklerin barındırdığı Laktik kok sayısı en yüksek 8,6 log kob/g bulunmuşken, en düşük değer <2 log kob/g, ortalama değer ise 6,9 log kob/g olduğu gözlenmiştir.

Peynir örneklerinde bulunan Enterokok düzeyi ise 6,5 log kob/g en yüksek, en düşük <2 log kob/g, ortalama değer ise 4,7 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

İlgili örneklerde maya sayısı en yüksek, en düşük ve ortalama olarak sırasıyla 8,6; <2 ve 5,8 log kob/g olarak hesaplanmıştır.

Yapılan incelemelerin ardından küf sayısı en yüksek 7,8 log kob/g iken, en düşük <2 log kob/g olarak bulunmuştur. Ortalama küf sayısı ise 5,3 log kob/g olarak kaydedilmiştir.

Örneklerin *S. aureus* sayım sonuçları ise en yüksek 2,7 log kob/g bulunmuşken, en düşük <2 log kob/g olarak ölçülmüştür. Ortalama *S. aureus* sayısı 0,2 log kob/g olarak tespit edilmiştir. İlgili besiyerinde (BPA) tipik koloniler (dışbükey, 1-1,5 mm çapında, siyah, parlak, opak olan besiyerinde 2-5 mm kadar genişleyebilen berrak (açık) zon oluşturan) koagülasyon özelliklerinin belirlenmesi amacıyla incelenmiş ve hiçbir suş koagülaz pozitif olarak tespit edilmemiştir. Bu durum Küflü Civil Peyniri'nin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne uygun olduğunun bir göstergesidir (Anonim 2011).

Küflü Civil Peyniri'ndeki en yüksek Koliform sayısı 3,0 log kob/g, en düşük <1 log kob/g, ortalama 0,8 log kob/g olarak belirlenmiştir.

Genetik Bulgular

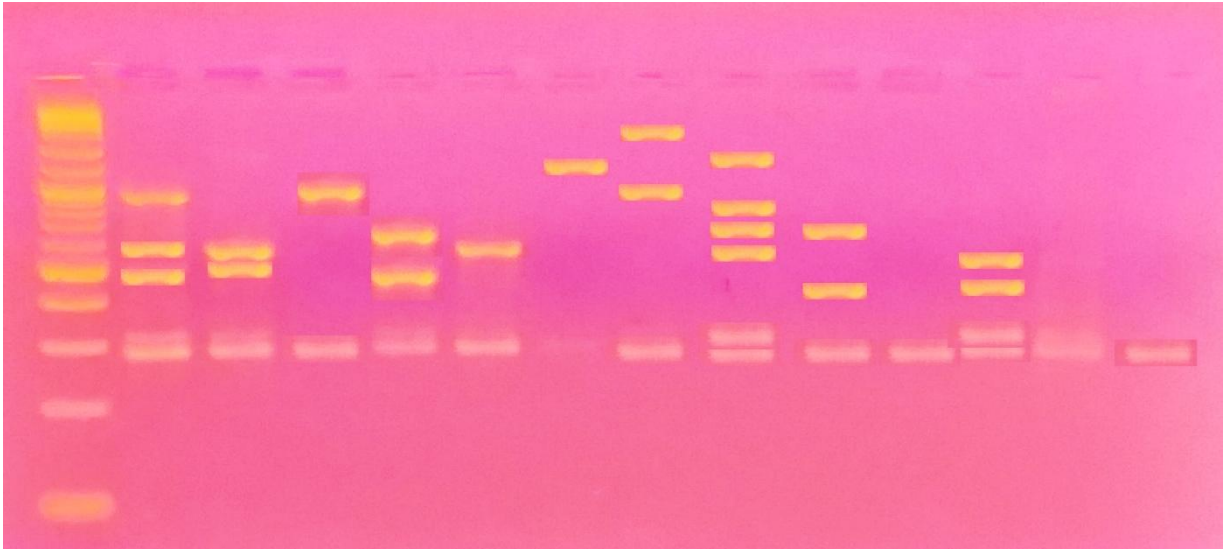
Küflü Civil Peynir örneklerinden MRS'de 136, M17'de 84 ve KAA'da ise 58 olmak üzere toplamda 278 izolat elde edilmiştir. Bu izolatlar RAPD-PCR işlemine tabi tutularak ilgili gen bölgeleri (GTG)₅ primeri kullanılarak çoğaltılarak jel elektroforezde yürütülmüş ve genetik parmak izlerine (fingerprint) göre 13 farklı şekilde gruplandırılmıştır. Daha sonra bu gruplardan birer tane temsili örnek seçilip 16S rRNA bölgesi PCR ile çoğaltılmış ve sekans işlemine gönderilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre belirlenen Göğermiş Peynir'lerdeki LAB mikrobiyotası Tablo 10'da verilmiştir.

Çalışmada, izolasyon aşamasında sadece LAB olabilecek gram pozitif, katalaz negatif suşların yanı sıra M17 besiyerinde sıkça rastlanılan gram pozitif, katalaz pozitif suşlar da muhtemel non-laktik floranın ortaya koyulması adına tanı prosedürüne alınmıştır. Bu suşlar ile ilgili sayısal veriler Tablo 9'da verilmiştir. Görüldüğü üzere 55 suş, 3 tekkerrüre rağmen DNA izolasyonu gerçekleştirilemediğinden tanılanamamıştır. Tanısı gerçekleştirilen non-laktik suşların *Psychrobacter* sp. ve *Staphylococcus equorum* olduğu saptanmıştır. Bu durum M17 besiyerinin laktik floranın belirlenmesi amacıyla kullanılmasında yeterli olmadığını göstermektedir.

Tablo 9. İzolatların genel özellikleri ve sayısal dağılımları

Suş özelliği	Çalışılan	Çalışılmayan	Toplam
Gram pozitif, katalaz negatif	202	22	224
Gram pozitif, katalaz pozitif	21	33	54
Toplam	223	55	278

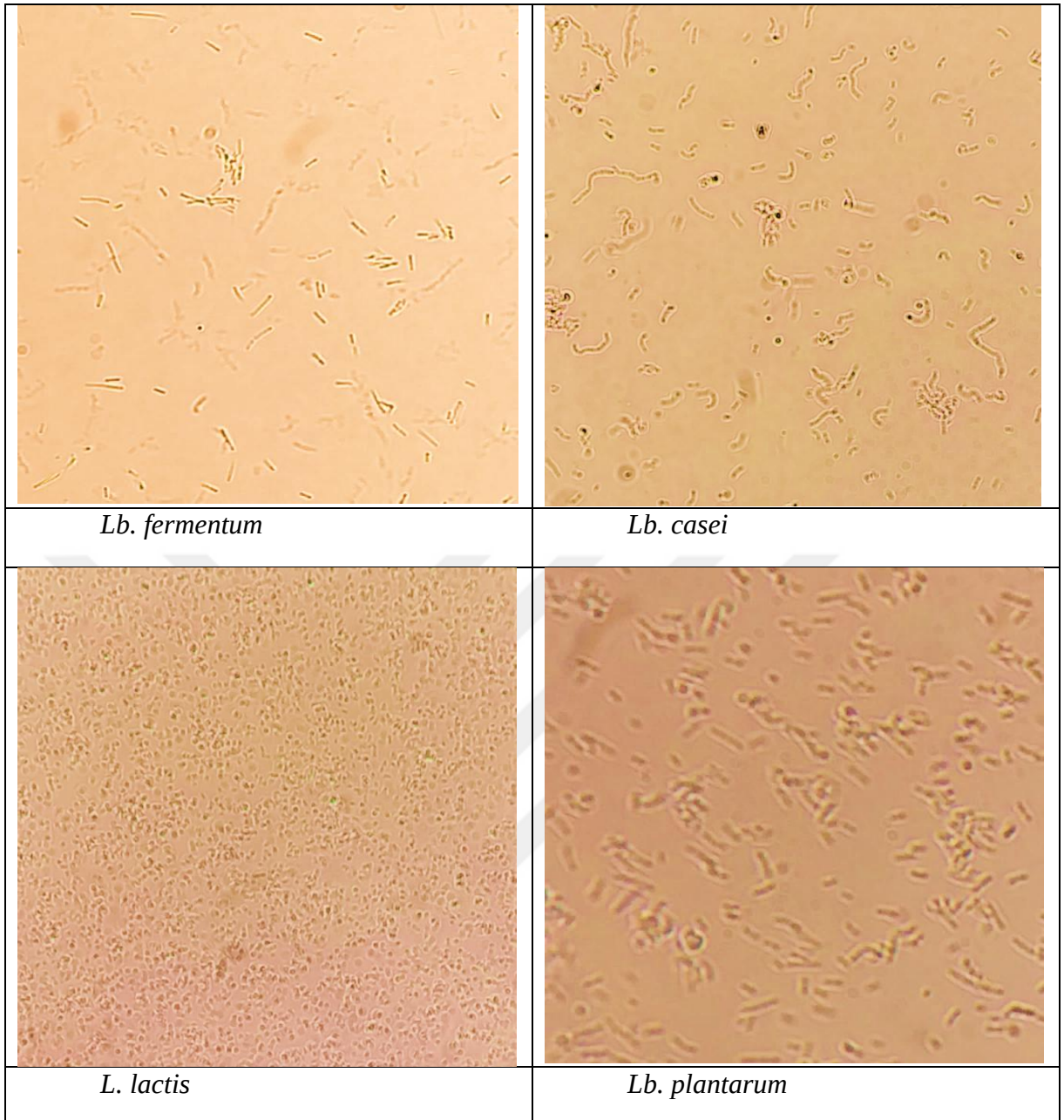
Çalışmada 223 izolatın genomik DNA parmak izleri belirlenmiş olup bunların 13 farklı grupta toplandığı gözlenmiştir. Şekil 9 incelendiğinde 13 farklı grubun 11'inin laktik (LAB) diğer 2'sinin ise non-laktik (NLAB) cinsler olduğu görülmektedir. Tablo 10'da görüldüğü üzere sonuçlar izolasyon işlemlerine göre beklenen şekilde çıkmıştır.



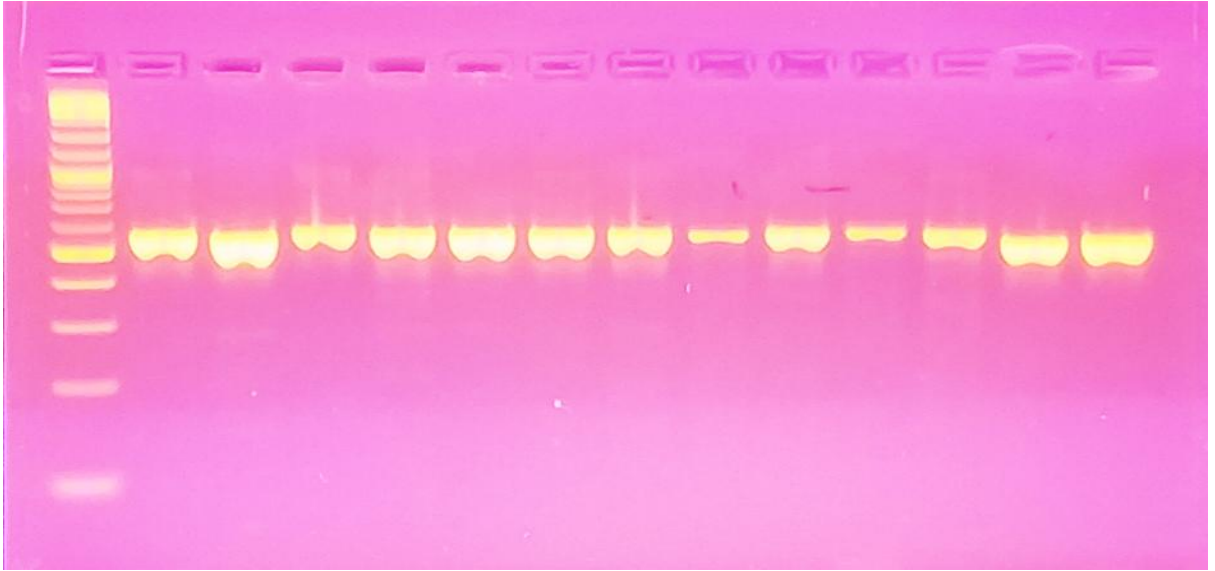
Şekil 9. İzolatlara ait farklı grupların agaroz jel parmak izleri

Yapılan RAPD- PCR işleminin ardından izolatlar DNA parmak izlerine göre 13 farklı şekilde gruplandırılmış ve bu gruplardan temsili olarak birer suş seçilerek 16S rRNA-PCR işlemine tabi tutulmuştur. PCR işleminde 8F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') ve 534 R (5-ATT ACC GCG GCT GCT GGC-3') primerleri kullanılarak ilgili gen bölgeleri çoğaltılmış ve Şekil 11'de görüldüğü gibi bantlar elde edilmiştir. Suşların dizi analizi için hizmet alımı yapılarak, sonuçlar NCBI, BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) algoritması kullanılarak analiz edilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde 11 LAB türü ve 2 NLAB cinsi tanımlanmıştır. İlgili suşların tanı sonuçları değerlendirilmiş ve LAB'ların; *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus lactis*, ve *Enterococcus durans* olduğu, NLAB'ların ise *Psychrobacter* sp. ve *Staphylococcus equorum* olduğu belirlenmiştir. İzole edilen bazı suşlara ait görüntüler Şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. Denemede izole edilen bazı bakterilere ait mikroskop görüntüleri



Şekil 11. Temsili suşların 16S- rRNA PCR işlemine ait bantlar

Sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda Küflü Civil Peynir örneklerinde LAB'ların hakim flora olarak işlev gördüğü belirlenmiştir. LAB'lardan, *Lactococcus lactis* peynir örneklerinin çoğunda (% 89) bulunmuş, *Lactobacillus alimentarius*'un ise önemli düzeyde (% 74) olduğu belirlenmiştir. NLAB'lardan *Staphylococcus equorum*'un % 37'sinde *Psychrobacter* sp.'in ise örneklerin % 22,2'sinde olduğu tespit edilmiştir. Tablo 10'da tanısı yapılan suşlar ile ilgili bazı önemli bilgiler verilmiştir.

Peynir örneklerinin % 89'unda mevcut olan *Lactococcus lactis*'in, kefirde baskın olarak bulunduğu, biyofilm oluşturduğu, nisin bakteriyosinini ürettiği ve bu nedenle çok sayıda mikroorganizma üzerinde inhibisyon yeteneğinin olduğu, EPS ürettiği, GABA ürettiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu özellikler *Lactococcus lactis*'e fonksiyonellik katmakta ve ayrıca starter kültür ve probiyotik olarak kullanımında merkezi rol oynamaktadır.

Sonuçlar incelendiğinde peynir örneklerinde baskın bulunan (%74) bir diğer türün *Lactobacillus alimentarius* olduğu görülmektedir. Bu bakteri lactosin bakteriyosinini üreterek Gram (+) ve Gram (-) gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı inhibisyon yeteneğinin olduğu ve böylece gıdalarda biyo koruyucu olarak kullanılabileceği ön görülmektedir (Hu *et al.* 2017).

İncelenen peynir örneklerinin % 55,5'inde olduğu tespit edilen *Lactobacillus fermentum*'un bazı suşlarının konjuge linoleik asit ürettiği, antikanser etki gösterdiği, EPS ürettiği (Ale *et al.* 2020), ayrıca sıcaklığa ve mide pH'sına direnç gösterdiği belirtilmiştir. Bu nitelikler bu tür bakterinin probiyotik olmasında önemli avantajlar sağlamaktadır.

Lactobacillus casei çoğu peynirde yaygın olarak bulunan mezofil laktobasillerden birisidir ve bazı durumlarda yardımcı kültür olarak da kullanılmaktadır (Josephsen and

Jespersen 2004). Yapılan araştırmalar sonucunda ilgili Küflü Civil Peynir örneklerinde % 37 oranında *Lactobacillus casei* türüne rastlanılmıştır.

Yapılan incelemenin ardından peynir örneklerinin % 48'inde bulunan *Enterococcus lactis* 'in iyi bir biyofilm üreticisi olduğu ve bu özelliğiyle bağırsakta kolonize olarak extrem  evre şartlarına uyum sağlayabileceği düşünülmektedir (Akoğlu 2020). *Enterococcus durans* ise örneklerin % 33,3' nde izole edilmiştir. Geleneksel peynir çeşitlerinde izole edilen bu bakterinin EPS ürettiği, kefir gibi fermente süt ürünlerinde bulunduğu da bildirilmektedir.

Lactobacillus kefir kefiran üreten ve kefirde hakim olarak bulunan, fonksiyonel özelliği fazla olan ve peynirde de sekonder flora olarak bulunabilen laktobasillerden birisidir. Araştırılan peynir örneklerinin % 14,8'inde bulunduğu tespit edilmiştir. Örneklerin % 10'unda olduğu belirlenen *Lactobacillus plantarum* ise fermente gıdalarda sıklıkla izole edilen, probiyotik ve starter olarak kullanıldığı bilinen önemli LAB türlerindendir.

Staphylococcus equorum 'un ise incelenen peynir örneklerinin % 37'sinde olduğu belirlenmiştir. Yüzeyi Olgunlaştırılan İsviçre Peyniri gibi peynir çeşitlerinde baskın flora olan *Staphylococcus equorum* 'un alt türlerinin peynirin tat ve aroma gelişimine katkı sağladığı belirlenmiş ve starter olarak kullanımı araştırma konusu olmuştur (Place *et al.* 2003).

Yapılan incelemeler sonucunda deneme peynirlerinin % 22,2'sinde mevcut olduğu bilinen *Psychrobacter sp.* 'nin ise peynirde tat ve aroma gelişimine katkı sağladığı belirlenmiştir (Deetae *et al.* 2009).

Tablo 10. Denemede kullanılan Göğermiş Peynir’lerin LAB mikrobiyotası

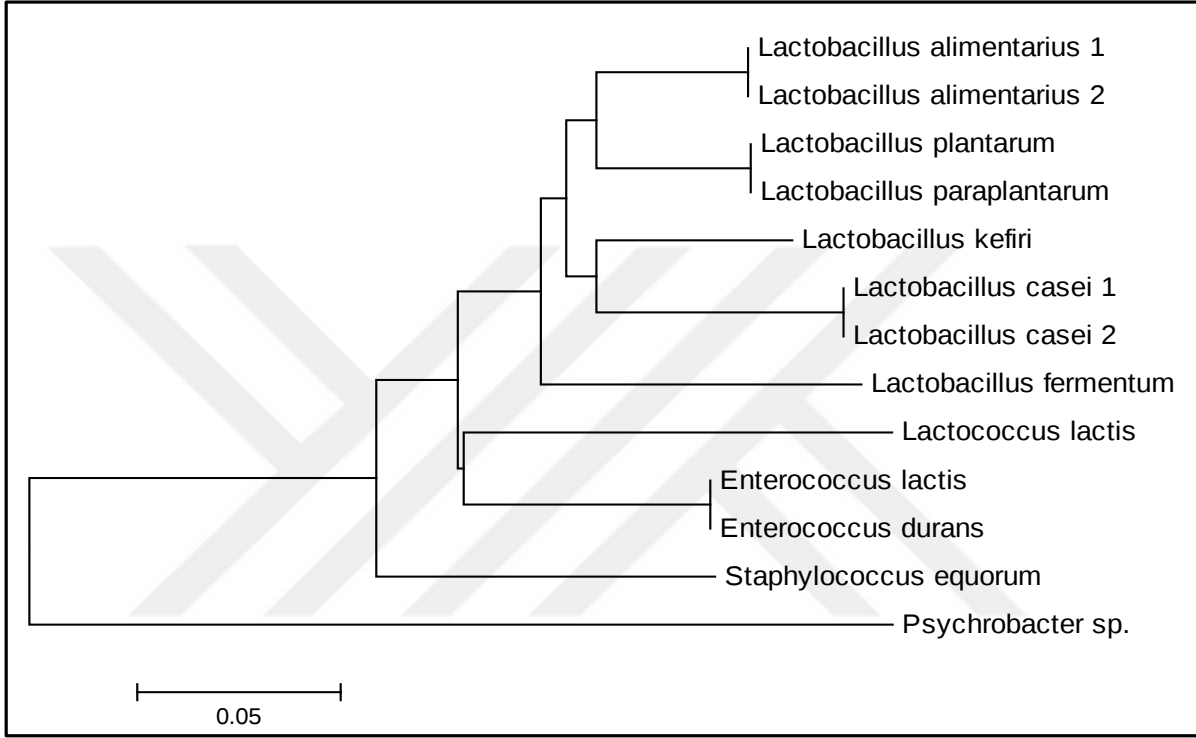
Sıra	Genetik tanı sonucu	Genetik benzerlik oranı (%)	Sekans ID	Temsil ettiği izolat sayısı	Temsil ettiği izolatların kodları	İzolatlar içindeki yüzdesi	Peynir örnekleri içindeki yüzdesi	Numune kodu
1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	99	MN368561.1	21	1, 3, 9, 13, 34, 35, 46, 50, 61, 64, 68, 69, 71, 91, 132, 148, 208, 211, 214, 216, 215	9,42	55,5	N1, N4, N6, N7, N8, N10, N11, N12, N14, N15, N16, N17, N19, N26, N27
2	<i>Lactobacillus alimentarius</i>	99	MT044903.1	18	38, 43, 44, 45, 54, 72, 76, 90, 232, 420, 421, 439, 441, 449, 453, 454, 462, 463	8,07	29,6	N11, N12, N16, N19, N21, N22, N23, N27
3	<i>Lactobacillus kefir</i>	99	KT368995.1	4	49, 53, 133, 140	1,79	14,8	N10, N14, N24, N37
4	<i>Lactobacillus casei</i>	99	MT045986.1	13	38, 52, 65, 66, 89, 92, 104, 149, 446, 448, 449, 462, 463,	5,83	22,2	N12, N17, N18, N20, N23, N26
5	<i>Lactobacillus alimentarius</i>	99	KX648880.1	36	5, 36, 63, 79, 85, 128, 138, 142, 231, 233, 234, 263, 265, 270, 275, 276, 400, 401, 402, 403, 404, 416, 418, 423, 443, 448, 452, 454, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 464, 466	16,14	63	N1, N2, N4, N10, N11, N14, N15, N17, N18, N20, N21, N22, N23, N24, N25, N26, N27
6	<i>Lactobacillus plantarum</i>	99	MH392905.1	4	2, 70, 73, 108	1,79	11,1	N1, N16, N25
7	<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	99	MF429234.1	1	111	0,45	3,7	N25

Tablo 10. (devamı)

8	<i>Lactococcus lactis</i>	99	MT093442.1	66	6, 7, 8, 11, 29, 30, 31, 32, 33, 37, 39, 40, 59, 74, 78, 80, 83, 84, 87, 93, 96, 97, 98, 100, 105, 106, 107, 108, 109, 114, 115, 116, 118, 119, 122, 124, 126, 127, 129, 131, 137, 141, 146, <u>209</u> , 230, 231, 240, 276, 405, 406, 422, 424, 432, 434, 435, 436, 438, 440, 441, 442, 443, 444, 447, 450, 451, 455	29,6	89	N2, N4, N5, N6, N7, N8, N10, N11, N12, N13, N14, N15, N16, N17, N18, N19, N20, N21, N22, N23, N24, N25, N26, N27
9	<i>Lactobacillus casei</i>	98	MH924338.1	7	4, 48, 51, 132, <u>215</u> , 272, 417	3,14	14,8	N1, N7, N10, N27
10	<i>Enterococcus lactis</i>	99	MF067251.1	21	95, 104, 123, 133, 139, 143, 150, 206, 210, 233, 263, 266, <u>268</u> , 274, 275, 277, 418, 423, 426, 427, 428,	9,42	48	N5, N8, N11, N13, N14, N18, N19, N20, N23, N24, N25, N26, N27
11	<i>Enterococcus durans</i>	99	MF425449.1	11	51, 62, 67, 75, 76, 77, 86, 92, 278, 419, <u>433</u>	4,93	33,3	N10, N11, N15, N17, N18, N19, N21, N22, N26
12	<i>Psychrobacter</i> sp.	99	MN704099.1	9	200, 201, 202, 229, 235, 242, 244, 247, <u>252</u>	4,03	22,2	N2, N15, N18, N19, N20, N22,
13	<i>Staphylococcus equorum</i>	99	MK696232.1	12	203, 212, 213, 218, 221, 223, 224, 239, 244, 248, 251, <u>259</u>	5,38	37	N2, N8, N10, N11, N12, N14, N18, N19, N20, N21

Altı çizili suşlar, temsili olarak seçilip tanıda kullanılan suşları belirtmektedir.

Çalışmada farklı cins ve tür izolatlar elde edilmiş olup bu suşların birbirleriyle genetik yakınlıkları ortaya konulmuştur. Bu amaçla oluşturulan filogenetik ağaç Şekil 12’de sunulmuştur. Şekil 12 incelendiğinde cins ve tür seviyesinde farklılıkların anlamlı ve net bir şekilde ortaya koyulduğu görülmektedir. İlgili şekilde aynı tür izolatların benzerlik oranları aynı iken en büyük farkın *Psychrobacter* sp. ile *Lb. alimentarius* arasında olduğu görülmektedir. Çalışmada tanısı yapılan türlere ait kromotogram görüntüleri EK-1’de verilmiştir.



Şekil 12. İzolatlara ait dendrogram (filogenetik ağaç)

Fizikokimyasal Bulgular

Peynir örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve mikrobiyal gelişmeye etkisini tespit etmek amacıyla su aktivitesi, pH, tuz ve asitlik gibi parametreler ölçülmüştür. Çalışmada kullanılan Erzurum Küflü Civil Peynir örneklerine ait bazı fizikokimyasal parametreleri Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. Denemede kullanılan peynir örneklerinin bazı fizikokimyasal parametreleri

Örnek No	Tekerrür	Su Aktivitesi (a _w)	pH	Tuz (%)	(%) Asitlik
1	1	0,924	4,87	6,55	0,82
	2	0,921	4,92	7,02	0,81
2	1	0,870	4,60	8,42	0,43
	2	0,872	4,53	8,66	0,41
3	1	0,855	4,48	9,83	0,62
	2	0,854	4,50	9,59	0,62
4	1	0,888	6,03	7,72	0,91
	2	0,888	6,28	8,19	0,94
5	1	0,914	4,83	6,08	0,39
	2	0,913	4,85	6,32	0,41
6	1	0,942	4,66	3,98	0,52
	2	0,940	4,61	3,98	0,55
7	1	0,906	4,00	4,91	0,57
	2	0,907	3,95	5,85	0,55
8	1	0,917	6,18	7,02	0,32
	2	0,916	6,32	7,25	0,30
9	1	0,868	4,58	8,19	0,27
	2	0,868	4,62	7,96	0,27
10	1	0,932	5,22	5,38	0,61
	2	0,933	5,18	5,62	0,61
11	1	0,875	7,78	11,47	0,12
	2	0,877	7,83	12,40	0,11
12	1	0,895	5,37	6,32	0,50
	2	0,895	5,37	6,77	0,52
13	1	0,857	4,26	11,93	0,48
	2	0,855	4,53	12,17	0,50
14	1	0,894	6,55	8,66	0,32
	2	0,894	6,51	8,42	0,36
15	1	0,885	5,31	8,42	0,25
	2	0,889	5,34	8,19	0,25
16	1	0,879	4,27	6,32	1,02
	2	0,879	4,27	6,77	0,98
17	1	0,888	6,61	7,25	0,45
	2	0,888	6,59	7,49	0,46
18	1	0,913	5,92	5,85	0,48
	2	0,913	5,85	5,85	0,48
19	1	0,908	5,60	7,72	0,50
	2	0,903	5,62	8,19	0,52
20	1	0,879	4,52	7,25	0,32
	2	0,878	4,45	7,25	0,32
21	1	0,880	4,81	8,19	0,28
	2	0,881	5,26	8,42	0,28

Tablo 11. (devamı)

22	1	0,886	5,12	7,96	0,62
	2	0,883	5,12	8,19	0,64
23	1	0,922	4,82	5,12	0,71
	2	0,923	4,82	4,91	0,69
24	1	0,894	4,98	5,85	0,36
	2	0,890	4,97	6,10	0,37
25	1	0,890	5,79	4,21	0,37
	2	0,890	6,03	4,45	0,36
26	1	0,892	5,20	8,42	0,46
	2	0,894	5,22	9,13	0,46
27	1	0,910	4,61	5,85	0,28
	2	0,910	4,85	6,32	0,27
Maksimum		0,94	7,83	12,40	1,02
Minimum		0,85	3,95	3,98	0,11
Standart Sapma		0,02	0,86	1,94	0,21
Ortalama		0,89	5,25	7,34	0,48

Yapılan incelemenin ardından peynir örneklerinin su aktivite değerlerinin 0,85- 0,94 arasında değiştiği ve ortalama değerin ise 0,89 olduğu belirlenmiştir.

Bu örneklerin pH değeri en yüksek 7,83; en düşük 3,95 olarak tespit edilmiş ve ortalama olarak 5,25 saptanmıştır.

Peynirlerdeki tuz oranının % 3,98- 12,40 arasında değiştiği belirlenmiş ortalama tuz oranı ise % 7,34 olarak tespit edilmiştir.

İlgili peynirlerin asitliği ise en yüksek % 1,02 iken, bu değer en düşük % 0,11 olarak bulunmuştur. Ortalama asitlik değeri ise % 0,48 olarak hesaplanmıştır.

Çalışmada Küflü Civil Peynir örneklerine ait 12 farklı parametre ölçülmüş olup birbirleri arasındaki korelasyon incelenmiştir (Tablo 12). Böylece mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerin birbirleri üzerine etkileri ortaya koyulmuştur. Ayrıca mikrobiyotanın dinamik yapısı içerisinde sayımı gerçekleştirilen grupların birbirleriyle olan etkileşimleri de belirlenmeye çalışılmıştır.

Tablo 3. Çalışmada incelenen analiz parametreleri arasındaki korelasyon

	Numune	TAMB	LB	LK	EK	Maya	Küf	<i>S.aureus</i>	Koliform	Tuz	pH	Asitlik	a_w
Numune	1	,250	,227	,262	,161	,283*	,435**	-,272*	-,075	-,145	,072	-,255	-,023
TAMB	,250	1	,556**	,635**	,484**	,085	,130	,017	,294*	-,124	,616**	-,001	,472**
LB	,227	,556**	1	,819**	,787**	,218	-,126	,104	,188	-,421**	,251	-,013	,649**
LK	,262	,635**	,819**	1	,771**	,408**	,187	,139	,263	-,231	,567**	-,306*	,530**
EK	,161	,484**	,787**	,771**	1	,186	,141	,245	,178	-,338*	,260	-,295*	,579**
Maya	,283*	,085	,218	,408**	,186	1	,259	,155	,366**	,101	,152	-,559**	-,021
Küf	,435**	,130	-,126	,187	,141	,259	1	-,175	,208	,248	,486**	-,422**	-,249
<i>S.aureus</i>	-,272*	,017	,104	,139	,245	,155	-,175	1	,270*	-,098	,099	-,176	,265
Koliform	-,075	,294*	,188	,263	,178	,366**	,208	,270*	1	,218	,412**	-,157	,181
Tuz	-,145	-,124	-,421**	-,231	-,338*	,101	,248	-,098	,218	1	,266	-,241	-,724**
pH	,072	,616**	,251	,567**	,260	,152	,486**	,099	,412**	,266	1	-,314*	,035
Asitlik	-,255	-,001	-,013	-,306*	-,295*	-,559**	-,422**	-,176	-,157	-,241	-,314*	1	,162
a_w	-,023	,472**	,649**	,530**	,579**	-,021	-,249	,265	,181	-,724**	,035	,162	1

* <0,05 seviyesinde önemli

** <0,01 seviyesinde önemli

TAMB: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri

LB: Laktik basil

LK: Laktik kok

EK: Enterokok

S.aureus: *Staphylococcus aureus*

Koliform: Koliform grubu bakterileri

 a_w : su aktivitesi

Yapılan incelemelere göre Küflü Civil Peynir'deki TAMB sayısının; LAB sayısı, pH ve su aktivitesi ile güçlü bir pozitif korelasyon gösterdiği ($p<0,01$), koliform sayısı ile ise $p<0,05$ seviyesinde pozitif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Laktik basillerin sayısının TAMB, Laktik kok ve Enterokok sayısı ile güçlü bir doğru orantıya sahip olduğu gözlenirken ayrıca ürünün su aktivitesi arttıkça LB sayısında da artış tespit edilmiştir. Ek olarak peynirlerin tuz oranı arttıkça LB sayısında düşüş olduğu ($p<0,01$) gözlenmiştir.

Üründeki Laktik kok sayısının TAMB, LB, EK ve Maya sayısı ile pozitif yönde güçlü bir orantıya sahip olduğu belirlenmiştir. Örneklerdeki pH ve a_w değerleri arttıkça LK sayısında artış, asitlik arttıkça LK sayısında düşüş olduğu belirlenmiştir.

Örneklerdeki TAMB, LB, LK sayısı ile doğru bir orantıya sahip olan Enterokok sayısının su aktivitesi ($p<0,01$) arttıkça arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca ürünün tuz oranı ve asitliği arttıkça EK sayısında düşüş olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).

Asitlik değeri ile negatif yönde güçlü bir etkileşim içinde olan Maya sayısı, LK sayısı ile de pozitif yönde güçlü bir doğru orantıya sahip olduğu bulunmuştur ($p<0,01$). Peynir örneklerindeki Koliform sayısı arttıkça Maya sayısında da artış olduğu saptanmıştır ($p<0,01$).

Küf sayısı ile asitlik arasında önemli oranda negatif bir korelasyon etkileşimi görülmüştür ($p<0,01$). Örneklerin pH değerleri arttıkça küf sayısı önemli düzeyde ($p<0,01$) artış göstermiştir.

Peynir örneklerindeki *S. aureus* sayısı ise koliform sayısı ile pozitif yönde $p<0,05$ düzeyinde korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

TAMB ve *S. aureus* sayısı arttıkça Koliform sayısında da $p<0,05$ düzeyinde önemli bir artış gözlenmiştir. Ayrıca Koliform sayısının, Maya sayısı ve pH değeri ile güçlü etkiye sahip olduğu da bulunmuştur ($p<0,01$).

LB sayısını ve a_w değerini negatif yönde güçlü bir şekilde ($p<0,01$) etkileyen tuz oranı, EK sayısını da olumsuz yönde $p<0,05$ düzeyinde önemli şekilde etkilemektedir.

Örneklerin TAMB, LK, küf ve Koliform sayısı arttıkça pH değerinde de ciddi ($p<0,01$) bir artış olduğu gözlenmiş, asitlik arttıkça pH'da azalma olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Örneklerdeki asitlik arttıkça maya ve küf sayısında önemli oranda ($p<0,01$) azalma olduğu gözlenmiştir. Ayrıca LK, EK sayısı ve pH değerinin ise asitlik ile $p<0,05$ seviyesinde önemli oranda negatif etkileşime sahip olduğu bulunmuştur.

Su aktivitesi değeri arttıkça; TAMB, LB, LK ve EK sayısının da arttığı görülmüştür. Örneklerin su aktivitesi değeri arttıkça, tuz oranı da o ölçüde azalmıştır ($p<0,01$).



TARTIŞMA

Mikrobiyolojik bulgular göz önüne alındığında peynir örneklerindeki TAMB sayısının 4,0-8,90 log kob/g arasında değiştiği, ortalama sayının ise 7,3 log kob/g olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçların Cakmakci *et al.* (2012)'ün bildirdiği değerlere büyük oranda uyduğu görülmüştür. Cakmakci *et al.* (2014) yaptıkları bir çalışmada Küflü Civil Peyniri'nin ortalama TAMB sayısı 7,33 log kob/g olarak bulunmuş olup bu değer bizim bulduğumuz değerle benzer olduğu tespit edilmiştir. Sonuçların Cambaztepe *et al.* (2009) tarafından bulunan değerlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Şengül (2006) ve Sert ve Kıvanç (1985)'in yaptıkları Civil Peynir araştırmalarına göre ortalama TAMB sayısı daha düşük bulunmuştur. Ayrıca sonuçlar Özaltın (2011) ve Yenyol (2018)'un bulduğu ortalama değerlere benzer olarak bulunmuştur. TAMB sayısının Hayaloglu and Kirbag (2007), tarafından bulunan değerlere göre de daha düşük olduğu saptanmıştır. Mevcut farklılıklarda numune olarak Civil Peynir kullanımının etkili olduğu görülmüştür.

Laktik basillerin sayısının <2- 8,2 log kob/g arasında olduğu ortalama değer ise 6,8 log kob/g olduğu belirlenmiştir. Bu peynirlerdeki LB sayısının Güley (2008)'in bulduğu değerlere büyük oranda uyduğu görülmüştür. Bulunan ortalama LB değerinin Cakmakci *et al.* (2014)'ün bulduğu değerle kıyaslandığında daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Cakmakci *et al.* (2012); Küflü Civil Peynir'lerde muhtemel laktik basil sayısının 5,44-7,92 log kob/g arasında değiştiğini gözlemlemiştir. Bulunan LB sayısı Şengül (2006) ve Yangılar ve Kızılkaya (2015)'nin bulduğu sonuçlara paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda peynir örneklerinin Laktik kok sayısı <2- 8,6 log kob/g aralığında bulunmuşken, ortalama değer ise 6,9 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar Cakmakci *et al.* (2012), Cakmakci *et al.* (2014), Yenyol (2018) ve Güley (2008)'in araştırma verilerinde de gözlenmektedir.

İlgili örneklerin Enterokok sayısı ise ortalama olarak 4,7 log kob/g olarak bulunmuşken, bu sayının <2-6,5 log kob/g arasında değiştiği tespit edilmiştir. Ortalama değer Cakmakci *et al.* (2014)'ün bulduğu sonuç ile benzer bulunmuşken, en yüksek değer Cakmakci *et al.* (2012)'ün saptadığı değerden daha düşük bulunmuştur. Öte yandan en yüksek EK sayısı Güley (2008)'in bulduğu sonuç ile eşdeğer çıkmıştır.

İlgili örneklerde maya sayısı en yüksek, en düşük ve ortalama olarak sırasıyla 8,6; <2 ve 5,8 log kob/g olarak hesaplanmıştır. Konuyla ilgili literatür tarandığında Küflü Civil Peynir'de maya sayısının ayrı olarak değerlendirilmediği sonucuna varılmış olup yapılan çalışmanın alanında ilk olduğu düşünülmektedir. Sağdıç vd (2008), Konya Küflü (Yeşil)

Peynir’inde yaptığı sayımda maya sayısını 3,55-6,65 arasında bulmuştur. Bu sonuçlara göre Göğermiş Peynir’deki maya mevcudiyetinin Yeşil Peynir’e kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Yapılan incelemelerin ardından küf sayısı minimum 2 log kob/g’den daha düşük olduğu, en yüksek ise 7,8 log kob/g olarak tespit edilmiş ve ortalama küf sayısı ise 5,3 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar ortalama olarak ele alındığında Cakmakci *et al.* (2014)’ün saptadığı değerden daha düşük olduğu bulunmuştur. Öte yandan Sağdıç vd (2008)’nin Yeşil Peynir’de yaptığı sayım sonuçlarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Örneklerin *S. aureus* sayım sonuçları ise en yüksek 2,7 log kob/g bulunmuşken, en düşük <2 log kob/g olarak ölçülmüştür. Ortalama değer ise 0,2 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Peynir örneklerindeki *S. aureus* sayısı Cakmakci *et al.* (2012), Polat vd (2001) ile Arslaner ve Salık (2020)’in saptadığı değerle benzer olarak bulunmuştur. Göğermiş Peynir’deki bu değerlerin Sert ve Kıvanç (1985), Şengül (2006), Özaltın (2011) ve Yangılar ve Kızılkaya (2015)’nin tespit ettiği değerlerden çok daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Koliform sayısı ise en yüksek 3,0 log kob/g, en düşük <1 log kob/g, ortalama 0,8 log kob/g olarak belirlenmiştir. Bu değerlerin Cakmakci *et al.* (2012) ve Hayaloglu and Kirbag (2007)’in bulduğu değerler ile benzer olduğu, Cambaztepe *et al.* (2009)’un bulduğu değerlerden de daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde bulunan sonuçların Özaltın (2011), Yangılar ve Kızılkaya (2015) ve Yenyol (2018)’un sonuçlarından daha düşük olduğu görülmektedir.

Yapılan incelemenin ardından peynir örneklerinin su aktivitesi değerlerinin 0,84-0,94 arasında değiştiği ve ortalama değerin ise 0,89 olduğu belirlenmiştir. Yıldız *et al.* (2010) 20 Civil Peyniri materyal olarak kullanmış ve a_w değerlerinin ise ortalama olarak daha yüksek olduğunu bulmuştur. Çavuşoğlu (2019)’da Civil Peynir’lerin su aktivitelerini ölçmüş ve ortalama olarak daha yüksek bulmuştur.

Denemede kullanılan örneklerin pH değeri en yüksek 7,83; en düşük 3,95 olarak tespit edilmiş ve ortalama olarak 5,25 saptanmıştır. Türk Patent ve Marka Kurumu tarafından Erzurum Göğermiş Peyniri tescillendirilmiş ve kimyasal içeriğinin olması gereken değerleri belirlenmiştir. Bu doğrultuda incelenen Göğermiş peynir’lerin ortalama pH’sının ilgili kriterlere uyduğu görülürken, en düşük ve en yüksek değerde sapmalar olduğu gözlenmiştir. Konuyla ilgili çalışmalar incelendiğinde Cakmakci *et al.* (2012) ve Cakmakci *et al.* (2014)’ün bulduğu ortalama değerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Peynir örneklerinin ortalama pH değerinin, Çinicioğlu (2017), Cambaztepe *et al.* (2009), Dikbaş vd (2006), Yangılar ve Kızılkaya (2015) ve Yenyol (2018)’un belirlediği ortalama değerleriyle uyumlu olduğu

görülürken, Yıldız *et al.* (2010), Özgören (2012) ve Çavuşoğlu (2019) Civil Peynir'lerin ortalama pH değerini daha düşük bulmuştur.

Peynirlerdeki tuz oranının % 3,98- 12,40 arasında değiştiği belirlenmiş, ortalama tuz oranı ise % 7,34 olarak tespit edilmiştir. Sonuçların Türk Patent'in belirlediği değerlerin çok üstünde olduğu açıkça görülmektedir. Ortalama tuz oranı Gurkan *et al.* (2018), Cambaztepe *et al.* (2009) tarafından yapılan çalışmalardan elde ettikleri sonuçlara göre yüksek olduğu görülürken, Cakmakci *et al.* (2014)'ün belirlediği ortalama değer ile benzerdir. Örneklerin tuz oranı ortalama olarak Özaltın (2011)'in bulduğu değerden daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

İlgili peynirlerin asitliği ise en yüksek % 1,02 iken, bu değer en düşük % 0,11 olarak bulunmuştur. Ortalama asitlik değeri ise % 0,48 olarak hesaplanmıştır. Asitlik değeri ortalama olarak Türk Patent'in belirttiği aralıkta bulunmuştur. Örneklerin asitliği Çinicioğlu (2017), Gurkan *et al.* (2018), Cambaztepe *et al.* (2009)'ün saptadığı ortalama değerlerden düşük olarak görülmüş, Özaltın (2011)'in bulduğu ortalama değer ile benzer olduğu tespit edilmiştir. Ortalama asitlik değerinin Cakmakci *et al.* (2012) ve Cakmakci *et al.* (2014)'ün belirlediği değerlerden biraz daha düşük olduğu saptanmıştır.

Yapılan araştırmaların sonucunda Erzurum Küflü Civil Peyniri'nin mikrobiyolojik kalitesini belirlemek için sadece sayım yapıldığı görülmüş, ürünün LAB mikrobiyotasını tanılamaya yönelik bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Çalışmada 27 Küflü Civil Peyniri'nden izole edilen LAB'lar fenotipik ve genotipik olarak tanılanmıştır. Tanı sonucunda Küflü Civil Peyniri'nin bakteriyel mikrobiyotasında rol alan suşların *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus lactis*, *Enterococcus durans*, *Psychrobacter* sp. ve *Staphylococcus equorum* olduğu belirlenmiştir.

Bununla beraber benzer türlerin hem ulusal hem de yöresel peynir çeşitlerinde tanısı yapıldığına sıkça rastlanılmaktadır. Konuyla ilgili bazı çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

Şengül (2006), Civil Peynir'de LAB izole edip tanılamıştır. Tanı sonucunda *Lb. fermentum* suşunun örneklerin çoğunda bulunduğu, *Lb. paracasei* suşunun da eşlik eden bir diğer tür olduğunu tespit etmiştir.

Küflü Kars Eski Kaşarı ve Küflü Deri Tulum Peyniri'nden ve Konya Küflü Peynir'lerinden LAB izole eden Güley (2008) bu izolatları fenotipik ve genotipik olarak tanılama yoluna gitmiştir. Bu peynirlerde Enterokok cinsi bakterilerin çoğunlukta olduğu belirtilerek bunların *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus durans*

türlerine ait olduğu, geri kalanının ise *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* / *Lactobacillus casei*, ve *Pediococcus parvulus* olduğu saptanmıştır.

İspirli (2016), Erzincan Tulum Peyniri'nden laktik asit bakterilerinin (LAB) izolasyonunu yaparak EPS üretme yeteneğini incelemiştir. İzolatların *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis*, *Weissella paramesenteroides*, *Lactococcus garvieae* ve *Lactobacillus crustorum* olduğu belirlenmiştir.

Arık (2018), incelediği 4 adet köy peynirinden elde ettiği suşları moleküler metotlarla tanılamış ve *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus graminis*, *Lactobacillus sakei* ve *Leuconostoc mesenteroides* türlerine ait olduklarını belirlemiştir.

İran'daki yerel bir peynirde araştırma yapan Milani et al. (2017) izole ettiği laktik suşların *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* (% 16,2), *Enterococcus faecalis* (% 13,3), *Lactococcus lactis* subsp *lactis* (% 11,4), *Enterococcus durans* (% 8,6), *Lactobacillus pentosus* (% 8,6), *Lactobacillus casei* (% 3,8), *Enterococcus hirae* (% 2,9), *Lactobacillus paracasei* (% 2,9), *Lactobacillus helveticus* (% 1,9) türlerine ait olduğunu belirtmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada Erzurum ve yöresinden 16'sı ev tipi olmak üzere 27 Küflü Civil Peynir örneğinin mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri belirlenmiş ve ayrıca ürünün LAB mikrobiyotası da tanımlanmıştır. Mikrobiyolojik analizlerden TAMB, muhtemel Laktik asit bakterileri (Laktik basil, Laktik kok ve *Enterococcus* spp.), Maya, Küf, *Staphylococcus aureus* ve Koliform grubu bakterilerin sayımı gerçekleştirilmiş ve muhtemel LAB olduğu düşünülen bakteriler izole edilmiştir. İzolatlar daha sonra moleküler tekniklerle 13 farklı şekilde gruplandırılarak genetik tanıları yapılmıştır. Örneklerin kimyasal bileşimi ile mikrobiyotası arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla tuz, pH, asitlik ve su aktivitesi de analiz edilmiştir.

Yapılan araştırma sonucunda Göğermiş Peynir örneklerindeki ortalama TAMB sayısı 7,3 log kob/g, Laktik basil sayısı 6,8 log kob/g, Laktik kok sayısı 6,9 log kob/g, Enterokok sayısı 4,7 log kob/g, maya sayısı 5,8 log kob/g, küf sayısı 5,3 log kob/g, *S. aureus* sayısı <2, koliform grubu bakteri sayısı ise 1 log kob/g'den daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Küflü Civil Peynir örneklerinde koagülaz (+) *S. aureus* ve koliform grubu bakterilerin tespit edilememesi ürünün nispeten güvenli olduğunu göstermektedir.

Peynir örneklerinin ortalama su aktivitesi değeri 0,89, pH'sı 5,25, tuz oranı % 7,34 ve asitliği % 0,48 olarak hesaplanmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda peynir örneklerinden toplamda 278 izolat elde edilmiş ancak 223 tanesi tanımlanabilmiştir. Bunlardan LAB 11 farklı şekilde gruplandırılmış ve ayrıca ürünlerin çoğusunda olduğu belirlenen NLAB'da izole edilerek iki farklı şekilde gruplandırılarak tanısı yapılmıştır. Tanı sonuçları *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus lactis*, *Enterococcus durans*, *Psychrobacter* sp. ve *Staphylococcus equorum* şeklinde olduğu belirlenmiştir.

İlgili sonuçlar incelendiğinde üründe izole edilen suşların büyük bir çoğunluğunun peynir üretiminde kullanılan starter kültürler olduğu belirlenmiştir. Bu durum ürünün kendine has kültürler kullanılarak uluslararası standartlara ulaşabileceğinin kanıtı olarak görülmektedir.

Yapılan çalışma oluşmasına vesile olduğu kültür koleksiyonu ile konuyla ilgili starter kültür çalışmalarına materyal sağlayarak, yöresel bir ürünümüz olan Küflü Civil Peynir'in standardizasyonuna ve gelişimine katkıda bulunabilecektir.

KAYNAKLAR

- Akoğlu, A., 2020. The effect of some environmental conditions on planktonic growth and biofilm formation by some lactic acid bacteria isolated from a local cheese in Turkey. *Biotechnol Lett*, 42, 481–492.
- Aktaş, H., 2018. Ev Yapımı ve Endüstriyel Olarak Üretilen Yoğurtların Mikrobiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi ve Potansiyel Probiyotik Suşların Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ale, E., Rojas, C., Reinheimer, M.F., Binetti, C.A. and Ana, G., 2020. *Lactobacillus fermentum*: Could the EPS production ability be responsible for the functional properties?. *Food Microbiology*, 90, 103465.
- Alnakip, M.E., Quintela-Baluja, M., Böhme, K., Caamaño-Antelo, S., Bayoumi, M.A., Kamal, R.M., Merwad, A.M., Calo-Mata, P. and Barros-Velázquez, J., 2019. Molecular characterisation and typing the methicillin resistance of *Staphylococcus* spp. isolated from raw milk and cheeses in northwest Spain: A mini survey. *International Dairy Journal*, 89, 68-76.
- Altuntaş, E.G., Ayhan, K., Okcu, G., Erkanlı, K., Balcı, M.H. ve Sonakın, Ş.S., 2010. Çiğ süt ve peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyel aktiviteleri. *Gıda*, 35 (3), 197-203.
- Anonim, 2009. Türk Patent ve Marka Kurumu, Erzurum Civil Peyniri Coğrafi İşaret Tescil Belgesi. Ankara.
- Anonim, 2010. Türk Patent ve Marka Kurumu, Erzurum Küflü Civil Peyniri (Göğermiş Peynir) Coğrafi İşaret Tescil Belgesi. Ankara.
- Anonim, 2011. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, <https://www.resmigazete.gov.tr> (08.07.2020)
- Anonim, 2015, Türk Gıda Kodeksi (TGK). “Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği, 2015/6”, <https://www.resmigazete.gov.tr> (28.06.2020).
- Anonim., 2020. Türk Patent ve Marka Kurumu, <https://www.ci.gov.tr> (28.06.2020).
- Arık, G., 2018. Çeşitli Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) Tanımlanması ve Biyofilm Oluşturma Yetenekleri ile Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Arslaner, A. ve Salık, M.A., 2020. Bayburt civil peynirinin bazı kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile mineral ve ağır metal içerikleri. *Gıda Dergisi*, 45(3), 433-447.
- Ashaolu, T.J., 2019. A review on selection of fermentative microorganisms for functional foods and beverages: the production and future perspectives. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 2511-2519.
- Baer, E.F., 1971. Isolation and Enumeration of *Staphylococcus aureus*: Review and Recommendations for Revision of AOAC Method. *Journal of the A.O.A.C.*, 54 (3), 732–735.
- Baird, R.M. and Lee, W.H., 1995. Media used in the detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*. *Culture Media for Food Microbiology*. Ed: Janet E.L. Corry, G.D.W. Curtis, Rosamund M. Baird. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands, 77-87.
- Beresford, T.P., Fitzsimons, N.A., Brennan, N.L. and Cogan, T.M., 2001. Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11, 259–274.
- Bilginer, H., 2018. Geleneksel yöntemlerle üretilen sirkelerin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi, mikrobiyotasında yer alan asetik asit bakterilerinin

- izolasyonu ve moleküler yöntemlerle tanısı. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Bulut, Ç., 2003. Isolation and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria From Cheese. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Institute of Technology, İzmir.
- Cakmakci, S., Hayaloglu, A.A., Dagdemir, E., Cetin, B., Gurses, M. and Tahmas-Kahyaoglu, D., 2014. Effect of *Penicillium roqueforti* and whey cheese on gross composition, microbiology and proteolysis of mould-ripened civil cheese during ripening. *Int J Dairy Technol*, 67, 594–603.
- Cakmakci, S., Gundogdu, E., Hayaloglu, A. A., Dagdemir, E., Gurses, M., Cetin, B. and Tahmas-Kahyaoglu, D., 2012. Chemical and microbiological status and volatile profiles of mouldy Civil cheese a Turkish mould-ripened variety. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 2405–2412.
- Cakmakci, S., Gurses, M., Hayaloglu, A. A., Cetin, B., Sekerci, P. and Dagdemir, E., 2015. Mycotoxin production capability of *Penicillium roqueforti* strains isolated from mould-ripened traditional Turkish civil cheese. *Food Additives and Contaminants Part A*, 32, 245–249.
- Cambaztepe, F., 2006. Farklı Şekillerde Muhafaza Edilen Civil Peynirlerinde Proteoliz ve Bazı Mikrobiyolojik, Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özelliklerin Tespiti. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Cambaztepe, F., Cakmakci, S. and Dagdemir, E., 2009. Effect of some technological parameters on microbiological, chemical and sensory qualities of civil cheese during ripening. *Int J Dairy Technol.*, 62, 541–548.
- Carr, F.J., Chill, D. and Maida, N., 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey, *Critical Reviews in Microbiology*, 28 (4), 281-370.
- Çavuşoğlu, D., 2019. Erzurum-Horasan Yöresinde Tüketilen Civil Peynirlerinin Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.
- Çetin, B., 2016. Gıda Moleküler Biyolojisi Ders Notları. Basılmamıştır, Atatürk Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü 25240, Erzurum.
- Çinicioğlu, S., 2017. Erzurum İline Ait Geleneksel Küflü Peynirlerinde Total Aflatoksin Ve Aflatoksin M1 Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- De Buyser, M.L., Lombarda, B., Schulten, S.M., In't Veld, P.H., Scotter, S.L., Rollier, P. and Lahellec, C., 2003. Validation of EN ISO standard methods 6888 Part 1 and Part 2: 1999—Enumeration of coagulase-positive staphylococci in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 83, 185-194.
- Deetae, P., Spinnler, H.E., Bonnarme, P. and Helinck, S., 2009. Growth and aroma contribution of *Microbacterium foliorum*, *Proteus vulgaris* and *Psychrobacter* sp. during ripening in a cheese model medium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82, 169-177.
- Del Valle, L.J., Ginovart, M., Gordún, E. and Carbó, R., 2018. Histidine decarboxylase-positive lactic acid bacteria strains and the formation of histamine in ripened cheeses. *J Food Process Preserv.*, 42, 1-9.
- Dikbaş, N., Şengül, M. ve Ertugay, M. F., 2006. Erzurum'da üretilen Çeçil peynirinin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu.
- Ekinci, E., 2016. Küflü Peynirlerde Aflatoksin M1 Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Ertürkmen, P. ve Öner, Z., 2015. Beyaz peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(3), 9-16.

- Felbinger, C., Kutzsche, F., Mönkediek, S. and Fischer, M., 2020. Genetic profiling: Differentiation and identification of hazelnut cultivars (*Corylus avellana* L.) using RAPD-PCR. *Food Control*, 107, 106791
- Foulquie 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, 1-24.
- Garbowska, E., Pluta, A. and Berthold-Pluta, A., 2019. Antihypertensive peptide activity in dutch-type cheese models prepared with different additional strains of *Lactobacillus* genus bacteria. *Appl. Sci.*, 9(8), 1674.
- Galli, B.D., Martin, J.G.P., Silva, P.P.M., Porto, E. and Spoto, M.H.F., 2016. Sensory quality of Camembert-type cheese: Relationship between starter cultures and ripening molds. *International Journal of Food Microbiology*. 234, 71-75.
- Gevers, D., Huys, G. and Swings, C., 2001. Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of *Lactobacillus* species. *FEMS Microbiology Letters*, 205, 31-36.
- Gözütok, E., 2013. Geleneksel ve Endüstriyel Olarak Üretilen Turşularda Maya Mikroflorasının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Güley, Z., 2008. Doğal Üretilen Küflü Peynirden İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Aflatoksin B1 ve Aflatoksin M1 Üzerine Etkisinin Araştırılması. Doktora tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Gurkan, H., Yılmaztekin, M., Cakmakci, S. and Hayaloglu, A.A., 2018. Volatile compounds and biogenic amines during the ripening of mold-ripened Civil cheese manufactured using three different strains of *Penicillium roqueforti*. *J Food Safety*, 38, 1-14.
- Gürkan, H., 2013. Küflü Civil Peynirlerde Aroma Gelişimi ve Biyojen Amin Varlığının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Harrigan W.F. and McCance M.E., 1966. *Laboratory Methods in Microbiology*. Academic Press, London and New York.
- Harrigan, W. F., 1998. *Laboratory Methods in Food Microbiology*. Academic Press, San Diego, USA
- Hassan, A. N. and Frank, J.F., 2001. Starter Cultures and Their Use. *Applied Dairy Microbiology*, 2nd ed., Ed: E.H. Marth, J.L. Steele. Marcel Dekker, Inc, New York, US, 151-206.
- Hayaloglu, A.A. and Kirbag, S., 2007. Microbial quality and presence of moulds in Kuflu cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 155, 376-380.
- Hayaloğlu, A.A., 2008. Türkiye'nin peynirleri – Genel bir perspektif. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, Erzurum.
- Hu, Y., Liu, X., Shan, C., Xia, X., Wang, Y., Dong, M., Zhou, J., 2017. Novel bacteriocin produced by *Lactobacillus alimentarius* FM-MM4 from a traditional Chinese fermented meat Nanx Wudl: Purification, identification and antimicrobial characteristics. *Food Control*, 77, 290-297.
- Ispirli, H. and Dertli, E., 2018. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from traditional koumiss and kurut. *International Journal of Food Properties*, 20(3), 2441-2449,
- İspirli, H., 2016. Erzincan Tulum Peynirinden Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) İzolasyonu, Moleküler Metotlarla Tanımlanması ve Ekzopolisakkarit (EPS) Üretim Potansiyellerinin Genetik Olarak Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bayburt.
- Jay, J.M., 1996. *Modern Food Microbiology*. Springer-Science+Business Media, B.V., 648 s. Las Vegas. USA.
- Josephsen, J. and Jespersen, L., 2004. Starter Cultures and Fermented Products. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. Ed: Y. H. Hui, Lisbeth Meunier-

- Goddik, Ase Solvejg Hansen, Jytte Josephsen, Wai- Kit Nip, Peggy S. Stanfield, Fidel Told. Marcell ekker, inc., New York, USA, Part 1.
- Kamber, U., 2008. The traditional cheeses of Turkey: Cheeses common to all regions. Food Rev Int, 24(1), 1-38.
- Kanagawa, S., Ohshima, C., Takahasi, H., Burenqiqige, Kikuchi, M., Sato, F., Nakamura, A., Mohamed, S.M., Kuda, T. and Kimura, B., 2018. Evaluation of Petrifilm Lactic Acid Bacteria Plates for Counting Lactic Acid Bacteria in Food. Journal of Food Protection, 81 (6), 1030-1034.
- Kanak, E.K. and Yılmaz, S.O., 2019. MALDI-TOF mass spectrometry for the identification and detection of antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from local cheeses. Food Sci. Technol, Campinas, 39(Suppl. 2), 462-469.
- Khattab, A.R., Guirguis, A.H., Tawfik, S.M. and Farag, M.A., 2019. Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. Trends in Food Science & Technology, 88, 343–360.
- Kırtıl, H.E., 2018. Küflü Peynirlerden İzole Edilen Küflerin Moleküler Tanımlanması ve Karakterizasyonu. Y. Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar, A., 2012. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi (10. Basım), Atatürk Üniversitesi Yayınları No:252/D, 254 s, Erzurum.
- Leroy, F. and Vuyst, L.D., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends in Food Science and Technology, 15, 67-78.
- Matti, A., Utami, T., Hidayat, C. and Rahayu, E.S., 2019. Isolation, screening, and identification of proteolytic lactic acid bacteria from indigenous chao product. Journal of Aquatic Food Product Technology, 28(7), 781-793.
- Maurer, j., 2006. PCR Methods in Foods. Springer Science+Business Media, Inc, 145. USA.
- Milani, E., Shahidi, F., Mortazavi, S.A. and Saeedi, M., 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria in Kurdish Cheese during ripening using 16s rRNA gene sequence analysis. Journal of Food Processing and Preservation, 41, 1-8.
- Ozdemir, C. and Demirci, M., 2006. Selected microbiological properties of Kashar Cheese samples preserved with potassium sorbate. International Journal of Food Properties, 9, 515-521.
- Özaltın, K.E., 2011. Yağsız Süte Katılan Peyniraltı Suyunun, Civil Peynirin Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum
- Özgören, E., 2012. Türkiye’de Ticari Ölçekte Üretilen Bazı Küflü Peynirlerin Toplam Aflatoksin, Aflatoksin M1 ve Okratoksin A Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Özlu, H. and Atasever, M., 2019. Bacteriocinogenic bacteria isolated from Civil, Kashar and White cheeses in Erzurum, Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 66, 147-153,
- Pichhardt, K., 2004. Gıda mikrobiyolojisi (Gıda Endüstrisi için Temel Esaslar ve Uygulamalar) (çevirenler: Y. Sekin, N. Karagözlü), Literatür Yayıncılık, İstanbul, Türkiye.
- Place, R.B., Hiestand, D., Gallmann, H.R. and Teuber, M., 2003. *Staphylococcus equorum* subsp. *linens*, subsp. *nov.*, A starter culture component for surface ripened semi-hard cheeses. System. Appl. Microbiol. 26, 30–37.
- Polat, G., Yetişmeyen, A. ve Doğan, H.B., 2001. Ankara piyasasında satılan Civil Peynirlerinin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal niteliklerinin saptanması. Gıda, 26(6), 409 -418.
- Priyodip, P., Prakash, P. Y. and Balaji, S., 2017. Phytases of probiotic bacteria: characteristics and beneficial aspects. Indian Journal of Microbiology, 57(2), 148-154.
- Purutoğlu, K., 2018. Geleneksel Kefir Danelerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri Ve Mayaların Tanımlanması İle Bu Mikroorganizmaların Bazı Fonksiyonel Özelliklerinin

- Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bayburt.
- Reuben, R.C., Roy, P.C., Sarkar, S.L., Rubayet Ul Alam, A.S.M. and Jahid, I.K., 2020. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *Journal of Dairy Science*, 103 (2), 1223-1237.
- Reuter, G., 1995. Chapter 4 Culture media for enterococci and group D-streptococci. *Progress in Industrial Microbiology*, 34, 51-61.
- Ringo, E., Hoseinifar, S.H., Ghosh, K., Doan, H.F., Beck, B.R. and Song, S.K., 2018. Lactic acid bacteria in finfish- An update. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-37.
- Sağdıç, O., Özçelik, S., Şimşek, B. ve Özdemir, C., 2008. Geleneksel yöntemle üretilen küflü peynirlerin mikrobiyolojik nitelikleri ve küf florası. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Salas-Jara, M.J., Ilabaca, A., Vega, M. and Garci 'a, A., 2016. Biofilm forming *Lactobacillus*: New challenges for the development of probiotics. *Microorganisms*, 4(3), 1-35.
- Santos-Espinosa, A., Beltrán-Barrientos, L.M., Reyes-Díaz, R., Mazorra-Manzano, M.A., Hernández-Mendoza, A., González-Aguilar, G.A., Sáyo-Ayerdi, S.G., Vallejo-Cordoba, B. and González-Córdova, A.F., 2020. Gamma-aminobutyric acid (GABA) production in milk fermented by specific wild lactic acid bacteria strains isolated from artisanal Mexican cheeses. *Annals of Microbiology*, 70 (12), 1-11.
- Sert, S. ve Kıvanç, M., 1985. Taze Civil ve Lor Peynirleri üzerinde mikrobiyolojik çalışmalar. *Gıda*, 5, 287-292.
- Sert S., 2011. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Notları (Üçüncü Baskı). Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ders Yayınları No:138, Erzurum.
- Singh A.K. and Ramesh A., 2009. Evaluation of a facile method of template DNA preparation for PCR-based detection and typing of lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 26, 504-513.
- Sperber, W.H., and Tatini, S.R., 1975. Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *American Society for Microbiology*, 29(4), 502-505.
- Stiles, M.E., and Holzapfel, W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1-29.
- Şengül, M., 2006. Microbiological characterization of Civil cheese, a traditional Turkish cheese: microbiological quality, isolation and identification of its indigenous *Lactobacilli*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 22, 613-618.
- Tağı, Ş., 2013. Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri. Gıda Analizleri, 2. Baskı, Ed: B. S. Cemeroğlu, Bizim Grup Basımevi, Ankara, 311-392.
- Ünsal, A. 2016. Süt uyuyunca (Türkiye Peynirleri). Sekizinci basım, Yapı Kredi Yayınları, İstanbul.
- Üstün, Ç., Özen, A.E. ve Kılıç, M., 2006. Lor Peyniri Üretiminde Verime Etki Eden Faktörlerin Araştırılması. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu.
- Väkeväinen, K., Hernández, J., Simontalva, A.I., Severiano-Pérez, P., Díaz-Ruiz, G., Wright, A.V., Wachter-Rodarte, C. and Plumed-Ferrera, C., 2020. Effect of different starter cultures on the sensory properties and microbiological quality of Atole agrio, a fermented maize product. *Food Control*, 106, 1-7.
- Vasdinyei, R., and Deák T., 2003. Characterization of yeast isolates originating from Hungarian dairy products using traditional and molecular identification techniques. *International Journal of Food Microbiology*, 86, 123-130.
- Welthagen, J.J. and Viljoen, B.C., 1997. Comparison of ten media for the enumeration of yeasts in dairy products. *Food Research International*, 30 (314), 207-211.

- Williams, A.G., and Banks, J.M., 1997. Proteolytic and other hydrolytic enzyme activities in non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) isolated from Cheddar cheese manufactured in the United Kingdom. *International Dairy Journal*, 7, 763-774.
- Yangılar, F. ve Kızılkaya, P.Ç., 2015. Ardahan'ın aromatik Çeçil Peynirleri'nin mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2), 122-130.
- Yeniyol, E., 2018. Ardahan İl ve İlçelerinde Satışa Sunulan Çeçil (Civil) Peynirlerinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri ile Proteoliz Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Yildiz, F., Yetisemeyen, A., Senel, E., Ozkaya, F.D., Oztekin, S. and Sanlı, E., 2010. Some properties of Civil cheese: a type of traditional Turkish cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 4 (63), 575-580.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Neslihan ARSLAN
Doğum tarihi:	1 Mart 1995
Doğum Yeri:	Pasinler/ Erzurum
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği
E-mail:	arslanneslihan532@gmail.com
Eğitim	
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi