



**BEYAZ PEYNİRDE *LİSTERİA MONOCYTOGENES*'İN
KONTROL ALTINA ALINMASI AMACIYLA UYGUN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE
BAZI BAKTERİYOSİNLERİ ÜRETİM
YETENEKLERİNİN İNCELENMESİ**

Hacer MERAL AKTAŞ

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN

Doktora Tezi

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

2023

(Her hakkı saklıdır.)

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

**BEYAZ PEYNİRDE *LISTERIA MONOCYTOGENES*'İN KONTROL ALTINA
ALINMASI AMACIYLA UYGUN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU VE BAZI BAKTERİYOSİNLERİ ÜRETİM YETENEKLERİNİN
İNCELENMESİ**

(Isolation of Lactic Acid Bacteria and Investigation of the Production Abilities of Some
Bacteriocins for Control of *Listeria Monocytogenes* in Beyaz Cheese)

DOKTORA TEZİ

Hacer MERAL AKTAŞ

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN

Erzurum

Temmuz, 2023

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Hacer MERAL AKTAŞ tarafından hazırlanan “Beyaz Peynirde *Listeria monocytogenes*’in Kontrol Altına Alınması Amacıyla Uygun Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Bazı Bakteriyosinleri Üretim Yeteneklerinin İncelenmesi” başlıklı çalışması 26 / 07 / 2023 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gıda Mühendisliği Bilim Dalında doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU <i>Bursa Uludağ Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Bülent ÇETİN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Engin GÜNDOĞDU <i>Gümüşhane Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

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

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: FDK-2020-8554

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

Doktora Tezi olarak Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN danışmanlığında sunulan “Beyaz Peynirde *Listeria monocytogenes*’in Kontrol Altına Alınması Amacıyla Uygun Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Bazı Bakteriyosinleri Üretim Yeteneklerinin İncelenmesi” 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	3	30
Kuramsal Temeller	12	30
Materyal ve Metot	20	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	15	20
Sonuçlar	3	20
Tezin Geneli	15	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
Hacer MERAL AKTAŞ	Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN
26.7.2023	26.7.2023
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* 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

Doktora çalışmalarımın yürütülmesinde emeği geçen ve akademik hayatımda desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN'a,

Bilgi, tecrübe ve fikirlerini benimle paylaşarak, çalışmalarına önemli katkılarda bulunan ve önerileriyle tez çalışmamın şekillenmesini sağlayan hocam Sayın Prof. Dr. Bülent ÇETİN'e, bilimsel bakış açısını örnek aldığım ve her zaman içtenlikle yol gösteren lisans danışmanım Sayın Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU'na,

Akademik çalışmalarımda her zaman desteğini hissettiğim yüksek lisans danışmanım Sayın Prof. Dr. M. Murat KARAOĞLU'na, Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL'e, ihtiyaç duyduğumuz gerekli alt yapı sağlanmasında desteklerini gördüğüm Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL'e, bölüm öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI ve Sayın Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR'e,

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje No: FDK-2020-8554),

Sonsuz bir güvenle her konuda destek olan aileme, yoğun çalışmalarım sırasında desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşim Arş. Gör. Haktan AKTAŞ'a

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Hacer MERAL AKTAŞ

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BEYAZ PEYNİRDE *LISTERIA MONOCYTOGENES*'İN KONTROL ALTINA ALINMASI AMACIYLA UYGUN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE BAZI BAKTERİYOSİNLERİ ÜRETİM YETENEKLERİNİN İNCELENMESİ

Hacer MERAL AKTAŞ

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN

Amaç: Bu çalışmada Erzurum piyasasında satışa sunulan salamura Beyaz peynir örneklerinden laktik asit bakterileri (LAB) izole edilmiş, bu bakterilerin teknolojik özellikleri, antagonistik aktiviteleri ve bakteriyosin üretme yeteneklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bakteriyosin üreten suş kullanılarak Beyaz peynir üretilmesi ve bu suşun depolama sırasında *Listeria monocytogenes*'in gelişimini kontrol etmedeki etkinliği ve peynirin fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Beyaz peynirlerden toplam 144 adet LAB izole edilmiş ve bu suşların teknolojik özelliklerine ilaveten bakteriyosin üretme potansiyelleri araştırılmıştır. Nisin üreticisi olduğu belirlenen *Lactococcus lactis* L54 suşu kullanılarak beş farklı kombinasyon olacak şekilde Beyaz peynir üretimi gerçekleştirilmiştir. Depolama boyunca Beyaz peynirlerde bulunan *Listeria monocytogenes* sayısının yanı sıra, bazı mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri de incelenmiştir.

Bulgular: Analiz edilen 20 adet Beyaz peynir örneğinin 16 tanesinde koliform grubu mikroorganizmaların bulunması üretimin hijyenik koşullarda yapılmadığını ve satışa sunulan bu peynirlerin tüketici sağlığı açısından risk oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır. Söz konusu peynirlerden izole edilen 144 adet LAB glikozdan gaz oluşumu, arginine hidrolizi, farklı sıcaklık, pH değerleri, tuz konsantrasyonlarında gelişim, asit üretme kapasitesi, proteolitik ve lipolitik aktivite, antibiyotik direnci ve antagonistik aktiviteleri açısından değerlendirildiğinde *Streptococcus macedonicus* L36, *Lactococcus lactis* L46 ve *Lactococcus lactis* L52 suşlarının Beyaz peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır. Ayrıca *Lactococcus lactis* L54 suşunun nisin ürettiği tespit edilmiş ve üretilen nisin *in vitro* koşullarda *Listeria monocytogenes* gelişimini tamamen inhibe ettiği ve yüksek sıcaklıklar, gıdalarda bulunabilen proteolitik olmayan çeşitli enzimler, gıda sanayii ve endüstride kullanılan çeşitli kimyasallar ve düşük pH değerlerine karşı oldukça stabil olduğu tespit edilmiştir. *Lactococcus lactis* L54 + *Listeria monocytogenes* suşları katılarak üretilen peynirlerdeki *Listeria monocytogenes* sayısı yalnızca *Listeria monocytogenes* katılarak üretilen peynirlerden, depolama boyunca istatistiksel olarak önemli derecede ($p<0,05$) düşük bulunmuştur. Ek olarak *Lactococcus lactis* L54 katılarak üretilen peynirlerin fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri ticari kültür kullanılarak üretilenlerle benzerlik göstermiştir.

Sonuç: Nisin üreticisi *Lactococcus lactis* L54 suşunun Beyaz peynirin fizikokimyasal ve duyuşal özelliklerini etkilemeden biyokoruyucu kültür olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Lactococcus lactis*, nisin, Beyaz peynir, starter kültür

Temmuz 2023, 175 sayfa

ABSTRACT

DOCTORAL DISSERTATION

ISOLATION OF LACTIC ACID BACTERIA AND INVESTIGATION OF THE PRODUCTION ABILITIES OF SOME BACTERIOCINS FOR CONTROL OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN BEYAZ CHEESE

Hacer MERAL AKTAŞ

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN

Purpose: In this study, it was aimed to investigate the technological properties, antagonistic activities and bacteriocin production abilities of lactic acid bacteria isolated from brined Beyaz cheese samples in Erzurum market. Moreover, it was aimed to produce Beyaz cheese by using bacteriocin producing strain and to examine the effectiveness of this strain in controlling the growth of *Listeria monocytogenes* during storage and its effect on the physicochemical and sensory properties of cheese.

Method: A total of 144 LABs were isolated from Beyaz cheese samples and potential of these strains to produce bacteriocins, in addition to their technological properties, was investigated. Beyaz cheese was produced in five different combinations by using *Lactococcus lactis* L54 strain, a nisin producer. In addition to the count of *Listeria monocytogenes* in the cheeses during storage, some microbiological, physicochemical and sensory properties were also investigated.

Findings: Coliform microorganisms were determined in 16 of the 20 Beyaz cheese samples obtained from Erzurum markets. The results revealed that the production was not carried out under hygienic conditions and that these cheeses offered for sale pose a risk to consumer health. According to results of gas production from glucose, arginine hydrolysis, growth at different temperatures, pH, salt concentrations, acidification, proteolytic and lipolytic activity, antibiotic resistance, and antibacterial activities, it was determined that *Streptococcus macedonicus* L36, *Lactococcus lactis* L46 and *Lactococcus lactis* L52 isolates were can be used as starter culture in Beyaz cheese production. *In vitro* tests showed that *Lactococcus lactis* L54 produced nisin and the nisin inhibited *Listeria monocytogenes*. Moreover, the nisin L54 was quite stable against high temperatures, various non-proteolytic enzymes in foods, various chemicals in food industry, and low pH. The number of *Listeria monocytogenes* in Beyaz cheeses produced by adding *Lactococcus lactis* L54 + *Listeria monocytogenes* strains was found to be significantly lower during storage than Beyaz cheese produced by adding only *Listeria monocytogenes* ($p < 0.05$). In addition, physicochemical and sensory properties of Beyaz cheeses produced by adding *Lactococcus lactis* L54 were similar to those produced by using commercial culture.

Results: It was concluded that *Lactococcus lactis* L54, nisin producer, can be used as bioprotective culture without affecting physicochemical and sensory properties of Beyaz cheese.

Keywords: *Lactococcus lactis*, nisin, Beyaz cheese, starter culture

July 2023, 175 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	xv
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	3
Laktik Asit Bakterileri.....	3
Bakteriyosinler	4
Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması	5
Beyaz Peynir	12
<i>Listeria</i> spp.....	14
MATERYAL VE METOT	17
Materyal	17
Yöntem.....	17
Mikrobiyolojik analizler.....	17
Laktik asit bakterisi izolasyonu.....	18
İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi	19
İzolatların antogonistik aktivitelerinin ölçülmesi.....	22
İzolatların genotipik karakterizasyonu	22
Bakteriyosin oluşumundan sorumlu genlerin tespiti.....	24
Bakteriyosin karakterizasyonu	26
Bakteriyosin üreticisi suşların güvenlik değerlendirmesi	30
Beyaz Peynir Üretimi	31
Beyaz peynire işlenecek sütte yapılan analizler	32
Üretilen peynirlerde yapılan mikrobiyolojik analizler	32
Üretilen peynirlerde yapılan fizikokimyasal analizler	32
İstatistiksel analizler.....	36
ARAŞTIRMA BULGULARI	37

Beyaz Peynir Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	37
İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gram boyama, Katalaz ve Morfoloji Özellikleri.....	39
İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Glikozdan Gaz Oluşturma Özellikleri.....	42
İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Arginini Hidrolizi Etme Özellikleri	44
İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı Sıcaklıklarda Üreme Özellikleri	47
İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim Özellikleri.....	52
İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı pH Değerlerinde Gelişim Özellikleri.....	58
Asit Üretme Yetenekleri	63
İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Antibiyotiklere Karşı Dirençleri	70
İzole edilen laktik asit bakterilerinin proteolitik ve lipolitik aktiviteleri	78
İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Patojenlere Karşı Antagonistik Aktiviteleri	82
İzolatların rep-PCR (repetitive element palindromic PCR) Profilleri ve 16S rRNA Dizi Analizi Sonuçları.....	96
Bakteriyosin Üretiminden Sorumlu Genlerin PCR ile Belirlenmesi	100
Bakteriyosin Karakterizasyonu	100
Gelişme eğrisinin çizilmesi ve gelişme boyunca bakteriyosin üretim kinetiğinin izlenmesi	100
Bakteriyosinin <i>in vitro</i> koşullarda <i>L. monocytogenes</i> üzerine etkisi.....	101
Sıcaklık uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi	102
Enzim uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi.....	103
Kimyasal uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi	104
Farklı pH değerlerinin bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi	106
Bakteriyosin spektrumunun belirlenmesi.....	107
Bakteriyosin Kodlayan Nisin Geninin Dizi Analizi.....	110
<i>L. lactis</i> L54'ün Güvenlik Değerlendirmesi.....	110
Hemolitik aktivite.....	110
DNAse Aktivitesi	111
Virülans Genlerin Belirlenmesi.....	112
Peynir Üretimi, Çiğ Süt ve Peynirlerde Yapılan Analizler	112
Çiğ ve pastörize sütte yapılan mikrobiyolojik analizler.....	112
Çiğ Sütte yapılan fizikokimyasal analizler	113
Üretilen peynirlerde yapılan mikrobiyolojik analizler	113

Üretilen peynirlerde yapılan fizikokimyasal analizler	120
Duyusal Analiz.....	130
SONUÇ VE ÖNERİLER	137
KAYNAKLAR.....	140
EKLER	156
ÖZGEÇMİŞ.....	157



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması.....	5
Tablo 2. Bakteriyosin Üretiminden Sorumlu Genlerin Belirlenmesinde Kullanılan Primerler ve Amplikon Uzunlukları	24
Tablo 3. Bakteriyosin Genlerinin Amplifikasyonu için Oluşturulan PCR Karışımı	25
Tablo 4. Bakteriyosin Genlerinin Amplifikasyonu için Oluşturulan PCR Şartları	25
Tablo 5. İndikatör Bakterilerin Geliştirildiği Besiyerleri ve İnkübasyon Koşulları	29
Tablo 6. Virülans Genlerin Tespitinde Kullanılan Primerler ve Amplikon Uzunlukları	30
Tablo 7. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Formülasyon.....	31
Tablo 8. Peynir Örneklerinin Duyusal Değerlendirilmesinde Kullanılan Form.....	35
Tablo 9. Analiz edilen Beyaz Peynir Örneklerinin Sayım Sonuçları	37
Tablo 10. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gram Boyama, Katalaz ve Morfolojik Özellikleri	39
Tablo 11. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Gram Boyama, Katalaz ve Morfolojik Özellikleri	41
Tablo 12. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Glikozdan Gaz Oluşturma Özellikleri	43
Tablo 13. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Glikozdan Gaz Oluşturma Özellikleri.....	44
Tablo 14. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Arginini Hidrolize Etme Özellikleri	45
Tablo 15. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Arginini Hidrolize Etme Özellikleri.....	46
Tablo 16. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Özellikleri.....	47
Tablo 17. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Özellikleri.....	50
Tablo 18. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerin Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim Özellikleri	53
Tablo 19. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim Özellikleri	56
Tablo 20. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerin Farklı pH Değerlerinde Gelişim Özellikleri	58

Tablo 21. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Farklı pH Değerlerinde Gelişim Özellikleri.....	61
Tablo 22. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı İnkübasyon Sürelerinde Asit Üretim Miktarları.....	64
Tablo 23. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Farklı İnkübasyon Sürelerinde Asit Üretim Miktarları	67
Tablo 24. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Antibiyotiklere Karşı Dirençleri Ortalamaları	70
Tablo 25. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Bazı Antibiyotiklere Karşı Dirençleri Ortalamaları	73
Tablo 26. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Proteolitik ve Lipolitik Aktiviteleri.....	79
Tablo 27. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Proteolitik ve Lipolitik Aktiviteleri.....	80
Tablo 28. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Patojenlere Karşı Antagonistik Aktiviteleri Çapları Ortalamaları	83
Tablo 29. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Bazı Patojenlere Karşı Antagonistik Aktiviteleri Çapları Ortalamaları	90
Tablo 30. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerine Ait rep-PCR Gruplandırması ve Sekans Analizi Sonuçları.....	97
Tablo 31. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Cinsi Bakterilere Ait rep-PCR Gruplandırması ve Sekans Analizi Sonuçları.....	98
Tablo 32. Sıcaklık Uygulamasının Nisin L54'ün Aktivitesini Düşürme Oranları	102
Tablo 33. Enzim Uygulamasının Nisin L54'ün Aktivitesini Düşürme Oranları	103
Tablo 34. Kimyasal Uygulamasının Nisin L54'ün Aktivitesini Düşürme Oranları	104
Tablo 35. Farklı pH Değerlerinin Nisin L54'ün Aktivitesini Düşürme Oranları	106
Tablo 36. Nisin L54 Bakteriyosininin Spektrumu.....	108
Tablo 37. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Çiğ ve Pastörize Sütlerin Mikrobiyolojik Özellikleri	112
Tablo 38. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Çiğ Sütün Bazı Fizikokimyasal Özellikleri.....	113
Tablo 39. Beyaz Peynir Örneklerinde Yapılan Bazı Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	114
Tablo 40. Beyaz Peynir Örneklerinin M17 Agarda Gelişen Laktokok Sayısı Sonuçlarına Ait Varyans Analiz Test Sonuçları.....	115

Tablo 41. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait M17 Agarda Gelişen Laktokok Sayıları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları .	115
Tablo 42. Beyaz Peynir Örneklerinin <i>L. monocytogenes</i> Sayısı Sonuçlarına Ait Varyans Analiz Test Sonuçları	117
Tablo 43. Beyaz Peynir Örneklerine Ait <i>L. monocytogenes</i> Sayıları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	117
Tablo 44. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait <i>L. monocytogenes</i> Sayıları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	118
Tablo 45. Beyaz Peynir Örneklerinde Yapılan Bazı Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	121
Tablo 46. Beyaz Peynir Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Parametrelerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları	122
Tablo 47. Bağımsız Örneklem <i>t</i> -Testine Göre Örneklerin pH Değerleri Arasında Belirlenen Farklılıklar.....	123
Tablo 48. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait pH Değerleri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	124
Tablo 49. Bağımsız Örneklem <i>t</i> -Testine Göre Örneklerin Yağ Miktarları Arasında Belirlenen Farklılıklar.....	125
Tablo 50. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Yağ Miktarları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	126
Tablo 51. Bağımsız Örneklem <i>t</i> -Testine Göre Örneklerin Kurumadde Miktarları Arasında Belirlenen Farklılıklar	127
Tablo 52. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Kurumadde Miktarları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	127
Tablo 53. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait NaCl Miktarları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	128
Tablo 54. Bağımsız Örneklem <i>t</i> -Testine Göre Örneklerin Protein Miktarları Arasında Belirlenen Farklılıklar.....	129
Tablo 55. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Protein Miktarları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	129
Tablo 56. Beyaz Peynir Örneklerine Yapılan Duyusal Analiz Sonuçları.....	131
Tablo 57. Beyaz Peynir Örneklerinin Duyusal Analiz Parametrelerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları	132
Tablo 58. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Tat ve Koku Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları	133

Tablo 59. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Tuzluluk Puanları

Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları..... 134

Tablo 60. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Oksidasyon Puanları

Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları..... 134

Tablo 61. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Genel Kabul Edilebilirlik

Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları..... 135



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Nisin A geninin yapısal görünümü	6
Şekil 2. Nisinin primer yapısına ait görsel	7
Şekil 3. Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmaların grafik özetine ait görsel	17
Şekil 4. Solis BioDyne DNA Ladder fragment boyutları ve miktarları	26
Şekil 5. Beyaz peynir üretim akış şeması	31
Şekil 6. KAA agarda saflaştırılan enterokok grubu bir bakteriye ait petri görüntüsü	42
Şekil 7. Arginine negatif (-) L26 ve pozitif (+) L30 izolatlarına ait görüntü	47
Şekil 8. Örnek 96-well plate okuma sonucu	52
Şekil 9. Antibiyotik direnç testi yapılan E208 ve E260 izolatlarına ait görüntü	78
Şekil 10. Proteolitik aktivite gösteren E254 izolatına ait görüntü	81
Şekil 11. Lipolitik aktivite gösteren L47 izolatına ait görüntü	82
Şekil 12. Bazı izolatların <i>S. aureus</i> ve <i>L. monocytogenes</i> patojenlerine karşı gösterdikleri antimikrobiyal zon çapları	95
Şekil 13. L54 kodlu izolata ait pH ayarlama, enzim ve sıcaklık uygulamaları yapılan süpernatantların <i>L. monocytogenes</i> patojenine karşı gösterdikleri antimikrobiyal zon çapları	96
Şekil 14. MRS agardan izole edilen LAB'lara ait örnek rep-PCR profili	98
Şekil 15. KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilere ait örnek rep-PCR profili	99
Şekil 16. 16S rRNA geninin (1500 bp) amplifikasyonunu gösteren agaroz jel görüntüsü	99
Şekil 17. <i>L. lactis</i> L54 suşuna ait nisin (180 bp) geninin amplifikasyonunu gösteren agaroz jel görüntüsü	100
Şekil 18. <i>L. Lactis</i> L54 suşuna ait gelişme eğrisi ve bakteriyosin üretim kinetiği	101
Şekil 19. Nisin L54'ün <i>in vitro</i> koşullarda <i>L. monocytogenes</i> üzerine etkisi	102
Şekil 20. Sıcaklık uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri	103
Şekil 21. Enzim uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüsü	104
Şekil 22. Kimyasal uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri	105
Şekil 23. Farklı pH değerlerinin nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri	107

Şekil 24. Nisin L54'ün <i>S. lutetiensis</i> L55 ve <i>S. macedonicus</i> L36'ya karşı gösterdiği antimikrobiyal etkiye ait petri görüntüsü.....	109
Şekil 25. <i>L. lactis</i> L54'ün genomundan çoğaltılan nisin L54'ü kodlayan genin dizi ve homolojisi	110
Şekil 26. β -hemolitik <i>S. aureus</i> ATCC 29213 ve γ -hemolitik <i>L. casei</i> ATCC 393 suşlarına ait görüntü.....	111
Şekil 27. DNase aktivitesi gösteren <i>S. aureus</i> ATCC 29213 suşuna ait görüntü.....	112
Şekil 28. Beyaz peynir örneklerinde bulunan laktokok (log kob/g) sayısının depolama süresi boyunca değişimi.	116
Şekil 29. Beyaz peynir örneklerinde bulunan <i>L. monocytogenes</i> (log kob/g) sayısının depolama süresi boyunca değişimi.	119
Şekil 30. PALCAM agarda gelişme gösteren <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644 patojenine ait petri görüntüsü.....	120
Şekil 31. Beyaz peynir üretimi ve depolanmasına ait görüntüler	122
Şekil 32. Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerinin depolama süresi boyunca değişimi	124
Şekil 33. Beyaz peynir örneklerinin protein miktarlarının depolama süresi boyunca değişimi.	130

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

Kısaltmalar

AMP	: Ampisilin
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
BHI	: Brain Heart Infusion
CLA	: Kloramfenikol
CLI	: Klindamisin
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DRBC	: Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar
DSMZ	: Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültürü Koleksiyonu
EDTA	: Etilendiamintetra Asetik Asit
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority)
ERY	: Eritromisin
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
GEN	: Gentamisin
GMBKK	: Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu
GM17	: %0,5 glikoz içeren M17 besiyeri
GRAS	: Genel olarak güvenli (Generally recognized as safe)
H₂O	: Su
HCl	: Hidroklorik Asit
KAN	: Kanamisin
kDa	: Kilodalton
kob	: Koloni Oluşturan Birim
log	: Logaritma
MRS	: De man-Rogosa-Sharpe Agar
NA	: Nutrient agar
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz
pH	: Asitlik Bazlık Birimi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Rep-PCR	: Repetitive Element Sequence-based PCR
RNA	: Ribonükleik Asit
Rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı

RSHMB	: Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı
STR	: Streptomisin
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
TET	: Tetrasiklin
UV	: Ultraviole
VAN	: Vankomisin
VRB	: Violet Red Bile Agar
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)

Simgeler

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat Derece
d	: Dakika
s	: Saniye
bp	: Baz Çifti
V	: Volt
kg	: Kilogram
g	: Gram
mg	: Miligram
μg	: Mikrogram
v	: Hacim
L	: Litre
mL	: Mililitre
μL	: Mikrolitre
ppm	: mg/kg (milyonda bir)
mm	: Milimetre
μm	: Mikrometre
nm	: Nanometre
M	: Molarite
N	: Normalite
μM	: Mikromolar
mM	: Milimolar

GİRİŞ

Gıdalarda yaygın olarak bulunan ve bazı suşları GRAS (Generally recognized as safe/Genel olarak güvenli) statüsünde kabul edilen laktik asit bakterileri (LAB) fermente gıdalarda tat, aroma ve tekstürün oluşumunda rol almalarının yanı sıra biyokoruyucu olarak da kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar LAB'ların biyokoruyucu etkilerinin fermentasyon esnasında ürettikleri asitler (laktik, asetik), etanol, diasetil, ekzopolisakkaritler, aseton ve bakteriyosinler gibi bileşiklerden kaynaklandığını göstermektedir (Favaro *et al.* 2015; Zommiti *et al.* 2018). Ayrıca *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* ve *Pediococcus* cinsi LAB'ların bazı spesifik suşları probiyotik özellik göstermekte ve memelilerin gastrointestinal sistemlerinde bulunabilmektedir. Bu bakteri grubunun farmasötik ve gıda endüstrisinde artan kullanımının nedenlerinden biri de bazı suşların bakteriyosin üreterek fermente ürünleri saprofit ve patojenlere karşı korumalarıdır. Bakteriyosin üreten suşların gıdalarda kullanımı kimyasal katkı maddelerine alternatif sunmaktadır (Federici *et al.* 2014; Porto *et al.* 2017).

Günümüzde yaygınlaşan antibiyotik direnci ve tüketicilerin doğal ürünlere olan talebinin artması doğal antimikrobiyal maddelere olan ihtiyacı da artırmaktadır. Mikrobiyal kontaminasyonlar süt endüstrisinde önemli kalite ve güvenlik problemlerine yol açmaktadır. Özellikler küçük çaplı işletmelerde, çiğ süttten üretilen, uygun ambalajlama, taşıma ve depolama yapılmayan peynirlerin mikrobiyolojik kaliteleri oldukça düşüktür. Bu durum göz önüne alındığında bakteriyosin üreticisi suşların belirlenmesi ve peynir üretiminde kullanılabilirliğinin araştırılması önem taşımaktadır.

Bu çalışmada Beyaz peynir üretiminde kullanılabilecek starter ve biyokoruyucu kültürlerin izolasyonu, karakterizasyonu ve depolama boyunca *L. monocytogenes* gelişimine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda Erzurum piyasasından temin edilen 20 adet, starter kültür içermeyen, Beyaz peynir örneğinden 83 adet LAB ve 62 adet enterokok grubu bakterilerinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ardından bu mikroorganizmaların teknolojik özellikleri, antagonistik aktiviteleri ve bakteriyosin üretiminden sorumlu genleri içerip içermedikleri belirlenmiştir. LAB'ların genotipik karakterizasyonu için rep-PCR yapılmış ve 23 farklı gruba ayrılmıştır. Daha sonra her gruptan en az 1 izolat (teknolojik özellikleri Beyaz peynir üretimine uygun ve muhtemel bakteriyosin üreticisi suşlar dahil) seçilerek toplam 27 suş 16S rRNA dizi analizi yöntemi ile tanımlanmıştır. Tanımlanan suşlardan *Lactococcus lactis* L54'ün nisin geni içerdiği tespit edilmiş ve söz konusu bakteriyosinin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca *L. lactis* L54 suşu kullanılarak *L. monocytogenes*

içeren ve içermeyen Beyaz peynirler üretilmiş ve 90 günlük depolama süresince *L. monocytogenes* sayısına ilaveten bazı mikrobiyolojik parametreler, fizikokimyasal özellikler ve duyuşal özellikler belirlenerek kontrol örneği ile karşılaştırılmıştır.



KURAMSAL TEMELLER

Laktik Asit Bakterileri

Ülkemizde Beyaz peynir tüketimi en çok olan gıda ürünleri içerisinde yer almaktadır. Ekonomik değeri oldukça yüksek olan Beyaz peynir laktik asit bakterileri ile olgunlaştırılarak istenen tat ve aroma elde edilmektedir (Hayaloğlu 2017). Laktik asit bakterileri (LAB), karbonhidrat fermantasyonunun ana ürünü olarak laktik asit üreten Gram-pozitif, katalaz negatif, sporsuz, düşük guanin + sitozin (G + C) oranına sahip, fakültatif anaerob, düşük pH değerlerine dayanıklı hareketsiz basil veya koklardır (Konings 2002; Schleifer 2009). Taksonomik sınıflandırmaya göre LAB *Firmicutes* şubesi, *Bacilli* sınıfı ve *Lactobacillales* takımında bulunurlar (Von wright and Axelsson 2011). *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* cinsleri en iyi bilinenler olmasına rağmen *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* cinsleri de LAB'lara dahil edilmiştir (Khalid 2011).

LAB, patojen olmayan mikroorganizmalardır ve *Enterococcus* gibi birkaç tür dışında GRAS olarak kabul edilirler (Özoğlu and Hamed 2018). Doğal olarak et ve süt ürünleri, meyve sebzeler ve ekşi hamur gibi zengin besin kaynağı içeren ortamlarda bulunan LAB ağız boşluğu ve gastrointestinal sistem gibi hayvan mukozal yüzeylerinde de bulunmaktadır (Hayek and Ibrahim 2013).

Homofermentatif LAB, Embden Meyerhof Parnas (EMP) yolunu kullanarak disakkaritleri fermantasyon ile hemen hemen saf laktik asit üretirler. Heterofermentatif LAB ise pentoz monofosfat yolu aracılığıyla laktik aside ilaveten etil alkol, karbondioksit, hidrojen peroksit, aseton ve diasetil gibi bileşenleri de üretmektedirler (Zapašnik *et al.* 2022).

LAB gıdaların fermente edilmesinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Çeşitli et ve süt ürünleri, meyve, sebze ve tahılların fermantasyonunda starter kültür olarak kullanılmaktadırlar. Laktik asidin yanı sıra protein ve lipidlerin hidrolizi ile ürettikleri çeşitli alkol, asit, ester, aldehit ve kükürtlü bileşikler ile son üründe tat ve aroma gelişimine katkıda bulunurlar (Ammor and Mayo 2006; Souza *et al.* 2001). Özellikle organik asitler, etanol, bakteriyosinler, aroma bileşenleri, vitaminler, ekzopolisakkaritler ve bazı enzimleri üreterek son ürünün raf ömrünü uzattıkları, mikrobiyal güvenliğini sağladıkları, besin değerini artırdıkları, tekstür ve duyu özelliklerini iyileştirdikleri bilinmektedir. LAB endüstriyel olarak antimikrobiyal maddeler, şeker polimerleri, tatlandırıcılar, aromatik bileşikler, faydalı

enzimler ve nutrasötiklerin üretiminde veya probiyotik olarak da kullanılmaktadırlar (Bintsis 2018, Leroy and De Vuyst 2004).

Starter kültür özelliklerine ilaveten, LAB hidrojen peroksit, organik asitler, düşük moleküler ağırlıklı maddeler (diasetil, yağ asitleri, reuterin, reuterisiklin), antifungal bileşikler (fenil laktat, propiyonat, hidroksifenil laktat) ve bakteriyosinler gibi sentezledikleri antimikrobiyal maddeler yardımıyla patojenlerin/saprofitlerin gelişimini engellemekte ve biyokoruyucu kültür olarak kullanılabilirler (Castellano *et al.* 2017).

Nisan 2020'de Uluslararası Sistematik ve Evrimsel Mikrobiyoloji Dergisi (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology)'nde *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* bakterilerinin yeni isimlendirmesi yayınlanmış (Zheng *et al.* 2020) ve tez kapsamında bu isimlendirmeler dikkate alınmıştır.

Bakteriyosinler

Bakteriyosinler Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler tarafından üretilen, daha çok yakından ilişkili bakteri türlerine karşı antagonistik aktiviteye sahip peptit yapısında hücre dışı antimikrobiyal maddelerdir. Genel olarak termostabil özellikte olan bakteriyosinler, 20-60 amino asitten oluşan çeşitli katyonik ve hidrofobik peptit grubuna aittir. Bakteriyosinler farklı bakterilere, mantarlara, parazitlere, virüslere ve hatta bakteriyel biyofilmlere karşı dahi antimikrobiyal aktivite gösterebilmektedirler (Cotter *et al.* 2005; Hernández-González *et al.* 2021). LAB tarafından üretilen bakteriyosinler, bu bakterilerin uzun süredir güvenli kullanım geçmiş olması ve çoğu LAB'ların güvenli (GRAS) statüsünde kabul edilmesi nedeniyle özellikle ilgi çekmektedir (Alvarez-Sieiro *et al.* 2016).

Bakteriyosinlerin sentezi ve salgılanması için en az dört gene ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlar; (1) ön-bakteriyosini kodlayan yapısal bakteriyosin geni, (2) bakteriyosin üreticisini kendi bakteriyosininden koruyan bağışıklık proteinini kodlayan bağışıklık geni, (3) salgı için gerekli olan bir ABC (ATP-binding cassette/ATP-bağlayıcı kaset) taşıyıcısını kodlayan gen ve (4) bilinmeyen fonksiyonlu bir aksesuar proteini kodlayan genidir. Bakteriyosin kodlayan genler kromozomda, plazmitlerde veya diğer mobil genetik elementlerde bulunabilmektedirler (Dridger *et al.* 2006; da Silva Sabo *et al.* 2014).

Bakteriyosinler hedef hücrenin yüzey reseptörlerine bağlandıktan veya hücrelere girdikten sonra, por oluşumu, DNA'nın parçalanması veya peptidoglikan sentezinin inhibe edilmesi ile antimikrobiyal etkilerini göstermektedirler. Bakteriyosinler doğrudan gıdalara katılabileceği gibi, bakteriyosinogenik LAB suşları ilavesiyle de üründe biyokoruyucu etki gösterebilmektedirler (Cavicchioli *et al.* 2017). Çoğu antibiyotikten farklı olarak,

bakteriyosinler protein yapıda olduklarından gastrointestinal sistem proteazları tarafından kolayca parçalanabilmekte ve artan antibiyotik direncine karşı bir alternatif oluşturmaktadırlar (da Silva Sabo *et al.* 2014).

Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması

Bu maddeler moleküler ağırlıklarına, etki tarzlarına, modifiye edilmiş amino asit içerip içermediklerine ve morfolojik özelliklerine göre üç sınıfa ayrılırlar. Bakteriyosinlerin sınıflandırılması Tablo 1’de verilmiştir (Maldonado *et al.* 2003; Gutiérrez-Cortés *et al.* 2018a; Hernández-González *et al.* 2021).

Tablo 1. Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması

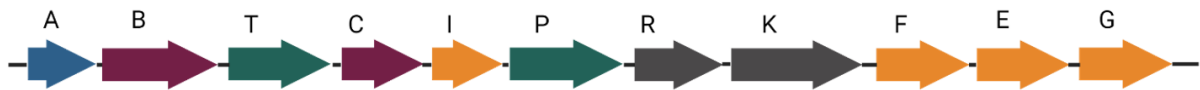
Grup	Alt Grup	Karakteristik Özellik	Örnek Bakteriyosin
Grup I Lantibiyotikler	Ia: Lantipeptitler	Küçük, ısıya dayanıklı bakteriyosinler (<5 kDa), translasyon sonrası bir modifikasyona sahiptir ve atipik amino asitler lantionin ve metillantonin oluşumu ile sonuçlanır.	Nisin, laktisin 481, laktosin S, glikosin, subtilin, mersasidin
	Ib: Globüler ve esnek olmayan bakteriyosinler		
	Ic: saktipeptitler		
Grup II Non-lantibiyotikler	IIa: Pediosin benzeri	Amfifilik sarmal yapıya sahip küçük ve esnek bakteriyosinler (<10 kDa). Bu peptitler, modifiye edilmiş amino asit kalıntıları içermez ve pH ve ısıya dayanıklıdır.	Pediosin, enterosin, plantarisin, sakasin
	IIb: iki peptit		
	IIc: Lider peptidi olmayan		
	IId: Pediosin benzeri olmayan tek peptit		
Grup III	IIIa: bakteriyolizinler	Yüksek moleküler ağırlıklı bakteriyosinler (>30 kDa), ısıya duyarlı ve modifiye edilmemiş peptidler	Helvetisin J, lizostapin, enterolis A
	IIIb: litik olmayanlar		

Grup I bakteriyosinler lantionin halkası içerirler ve lantibiyotikler olarak da adlandırılırlar. Bu gruptaki peptitler 5 kDa’dan küçüktür ve termostabil özellik gösterirler. Post translasyonel modifikasyona sahip olan bu bakteriyosinler 19-50 aminoasit içermektedirler. Ayrıca sınıf I, üç alt sınıfa ayrılır:

- ✓ Sınıf Ia, bakteri zarlarında gözenek oluşumuyla bağlantılı hidrofobik peptitleri içeren, esnek, uzunlamasına ve pozitif yüklü bakteriyosinlerdir. Bu grubun en önemli üyesi nisindir.

- ✓ Sınıf Ib, negatif yüklü veya net yükü olmayan, globüler ve esnek olmayan bakteriyosinlerden oluşmaktadır. Bu peptitler, hassas bakterilerin hayatta kalması için gerekli olan katalitik enzimleri inhibe edebilmektedirler.
- ✓ Sınıf Ic (saktipeptitler), kükürt- α -karbon içeren peptitlerdir. LAB'lardan bu grubun hiçbir bakteriyosini karakterize edilmemiştir (Deegan *et al.* 2006; Alvarez-Sieiro *et al.* 2016; Ahmad *et al.* 2017).

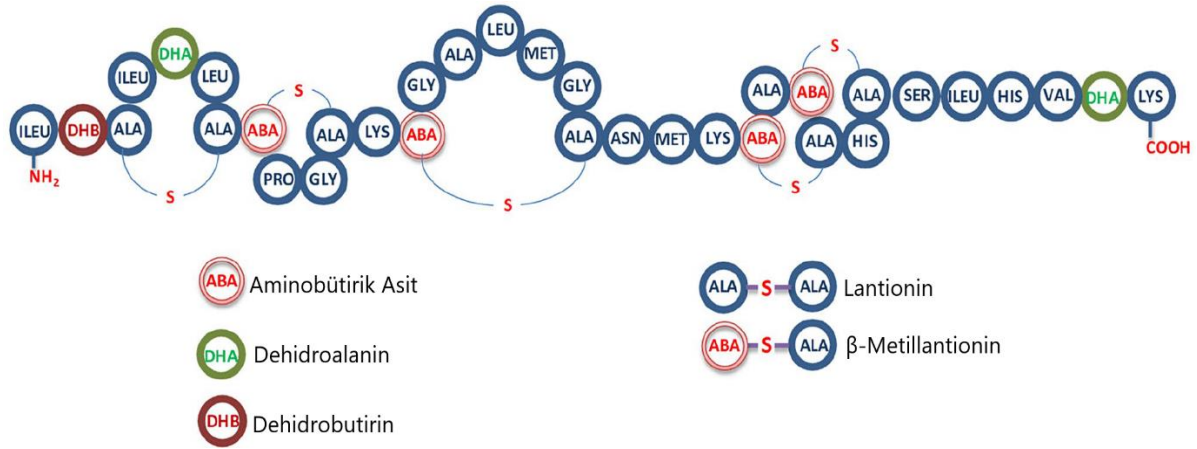
Nisin (E234), ağırlıklı olarak *Lactococcus lactis* tarafından üretilen, translasyon sonrası modifiye edilmiş peptidlerin bir sınıfı olan Ia sınıfı lantibiyotikler grubuna aittir. Rogers and Whittier (1928) tarafından keşfedilen nisin bilinen en eski lantibiyotik bileşiklerinden biridir. Günümüze kadar 8 doğal nisin varyantı keşfedilmiş olup bunlardan nisin A, Z, F ve Q'yu laktokokların ürettikleri tespit edilmiştir. Nisin H *Streptococcus hyointestinalis*, nisin U ve nisin U2 *Streptococcus uberis* ve nisin P hem *Streptococcus gallolyticus* spp. *pasteurianus* hemde *Streptococcus suis* tarafından üretilmektedir. Nisin A, Z, F, Q, H, U, U2 ve P'nin amino asit dizilerinin hizalanması (alingment) sonucunda sırasıyla nisin A'dan nisin P'ye doğru giderek artan bir değişim olduğu tespit edilmiştir. Nisin A'nın amino asit dizisi ile Z'nin aminoasit dizileri bir adet farklılık varken, nisin P ile onüç tane fark bulunduğu ifade edilmektedir. Nisin varyantlarının antimikrobiyal aktivite ve biyokimyasal özellikleri değişkenlikler gösterirken, aminoasit sekansındaki farklılıklar stabilitelere katkı sağlayabilmektedir. Örneğin nisin Q'nun oksidasyona karşı nisin A ve Z'ye göre daha yüksek stabilite göstermesi, konformosyonel yapısının menteşe (hinge) bölgesinde bir metiyonin aminoasidinin bulunmamasından kaynaklanmaktadır (Perez *et al.* 2014; O'Connor *et al.* 2015; Woraprayote *et al.* 2016). Nisin A geninin yapısal görünümü Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Nisin A geninin yapısal görünümü (Alvarez-Sieiro *et al.* 2016'dan modifiye edilmiştir) (Mavi; yapısal gen, mor; modifikasyon ve olgunlaşma genleri, yeşil; taşıyıcı genler, turuncu; bağışıklık genleri, koyu gri; diğer genler, Created with BioRender.com)

GRAS statüsünde kabul edilen bu bakteriyosin, süt ürünleri, sıvı yumurta, unlu mamüller, sebzeler, et ve balık dahil olmak üzere geniş bir ürün yelpazesinde gıda koruyucu olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. FAO/WHO (Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü) Süt ve Süt Ürünleri Kodeksi Komitesi nisinin peynirlerde 12,5 mg/kg oranında kullanılabileceğine; Türk Gıda Kodeksi ise olgunlaşmamış peynirlerde 10 mg/kg, işlenmiş peynirlerde 12,5 mg/kg oranında kullanılmasına izin vermişlerdir. Nisin *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. gibi

Gram-pozitif, patojen ve saprofit mikroorganizmaların kontrolünde kullanılabilmektedir (Al-Holy *et al.* 2012; Anonim 2013; Kruger *et al.* 2013; Favaro *et al.* 2015). Nisinin primer yapısı Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Nisinin primer yapısına ait görsel (Khelissa *et al.* 2021’den modifiye edilmiştir)

Gıdaların pH, protein, yağ ve nişasta içeriği gibi fizikokimyasal özellikleri bakteriyosinlerin antimikrobiyal aktivitelerini etkileyebilmektedir. Nisinin aktivitesi genel olarak pH 5’in üzerinde azalmakta, pH 7’nin üzerinde ise büyük ölçüde kaybolmaktadır. Nisin’in amfipatik (hidrofilik ve hidrofobik uçlar taşımaları) yapısı gıda matriksinde bulunan yağ ve diğer bileşenler ile etkileşime girmesine ve antimikrobiyal potansiyelini azaltmasına yol açmaktadır (Favaro *et al.* 2015). Nisin üreten *L. lactis* suşları ile yapılan çalışmalar aşağıda verilmiştir.

Hwanhlem *et al.* (2013) Güney Tayland’daki mangrov ormanlarından izole edilen *Lactococcus lactis* spp. *lactis* KT2W2L suşunun nisin üreticisi olduğunu tespit etmişlerdir. Karakterizasyonu yapılan nisinin pH 2,0-10,0 aralığında stabilitesini koruduğu, proteolitik enzimlere hassasiyet gösterdiği ve termostabil yapıda olduğunu belirlenmiştir. Ayrıca -20 °C’de 8 hafta ve 4 °C’de 7 hafta depolamanın ardından aktivitesini koruyan nisinin 37 °C’de 3 haftalık depolamanın ardından aktivitesi azalmıştır. Bakteriyosini kodlayan genin dizi analizi sonuçları ise üretilen nisinin nizin Z ile %99 oranında homoloji gösterdiğini açığa çıkarmıştır. Araştırmacılar *L. lactis* spp. *lactis* KT2W2L suşunun ve üretilen nisinin gıda ürünlerindeki bozulmaları ve gıda kaynaklı patojenleri azaltmak için biyokoruyucu olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Al-Holy *et al.* (2012) tarafından yapılan bir çalışmada nisin ve sıcaklık uygulamasının birlikte kullanımının Beyaz peynirde *Listeria innocua* kontaminasyonunu nasıl etkilediği belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, 63 °C’de 5 dk ısıtma uygulaması ve 1000 IU/mL

nisin kullanımının 4 ve 10 °C'de muhafaza edilen Beyaz peynirlerdeki *L. innocua* kontaminasyonunu sırasıyla 6 ve 8. günlerde elimine edebildiği tespit edilmiştir.

Clostridium tyrobutyricum, bütirik asit fermantasyonu nedeniyle peynirlerde gaz oluşumu ve şişmeye (geç şişme) neden olmaktadır. Bu bakterinin peynirde kontrol altına alınması için *C. tyrobutyricum* sporları inoküle edilen örneklerde nisin üreten *L. lactis* spp. *lactis* INIA 415 suşunun biyokoruyucu kültür olarak kullanılma potansiyeli araştırılmıştır. Buna göre yalnızca *C. tyrobutyricum* sporları inoküle edilen peynirlerde depolamanın 14. günde geç şişme ortaya çıkarken koruyucu kültür ile üretilen peynirlerde depolamanın 21. gününde geç şişme gerçekleşmiştir. Ayrıca, nisin üreten kültür ile yapılan peynirlerdeki laktik asit miktarı kontrol grubundan 1,22 kat daha yüksek ($P<0,01$), propiyonik ve bütirik asit konsantrasyonları sırasıyla 2,15 ve 2,32 kat daha düşük ($P<0,01$) bulunmuştur. Nisin üreten *L. lactis* spp. *lactis* INIA 415 suşu *C. tyrobutyricum* gelişimini tamamen durdurmasada bozulmayı geciktirmekte etkili bulunmuştur (Ávila et al. 2020).

Raheem and Salis (2009) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise nisin üreten *L. lactis* LAC309 suşunun Nijerya'nın geleneksel ürünü olan Wara peynirindeki *Bacillus licheniformis* 553 / 1 patojenine karşı etkinliği belirlenmiştir. Araştırmacılar *L. lactis* LAC309 ilave edilen peynirlerdeki *B. licheniformis* 553 / 1 sayısının kontrolden 3 log kob/g daha az olduğunu tespit etmişlerdir. Nisin üreten *L. lactis* LAC309 suşu Wara peynirinde biyokoruyucu suş olarak önerilmiştir.

Laktisin *L. lactis* suşları tarafından üretilen ve Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite gösteren bir diğer bakteriyosindir. Martínez-Cuesta et al. (2010), tarafından yapılan bir çalışmada laktisin üretebilen *L. lactis* IFPL 3593 suşu peynir üretiminde kullanılmış ve *Clostridium* spp. sporlarının çimlenerek gaz oluşturmaları engellenmiştir. Ribeiro et al. (2016) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise peynirden *L. lactis* L3A21M1 suşu izole edilmiş ve laktisin üretebildiği belirlenmiştir. Araştırma kapsamında saflaştırılan laktisin, peynir üretiminde kullanılmış ve kontrole kıyasla *L. monocytogenes* sayısında istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) seviyelerde azalmaya sebep olduğu bulunmuştur.

Sınıf II bakteriyosinler (lantibiyotik olmayan) 10 kDa'dan küçük termostabil peptitlerdir. Amfifilik sarmal yapıya sahip olan bu bakteriyosinler modifiye edilmiş aminoasit içermezler ve pH değişimlerine karşı dayanıklıdır. Bu peptitler 4 alt sınıfa ayrılmaktadır:

- ✓ Sınıf IIa bakteriyosinler (pediyosin benzeri), N terminalinde bir disülfid bağı ile bağlanmış iki sistein ve YGNGVXC konsensüs dizisini içeren 35 ila 50 amino asitlik peptitleri içerirler. Bu bakteriyosinler, *Listeria* türlerine karşı güçlü aktiviteye sahiptir. Bu peptitlerin antimikrobiyal aktivitesi üç temel adımdan oluşur.

İlk olarak şeker taşıyıcı mannoz fosfotransferaz sistemi reseptörlerine yapışır, sitoplazmik zara girer ve son olarak hücre zarında por oluşturarak aktivite gösterirler. Pediosin PA1 ve lökosin A bu grubun üyelerindendir (Diep *et al.* 2007; Cui *et al.* 2012).

- ✓ Sınıf IIb bakteriyosinler sinerjik etkiye sahip iki farklı tamamlayıcı peptitten oluşmaktadır. Optimum antimikrobiyal aktivite gösterebilmeleri için her iki peptitin yaklaşık olarak eşit miktarlarda olması gerekmektedir. Bu bakteriyosinler, amfililik ve hidrofobik bölgeler içermektedirler ve çoğunlukla katyoniktirler. İki farklı peptidi kodlayan genler, yakından ilişkilidir ve aynı operonda bulunmaktadır. Plantarisin A ve enterosin X bu grubun üyeleri arasında yer almaktadırlar (Oppegård *et al.* 2007; Diep *et al.* 2009).
- ✓ Sınıf IIc bakteriyosinler, genellikle salgılanma, modifikasyon ve bakteriyosini üretici hücre içinde pasif halde tutan bir N-terminal lider peptidi olmadan sentezlendikleri için benzersizlerdir. Bu bakteriyosinler pozitif ne yüke sahip olduklarından negatif yüklü bakteri zarı ile doğrudan etkileşime girerek por oluştururlar. Bu durum iyonların hücre zarından dışarıya akışına ve dolayısıyla bakterinin inhibisyonuna yol açar. Enterosin L50 ve laktisin Q bu grupta bulunmaktadır (Van Belkum *et al.* 2011; Masuda *et al.* 2012; Hernández-González *et al.* 2021).
- ✓ Sınıf IId pediosin benzeri olmayan ve tek peptitten oluşan farklı yapılara sahip heterojen bir gruptur. Laktokoksin 972, laktokoksin A ve enterosin B bu grubun bilinen üyeleridir (Cotter *et al.* 2005; Franz *et al.* 2007).

Sınıf III bakteriyosinler yüksek moleküler ağırlığa (>30 kDa) sahip, fosfolipit/karbonhidrat içeren, ısıya duyarlı ve modifiye edilmemiş peptitlerdir. Sınıf IIIa (bakteriyolizinler) bakteriyosinler hücre duvarı hidrolizini katalize ederek etki göstermektedirler. Sınıf IIIb (litik olmayan) bakteriyosinler ise hücrelere glikoz alımını engellemek veya DNA ve protein sentezlerini inhibe ederek etki göstermektedirler. Enterolisin A ve helvetisin J bu grupta yer almaktadır (Parada *et al.* 2007; Nigutova *et al.* 2008; Hernández-González *et al.* 2021).

Nisinden sonra çalışmalarda sıklıkla yer bulan pediosinler bazı LAB tarafından üretilen ve Gram-pozitif bakteriler başta olmak üzere geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumu olan bakteriyosinlerdir. Pediosinler antimikrobiyal etkilerini nanomolar seviyesinde bile gösterebildiklerinden, pediosin üretebilen LAB'ların koruyucu kültür olarak fermente gıdaların üretiminde kullanılmaları dikkat çekicidir. En çok bilinen pediosinler, her

ikisi de sınıf II bakteriyosine ait *Pediococcus acidilactici* PAC1.0 tarafından üretilen pediosin PA-1 ve *P. acidilactici* H tarafından üretilen pediosin AcH'dir. *Pediococcus damnosus* tarafından üretilen bir başka pediosin olan, pediosin PD-1 lantibiyotik olarak da isimlendirilen sınıf I bakteriyosinler grubundadır. Sınıf III bakteriyosinler grubuna giren pediosin A ise *Pediococcus pentosaceus* FBB61 tarafından sentezlenen 80 kDa'lık bir bakteriyosindir (Zommiti et al. 2018).

Pediosinler patojen bakterilere, özellikle *L. monocytogenes*'e karşı oldukça etkilidir (Zommiti et al. 2018). Antilisteria etkisinin yanı sıra *P. pentosaceus* S ve L suşları tarafından üretilen pediosin S ve L'nin Gram-negatif bakteriler olan *Klebsiella oxytoca* ATCC 13182, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Shigella dysenteriae* ATCC 13983 ve *Vibrio cholera*'ya karşı antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Buna ilaveten pediosin L *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 ve *Escherichia coli* ATCC 11303 suşlarına da antimikrobiyal etki göstermiştir (Yin et al. 2003).

Somkuti and Steinberg (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşları (yoğurt starterleri) ve pediosin üreticisi *P. acidilactici* kullanılarak yoğurt üretilmiştir. *P. acidilactici* suşunun antilisteria etkisinin belirlenebilmesi için ürüne *L. monocytogenes* eklenmiş ve fermentasyon boyunca antimikrobiyal etki araştırılmıştır. Üretimde *P. acidilactici*'nin tek başına kullanılması laktozu çok iyi fermente edemeyen bu suşun *L. monocytogenes*'e karşı herhangi bir inhibisyon etki oluşturmadığını göstermiştir. Benzer olarak yoğurt starterlerinin herhangi bir antilisteria etkileri belirlenememiştir. Öte yandan *P. acidilactici* suşunun yoğurt starterleri birlikte kullanımı 8 saat içinde *L. monocytogenes*'in inhibisyonuna sebep olmuştur. Bu durum yoğurt starterlerinin laktozu hidrolize ederek, *P. acidilactici*'nin gelişimi ve pediosin üretimi için, yeterli miktarda monosakkarit üretebildiklerini göstermektedir. Yapılan çalışma süt ürünlerinde *Pediococcus* spp. suşlarının yardımcı kültür olarak kullanılabileceklerinin gösterilmesi açısından önemlidir.

Kaya and Şimşek (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada Tarhana'dan elde edilen *Pediococcus acidilactici* PFC69 ve *L. lactis* PFC77 suşlarının *B. cereus* ATCC 11778 ve *S. aureus* ATCC 29213'e karşı antibakteriyel etkileri olduğu tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda *P. acidilactici* PFC69 ve *L. lactis* PFC77 suşlarının moleküler boyutları sırasıyla 4.5 ve 3.5 kDa olan bakteriyosinleri ürettikleri tespit edilmiştir. Tarhana hamuruna PFC69 ve PFC77'nin aşılınması, *B. cereus* ATCC 11778 ve *S. aureus* ATCC 29213 miktarların, kontrol hamuru numunelerine kıyasla fermentasyonun beşinci gününden itibaren önemli ölçüde azaltmıştır. Çalışma sonucunda *P. acidilactici* PFC69 ve *L. lactis* PFC77 suşları, tarhana için

biyokoruyucu kültürler olarak değerlendirilmiş ve bu suşlar diğer tahıl bazlı fermentasyonlar için önerilmiştir.

Lactiplantibacillus plantarum tarafından sentezlenen plantarisinler sınıf II bakteriyosinler grubuna girmektedir. Yapılan çalışmalar bazı plantarisinlerin geniş bir antimikrobiyal spektruma sahip olduklarını göstermektedir (da Silva Sabo *et al.* 2014). Örneğin fermente sebzelerden izole edilen *L. plantarum* 163 tarafından üretilen plantarisin 163'ün Gram-pozitif (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Bacillus pumilus*, *B. cereus*, *Micrococcus luteus*, *Lactobacillus thermophilus*, ve *Lactobacillus rhamnosus*) ve Gram-negatif (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, ve *Pseudomonas fluorescens*) bakterileri inhibe edebildiği belirlenmiştir (Hu *et al.* 2013). Çok çeşitli karbonhidratları fermente edebilmesi nedeni ile *L. plantarum* nişastalı gıdalar, tahıllar, meyve, sebzeler, et ürünleri, süt ürünleri ve insan gastrointestinal sistemi gibi farklı ekolojik nişlerde bulunabilmektedir (da Silva Sabo *et al.* 2014).

Pei *et al.* (2018) tarafından yapılan araştırmada, Tibet sığırı peynirinden (Yak peyniri) izole edilen *L. plantarum* SLG1 suşunun plantarisin üretebildiği belirlenmiştir. Yapılan *in vitro* analizler sonucunda bu bakteriyosinin Gram-pozitif (*Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Bacillus megaterium*, *M. luteus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Clostridium butyricum*, *S. aureus*, *L. innocua* ve *L. monocytogenes*) ve Gram-negatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* and *Salmonella paratyphi* β) bakterilerin yanı sıra bazı mayaları da (*Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans*) inhibe edebildiği belirlenmiştir.

Enterokoklar hayvan ve insanların bağırsak mikrobiyotası, gıdalarda bulunabilen ve enterosin olarak adlandırılan bakteriyosinleri üretebilen laktik asit bakterileridir. Yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olan enterosinler; *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. coli* gibi önemli gıda patojenlerini inhibe edebilmektedirler. Enterosin A, B, P, L50A/B sınıf II bakteriyosin grubunda bulunmaktadır. Enterosin A gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı etkili, ısıya dayanıklı ve pediyosin benzeri bir bakteriyosindir. Enterosin B ise patojenlerin yanı sıra bazı saprofitlere karşı da etkili olan bir bakteriyosindir. Enterokoklar özellikle Akdeniz ülkelerinde üretilen geleneksel peynirlerde bulunabilmekte ve peynirlerin tat ve aromalarının gelişmesinde rol almaktadırlar. Bu olumlu özelliklerinin yanı sıra bazı enterokoklar biyojenamin üretebilmekte ayrıca vankomisin ve ampisilin gibi antibiyotik direnç genlerini diğer mikroorganizmalara aktarabilmektedirler. Enterokoklar gıda üretiminde kullanılmadan önce güvenilir suşların belirlenmesi gerekmektedir (Ankaiah *et al.* 2018; Vandera *et al.* 2020).

Favaro *et al.* (2014) ev yapımı salamura Bulgar Beyaz peynirinden izole ettikleri *Enterococcus faecium* suşlarının bakteriyosin ürettiklerini ve *L. monocytogenes*'e karşı yüksek antimikrobiyal etki gösterdiklerini belirlemişlerdir. İzole edilen *E. faecium* suşlarının enterosin üretiminden sorumlu olan *entA*, *entB*, *entP*, *entL50B* genlerinden en az birini taşıdıkları ayrıca antibiyotik direnci ve biyojenamin üretme kapasitelerinin sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda yüksek antimikrobiyal etkisi olduğu bulunan *E. faecium* suşlarının peynirde koruyucu ve yardımcı kültür olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Bakteriyosin üretebilen enterokoklarla ilgili yapılan bir diğer çalışmada, Bozadan izole edilen *E. faecium* ST10Bz suşunun *Listeria* suşları ve vanomisine dirençli diğer enterokok suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar ST10Bz bakteriyosinin farklı pH değerleri, sıcaklıklar, endüstri ve laboratuvar uygulamalarında yaygın olarak kullanılan kimyasallar dahil olmak üzere çeşitli çevresel koşullara maruz kaldıktan sonra bile kararlı bir antimikrobiyal olduğunu göstermiştir (Valledor *et al.* 2020).

Beyaz Peynir

Türkiye'de en çok tüketilen peynir olan Beyaz peynir (yaklaşık %60) yumuşak veya yarı sert yapıya sahip, tuzlu ve asitli bir tadı olan salamura peynir çeşididir. Doğu Akdeniz ve Balkanları kapsayan 15'ten fazla ülkede Beyaz peynir benzeri salamura peynirler üretilmektedir. Bu peynirler Yunanistan'da Feta, Bosna Hersek'te Travnicki/Vlasicki, Mısır'da ise Domiati olarak bilinmektedir. Çoğunlukla inek sütünden üretilen Beyaz peynir keçi ve koyun sütlerinden de üretilbilmektedir. Endüstriyel üretimde genellikle pastörize süttten üretim yapılmakta fakat geleneksel Beyaz peynir üretiminde çiğ süt kullanılmaktadır. Beyaz peynir mikrobiyotası incelendiğinde, olgunlaşmanın ilk aşamasında baskın türün *L. lactis* ssp. *lactis*, ikincil önemli türlerin ise *E. faecalis* ve *E. faecium* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *L. plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Levilactobacillus brevis*, *Leuconostoc lactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum* suşlarının da mikrobiyotada bulunabildikleri tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın ileri aşamalarında ise laktokok sayısında azalma, laktobasil sayısında (*Lactobacillus casei* ssp. *casei* ve *L. plantarum*) artma olduğu bulunmuştur (Karakuş vd 1992; Hayaloğlu *et al.* 2002-2008).

Laktik asit bakterileri, pek çok peynirde yüksek miktarlarda bulunarak proteolitik ve lipolitik aktivitelerinin yanı sıra diasetil üretimiyle peynir olgunlaşmasına ve aromasının gelişmesine katkı sağlarlar. Bakteriyosin üretebilen suşların kullanımı ise diğer mikroorganizmalar ile rekabet yetenekleri ve son ürününün güvenilirliğini artırmaktadır (Favaro *et al.* 2015). Geleneksel peynir üretiminde ticari starter kültür kullanımının tipik aroma ve karakteristikleri etkilediği bilinmektedir. Bu nedenle, geleneksel peynirlerden

otokton LAB izolasyonu ve karakterizasyonu, standart peynir üretiminde kullanılabilecek özgün starter kültürünün oluşturulması için gereklidir (Dağdemir and Özdemir 2008; Kırmacı *et al.* 2011).

Altin *et al.* (2023) tarafından gerçekleştirilen çalışmada çiğ süttten üretilmiş olan geleneksel koyun peynirinden izole edilen otokton *L. lactis* spp. *lactis* NCCB100539 suşunun salamura Beyaz peynirde kültür olarak kullanılabilmek potansiyeli araştırılmıştır. Öncelikle *L. lactis* spp. *lactis* NCCB100539 suşunun güvenlik değerlendirmesini yapan araştırmacılar suşun Caco-2 hücrelerine karşı herhangi bir sitotoksik etkisi olmadığını tespit etmişlerdir. Ticari starter kültürün kontrol olarak kullanıldığı çalışmada, peynirler 90 gün depolanmış ve depolama boyunca fizikokimyasal, mikrobiyolojik, duysal özelliklerin yanı sıra peptit ve uçucu profilleri de belirlenmiştir. Otokton kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynirlerin daha yüksek duysal puanları almasının yanı sıra mikrobiyal kalitesinde de artış olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar otokton *L. lactis* spp. *lactis* NCCB100539 suşunun Beyaz peynir üretimi için uygun bir kültür adayı olduğu kanaatine varmışlardır.

Yoon and Kim (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ticari starter kültür ile birlikte çiğ süttten izole ettikleri bakteriyosin üreticisi *L. lactis* CAU2013 suşu kullanılarak laboratuvar ölçeğinde taze peynir üretilmiş ve 5 günlük depolama boyunca *L. monocytogenes* (5 log kob/g) sayısında meydana gelişen değişimler belirlenmiştir. Depolama sonunda koruyucu kültür ile birlikte ticari kültür ilave edilen peynirlerdeki *L. monocytogenes* yalnızca ticari kültür ilave edilerek üretilen peynirlerden 1 log kob/g daha düşük bulunmuştur. Araştırmacılar *L. lactis* CAU2013 suşunun *L. monocytogenes*'in gelişimini etkili bir şekilde inhibe ettiğini ve peynirde koruyucu/yardımcı kültür olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Sırbistan'da gerçekleştirilen bir diğer çalışmada otokton LAB suşlarının 90 günlük depolama boyunca Beyaz peynirdeki etkinlikleri araştırılmıştır. Buna göre A: *L. lactis* ssp. *lactis* 653, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* 656, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* 07 ve *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* 08 (8:5:5:2); B: *L. lactis* ssp. *lactis* 195, *L. lactis* ssp. *cremoris* 656 and *L. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* 07 (10:5:5) kombinasyonları kullanılmıştır. A peynirinin pH değerleri daha düşük olmasına rağmen peynirlerin fizikokimyasal özellikleri açısından istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Her iki peynirde de yüksek oranda proteoliz tespit edilmiş olup duysal değerlendirme puanları çok yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar otokton suşların Beyaz peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (Radulović *et al.* 2011).

Özer et al. (2011) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise 3 farklı otoktan *L. lactis* spp. *lactis* suşu peynirlerde (MBLL9, MBLL23 ve MBL27) Beyaz peynir üretiminde kullanılmış ve 90 günlük depolama boyunca peynirlerin bazı özellikleri belirlenmiştir. Buna göre MBL27 suşunun en yüksek asitleştirme ve serbest yağ asidi üretim aktivitelerine sahip fakat zayıf bir aroma üreticisi olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın, en yüksek aroma maddesi düşük asitleştirme kapasitesine sahip olan MBLL9 suşu ile üretilen peynirlerde bulunmuştur. Ayrıca MBL27 suşunun nisin ve MBLL9 suşunun ise laktisin 481 ürettiği ifade edilmiştir. Araştırmacılar bu iki suşun kombine olarak Beyaz peynirde kullanılabileceğini önermişlerdir.

Dağdemir (2006) Beyaz peynirden izole edilen otokton suşlara ait farklı kombinasyonların tam ve yarım yağlı Beyaz peynirlerdeki etkinliğini araştırmıştır. Buna göre A: *L. lactis* spp. *lactis* + *L. lactis* spp. *cremoris*, B: *L. lactis* spp. *lactis* + *L. lactis* spp. *cremoris* + *E. faecalis*, C: *L. lactis* spp. *lactis* + *L. lactis* spp. *cremoris* + *L. casei* olmak üzere 3 farklı kombinasyonda tam ve yarım yağlı Beyaz peynir üretimi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak B kodlu kültürlerle üretilen peynirlerin duyu özellikleri panelistler tarafından diğer peynirlere nazaran daha fazla beğenilmiştir. Ayrıca *E. faecalis* suşunun peynirin tekstür, tat ve aromasını iyileştirdiği ve olgunlaşmayı hızlandırdığı belirlenmiştir. Kapsamlı güvenlik değerlendirmesi tamamlandıktan sonra bu suşun yardımcı kültür olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. *L. casei* suşunun ise yüksek asit üretme kapasitesine sahip olan *L. lactis* suşları ile kullanımının peynir kalitesini artırabileceği ifade edilmiştir.

***Listeria* spp.**

Listeria cinsi türleri Gram-pozitif, fakültatif anaerob, sporsuz, katalaz pozitif ve basil şeklinde bakterilerdir. *Listeria* cinsi, *L. monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri*, *L. innocua*, *Listeria welshimeri* ve *Listeria. grayi* başta olmak üzere 18 türden oluşmaktadır. Bu türlerden *L. monocytogenes* ve *L. ivanovii* hem hayvanlarda hem de insanlarda ciddi hastalıklara neden olmaktadır (Larsen et al. 2006; Olaimat et al. 2018).

Psikrotrof bir mikroorganizma olan *L. monocytogenes*'in gelişimi için optimum sıcaklık aralığı 30-37 °C olmasına rağmen 0,5-45 °C'de dahi gelişebilmektedir. Bu patojen dondurulmuş gıda ürünlerinde uzun süre hayatta kalabilmektedir. Optimum gelişimi nötr pH değerlerinde olan bu bakteri 4,1-9,6 gibi geniş bir pH aralığında da gelişme gösterebilmektedir. Ayrıca *L. monocytogenes* %10 kadar yüksek NaCl konsantrasyonlarında gelişim gösterebilmekte, %20 NaCl konsantrasyonu ve 0,92 gibi düşük bir su aktivitesinde ise hayatta kalabilmektedir. İlaveten, *L. monocytogenes*, paslanmaz çelik ve plastik dahil olmak üzere gıda ile temas eden çeşitli yüzeylerde biyofilm oluşturarak kendini çevresel faktörlerden

koruyabilmektedir (Oliveira *et al.* 2010; Lianou and Koutsoumanis 2013; Kramarenko *et al.* 2016; Olaimat *et al.* 2018).

Su, toprak ve hayvansal ürünler başta olmak üzere çeşitli gıdalarda bulunabilen bu patojen özellikler tüketime hazır gıdalarda önemli bir risk oluşturmaktadır. *L. monocytogenes* içeren gıdaların tüketilmesi bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler, hamile kadınlar ve çocuklar başta olmak üzere listeriozis olarak adlandırılan ciddi hastalıklara sebep olmaktadır. Süt ve süt ürünlerinin listeriozis vakalarının en önemli nedeni olduğu, bu ürünler içinden peynirin ise ilk sıralarda yer aldığı ifade edilmektedir (Swaminathan and Gerner-Smidt 2007; Gürsoy ve Kesenkaş 2011; Zommiti *et al.* 2018; Wang *et al.* 2019).

Beyaz peynirin *L. monocytogenes*'de dahil olmak üzere farklı mikroorganizmalarla kontamine olması son derece muhtemeldir. Bu kontaminasyon süt, peynir kabı, cendere bezi, kesme bıçağı, raflar, salamura veya ambalaj malzemesi gibi farklı kaynaklardan meydana gelebilmektedir (Temelli *et al.* 2006; Melo *et al.* 2015). Düşük sıcaklık ve yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişebilen *L. monocytogenes*'in Beyaz peynirde ki prevalansı yüksek olabilmektedir. Bu patojenin Beyaz peynirin işleme ve olgunlaşma aşamalarında inhibisyonu oldukça önemlidir (Gönç ve Kılıç 2000; Hayaloğlu *et al.* 2002; Al-Holy *et al.* 2012). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne (Anonim 2011) göre her biri 25g olacak şekilde peynirden alınan 5 numunenin hiçbirinde *L. monocytogenes* bulunmaması gerekmektedir. Benzer kriterler Codex Alimentarius'un "Gıdalarda Bulunan *L. monocytogenes* Kontrolünde Gıda Hijyeninin Genel İlkelerinin Uygulanmasına İlişkin Kılavuz"unda da yer verilmiştir (Anonymous 2007).

Ülkemizde Azak vd (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, 100 adet Erzincan Tulum peyniri analiz edilmiş ve 3 tanesinde *L. monocytogenes* tespit edilmiştir. Benzer olarak Ceylan ve Demirkaya (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, Erzurum'da satışa sunulan salamura Beyaz peynirlerin %3,45'inde *L. monocytogenes* bulunduğu belirlenmiştir. Güner ve Telli (2011) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, Van otlı, Carra, Konya küflü ve Urfa Tulum peynirleri analiz edilmiş ve 120 numunenin 50'sinde *Listeria* spp. bulunmuştur. *L. monocytogenes* ise Van otlı peyniri örneklerinin %30'unda, Carra peyniri örneklerinin %46,6'sında, Konya küflü peynir örneklerinin %23,3'ünde, Urfa Tulum peyniri örneklerinin ise %13,3'ünde tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada Hatay'da üretilen yöresel peynirler analiz edilmiş ve örneklerin %17,24'ünün *L. monocytogenes* içerdiği, ayrıca elde edilen bazı *L. monocytogenes* suşlarının farklı antibiyotiklere dirençli oldukları belirlenmiştir (Pehlivanlar Önen and Elmalı 2016). *L. monocytogenes*'in antibiyotik direncinde meydana gelen artış araştırmacıların bu patojeni inhibe edebilen doğal antimikrobiyal metabolitlere

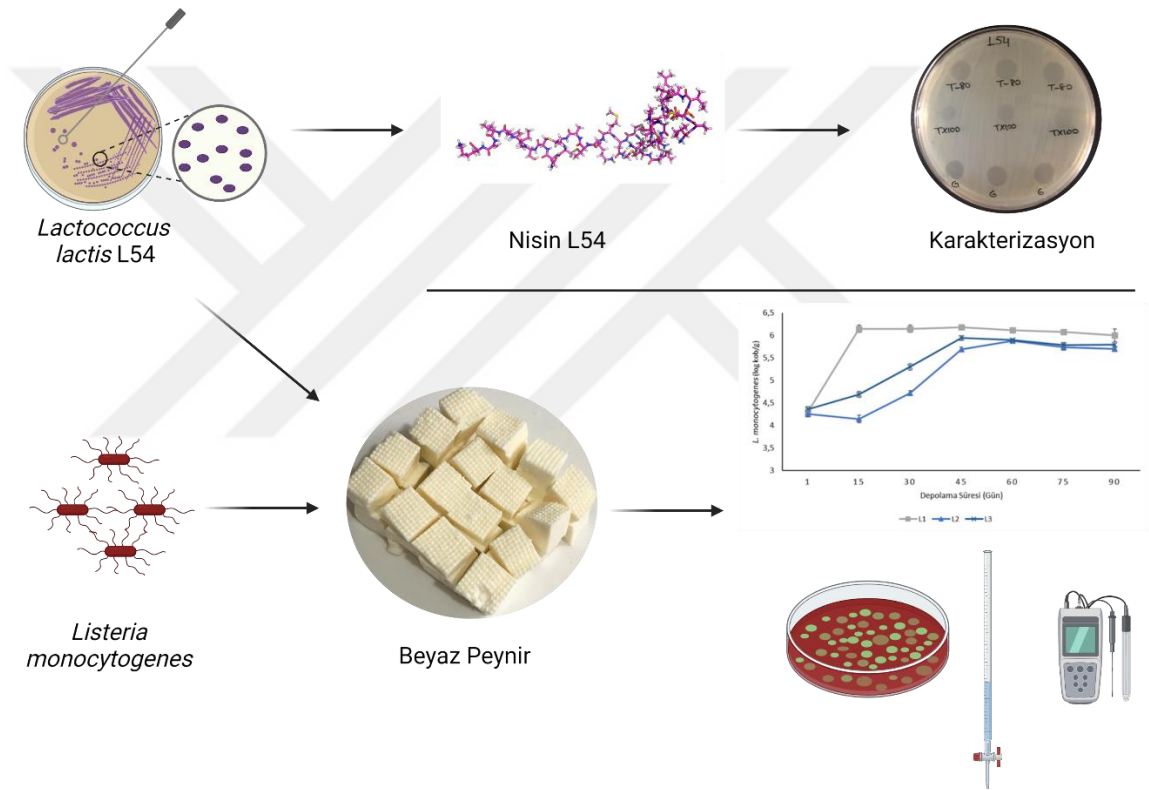
olan ilgisini de artırmıştır. Yapılan alışmalar ülkemizde satışa sunulan peynirlerde *L. monocytogenes*'in yüksek oranlarda bulunabildiğini göstermektedir. Bu durum çocuklar, hamileler, yaşlılar ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler başta olmak üzere toplum sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır.



MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışma kapsamında Erzurum'da satışa sunulan ve starter kültür kullanılmadığı bilinen 20 adet salamura Beyaz peynir örneği kullanılmıştır. Örnekler Temmuz 2020 ile Ağustos 2020 tarihleri arasında toplanmıştır. Numuneler steril kaplarda soğuk zincir şartlarında laboratuvara getirilmiş ve analiz edilinceye kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Çalışmada kullanılan mikrobiyal kültürler söz konusu örneklerden elde edilmiştir. Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmaların grafik özetine ait görsel Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3. Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmaların grafik özetine ait görsel (Created with BioRender.com)

Yöntem

Mikrobiyolojik analizler

Laktik asit bakterilerinin sayımı

Numunelerde bulunan laktik asit bakterilerinin sayımı için de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar (Merck) kullanılmıştır. Ringer çözeltisi (1/4) kullanılarak hazırlanan dilüsyonlardan yayma kültür yöntemi ile ekim yapılmış ve petriker anaerobik koşullarda, 37

°C’de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda sayım yapılmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir (Anonymous 2015).

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı

Örneklerde bulunan TAMB sayısının belirlenmesi için Plate Count agar (PCA, Merck) kullanılmış olup yayma kültürel sayım yöntemi uygulanmıştır. Ekim yapılan petriler 30-32°C’de 48 saat inkübe edilmiş ve gelişen koloniler sayılıp, sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir (Maturin and Peeler 1998).

Koliform grubu bakterilerin sayımı

Peynir örneklerinde bulunan koliform grubu bakterilerin sayımı için Violet Red Bile agar (VRB, Merck) kullanılmış olup çift katlı dökme kültür yöntemi uygulanmıştır. Ekimi yapılan petriler 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda gelişen tipik koloniler sayılmıştır (Anonymous 2010).

Maya ve küf sayımı

Numunelerde bulunan maya ve küf sayısının belirlenmesi için Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC, Merck) agar (pH 5,6) kullanılmış olup yayma kültür yöntemi uygulanmıştır. Ekilen petriler oda sıcaklığında 5-7 gün inkübe edilmiş ve sayım sonuçları log kob/g olarak verilmiştir (Anonymous 2008).

Enterokok cinsi bakterilerin sayımı

Peynir örneklerinde bulunan enterokokların sayımı için Kanamycin Aesculin Azide (KAA, Merck) agar kullanılmış olup, yayma kültür yöntemi uygulanmıştır. Ekilen petriler aerobik olarak 35°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda siyah zonlu ve 2 mm çapındaki tipik koloniler sayılmış sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir (Harrigan 1998).

Laktik asit bakterisi izolasyonu

MRS agarda gelişen laktik asit bakterilerinin izolasyonu

Laktik asit bakterilerinin elde edilmesi amacıyla sayımı yapılan örneklere ait petrilerden izolasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen suşlar morfolojik inceleme, katalaz testi ve gram boyama yapılarak özellikleri belirlenmiştir.

Enterococcus cinsi bakterilerin izolasyonu

Enterococcus spp. izolasyonu için KAA agarda gelişen siyah zonlu ve 2 mm çapında tipik koloni oluşturanlar muhtemel *Enterococcus* spp. olarak değerlendirilmiştir (Hammad et

al. 2015). Elde edilen suşlar morfolojik inceleme, katalaz testi ve gram boyama yapılarak özellikleri belirlenmiştir.

Daha detaylı analiz için, MRS'den izole edilen LAB suşları, MRS'de anaerob olarak ve 37°C'de inkübe edilirken, enterokoklar, aksi belirtilmedikçe, %0,5 glikoz içeren M17 (GM17) besiyerinde (Hanchi *et al.* 2014), aerob olarak ve 35°C'de inkübe edilmiştir. Besiyerlerinde gelişen kolonilerin mikroskopik ve makroskopik özellikleri incelenerek saflaştırılmış ve diğer analizler için %40 gliserol içeren MRS/GM17 broth eşliğinde -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Hücre morfolojisi

Elde edilen izolatların hücre morfolojilerinin belirlenmesi amacı ile bakteriler kristal viyole ile boyanmış mikroskop yardımı ile görüntülenmiştir (Carr *et al.* 2002).

Gram özelliğinin belirlenmesi

Bakteri izolatlarının gram özelliklerinin belirlenmesi amacı ile taze kültürlerden lam üzerine alınıp alevde fikse edildikten sonra kristal viyole ile 1 dk boyanmıştır. Ardından lam saf su ile yıkanıp, lügol çözeltisi damlatılmış 1 dk beklemeyi takiben tekrar saf su ile yıkanmıştır. Ardından lam etil alkolde 15 s bekletilip saf su ile yıkandıktan sonra karbol füksin ile 25-30 s boyanmıştır. Boya uzaklaştırıldıktan sonra lam kurutulup mikroskopta incelenmiştir. Mor-mavi renkte görünen bakteriler Gram-pozitif, kırmızı renkte olanlar ise Gram-negatif olarak değerlendirilmiştir (Sert 2011).

Katalaz testi

Elde edilen izolatların katalaz testi için saf bakteri kolonileri üzerine %30'luk hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisi damlatılmış ve gaz çıkışı olan örnekler katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Pichhardt 2004).

İzolatların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi

Arginin hidrolizi

İzolatların arginininden amonyak oluşturup oluşturmadıklarının belirlenmesi amacı ile %0,2 sodyum sitrat ve %0,3 arginin içeren, et ekstraktı, amonyum sitrat ve glikoz içermeyen modifiye MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır. Yoğunluğu McFarland 0,5'e ayarlanan bakteri süspansiyonlarından 0,1 mL alınıp 10 mL modifiye MRS sıvı besiyerine inoküle edildikten sonra 30°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda besiyerinden 1 mL alınıp 1 mL Nessler ayırıcı ile karıştırılmıştır. Reaksiyon sonunda portakal sarısı-kahverengine dönüşen izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Drosinos *et al.* 2007).

Glikozdan gaz oluşumu

Yoğunluğu McFarland 0,5'e ayarlanan bakteri süspansiyonlarından 0,1 mL alınarak, içinde Durham tüpü bulunan 10 mL sitrat içermeyen modifiye MRS broth ve GM17 broth besiyerine inoküle edilmiştir. Sıvı besiyerleri 30°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve gaz oluşumu gözlemlenen izolatlar heterofermentatif, oluşturmayanlar ise homofermentatif LAB olarak değerlendirilmiştir (Yıldız, 2018).

Farklı sıcaklıklarda gelişme yetenekleri

İzolatların farklı sıcaklıklarda gelişme yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla sıvı MRS/GM17 besiyerine taze kültürlerden %1 oranında aşılama yapılmıştır. Farklı sıcaklıklarda (4°C, 10 °C, 15 °C ve 45 °C) 48 saat inkübasyona bırakılan örneklerin yoğunlukları spektrofotometre (Epoch, BioTek) kullanılarak 600 nm'de ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak optimum sıcaklıkta gelişim gösteren bakterilerin bulunduğu besiyerleri, negatif kontrol olarak ise bakteri ilave edilmeyen besiyerleri kullanılmıştır (Briges 1953).

Farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri

İzolatların farklı pH değerlerinde gelişimlerinin belirlenebilmesi için pH değerleri 2,5; 3,9; 5; 8,5 ve 9,6'ya ayarlanan sıvı MRS/GM17 besiyerlerine taze kültürlerden %1 oranında aşılama yapılmıştır. İnoküle edilen örnekler optimum sıcaklıklarında 48 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda 600 nm'de okuma yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak pH ayarlaması yapılmayan besiyerinde gelişim gösteren bakterilerin bulunduğu besiyerleri, negatif kontrol olarak ise bakteri ilave edilmeyen besiyerleri kullanılmıştır (Papamanoli 2003).

Farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişme yetenekleri

İzolatların farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişimlerinin belirlenebilmesi için %4, %6,5 ve %10 NaCl içeren sıvı MRS/M17 besiyerlerine taze kültürlerden %1 oranında aşılama yapılmış ve 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda ölçümler spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak NaCl ilave edilmeyen besiyerinde gelişim gösteren bakterilerin bulunduğu besiyerleri, negatif kontrol olarak ise bakteri ilave edilmeyen besiyerleri kullanılmıştır (Briges 1953).

Asit üretme yetenekleri

İzolatların asit üretme yetenekleri ve hızlarının belirlenmesi amacıyla taze kültürlerden yoğunluğu McFarland 0,5 olan bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan 0,1

mL alınıp 10 mL sulandırılmış steril yağsız süt tozuna (%10 w/v) aşılanmış ve inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 6, 12, 24 ve 48. saatlerinde pH değerlerinde meydana gelen değişimler pH metre yardımıyla belirlenmiştir. Asitlikte meydana gelen değişimin belirlenmesi için 0,5 mL numune alınarak üzerine 40 mL saf su, 2-3 damla %1'lik fenolfitaleyn indikatörü eklendikten sonra 0,1 N NaOH ile hafif pembe renk görülünceye dek titre edilmiştir. Harcanan NaOH tespit edildikten sonra % asitlik aşağıdaki formül kullanılarak verilmiş ve laktik asit cinsinden (g/100 mL) ifade edilmiştir (Anonymous 1995).

$$\% \text{ Asitlik} = V.F.E.100/mL$$

V: Harcanan NaOH miktarı, mL

F: Titrasyonda kullanılan NaOH'ın normalitesi

E: 1 mL 0,01 N NaOH'ın eşdeğeri asit miktarı, g

mL: Titre edilen örneğin miktarı

Antibiyotik direnç testi

İzolatların antibiyotik direnç testleri, EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) tarafından önerilen 9 farklı antibiyotik (ampisilin, vankomisin, gentamisin, kanamisin, streptomisin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin ve kloramfenikol) kullanılarak disk difüzyon metodu ile yapılmıştır. Hücre yoğunluğu McFarland 0,5'e ayarlanan taze kültürler MRS/GM17 agara ekilip antibiyotik diskler uygun aralıklarla yerleştirilmiştir. Besiyerleri inkübe edildikten sonra zon çapları ölçülmüş ve milimetre (mm) olarak ifade edilmiştir (Nagpal *et al.*, 2018). Sonuçlar dirençli (15 mm'nin altında), orta seviyede duyarlı (16–20 mm) ve hassas (21 mm'nin üzerinde) olarak yorumlanmıştır (Sarkar *et al.* 2020).

Proteolitik aktivitenin belirlenmesi

İzolatlara ait proteolitik aktivitelerin belirlenmesi için %10 yağsız süt tozu içeren (w/v) modifiye MRS/GM17 agar kullanılmış olup, taze kültürlerden 10 µL alınıp besiyerine damlatılmış ve inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda berrak zon oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kenneally *et al.* 1998).

Lipolitik aktivitenin belirlenmesi

İzolatlara ait lipolitik aktivitelerin belirlenmesi için tribütirin agar (Merck) kullanılmış olup, taze kültürlerden 10 µL alınıp besiyerine damlatılmış ve 4 gün inkübe edilmiştir. Süre sonunda berrak zon oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Musikasang *et al.* 2009).

İzolatların antogonistik aktivitelerinin ölçülmesi

İzolatların *Escherichia coli* O157:H7 BC12, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella* Typhimurium (RSHMB 95091), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 patojenlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri kuyucuk difüzyon metodu kullanılarak belirlenmiştir. İzolatlar sıvı MRS/GM17 besiyelerin 24 saat geliştikten sonra 8000 g'de 10 dk santrifüjlenmiş ve filtreden (0,45 µm, Isolab) geçirilerek hücresiz süpernatantları elde edilmiştir. Antimikrobiyal etkinin kaynağının belirlenmesi amacıyla süpernatatlara aşağıda belirtilen işlemler uygulanmıştır;

1. Asitliğin antimikrobiyal etki üzerindeki rolünün belirlenmesi amacıyla süpernatatların pH değerleri 6,0'a ayarlanarak kullanılmıştır.
2. Bakteriyosin moleküllerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amacıyla süpernatantlar proteinaz K (0,1 mg/mL), pepsin (0,1 mg/mL) ve tripsin (0,1 mg/mL) ile muamele edilerek kullanılmıştır.
3. Isıl işleminden etkilenen moleküllerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi için süpernatantlar 80 °C'de 10 dk bekletildikten sonra kullanılmıştır.

Yoğunluğu 0,5 McFarland olan taze; *E. coli* O157:H7 BC12, *S. aureus* ATCC 29213, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. Typhimurium* (RSHMB 95091), *P. aeruginosa* ATCC 9027 patojenleri Nutrient agara (Merck) yayma kültür yöntemi ile ekilmiştir. Patojenlerin yayıldığı besiyerine kuyucuklar açılmış ve her bir kuyucuğa test edilmek istenen laktik asit bakterisinin süpernatantından 100 µL ilave edilmiştir. 37°C'de 18-72 saat inkübasyon sonunda kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları mm olarak ölçülmüştür (Barbosa *et al.* 2016; Gutiérrez-Cortés *et al.* 2018b).

İzolatların genotipik karakterizasyonu

Çalışmadan elde edilen izolatların genotipik karakterizasyonlarının yapılabilmesi için (GTG)₅ primeri kullanılarak rep-PCR profilleri belirlenmiştir. rep-PCR profilleri arasında farklılık belirlenen bakteriler 16S rRNA dizi analizi yapılarak genotipik olarak karakterize edilmiştir.

Genomik DNA izolasyonu

İzolatlardan DNA izolasyonu için OD₆₀₀ değeri 1 olan taze kültürlerden alınıp 1 mL steril nükleaz içermeyen su ile karıştırılıp 5000 g'de 3 dk santrifüj edilmiş ve PBS çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkamanın ardından bakteri peleti üzerine 0,1 mL %10 SDS ve 0,5 mL 6 M üre ilave edilip 37°C'de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra örnekler 95°C'de 5 dk tutulup 8000 g'de 10 dk santrifüjlenmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pelet üzerine 0,1 mL

0,2 N NaOH eklenmiş ve 37°C'de 10 dk inkübe edildikten sonra 3000 g'de 3 dk santrifüjlenerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Ardından pelet üzerine 2,5 hacim saf etanol ilave edilmiş ve -20°C'de 2 saat bekletilip süre sonunda 4°C'de, 13000 g'de 15 dk santrifüjlenmiş takiben %70'lik etanol ile yıkanmıştır. Oda sıcaklığında kurutulan DNA peleti üzerine 20 µL Tris-EDTA (TE) tamponu ilave edilip konsantrasyonu ölçüldükten sonra PCR işleminde kalıp DNA olarak kullanılmıştır (Singh and Ramesh 2009).

DNA konsantrasyonu ve kalitesinin belirlenmesi amacı ile 260nm/280nm değeri ölçülmüş ve 1,8 olanlar saf olarak değerlendirilmiştir.

İzolatların rep-PCR (repetitive element palindromic PCR) profillerinin belirlenmesi

İzolatların rep-PCR profillerinin belirlenmesi için (GTG)₅ primeri (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') kullanılarak PCR yapılmıştır. Toplam hacim 15 µL olacak şekilde PCR tüpüne 7,5 µL PCR master miksi (Promcure), 5,5 µL nükleaz içermeyen su, 1 µL (GTG)₅ primeri ve 1 µL genomik DNA eklenmiştir. PCR programı; 94°C'de 5 dk ön denatürasyonu takiben bir döngüsü 94°C'de 30 s denatürasyon, 47°C'de 30 s primer bağlanması ve 72°C'de 150 s uzama basamaklarından oluşan toplam 35 döngü olacak şekilde gerçekleştirilmiş, son olarak 72°C'de 5 dk ilave uzama basamağı eklenmiştir. PCR ürünleri etidyum bromür boyası eşliğinde %1,5'lik agaroz jelde 6 saat boyunca 35 V sabit bir voltajda yürütülüp oluşan fingerprintler marker ile karşılaştırılarak rep-PCR profili oluşturulmuştur (Versalovic *et al.* 1994).

16S rRNA dizi analizi

İzolatlar elde edilen rep-PCR profillerine göre gruplandırılıp her gruptan en az temsili bir örnek seçilerek sekans yapılmıştır. 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') ve 1541 R (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3') primerleri kullanılarak 16S rRNA bölgesini kodlayan gen çoğaltılmıştır. Toplam reaksiyon hacmi 50 µL olacak şekilde PCR tüplerine; 1 µL kalıp DNA 0,5 µL dNTP (10mM), her bir primerden 1 µL (10 µM), 5 µL 10X PCR tamponu, 0,2 µL Taq DNA polimeraz (5U/µL) eklenmiş ve kalan hacim nükleaz içermeyen su ile tamamlanmıştır. PCR koşulları 94 °C'de 5 dk ön denatürasyonu takiben bir döngüsü 94 °C'de 30 s denatürasyon, 59,5 °C'de 30 s primer bağlanması ve 72 °C'de 150 s uzama basamaklarından oluşan toplam 35 döngü olacak şekilde gerçekleştirilmiş, son olarak 72 °C'de 5 dk ilave uzama basamağı eklenmiştir (Benga *et al.* 2014). PCR ürünleri, ABI 3130XL genetik analizörü (Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD) kullanılarak dizilenmiştir. Sonuçlar, %96-100 benzerlik kriteri ile Blast programı kullanılarak National Centre for Biotechnology Information (NCBI) veri tabanı ile değerlendirilmiştir.

Bakteriyosin oluşumundan sorumlu genlerin tespiti

Yapılan literatür taraması sonucu Beyaz peynirde baskın olarak bulunan laktik asit bakterileri göz önüne alınarak bu bakterilerde bulunabilecek bakteriyosin genleri hedef alınmıştır. Elde edilen izolatların bakteriyosin üretimi ile ilgili olan genlerinin tespiti için Tablo 2’de verilen primerler kullanılmıştır. DNA izolasyonu ”Genomik DNA izolasyonu” bölümünde belirtilen şekilde yapılmıştır.

Tablo 2. Bakteriyosin Üretiminden Sorumlu Genlerin Belirlenmesinde Kullanılan Primerler ve Amplikon Uzunlukları

Hedef Gen	Primer (5'-3')	AT (°C)	Amplikon Uzunluğu (bp)	Referans
pedB (pediosin PA-1/AcH)	<i>pedBF</i> : GGTGATTTTATGAATAAGACTAAGTCG <i>PedBR</i> : CCCCTTTATCAGTACTATTGGCTAGGC	60	362	(Devi and Halami 2011)
pedAB (pediosin PA-1/AcH)	2A: TAAGGATAATTTAAGAAGAAGGAG MR1: ATTTCTTAGAATTCTACAATATCCCC	48	634	(Halami <i>et al.</i> 2005)
Nisin F	<i>nisF</i> : ATGAGTACAAAAGATTTCAACTT <i>nisR</i> : TTATTTGCTTACGTGAACGC	48	180	(de Kwaadsteniet <i>et al.</i> 2008)
Plantarisin NC8	F: GGTCTGCGTATAAGCATCGC R: AAATTGAACATATGGGTGCTTTAAATTCC	35	207	(Maldonado <i>et al.</i> 2003)
Plantarisin S	α A: GCCTTACCAGAGTAATGCCC β S: CTGGTGATGCAATCGTTAGTTT	45	450	(Stephens <i>et al.</i> 1998)
Plantarisin W	W3: TCACACGAAATATTCCA W4: GGCAAGCGTAAGAAATAAATGAG	41	165	(Holo <i>et al.</i> 2001)
Plantarisin A	<i>plnA</i> -F: GTACAGTACTAATGGGAG <i>plnA</i> -R: CTTACGCCAATCTATACG	53	450	(Saenz <i>et al.</i> 2009)
Plantarisin H	<i>plnH</i> -F: TCTTACACGATCAAGGCAAC <i>plnH</i> -F: TGTGCCATTACTTACCTGTTTC	53,4	526	(Saenz <i>et al.</i> 2009)
Plantarisin EF	<i>plnEF</i> -F: GGCATAGTTAAAATTCCCCC <i>plnEF</i> -R: CAGGTTGCCGCAAAAAAAG	53,2	428	(Saenz <i>et al.</i> 2009)
Plantarisin G	<i>plnG</i> -F: TGCGGTTATCAGTATGTCAAAG <i>plnG</i> -R: CCTCGAAACAATTTCCCCC	52,8	453	(Saenz <i>et al.</i> 2009)
Plantarisin K	<i>plnK</i> -F: CTGTAAGCATTGCTAACCAATC <i>plnK</i> -R: ACTGCTGACGCTGAAAAG	52,9	246	(Saenz <i>et al.</i> 2009)
Plantarisin N	<i>plnN</i> -F: ATTGCCGGGTTAGGTATCG <i>plnN</i> -R: CCTAAACCATGCCATGCAC	51,9	146	(Saenz <i>et al.</i> 2009)
Plantarisin J	Alba4-F: TAACGACGGATTGCTCTG Alba4-R: AATCAAGGAATTATCACATTAGTC	51	475	(Saenz <i>et al.</i> 2009)
Enterosin A	F: AAATATTATGGAAATGGAGTGTAT R: GCACTTCCCTGGAATTGCTC	34	125	(Du Toit <i>et al.</i> 2000)
Enterosin B	F: GAAAATGATCACAGAATGCCTA R: GTTGCAATTAGAGTATACATTTG	41	159	(Du Toit <i>et al.</i> 2000)
Enterosin L50B	F: STGGGAGCAATCGCAAAATTAG R: ATTGCCCATCCTTCTCCAAT	44	135	(Du Toit <i>et al.</i> 2000)
Enterosin P	F: TATGGTAATGGTGTATTATTGTAAT R: ATGTCCCATACCTGCCAAAC	41	112	(Du Toit <i>et al.</i> 2000)
Laktisin 481	<i>Lact481</i> -F TCTGCACTCACTTCATTAGTTA <i>Lact481</i> -R AAGGTAATTACACCTCTTTAT	50	366	(Martinez <i>et al.</i> 1995)
Laktisin 3147	<i>Lact3147</i> -F TACTGGGGAAATAACGG <i>Lact3147</i> -R TGGACAAGTATTGGTAC	50	271	(Martínez-Cuesta <i>et al.</i> 2000)

AT: Bağlanma sıcaklığı

Bakteriyosin kodlayan genlerin tespiti amacıyla; ekstrakte edilen DNA'ların 1 µl'si PCR işlemlerinde genomik DNA olarak kullanılmıştır. PCR karışımı Tablo 3'de, PCR şartları ise Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 3. Bakteriyosin Genlerinin Amplifikasyonu için Oluşturulan PCR Karışımı

10X PCR Buffer	5 µL
dNTP Mix (10 mM)	0,5 µL
Primer 1 (10 µM)	1 µL
Primer 2 (10 µM)	1 µL
Taq polimeraz (5 U/µL)	0,2 µL
DNA	1 µL
dH ₂ O	50 µl için

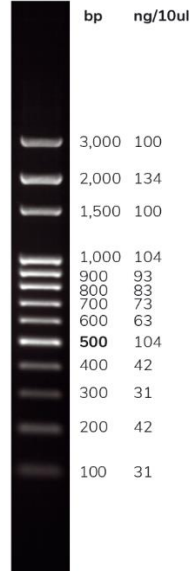
Tablo 4. Bakteriyosin Genlerinin Amplifikasyonu için Oluşturulan PCR Şartları

Denatürasyon	94°C 5 dk	1 döngü
Denatürasyon	94°C 30 s	
Bağlanma	AT-5 °C 30 s	35 döngü
Uzama	72°C 1 dk/kb	
Son Uzama	72°C 5 dk	1 döngü

AT: Bağlanma sıcaklığı

PCR ürünlerinin kontrolü için %1,5 (w/v) etidyum bromür içeren ve konsantrasyonu %1 olan agaroz jel kullanılmıştır. PCR ürünleri yükleme boyası ile boyandıktan sonra sodyum borat tamponu kullanılarak elektroforez işlemine bırakılmıştır. İşlem sonucunda bantlar UV Transilluminatör kullanılarak görüntülenmiştir. Solis BioDyne DNA Ladder her bir jelde DNA boyutlayıcısı olarak kullanılmıştır. Jele yüklenen boyutlayıcı fragmentlerinin boyut ve miktarları Şekil 4'te gösterilmiştir.

100 BP DNA LADDER



Şekil 4. Solis BioDyne DNA Ladder fragment boyutları ve miktarları

Bakteriyosin karakterizasyonu

Gelişme eğrisinin çizilmesi ve gelişme boyunca bakteriyosin üretim kinetiğinin izlenmesi

Gelişme eğrisinin çizilebilmesi için taze *L. lactis* L54 kültüründen sıvı M17 besiyerine %2 oranında aşılama yapılmış ve 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun her bir saatinde 600 nm'deki optik yoğunluk ve pH değerleri ölçülmüştür. Gelişme süresi boyunca bakteriyosin üretiminin izlenmesi için indikatör mikroorganizma olarak *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşu kullanılmış olup yüzeye damlatma (spot) yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla her 3 saatte bir Brain Heart Infusion (BHI) agara 100 µL *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşu (0,5 Mc Farland) yayılmış ve belirlenen noktalara bakteriyosin üreticisi kültür süpernatatlarından 10 µL aktarılmıştır. Petriler 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda zon çapları mm olarak ölçülmüştür (Gutiérrez-Cortés *et al.* 2018b).

Bakteriyosin aktivitelerinin hesaplanması için süpernatatlar ikinin katları (1/2, 1/4, 1/8) oranında seyreltilerek kullanılmış, sonuçlar ise aşağıda belirtilen eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve AU/mL (Arbitrary unit/mL) olarak verilmiştir (Todorov and Dicks 2007).

$$AU/mL = a^b \times 100$$

a: Dilüsyon faktörü (2)

b: en az 2 mm inhibisyon zonu gösteren en yüksek dilüsyon değeri

Bakteriyosinin in vitro koşullarda L. monocytogenes üzerine etkisi

Bakteriyosinin in vitro koşullarda *L. monocytogenes* ATCC 7644 üzerine etkisinin belirlenmesi için bakteriyosin üreticisi suş sıvı M17 besiyerinde 24 saat geliştikten sonra pH'sı nötürleñip 8000 g'de 10 dk santrifüjlenmiştir. pH'sı 6,0'a ayarlanan süpernatant 0,22 µm çaplı filtreden geçirilip 80 °C'de 10 dk bekletildikten sonra hücresiz süpernatant (HS) elde edilmiştir. *L. monocytogenes* ATCC 7644'ün sıvı BHI besiyerinde kaçıncı saatte erken logaritmik faza ulaştığının tespit edilmesi için 18 saatlik kùltürden BHI besiyerine %1 oranında aşılanmış ve 37 °C'de inkübe edilerek her saat başı optik yoğunluğu (600 nm) ölçölmüştür. Ön deneme sonucunda yukarıda belirtilen koşullarda *L. monocytogenes* ATCC 7644'ün 4. saatte erken logaritmik faza ulaştığı belirlenmiştir. Hücresiz süpernatattan 20 mL alınarak 150 mL, erken logaritmik faza ulaşan *L. monocytogenes* ATCC 7644 içeren, BHI besiyeri üzerine eklenmiş ve 12 saat boyunca her saat başı optik yoğunluk ölçölmüştür. Hücresiz süpernatant içermeyen *L. monocytogenes* ATCC 7644 aşılanmış BHI besiyeri kontrol olarak kullanımıştır (Pinto *et al.* 2009).

Sıcaklık uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi

Sıcaklık uygulamasının üretilen bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla hücresiz süpernatant 4, 80, 90, 100 °C'lerde 10, 30 ve 60 dakika 121 °C'de ise 15 dakika bekletilmiş ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşunun yayıldığı BHI agara yüzeye damlatma (spot) yöntemi ile 10 µL aktarılmıştır. Petriler 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiş ve süre sonunda zon çapları mm olarak ölçölmüştür. Pozitif kontrol olarak sıcaklık uygulaması yapılmayan süpernatant, negatif kontrol olarak ise M17 broth kullanılmıştır (Todorov and Dicks 2005).

Enzim uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi

Proteinaz K, pepsin, tripsin, rennet, lizozim ve katalaz enzimlerinin bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla hücresiz süpernatant elde edilmiş ve bu süpernatanta söz konusu enzimlerden ayrı ayrı 1 mg/mL oranında katılmıştır. Enzimlerin aktivite gösterebilmesi için süpernatantlar 37 °C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda enzim aktivitelerinin durdurulması için süpernatantlar 80 °C'de 10 dk bekletilmiştir. Elde edilen süpernatatlar *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşunun yayıldığı BHI agara damlatılmıştır. Pozitif kontrol olarak enzim uygulaması yapılmayan süpernatant, negatif kontrol olarak ise enzim uygulaması yapılan ve inkübasyon sonunda sıcaklık uygulanan M17 broth kullanılmıştır (Todorov and Dicks 2005).

Kimyasal uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi

Sodyum dodesil sülfat (SDS), Tween-20, Tween-80, üre, etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), süt tozu, Triton X-100, NaCl ve gliserol kimyasallarının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla hücresiz süpernatant elde edilmiş ve bu süpernatanta söz konusu kimyasallardan ayrı ayrı %1 oranında katılmıştır. Kimyasalların aktivite gösterebilmesi için süpernatantlar 37 °C’de 3 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda süpernatantlar *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşunun yayıldığı BHI agara damlatılmıştır. Pozitif kontrol olarak kimyasal uygulaması yapılmayan süpernatant, negatif kontrol olarak ise kimyasal uygulaması yapılan M17 broth kullanılmıştır (Todorov and Dicks 2005).

Farklı pH değerlerinin bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi

pH 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 ve 12 değerlerinin bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla üretici suş sıvı M17 besiyerinde 24 saat geliştikten sonra pH’sı söz konusu değerlere ayarlanmıştır. Daha sonra besiyerleri 12000 g’de 10 dk santrifüjlenmiş ve 0,45 µm çaplı filtreden geçirilerek hücresiz süpernatantlar elde edilmiştir. pH farklılığının bakteriyosin üzerine etki edebilmesi için süpernatantlar oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda 1N HCl veya 1N NaOH kullanılarak pH değerleri 6,00’a ayarlanmış ve yüzeye damlatma testine tabi tutulmuştur. Pozitif kontrol olarak pH uygulaması yapılmadan nötürlenen (pH 6,00) süpernatant, negatif kontrol olarak ise M17 broth kullanılmıştır (Todorov and Dicks 2005).

Bakteriyosin spektrumunun belirlenmesi

Bakteriyosin üreticisi suşun antibakteriyel aktivite spektrumunun belirlenmesi için yüzeye damlatma yöntemi uygulanmıştır (Todorov *et al.* 2010). Bu amaçla *P. aeruginosa* ATCC 9027, *Yersinia enterocolitica* spp. *enterocolitica* ATCC 27729, *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* RSHMB 95091, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* (Metisilin ve oksasiline dirençli) ATCC 43300, *Bacillus spizizenii* (*Bacillus subtilis* spp. *spizizenii*) ATCC 6633, *B. cereus* ATCC 33019, *Bacillus coagulans* ATCC 7050, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus lutetiensis* L55, *Streptococcus macedonicus* L36, *E. faecium* E208, *E.s faecium* E260, *Enterococcus durans* L43, *Enterococcus italicus* L57, *E. faecalis* ATCC 29212, *Pediococcus parvulus* L78, *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009, *L. casei* ATCC 393, *Lacticaseibacillus paracasei* spp. *tolerans* L41, *L. plantarum* T6, ve *L. plantarum* L63 olmak üzere toplam 24 indikatör bakteri kullanılmıştır. İndikatör bakterilerin geliştileri besiyerleri ve inkübasyon koşulları Tablo 5.’te verilmiştir.

Tablo 5. İndikatör Bakterilerin Geliştirildiği Besiyerleri ve İnkübasyon Koşulları

Mikroorganizma	Kaynak	Besiyeri ve inkübasyon sıcaklıkları
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	NA, 37 °C
<i>Yersinia enterocolitica</i> spp. <i>enterocolitica</i>	ATCC 27729	BHI, 26 °C
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	NA, 37 °C
<i>Salmonella</i> Typhimurium	RSHMB 95091	NA, 37 °C
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644	BHI, 37 °C
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	NA, 37 °C
<i>Staphylococcus aureus</i> (Metisilin ve oksasiline dirençli)	ATCC 43300	NA, 37 °C
<i>Bacillus spizizenii</i> (<i>Bacillus subtilis</i> spp. <i>spizizenii</i>)	ATCC 6633	BHI, 30 °C
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 33019	NA, 30 °C
<i>Bacillus coagulans</i>	ATCC 7050	NA, 30 °C
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175	BHI, 37 °C
<i>Streptococcus lutetiensis</i> L55	Tez	MRS, 37 °C
<i>Streptococcus macedonicus</i> L36	Tez	MRS, 37 °C
<i>Enterococcus faecium</i> E208	Tez	GM17, 35 °C
<i>Enterococcus faecium</i> E260	Tez	GM17, 35 °C
<i>Enterococcus durans</i> L43	Tez	GM17, 37 °C
<i>Enterococcus italicus</i> L57	Tez	GM17, 37 °C
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	GM17, 37 °C
<i>Pediococcus parvulus</i> L78	Tez	MRS, 37 °C
<i>Lactobacillus helveticus</i>	ATCC 15009	MRS, 37 °C
<i>Lactobacillus casei</i>	ATCC 393	MRS, 37 °C
<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> spp. <i>tolerans</i> L41	Tez	MRS, 37 °C
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> T6	GMBKK	MRS, 30 °C
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> L63	Tez	MRS, 30 °C

GMBKK; Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu, ATCC; Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu, DSMZ; Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu, RSHMB; Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı. NA; nutrient agar, BHI; brain hearth infusion agar, MRS; De Man, Rogosa, Sharpe agar, GM17; %0,5 glikoz içeren M17 agar.

Bakteriyosin kodlayan genlerin dizi analizi

Muhtemel bakteriyosin üreticisi suş/suşlarda bulunan bakteriyosin genlerinin dizi analizi için Tablo 2’de verilen primerler kullanılarak PCR yapılmış ve PCR ürünleri %1,5 agaroz içeren jelde yürütülmüştür. Saflaştırılan ürünler ABI 3130XL genetik analizörü kullanılarak dizilenmiştir. Sonuçlar Blast programı kullanılarak NCBI veri tabanı ile değerlendirilmiş ve bakteriyosin kodlayan diğer genler ile homoloji gösterip gösteremedikleri tespit edilmiştir.

Bakteriyosin üreticisi suşların güvenlik değerlendirmesi

Hemolitik aktivite

Hemolitik aktivitenin belirlenmesi amacıyla bakteriyosin üreticisi suş/suşlar %5 (w/v) defibrile koyun kanı içeren M17/MRS besiyerine çizim yöntemiyle inoküle edilmiştir. Kültürlerin 30°C’de 48 saatlik inkübasyonunun ardından berrak zon oluşturanlar β -hemolitik, parlak yeşil zon oluşturanlar α -hemolitik ve zon oluşturmayanlar ise γ -hemolitik olarak değerlendirilmiştir (Pieniz *et al.* 2014). *S. aureus* ATCC 29213 pozitif ve *L. casei* ATCC 393 ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

DNAse aktivitesi

DNAse aktivitesinin belirlenmesi amacıyla seçilen suş/suşlar DNAse besiyerine çizilip 30°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası petri kutusunun yüzeyi 1 N HCl ile kaplanıp 5 dk beklenmiş ve berrak zon oluşturan koloniler DNAse pozitif, zon oluşturmayanlar ise DNAse negatif olarak değerlendirilmiştir (Lavilla-Lerma *et al.* 2013). *S. aureus* ATCC 29213 pozitif ve *L. casei* ATCC 393 ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Virülans genlerin belirlenmesi

Seçilen suş/suşların *esp* (enterokokal yüzey proteini), *efaAfs* (*E. faecalis*’e özgü endokardit antijeni), *cylA* (sitolisin), *hyl* (hiyalüronidaz), *asa* (agregasyon maddesi) ve *ace* (kollajen adezyonu) virülans genlerini içerip içermedikleri belirlenmiştir. Bu amaçla Tablo 6’da verilen primerler kullanılarak PCR yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri %1,5 agaroz içeren jelde yürütüldükten sonra görüntülenmiştir.

Tablo 6. Virülans Genlerin Tespitinde Kullanılan Primerler ve Amplikon Uzunlukları

Hedef Gen	Primer (5’-3’)	AT (°C)	Amplikon Uzunluğu (bp)	Referans
<i>esp</i>	F: TTGCTAATGCTAGTCCACGACC R: GCGTCAACACTTGCATTGCCGA	55	933	Gómez <i>et al.</i> (2016)
<i>efaAfs</i>	F: GACAGACCCTCACGAATA R: AGTTCATCATGCTGTAGTA	55	705	
<i>cylA</i>	F: TGGATGATAGTGATAGGAAGT R: TCTACAGTAAATCTTTCGTCA	57	517	Padilla and Lobos (2013)
<i>hyl</i>	F: ACAGAAGAGCTGCAGGAAATG R: GACTGACGTCCAAGTTTCCAA	56	276	Vankerckhoven <i>et al.</i> (2004)
<i>asa</i>	F: GCACGCTATTACGAACCTATGA R: AAGAAAGAACATCACCACGA	56	375	
<i>ace</i>	F: GAATTGAGCAAAAGTTCAATCG R: GTCTGTCTTTTCACTTGTTC	55	1008	Martin-Platero <i>et al.</i> (2009)

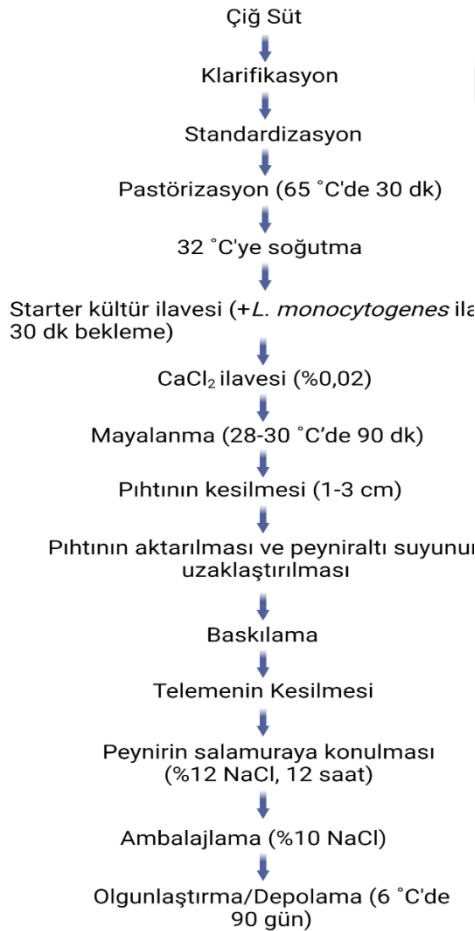
AT: Bağlanma sıcaklığı

Beyaz Peynir Üretimi

Çalışma kapsamında izole edilip tanılanan laktik asit bakterilerinden teknolojik özellikleri peynir üretimine uygun, seçili patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi yüksek ve bakteriyosin üreticisi olduğu belirlenen *L. lactis* L54 suşu kullanılarak peynir üretimi gerçekleştirilmiştir. Biyokoruyucu olarak kullanılan suşun ürünlerdeki etkinliğinin belirlenmesi için peynirlere *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilmiş ve depolama boyunca patojen sayısındaki değişim belirlenmiştir. Kontrol olarak ise *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* ve *Lactococcus lactis* spp. *lactis* içeren ticari starter kullanılarak üretim yapılmıştır. Peynir üretim akış şeması Şekil 5'te, üretimde kullanılan formülasyon ise Tablo 7'de verilen şekilde ayarlanmıştır.

Tablo 7. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Formülasyon

Peynir Kodu	Formülasyon
P1	<i>L. lactis</i> L54
P2	Peynir starterleri
L1	<i>L. monocytogenes</i>
L2	<i>L. lactis</i> L54 + <i>L. monocytogenes</i>
L3	Peynir starterleri + <i>L. monocytogenes</i>



Şekil 5. Beyaz peynir üretim akış şeması (Üçüncü 1999 ve Hayaloğlu *et al.* 2002'den modifiye edilmiştir, Created with BioRender.com)

Beyaz peynire işlenecek sütte yapılan analizler

Çiğ ve pastörize sütte yapılan mikrobiyolojik analizler

Peynir üretiminde kullanılan çiğ sütte *L. monocytogenes*, laktik asit bakterileri, TAMB, koliform grubu bakteriler ve maya-küf sayımı “Mikrobiyolojik Analizler” bölümünde belirtildiği şekilde yapılmıştır.

Çiğ sütte yapılan fizikokimyasal analizler

Beyaz peynir üretiminde kullanılan çiğ sütlerin pH, kurumadde, yağ ve protein miktarının belirlenmesi Yıldız-Akgül vd (2018) tarafından belirtildiği şekilde yapılmıştır.

Üretilen peynirlerde yapılan mikrobiyolojik analizler

Üretilen peynirlerde laktik asit bakterileri, TAMB, koliform grubu bakteriler, *L. monocytogenes* ve *Enterococcus* spp., sayıları belirlenmiştir. Bu amaçla steril stomacher poşetlerine 25 g örnek tartılmış ve üzerine 225 mL Ringer çözeltisi eklendikten sonra stomacher kullanılarak homojenize edilmiştir. Ardından seri dilüsyonlar hazırlanmış ve ekimler yapılmıştır. Olgunlaşma periyodu boyunca ortaya çıkabilecek değişikliklerin belirlenmesi için 0, 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. günlerde ekimler tekrarlanmıştır. Laktik asit bakterileri, TAMB, koliform grubu bakteriler ve *Enterococcus* spp., sayımları “Mikrobiyolojik Analizler” bölümünde belirtildiği şekilde yapılmıştır. *L. monocytogenes* sayısının belirlenmesi için seri dilüsyonlardan *Listeria* Selective Supplement içeren PALCAM *Listeria* Selective Agara yayma kültür yöntemi ile ekim yapılmış ve petriler 37 °C’de Anaerocult C kullanılarak sağlanan mikroaerofilik koşullarda 48 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda yeşil-gri siyah zonlu koloniler sayılmıştır (Kingcha *et al.* 2012). Sayımdan sonra en az 5 koloni seçilip Tryptic Soy Agar-Yeast Extract (TSA-YE) besiyerine çizilerek ve 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Gelişen kolonilere Gram boyama, katalaz, oksidaz ve hareketlilik testleri yapılarak *L. monocytogenes* oldukları doğrulanmıştır.

Üretilen peynirlerde yapılan fizikokimyasal analizler

Starter ve koruyucu kültür katılarak üretilen peynirlerin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla olgunlaşmanın 0, 30, 60 ve 90. günlerinde aşağıda belirtilen analizler yapılmıştır. Kişisel güvenliğin riske atılmaması amacıyla *L. monocytogenes* içeren peynirlerin fizikokimyasal ve duyu analizi yapılmamıştır.

pH ölçümü

Peynirlerin pH değerlerinin belirlenmesi için 20 g örnek tartılıp üzerine 40 mL saf su eklenmiştir. Karışım homojen hale getirildikten sonra ölçümler pH-metre ile yapılmıştır (Hayaloğlu vd. 2011).

Yağ tayini

Örneklerde bulunan yağ miktarının belirlenmesi için peynir bütirometresi beherciğine 3 g peynir rendelenerek tartılmış ve üzerine 1,55 g/mL yoğunluğundaki sülfirik asitten 10 mL ilave edilmiştir. Peynirler eriyerek homojen bir yapı alana kadar 70 °C'lik su banyosunda bekletilmiş ve zaman zaman karıştırılmıştır. Daha sonra bütirometrelere 1 mL amil alkol eklenmiş ve 35 çizgisine kadar sülfirik asit doldurulmuştur. Bütirometreler 10 dk boyunca santrifüjlenmiş ve 70 °C'lik su banyosunda 5 dk bekletildikten sonra yağ miktarı (%) okunmuştur (Hayaloğlu, 2009).

Kurumadde tayini

Peynirlerde bulunan toplam kurumadde miktarının belirlenmesi için gerekli olan deniz kumu, kurutma kabı ve cam baget 105 °C'lik etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar bekletilip desikatörde soğutulmuştur. Ardından kurutma kaplarına 3-5 gram peynir tartılmış ve cam baget kullanılarak deniz kumu ile homojen bir karışım elde edilmiştir. Kurutma kapları 105 °C'lik etüvde 4 saat bekletilip desikatörde soğutulduktan sonra tartım yapılmıştır. Tartımlar arasındaki fark 0,5 mg'dan daha az olana kadar bu işlem tekrar edilmiş ve sonuçlar aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Anonymous 1982).

$$\text{Kurumadde (\%)} = [(M_1 - M_0) / (M - M_0)] \times 100$$

M₀: Kurutma kabı, cam baget ve kumun ağırlığı, g

M: Kurutmadan önce peynir, kurutma kabı, cam baget ve kumun ağırlığı, g

M₁: Kurutmadan sonra peynir, kurutma kabı, cam baget ve kumun ağırlığı, g

Tuz tayini

Örneklerde bulunan tuz miktarının belirlenmesi için 5 g peynir tartılmış ve 60-70 °C'deki bir miktar sıcak su eklendikten sonra laboratuvar blenderi yardımıyla iyice homojenize edilip üstteki kısım bir balon jojeye alınmıştır. Örneklerdeki tuzun tamamıyla suya geçmesi için bu işlem birkaç kez tekrar edilmiştir. Balon jojedeki karışım oda sıcaklığına kadar soğuduktan sonra saf su ile 500 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balondaki karışım filtre kağıdından geçirilmiş ve süzüntüden 25 mL alınıp 0,1 N NaOH ile nötralize edilmiştir. Nötralize edilen örnek üzerine 0,5 mL %5'lik potasyum kromat çözeltisi ilave edilmiş ve 0,1

N gümüş nitrat kullanılarak kırmızı renk görülünceye dek titre edilmiştir. Tanık deneme için 25 mL süzöntü yerine 25 mL saf su kullanılmıştır. Yüzde tuz miktarı aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır (Hayaloğlu, 2009).

$$\text{Tuz miktarı (\%)} = [(F \times (V_1 - V_2) \times 0,585) / m]$$

V₁: Peynir örneği için harcanan gümüş nitrat miktarı, mL

V₂: Tanık çözelti için harcanan gümüş nitrat miktarı, mL

F: 0,1 N AgNO₃ çözeltisinin faktörü

m: Titre edilen peynir miktarı, g

Toplam azotlu madde tayini

Toplam azotlu madde miktarının belirlenmesi için Kjeldahl yakma tüplerine 0,2-0,5 g örnek tartılıp üzerine 10 mL derişik H₂SO₄ ve katalizör karışımı (1:30 CuSO₄.5H₂O:K₂SO₄) eklenmiştir. Örnekler limon sarısı/açık yeşil renge dek 430 °C’de yakılıp destilasyon ünitesine alınmıştır. Örneğin üzerine yaklaşık 25 mL 10 M NaOH eklendikten sonra, toplama kabının bulunduğu kısma %4’lük 25 mL borik asit içeren 0,2 mL indikatör çözeltisi bulunan erlen yerleştirilip destilatın toplanması sağlanmıştır. Toplanan destilat (yaklaşık 55-60 mL) faktörü bilinen 0,1 N HCl çözeltisi ile gülkurusu renge dek titre edilmiştir. Kör deneme için aynı işlemler örnek kullanılmadan yapılmıştır. Harcanan HCl miktarı belirlenip aşağıdaki eşitlik kullanılarak toplam azot miktarı hesaplanmıştır. Elde edilen değer 6,38 faktörü ile çarpılıp protein oranı hesaplanmıştır (Anonymous 1993).

$$\text{Toplam Azotlu Madde (\%)} = [(V_1 - V_0) \times N \times F \times 14 \times 10^{-3}] \times 100/m$$

V₀: Kör denemede harcanan HCl miktarı, mL

V₁: Peynir için harcanan HCl miktarı, mL

N: Titrasyonda kullanılan çözeltinin normalitesi

m: örnek miktarı, g

F: HCl çözeltisinin faktörü

Duyusal analiz

Duyusal değerlendirme depolamanın 0., 30., 60. ve 90. günlerinde Atatürk Üniversitesi öğrenci ve öğretim elemanlarından oluşan en az 9 yarı eğitimli panelist tarafından yapılmış ve 9 noktalı bir hedonik skala (1: çok kusurlu, 9: çok iyi; tuzlu tat için 8-9 normal, 7-6 az var, 5-4 yok, 3-2 var, 1 çok var olarak değerlendirilmiştir) kullanılmıştır. Panelistler peynirleri renk, tekstür, tat ve koku, tuzluluk, oksidasyon (acılaşma) ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirmişlerdir. Örnekler rastgele 3 haneli rakamlar olacak

şekilde numaralandırılmıştır. Peynirlerin ağızda bıraktıkları hissin giderilmesi için panelistlere numuneler arasında tuzsuz kuru ekmek ve su ikram edilmiştir (Bodyfelt *et al.* 1988). Duyusal analizler Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Birim Etik Kurul Başkanlığı tarafından onaylanmıştır (Etik Kurul onay numarası: 2022/18, Ek-1). Peynir örneklerinde yapılan duyusal değerlendirmelerde kullanılan duyusal analiz formu Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Peynir Örneklerinin Duyusal Değerlendirilmesinde Kullanılan Form

PANELİSTİN ADI SOYADI:		TARİH:...../...../.....	
NİTELİK	ÖZELLİK	PUAN	ÖRNEKLER
RENK	ÇOK İYİ	9-8	
	İYİ	7-6	
	AZ KUSURLU	5-4	
	KUSURLU	3-2	
	ÇOK KUSURLU	1	
TEKSTÜR	ÇOK İYİ	9-8	
	İYİ	7-6	
	AZ KUSURLU	5-4	
	KUSURLU	3-2	
	COK KUSURLU	1	
TAT VE KOKU	ÇOK İYİ	9-8	
	İYİ	7-6	
	AZ KUSURLU	5-4	
	KUSURLU	3-2	
	ÇOK KUSURLU	1	
TUZLULUK	NORMAL	9-8	
	AZ VAR	7-6	
	YOK	5-4	
	VAR	3-2	
	ÇOK VAR	1	
OKSİDASYON (ACILAŞMA)	HİÇ YOK	9-8	
	YOK	7-6	
	AZ VAR	5-4	
	VAR	3-2	
	ÇOK VAR	1	
GENEL KABUL EDİLEBİLİRLİK	ÇOK İYİ	9-8	
	İYİ	7-6	
	AZ KUSURLU	5-4	
	KUSURLU	3-2	
	ÇOK KUSURLU	1	

İstatistiksel analizler

Analizler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Beyaz peynir örneklerinde depolama boyunca meydana gelen değişimler ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarının değerlendirilmesi için SPSS for Windows Release ver. 20.00 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi uygulanmıştır. Önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanarak karşılaştırılmıştır. *L. lactis* L54'ün peynir örneklerinin fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkisini belirlemek için bağımsız örneklem *t*-testi yapılmıştır. Önem seviyesi $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.



ARAŞTIRMA BULGULARI

Beyaz Peynir Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Erzurum piyasasından temin edilen 20 adet Beyaz peynir örneğine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Analiz edilen Beyaz Peynir Örneklerinin Sayım Sonuçları (log kob/g)

Numune	Tekerrür	LAB	Enterokok	TAMB	Maya	Küf	Koliform
1	1	7,58	5,25	8,28	4,52	<2	4,30
	2	7,53	5,20	8,22	4,54	<2	4,33
2	1	7,26	7,15	7,72	3,44	<2	< 1
	2	7,23	7,10	7,70	3,40	<2	< 1
3	1	8,34	8,54	8,97	3,53	<2	6,38
	2	8,30	8,53	8,95	3,51	<2	6,36
4	1	8,16	7,51	8,42	7,27	<2	4,75
	2	8,17	7,53	8,41	7,23	<2	4,72
5	1	4,42	3,34	6,19	<2	<2	4,57
	2	4,43	3,32	6,21	<2	<2	4,54
6	1	8,00	3,51	8,83	3,23	<2	4,39
	2	8,02	3,49	8,86	3,21	<2	4,41
7	1	7,98	6,70	8,60	5,00	<2	4,00
	2	7,95	6,69	8,62	5,03	<2	4,02
8	1	7,60	4,30	7,70	3,17	<2	2,00
	2	7,63	4,28	7,69	3,15	<2	1,98
9	1	7,38	4,90	8,60	2,84	<2	8,76
	2	7,35	4,92	8,61	2,79	<2	8,74
10	1	6,72	4,70	6,43	<2	<2	< 1
	2	6,74	4,69	6,41	<2	<2	< 1
11	1	8,97	4,63	9,40	5,99	<2	5,69
	2	8,99	4,65	9,36	6,01	<2	5,67
12	1	8,02	7,66	9,03	2,95	<2	5,95
	2	8,05	7,64	9,05	2,92	<2	5,93
13	1	6,34	6,20	6,74	<2	<2	4,04
	2	6,30	6,23	6,78	<2	<2	4,02

Tablo 9. (Devam)

Numune	Tekerrür	LAB	Enterokok	TAMB	Maya	Küf	Koliform
14	1	8,12	4,01	8,21	<2	<2	3,24
	2	8,10	4,02	8,22	<2	<2	3,22
15	1	8,23	8,00	8,61	2,77	<2	5,88
	2	8,22	8,02	8,60	2,75	<2	5,86
16	1	8,78	7,64	8,89	2,00	<2	8,93
	2	8,79	7,65	8,87	2,01	<2	8,91
17	1	6,93	6,19	7,92	4,61	<2	7,17
	2	6,91	6,17	7,90	4,59	<2	7,15
18	1	6,54	2,90	6,63	4,09	<2	< 1
	2	6,56	2,89	6,62	4,07	<2	< 1
19	1	7,62	3,14	6,44	<2	<2	< 1
	2	7,64	3,12	6,42	<2	<2	< 1
20	1	8,50	4,48	8,58	2,00	<2	2,00
	2	8,49	4,47	8,56	2,01	<2	1,98
Maksimum		8,99	8,54	9,40	7,27	<2	8,92
Minimum		4,42	2,89	6,19	<2	<2	< 1
Ortalama		7,57	5,51	8,01	2,86	<2	4,10

Beyaz peynir örneklerinde bulunan LAB sayısının 4,42-8,99 log kob/g arasında değiştiği ve ortalama 7,57 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Örneklerdeki enterokok sayıları en düşük 2,89 log kob/g, en yüksek 8,54 log kob/g ve ortalama 5,51 log kob/g olarak bulunmuştur. Beyaz peynir örneklerindeki LAB, enterokok sayıları Dağdemir and Özdemir (2008) ve Yerlikaya (2018) tarafından yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Peynir örneklerinde bulunan TAMB sayısının 9,40-6,19 log kob/g arasında değiştiği ve ortalama 8,01 log kob/g olduğu belirlenmiştir. Özellikle çiğ süttten yapılan peynirlerde TAMB sayısının yüksek olması beklenmektedir. Elde edilen TAMB sayıları Dağdemir and Özdemir (2008) ve Enkhtur (2021)'e yakın bulunmuştur.

Örneklerin maya sayıları en düşük <2 log kob/g, en yüksek 7,27 log kob/g, ortalama 2,86 log kob/g olarak belirlenmiştir. Küf sayıları ise tüm numunelerde <2 log kob/g bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne (Anonim 2011) göre peynirlerde en fazla 3,00 kob/g maya-küf bulunmalıdır. Buna göre 10 numunenin söz konusu tebliğe uymadığı belirlenmiştir. Örneklerde bulunan yüksek maya sayısı hijyen koşullarının yetersiz olduğunun bir göstergesidir. Örneklerde küf tespit edilmemesinin, peynirlerin

salamura içinde muhafaza edilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayağ (2017), analiz ettiği 10 adet Beyaz peynir örneğinde küf gelişmediğini, maya sayılarının ise ortalama 3,39 log kob/g olduğunu bildirmiştir.

Beyaz peynir örneklerinde bulunan koliform grubu mikroorganizmaların sayılarının ise <1-8,92 log kob/g arasında değişkenlik gösterdiği ve ortalama 4,10 log kob/g olduğu tespit edilmiştir. Koliform grubu bakteri sayılarının yüksek olduğu örnekler, peynir üretiminde kullanılan sütlerin pastörize edilmediği, hijyen uygulamalarına yeterince dikkat edilmediği ve/veya ısıtma işlem sonrası kontaminasyon olduğunun bir göstergesidir.

İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gram boyama, Katalaz ve Morfoloji Özellikleri

Erzurum piyasasından temin edilen ve starter kültür kullanılmayan 20 adet Beyaz peynir örneği materyal olarak kullanılmıştır. MRS agarda gelişen ve Gram-pozitif, katalaz negatif olmak üzere toplam 83 adet LAB izole edilmiştir.

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin Gram boyama, katalaz ve morfolojik özellikleri Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gram Boyama, Katalaz ve Morfolojik Özellikleri

İzolat No	Gram Testi	Katalaz Testi	Morfoloji	İzolat No	Gram Testi	Katalaz Testi	Morfoloji
L1	+	-	Kok	L43	+	-	Kok
L2	+	-	Kok	L44	+	-	Basil
L3	+	-	Basil	L45	+	-	Basil
L4	+	-	Kok	L46	+	-	Kok
L5	+	-	Kok	L47	+	-	Kok
L6	+	-	Basil	L48	+	-	Basil
L7	+	-	Kok	L49	+	-	Basil
L8	+	-	Kok	L50	+	-	Kok
L9	+	-	Kok	L51	+	-	Kok
L10	+	-	Basil	L52	+	-	Kok
L11	+	-	Kok	L53	+	-	Basil
L12	+	-	Basil	L54	+	-	Kok
L13	+	-	Kok	L55	+	-	Kok
L14	+	-	Kok	L56	+	-	Kok
L15	+	-	Basil	L57	+	-	Kok

Tablo 10. (Devam)

İzolat No	Gram Testi	Katalaz Testi	Morfoloji	İzolat No	Gram Testi	Katalaz Testi	Morfoloji
L16	+	-	Basil	L58	+	-	Kok
L17	+	-	Kok	L59	+	-	Kok
L18	+	-	Kok	L60	+	-	Basil
L19	+	-	Basil	L61	+	-	Basil
L20	+	-	Kok	L62	+	-	Basil
L21	+	-	Kok	L63	+	-	Basil
L22	+	-	Kok	L64	+	-	Kok
L23	+	-	Basil	L65	+	-	Kok
L24	+	-	Basil	L66	+	-	Basil
L25	+	-	Basil	L67	+	-	Basil
L26	+	-	Basil	L68	+	-	Kok
L27	+	-	Basil	L69	+	-	Kok
L28	+	-	Basil	L70	+	-	Kok
L29	+	-	Basil	L71	+	-	Kok
L30	+	-	Kok	L72	+	-	Kok
L31	+	-	Basil	L73	+	-	Kok
L32	+	-	Basil	L74	+	-	Kok
L33	+	-	Basil	L75	+	-	Basil
L34	+	-	Basil	L76	+	-	Basil
L35	+	-	Kok	L77	+	-	Basil
L36	+	-	Kok	L78	+	-	Tetrakok
L37	+	-	Kok	L79	+	-	Basil
L38	+	-	Kok	L80	+	-	Basil
L39	+	-	Kok	L81	+	-	Basil
L40	+	-	Kok	L82	+	-	Basil
L41	+	-	Kok	L83	+	-	Basil
L42	+	-	Basil				

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin morfolojik özellikleri incelendiğinde 44 tanesinin kok, 38 tanesinin basil, 1 tanesinin ise tetrakok olduğu bulunmuştur.

KAA agarda siyah zonlu tipik gelişim gösteren, Gram-pozitif, katalaz negatif ve morfolojisi kok olan toplam 62 adet muhtemel enterokok izole edilmiştir.

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin gram boyama, katalaz ve morfolojik özellikleri Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Gram Boyama, Katalaz ve Morfolojik Özellikleri

İzol No	Gram Testi	Katalaz Testi	Morfoloji	İzol No	Gram Testi	Katalaz Testi	Morfoloji
E201	+	-	Kok	E232	+	-	Kok
E202	+	-	Kok	E233	+	-	Kok
E203	+	-	Kok	E234	+	-	Kok
E204	+	-	Kok	E235	+	-	Kok
E205	+	-	Kok	E236	+	-	Kok
E206	+	-	Kok	E237	+	-	Kok
E207	+	-	Kok	E238	+	-	Kok
E208	+	-	Kok	E239	+	-	Kok
E209	+	-	Kok	E240	+	-	Kok
E210	+	-	Kok	E241	+	-	Kok
E211	+	-	Kok	E242	+	-	Kok
E212	+	-	Kok	E243	+	-	Kok
E213	+	-	Kok	E244	+	-	Kok
E214	+	-	Kok	E245	+	-	Kok
E215	+	-	Kok	E246	+	-	Kok
E216	+	-	Kok	E247	+	-	Kok
E217	+	-	Kok	E248	+	-	Kok
E218	+	-	Kok	E249	+	-	Kok
E219	+	-	Kok	E250	+	-	Kok
E220	+	-	Kok	E251	+	-	Kok
E221	+	-	Kok	E252	+	-	Kok
E222	+	-	Kok	E253	+	-	Kok
E223	+	-	Kok	E254	+	-	Kok
E224	+	-	Kok	E255	+	-	Kok
E225	+	-	Kok	E256	+	-	Kok
E226	+	-	Kok	E257	+	-	Kok
E227	+	-	Kok	E258	+	-	Kok
E228	+	-	Kok	E259	+	-	Kok
E229	+	-	Kok	E260	+	-	Kok
E230	+	-	Kok	E261	+	-	Kok
E231	+	-	Kok	E262	+	-	Kok

KAA agarda saflaştırılan enterokok grubu bir bakteriye ait petri görüntüsü Şekil 3.'te görülmektedir.



Şekil 6. KAA agarda saflaştırılan enterokok grubu bir bakteriye ait petri görüntüsü

İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Glikozdan Gaz Oluşturma zellikleri

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin glikozdan gaz oluşturma zellikleri Tablo 12'de verilmiştir.

L5 kodlu izolat -80 C'de muhafaza edildikten sonra tekrar gelişim göstermediğinden analizlerde yer verilememiştir.

Tablo 12. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Glikozdan Gaz Oluşturma Özellikleri

İzolat Kodu	CO ₂ Oluşumu	İzolat Kodu	CO ₂ Oluşumu	İzolat Kodu	CO ₂ Oluşumu	İzolat Kodu	CO ₂ Oluşumu
L1	-	L23	-	L44	-	L65	-
L2	-	L24	-	L45	-	L66	-
L3	-	L25	-	L46	-	L67	-
L4	-	L26	-	L47	+	L68	-
L6	-	L27	-	L48	-	L69	-
L7	-	L28	-	L49	-	L70	-
L8	-	L29	-	L50	-	L71	-
L9	-	L30	-	L51	-	L72	-
L10	-	L31	-	L52	-	L73	-
L11	-	L32	-	L53	+	L74	-
L12	-	L33	-	L54	-	L75	-
L13	-	L34	-	L55	-	L76	-
L14	-	L35	-	L56	-	L77	-
L15	-	L36	-	L57	-	L78	-
L16	-	L37	-	L58	-	L79	-
L17	-	L38	-	L59	-	L80	-
L18	-	L39	-	L60	-	L81	-
L19	-	L40	-	L61	-	L82	-
L20	-	L41	-	L62	-	L83	-
L21	-	L42	-	L63	-		
L22	-	L43	-	L64	-		

Glikozdan gaz üretme özellikleri incelenen izolatlardan L47 ve L53'ün heterofermantatif oldukları tespit edilmiştir. Kalan 80 izolat ise homofermantatif özellik göstermiştir. Albayrak and Duran (2021), Beyaz peynirden izole ettikleri 40 LAB'ın homofermantatif olduklarını ifade etmişlerdir. Heterofermantatif LAB Beyaz peynirlerden izole edilebilmesine rağmen, ürün yapısında meydana getirebilecekleri olumsuzluklardan dolayı starter kültür olarak kullanılmaları tavsiye edilmemektedir (Haddadin 2005).

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin glikozdan gaz oluşturma özellikleri Tablo 13.'te verilmiştir.

Tablo 13. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Glikozdan Gaz Oluşturma Özellikleri

İzolat Kodu	CO ₂ Oluşumu	İzolat Kodu	CO ₂ Oluşumu	İzolat Kodu	CO ₂ Oluşumu	İzolat Kodu	CO ₂ Oluşumu
E201	-	E217	-	E233	-	E249	-
E202	-	E218	-	E234	-	E250	-
E203	-	E219	-	E235	-	E251	-
E204	-	E220	-	E236	-	E252	-
E205	-	E221	-	E237	-	E253	-
E206	-	E222	-	E238	-	E254	-
E207	-	E223	-	E239	-	E255	-
E208	-	E224	-	E240	-	E256	-
E209	-	E225	-	E241	-	E257	-
E210	-	E226	-	E242	-	E258	-
E211	-	E227	-	E243	-	E259	-
E212	-	E228	-	E244	-	E260	-
E213	-	E229	-	E245	-	E261	-
E214	-	E230	-	E246	-	E262	-
E215	-	E231	-	E247	-		
E216	-	E232	-	E248	-		

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerden hiçbirisi glikozdan gaz oluşturmamıştır.

İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Arginini Hidrolizi Etme Özellikleri

Biyojenik aminler, amino asitlerin dekarboksilasyonu ile oluşan azotlu bileşiklerdir. Gram-negatif, Gram-pozitif bakteriler ve mayalar dekarboksilaz enzimleri ile aminoasitleri indirgeyerek biyojen amin üretebilirler. Biyojen aminler düşük miktarlarda tüketildiğinde bağırsaklarda fizyolojik olarak daha az aktif formlara metabolize edilebilmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda biyojen amin içeren gıdaların tüketilmesi ise toksikasyona sebep olabilmektedir (Linares *et al.* 2011; Shalaby 1996).

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin arginini hidrolize etme özellikleri Tablo 14’te verilmiştir.

Tablo 14. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Arginini Hidrolize Etme Özellikleri

İzolat Kodu	Arginin Hidrolizi	İzolat Kodu	Arginin Hidrolizi	İzolat Kodu	Arginin Hidrolizi	İzolat Kodu	Arginin Hidrolizi
L1	+	L23	-	L44	-	L65	-
L2	+	L24	-	L45	-	L66	-
L3	+	L25	-	L46	+	L67	-
L4	-	L26	-	L47	-	L68	-
L6	-	L27	-	L48	-	L69	-
L7	+	L28	-	L49	-	L70	-
L8	+	L29	-	L50	-	L71	-
L9	+	L30	+	L51	+	L72	-
L10	-	L31	+	L52	+	L73	+
L11	+	L32	-	L53	-	L74	+
L12	+	L33	-	L54	+	L75	-
L13	-	L34	-	L55	-	L76	-
L14	+	L35	-	L56	+	L77	-
L15	+	L36	-	L57	-	L78	-
L16	-	L37	-	L58	-	L79	-
L17	+	L38	+	L59	+	L80	-
L18	+	L39	-	L60	-	L81	-
L19	+	L40	-	L61	-	L82	-
L20	+	L41	+	L62	-	L83	+
L21	+	L42	-	L63	-		
L22	+	L43	+	L64	-		

İzole edilen LAB'ların 30 (%36,59) tanesinin arginini hidrolize edebildiği 52 (%64,41) tanesinin ise edemediği tespit edilmiştir.

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerinin arginini hidrolize etme özellikleri Tablo 15'te verilmiştir.

Tablo 15. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Arginini Hidrolize Etme Özellikleri

İzolat Kodu	Arginin Hidrolizi	İzolat Kodu	Arginin Hidrolizi	İzolat Kodu	Arginin Hidrolizi	İzolat Kodu	Arginin Hidrolizi
E201	+	E217	+	E233	+	E249	+
E202	+	E218	+	E234	+	E250	+
E203	+	E219	-	E235	+	E251	+
E204	+	E220	+	E236	+	E252	+
E205	+	E221	+	E237	+	E253	-
E206	+	E222	+	E238	+	E254	+
E207	+	E223	+	E239	+	E255	+
E208	+	E224	-	E240	+	E256	+
E209	+	E225	-	E241	+	E257	+
E210	+	E226	-	E242	+	E258	+
E211	+	E227	-	E243	+	E259	+
E212	-	E228	+	E244	-	E260	+
E213	-	E229	+	E245	+	E261	+
E214	-	E230	+	E246	+	E262	+
E215	-	E231	+	E247	+		
E216	+	E232	+	E248	+		

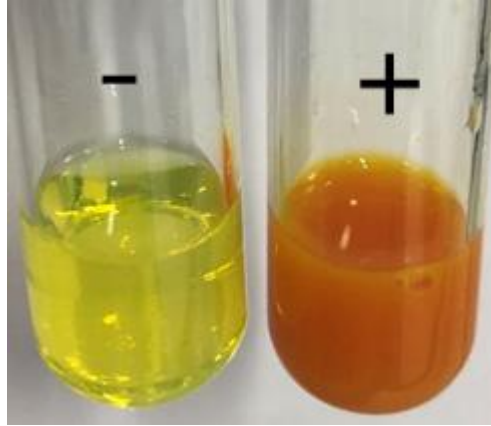
Enterokok grubu bakterilerden ise 51 tanesi (%82,23) arginini hidrolize edebilirken, 11 tanesinin (%17,77) ise hidrolize edemediği tespit edilmiştir.

Albayrak and Duran (2021) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, geleneksel Beyaz peynirlerden izole edilen 40 adet enterokoktan 35 tanesinin (%87,5) arginini hidrolize edebildikleri belirlenmiştir.

Çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden izole edilen 167 adet enterokok grubu bakterinin probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada tüm izolatların arginini hidrolize edebildiği bildirilmiştir (Yerlikaya 2012).

Mulaw *et al.* (2019) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Etiyopya'nın geleneksel fermente ürünlerinden LAB izolasyonu yapılarak probiyotik özellikleri incelenmiştir. Çalışma kapsamında izole edilen *L. plantarum* 052 arginini hidrolize edemezken, *L. plantarum* T035, *Lactobacillus paracasei* spp. *tolerans* K011 ve *Lactobacillus paracasei* E031 suşları arginini hidrolize edebildiği belirlenmiştir.

Arginini hidrolize edemeyen L26 ve hidrolize edebilen L30 suşlarına ait görüntü Şekil 7’de verilmiştir.



Şekil 7. Arginine negatif (-) L26 ve pozitif (+) L30 izolatlarına ait görüntü

İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı Sıcaklıklarda Üreme Özellikleri

Beyaz peynir olgunlaşma aşamasında 4-15 derece arasındaki sıcaklıklarda depolanmaktadır (Hayaloğlu *et al.* 2002; Hayaloğlu 2017). Beyaz peynir üretimi için seçilecek starter kültürün bu sıcaklık aralığında gelişebilmesi baskın mikrobiyotayı oluşturması için önemlidir. Çalışma kapsamında MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı sıcaklıklarda gelişme özellikleri Tablo 16’da verilmiştir.

Tablo 16. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Özellikleri

İzolat No	Farklı Sıcaklıklarda Gelişim			
	4 °C	10 °C	15 °C	45 °C
L1	+	+	++	-
L2	+	+	++	-
L3	+	++	+++	++
L4	+	++	++	+
L6	+	+++	+++	+
L7	+	++	+++	+++
L8	+	+	++	+
L9	+	++	+++	+++
L10	-	++	+++	+
L11	+	++	+++	+++
L12	+	+	+++	+++
L13	-	-	+	+++
L14	+	++	+++	+++
L15	+	+	+++	+
L16	+	+++	+++	+

Tablo 16. (Devam)

İzolat No	Farklı Sıcaklıklarda Gelişim			
	4 °C	10 °C	15 °C	45 °C
L17	-	+	++	+++
L18	-	-	+	+
L19	+	++	+++	++
L20	-	-	+	-
L21	+	+	++	++
L22	-	-	-	-
L23	-	+	+	-
L24	+	+++	+++	-
L25	+	+++	+++	+
L26	+	+++	+++	+
L27	-	+	+++	+
L28	-	-	-	+++
L29	-	-	+	+++
L30	+	+	++	++
L31	+	+++	+++	++
L32	-	+	++	-
L33	-	+	++	-
L34	+	+++	+++	+
L35	-	+	++	-
L36	+	+	+	+
L37	+	+	+	+
L38	+	+	+	++
L39	-	-	+	+
L40	-	-	+	++
L41	+	+++	+++	+
L42	-	-	++	+++
L43	+	++	+++	+++
L44	-	-	-	-
L45	+	++	+++	+
L46	+	+	++	+
L47	+	++	+++	-
L48	+	+	++	-
L49	+	+++	+++	+
L50	+	+	+	++
L51	+	+	++	-
L52	+	+	++	-
L53	+	++	++	-

Tablo 16. (Devam)

İzolat No	Farklı Sıcaklıklarda Gelişim			
	4 °C	10 °C	15 °C	45 °C
L54	+	+	++	-
L55	-	-	-	+++
L56	+	+	+++	+++
L57	-	-	-	-
L58	+	+	+	-
L59	-	-	-	-
L60	+	+++	+++	+
L61	+	+++	+++	-
L62	-	++	+++	-
L63	+	+++	+++	+
L64	-	-	-	++
L65	-	-	-	+
L66	-	-	-	+++
L67	-	+	+	-
L68	-	-	-	+
L69	-	-	-	++
L70	-	-	-	++
L71	-	+	++	-
L72	-	+	++	-
L73	-	-	-	++
L74	-	+	+	-
L75	+	+	+++	-
L76	+	+	+++	-
L77	-	+++	+++	-
L78	-	+	++	-
L79	+	+	+++	-
L80	+	+	+++	-
L81	-	+	+++	-
L82	-	-	-	-
L83	+	+	+++	-

- ; üreme görülmemiştir (absorbans değeri=kör numune), + ; zayıf üreme (absorbans değeri<1), ++ ; iyi üreme (1<absorbans değeri<1,5), +++ ; çok iyi üreme (1,5<absorbans değeri)

MRS agardan izole edilen 82 suştan 36 adedi 4 °C’de gelişim göstermezken 46 tanesi zayıf gelişim göstermiştir. Değerlendirilen izolatlardan 10 °C’de 21 tanesinde üreme tespit edilemezken, 35 tanesi zayıf üreme göstermiş, 13 tanesi iyi üreme göstermiş, kalan 13 tanesi ise çok iyi üreme göstermiştir. MRS izolatlarından 14 tanesinin 15 °C’de gelişemediği, 14 tanesinin zayıf üreme gösterdiği, 20 tanesinin iyi üreme gösterdiği, kalan 34 tanenin ise çok

iyi üreme gösterdiği tespit edilmiştir. Suşların 45°C’de gelişme özellikleri değerlendirildiğinde ise 34 tanesinin üreme göstermediği, 22 tanesinin zayıf ürediği, 12 tanesinin iyi ürediği, 14 tanesinin ise çok iyi ürediği bulunmuştur.

Çalışma kapsamında KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişme özellikleri Tablo 17’de verilmiştir.

Tablo 17. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Farklı Sıcaklıklarda Gelişme Özellikleri

İzolat No	Farklı Sıcaklıklarda Gelişim			
	4 °C	10 °C	15 °C	45 °C
E201	-	+++	+++	++
E202	-	+++	+++	++
E203	-	+++	+++	++
E204	-	+++	+++	+
E205	-	+++	+++	++
E206	-	+++	+++	++
E207	-	+++	+++	++
E208	-	+++	+++	+++
E209	-	++	+++	++
E210	-	++	+++	++
E211	-	++	+++	++
E212	-	-	+++	-
E213	-	-	+++	++
E214	-	-	+++	++
E215	+	++	+++	-
E216	-	+++	+++	++
E217	-	+++	+++	++
E218	-	+++	+++	++
E219	-	+++	+++	++
E220	-	+++	+++	++
E221	-	+++	+++	++
E222	-	++	+++	++
E223	-	-	++	++
E224	-	-	-	++
E225	-	-	-	++
E226	-	-	+	++
E227	-	-	++	-
E228	-	+	+++	++

Tablo 17. (Devam)

İzolot No	Farklı Sıcaklıklarda Gelişim			
	4 °C	10 °C	15 °C	45 °C
E229	-	+++	+++	+
E230	-	+++	+++	++
E231	-	++	+++	++
E232	-	+++	+++	++
E233	-	++	+++	++
E234	-	++	+++	++
E235	-	++	+++	++
E236	-	++	+++	++
E237	-	+++	+++	++
E238	-	+++	+++	++
E239	-	+++	+++	++
E240	-	++	+++	++
E241	-	+++	+++	++
E242	-	+++	+++	+
E243	-	-	-	++
E244	-	++	++	+
E245	-	+++	+++	++
E246	-	+++	+++	+
E247	-	+++	+++	++
E248	-	++	+++	+
E249	-	+	+++	++
E250	-	+++	+++	+
E251	-	+++	+++	+
E252	-	+++	+++	++
E253	-	-	-	+++
E254	-	+++	+++	++
E255	-	+++	+++	++
E256	-	+++	+++	++
E257	-	++	+++	++
E258	-	++	+++	++
E259	-	+++	+++	++
E260	-	+++	+++	+++
E261	-	+++	+++	++
E262	-	+++	+++	++

- ; üreme görülmemiştir (absorbans değeri=kör numune), + ; zayıf üreme (absorbans değeri<1), ++ ; iyi üreme (1<absorbans değeri<1,5), +++ ; çok iyi üreme (1,5<absorbans değeri)

Muhtemel enterokok grubu bakterilerden ise sadece 1 tanesi 4 °C’de zayıf gelişim göstermiş, kalan 62 suş ise gelişmemiştir. İzolatların 10 tanesi 10 °C’de gelişmezken, 2 tanesi zayıf üremiş, 15 tanesi iyi üremiş, 35 tanesi ise çok iyi üremiştir. Enterokok izolatlarının yalnızca 4 tanesi 15 °C’de gelişim göstermemiş olup, 1 tanesi zayıf üreme, 3 tanesi iyi üreme, 54 tanesi ise çok iyi üreme göstermiştir. Suşların 45°C’de gelişme özellikleri değerlendirildiğinde ise yalnızca 3 izolat ürememiş, 8 tanesi zayıf üremiş, 48 tanesi iyi üremiş, kalan 3 tanenin ise çok iyi ürediği belirlenmiştir.

Aspri *et al.* (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada çiğ eşek sütünden *Enterococcus* spp. (189 suş), *Streptococcus* spp. (63 suş), *Leuconostoc* spp. (3 suş), *Lactobacillus* spp. (2 suş) izole edilmiştir. İzolatlardan hepsinin 15 ve 30 °C’de gelişim gösterdiği, 45°C’de ise yalnızca *Enterococcus* spp. suşlarının geliştiği ifade edilmiştir.

Das *et al.* (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada pirinç birasından *L. casei* TEZU309, *Lactobacillus pentosus* TEZU174, *L. casei* TEZU468, *P. pentosaceus* TEZU199, *P. pentosaceus* TEZU451, *P. pentosaceus* TEZU213, *L. plantarum* TEZU272, *P. pentosaceus* TEZU427, *P. pentosaceus* TEZU481, *P. pentosaceus* TEZU482, *P. pentosaceus* TEZU486, *L. casei* TEZU262, *P. pentosaceus* TEZU410, *L. casei* TEZU374 suşları izole edilmiştir. Teknolojik özellikleri incelenen bu suşlardan yalnızca *P. pentosaceus* TEZU410 15 °C’de gelişim göstermemiştir. Öte yandan *L. pentosus* TEZU174, *P. pentosaceus* TEZU199, *P. pentosaceus* TEZU213, *L. plantarum* TEZU272, *P. pentosaceus* TEZU410, *L. casei* TEZU374 suşları ise 45°C’de gelişim göstermemiştir. Bu durum aynı türe ait farklı suşlarının gelişim koşullarının birbirinden farklı olabileceğini göstermektedir.

Farklı sıcaklıklarda gelişme özellikleri incelenen laktik asit bakterilerine ait örnek 96-well plate okuma sonucu Şekil 8’de görülmektedir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0,182	0,184	0,183	0,171	0,735	0,681	0,734	0,693	1,044	1,098	1,117	0,981	600
B	0,391	0,414	0,48	0,434	0,294	0,249	0,259	0,257	0,37	0,359	0,458	0,471	600
C	0,446	0,414	0,502	0,533	0,442	0,308	0,401	0,405	0,278	0,311	0,433	0,373	600
D	0,194	0,208	0,2	0,192	0,269	0,379	0,297	0,354	0,804	0,719	0,722	0,809	600
E	0,206	0,241	0,225	0,293	0,313	0,284	0,294	0,352	0,293	0,322	0,361	0,38	600
F	1,305	1,403	1,38	1,382	1,474	1,433	1,47	1,489	0,195	0,214	0,212	0,214	600
G	0,188	0,189	0,195	0,202	0,236	0,252	0,216	0,246	1,381	1,343	1,375	1,423	600
H	0,422	0,384	0,423	0,434	0,416	0,386	0,39	0,494	0,196	0,187	0,191	0,187	600

Şekil 8. Örnek 96-well plate okuma sonucu

İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim Özellikleri

Beyaz peynir %10-16 konsantrasyonlarında NaCl içeren salamurlarda depolanmakta ve olgunlaşmanın sonunda ürünlerdeki NaCl miktarı %7-8’e kadar yükselebilmektedir (Hayaloğlu 2017). Üretimde kullanılacak starter kültür seçiminde yüksek konsantrasyonlarda

NaCl'ye dayanıklı olması göz önünde bulundurulması gereken bir diğer önemli kriterdir. Çalışma kapsamında MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişme özellikleri Tablo 18'de verilmiştir.

Tablo 18. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerin Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim Özellikleri

İzolat No	Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim		
	%4	%6,5	%10
L1	++	-	-
L2	++	-	-
L3	++	-	-
L4	++	+	-
L6	+++	++	-
L7	++	-	-
L8	+	-	-
L9	++	-	-
L10	+++	+	-
L11	++	-	-
L12	++	-	-
L13	-	-	-
L14	++	-	-
L15	+++	-	-
L16	+++	++	-
L17	++	-	-
L18	+	-	-
L19	+++	++	-
L20	+	-	-
L21	++	-	-
L22	-	-	-
L23	+	-	-
L24	+++	+	-
L25	+++	-	-
L26	+++	++	-
L27	++	+	-
L28	+	+	-
L29	-	-	-
L30	++	-	-
L31	+++	-	-
L32	++	+	-

Tablo 18. (Devam)

İzolat No	Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim		
	%4	%6,5	%10
L33	++	+	-
L34	+++	+++	+
L35	++	+	-
L36	+	+	+
L37	+	+	+
L38	+	+	-
L39	+	+	+
L40	+	+	+
L41	++	+	+
L42	+++	+	+
L43	+++	+	+
L44	-	-	-
L45	+++	+	+
L46	++	+	+
L47	++	+	+
L48	++	+	-
L49	+++	+	+
L50	+	+	-
L51	++	+	+
L52	++	+	+
L53	+	+	+
L54	++	+	-
L55	+	+	-
L56	++	+	+
L57	+	+	-
L58	+	+	-
L59	++	-	-
L60	+++	+++	+
L61	+++	+++	-
L62	+++	-	-
L63	+++	+++	-
L64	-	-	-
L65	-	-	-
L66	-	-	-
L67	+	-	-

Tablo 18. (Devam)

İzolat No	Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim		
	%4	%6,5	%10
L68	-	-	-
L69	-	-	-
L70	-	-	-
L71	+	-	-
L72	+	-	-
L73	+	-	-
L74	-	-	-
L75	+++	-	-
L76	+++	+	-
L77	+++	++	-
L78	+	+	-
L79	+++	+	-
L80	+++	++	-
L81	+++	-	-
L82	-	-	-
L83	+++	-	-

- ; üreme görülmemiştir (absorbans değeri=kör numune), + ; zayıf üreme (absorbans değeri<1), ++ ; iyi üreme (1<absorbans değeri<1,5), +++ ; çok iyi üreme (1,5<absorbans değeri)

Farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişimi değerlendirilen MRS izolatlarından 10 tanesinin %4 tuz konsantrasyonunda gelişmezken, 20 tanesi zayıf üremiş, 25 tanesi iyi üremiş kalan 25 tane ise çok iyi üreme göstermiştir. İzolatlardan 39 tanesi %6,5 tuz konsantrasyonunda gelişemezken, 33 tanesi zayıf üremiş, 6 tanesi iyi üremiş, 4 tanesi ise çok iyi üremiştir. Tuz konsantrasyonu arttıkça gelişen bakteri sayısı azalmıştır. Konsantrasyon %10'a çıktığında ise, 17 suş zayıf gelişim gösterirken kalan 64 suş gelişmemiştir.

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin farklı NaCl konsantrasyonlarında gelişme özellikleri Tablo 19'da verilmiştir.

Tablo 19. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim Özellikleri

İzolat No	Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim		
	%4	%6,5	%10
E201	+++	++	-
E202	+++	++	-
E203	+++	++	+
E204	++	+	-
E205	+++	++	-
E206	+++	++	-
E207	+++	++	+
E208	+++	+++	+
E209	+++	+++	+
E210	+++	++	-
E211	+++	++	-
E212	++	+	-
E213	+	-	-
E214	+	-	-
E215	++	-	-
E216	+++	++	-
E217	+++	++	-
E218	++	++	-
E219	++	+	-
E220	++	++	+
E221	++	++	+
E222	++	++	-
E223	+++	++	-
E224	++	-	-
E225	++	-	-
E226	+	-	-
E227	+	-	-
E228	+++	+++	-
E229	+++	+++	+
E230	++	++	+
E231	+++	+++	+
E232	+++	++	-
E233	++	++	-
E234	+++	++	-

Tablo 19. (Devam)

İzolat No	Farklı NaCl Konsantrasyonlarında Gelişim		
	%4	%6,5	%10
E235	++	+	+
E236	+++	++	-
E237	+++	++	+
E238	++	++	-
E239	+++	++	+
E240	++	++	+
E241	++	++	+
E242	++	++	+
E243	-	-	-
E244	+	+	-
E245	++	+	+
E246	+++	+	-
E247	++	+	-
E248	+++	++	-
E249	+++	+++	-
E250	++	++	-
E251	+	+	-
E252	+++	++	-
E253	++	-	-
E254	+++	++	-
E255	+	+	-
E256	+++	++	-
E257	+++	++	-
E258	+++	++	-
E259	++	++	-
E260	+++	++	-
E261	+++	++	-
E262	+++	++	-

- ; üreme görülmemiştir (absorbans değeri=kör numune), + ; zayıf üreme (absorbans değeri<1), ++ ; iyi üreme (1<absorbans değeri<1,5), +++ ; çok iyi üreme (1,5<absorbans değeri)

Muhtemel enterokok izolatlarından yalnızca 1 tanesi %4 NaCl konsantrasyonunda gelişmemiş, 7 suş zayıf gelişmiş, 22 suş iyi gelişmiş, kalan 32 izolat ise çok iyi gelişme göstermiştir. Konsantrasyon %6,5'a yükseldiğinde 9 suş gelişmemiş, 10 suş zayıf üreme göstermiş, 37 suş iyi üreme göstermiş, 6 suş ise çok iyi üremiştir. Konsantrasyon %10 olduğunda ise izolatlardan 16 tanesi zayıf gelişim gösterirken kalan 47 suş gelişmemiştir.

Aspri *et al.* (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada çiğ eşek sütünden izole edilen *Enterococcus* spp. (189 suş) suşlarının %2, %4, %6,5 ve %8 konsantrasyonlarında NaCl içeren besiyerinde gelişebildikleri ifade edilmiştir. *Streptococcus* spp. (63 suş), *Leuconostoc* spp. (3 suş) ve *Lactobacillus* spp. (2 suş) izolatları ise en fazla %4 NaCl içeren besiyerinde gelişme göstermişlerdir.

Esen (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise, Hatay'ın geleneksel Sürk peynirinden izole edilen *Companilactobacillus alimentarius* (9 suş), *L. plantarum* (11 suş) ve *Ligilactobacillus acidipiscis* (6 suş) suşların hepsinin %3 ve %6,5 NaCl konsantrasyonlarında gelişebildikleri tespit edilmiştir. NaCl konsantrasyonu %12'ye yükseltildiğinde ise 1 adet *C. alimentarius*, 4 adet *L. plantarum* ve 1 adet *L. acidipiscis* suşu gelişme göstermiştir.

İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı pH Değerlerinde Gelişim Özellikleri

Farklı pH değerlerinde gelişime starter kültür olarak kullanılacak mikroorganizmaların bir diğer önemli özelliğidir. Beyaz peynirin olgunlaşma sonundaki pH değeri 4,5'e kadar düşebilmektedir. Fermente süt ürünlerinde starter olarak kullanılması planlanan suşların düşük pH değerlerinde inhibe olmamaları ve üreyebilmeleri gerekmektedir. MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH değerlerinde gelişme özellikleri Tablo 20'de verilmiştir.

Tablo 20. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerin Farklı pH Değerlerinde Gelişim Özellikleri

İzolat No	Farklı pH Değerlerinde Gelişim				
	2,5	3,9	5,0	8,5	9,6
L1	-	-	++	+++	+++
L2	-	-	++	+++	+++
L3	-	-	++	+++	+++
L4	-	-	++	++	+
L6	-	++	+++	+++	+
L7	-	-	+	++	+
L8	-	-	+	++	++
L9	-	-	+++	+	+
L10	-	++	+++	+	+
L11	-	-	+++	-	+
L12	-	-	++	-	+
L13	+	+	-	-	-
L14	-	-	+	+	+
L15	-	-	++	+++	+++

Tablo 20. (Devam)

İzolat No	Farklı pH Değerlerinde Gelişim				
	2,5	3,9	5,0	8,5	9,6
L16	-	++	+++	+++	++
L17	-	-	+	++	++
L18	-	-	-	+++	+++
L19	-	++	+++	+++	++
L20	-	-	-	+++	++
L21	-	-	+	+	+
L22	-	-	+	++	+
L23	-	-	+	+	+
L24	-	-	+++	+++	-
L25	-	-	+++	+	++
L26	-	-	+++	++	+
L27	-	++	+++	-	-
L28	-	+	+++	-	-
L29	-	+	+++	++	++
L30	-	-	+	+	++
L31	-	-	+++	+	++
L32	-	-	+++	+	+
L33	-	-	+++	+	+
L34	+	+++	+++	+	++
L35	-	-	+++	+	++
L36	+	++	+	++	+
L37	+	+	+	+++	+
L38	-	-	-	+++	++
L39	-	-	+++	++	+
L40	-	+	+	+++	-
L41	-	++	+++	+++	+++
L42	-	+++	+++	+	-
L43	-	-	++	+	+
L44	-	-	+	+	++
L45	+	++	+++	+++	++
L46	-	-	++	+	+
L47	-	+	+++	+++	++
L48	-	++	+++	+++	+++
L49	-	++	+++	+++	+++
L50	-	+	+	+++	+

Tablo 20. (Devam)

İzolat No	Farklı pH Değerlerinde Gelişim				
	2,5	3,9	5,0	8,5	9,6
L51	-	-	++	+	+
L52	-	-	++	+	+
L53	-	+	+++	+	+
L54	-	-	++	+	++
L55	-	-	-	+++	-
L56	-	-	++	+	++
L57	-	-	-	+++	+++
L58	-	-	-	++	+
L59	-	-	-	++	++
L60	-	+++	+++	++	++
L61	-	+++	+++	+++	+++
L62	-	+++	+++	++	-
L63	+	+++	+++	+++	+++
L64	-	-	-	+++	-
L65	-	-	+	+	+
L66	-	-	++	++	-
L67	-	-	+	+	+
L68	-	-	-	+	+
L69	-	-	-	+++	-
L70	-	-	-	+++	-
L71	-	-	+	+++	+++
L72	-	-	+	+++	+++
L73	-	-	-	+++	+++
L74	-	-	+	+	+
L75	-	+	+++	+++	+++
L76	-	++	+++	+++	+++
L77	-	+++	+++	+++	+++
L78	-	-	-	+	+
L79	-	+	+++	+++	+++
L80	-	+	+++	+++	+++
L81	-	-	+++	+++	+++
L82	-	-	+++	-	-
L83	-	++	+++	+++	+

- ; üreme görülmemiştir (absorbans değeri=kör numune), + ; zayıf üreme (absorbans değeri<1), ++ ; iyi üreme (1<absorbans değeri<1,5), +++ ; çok iyi üreme (1,5<absorbans değeri)

Farklı pH değerlerinde gelişimi değerlendirilen MRS izolatlarından 6 tanesi pH 2,5 değerinde zayıf gelişmiş, kalan 76 suş ise gelişmemiştir. pH 3,9’da 11 izolat zayıf üremiş, 12 izolat iyi üremiş, 7 izolat çok iyi üremiş, kalan 52 suş ise gelişmemiştir. pH 5,0’da ise 18 suş zayıf gelişirken, 13 suş iyi üremiş, 37 suş çok iyi üremiş, 14 suş gelişmemiştir. İzolatlardan 6 tanesi pH 8,0’da gelişemezken, 26 tanesi zayıf gelişmiş, 14 tanesi iyi gelişmiş, 36 tanesi ise çok iyi gelişme göstermiştir. pH 9,6’da ise 13 izolat üreyemezken, 30 izolat zayıf, 19 izolat iyi ve 20 suş ise çok iyi üremiştir.

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin farklı pH değerlerinde gelişme özellikleri Tablo 21’de verilmiştir.

Tablo 21. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Farklı pH Değerlerinde Gelişim Özellikleri

İzolat No	Farklı pH Değerlerinde Gelişim				
	2,5	3,9	5,0	8,5	9,6
E201	-	-	++	+++	++
E202	-	-	++	+++	++
E203	-	-	++	+++	++
E204	-	-	++	+++	++
E205	-	-	++	+++	++
E206	-	-	++	+++	++
E207	-	-	++	+++	++
E208	-	-	++	+++	+++
E209	-	-	++	+++	+++
E210	-	-	++	+++	++
E211	-	-	++	+++	++
E212	-	-	+	+++	++
E213	-	-	++	++	+
E214	-	-	++	++	+
E215	-	-	-	++	++
E216	-	-	++	+++	++
E217	-	-	++	+++	++
E218	-	-	++	++	++
E219	-	-	-	+++	++
E220	-	-	++	+++	++
E221	-	-	++	++	++
E222	-	-	++	+++	+++
E223	-	-	+	+++	+++
E224	-	-	++	+++	+

Tablo 21. (Devam)

İzolat No	Farklı pH Değerlerinde Gelişim				
	2,5	3,9	5,0	8,5	9,6
E225	-	-	++	+++	+
E226	-	-	++	++	++
E227	-	-	-	++	++
E228	-	-	++	+++	+++
E229	-	-	++	+++	+++
E230	-	-	++	+++	++
E231	-	-	++	+++	+++
E232	-	-	++	+++	+++
E233	-	-	++	++	++
E234	-	-	+	+++	++
E235	-	-	++	+++	++
E236	-	-	+	+++	++
E237	-	-	++	+++	++
E238	-	-	++	+++	+++
E239	-	-	++	+++	++
E240	-	-	++	+++	++
E241	-	-	++	+++	+++
E242	-	-	++	+++	++
E243	-	-	+	++	+
E244	-	-	+	+++	+++
E245	-	-	++	+++	++
E246	-	-	++	+++	++
E247	-	-	++	+++	++
E248	-	-	++	+++	++
E249	-	-	++	+++	++
E250	-	-	++	+++	+++
E251	-	-	++	+++	++
E252	-	-	++	++	++
E253	-	-	++	++	++
E254	-	-	+	+++	++
E255	-	-	++	++	++
E256	-	-	++	+++	+++
E257	-	-	+	++	++
E258	-	-	++	+++	+++
E259	-	-	++	++	++

Tablo 21. (Devam)

İzolat No	Farklı pH Değerlerinde Gelişim				
	2,5	3,9	5,0	8,5	9,6
E260	-	-	++	+++	+++
E261	-	-	++	+++	+++
E262	-	-	++	++	++

- ; üreme görülmemiştir (absorbans değeri=kör numune), + ; zayıf üreme (absorbans değeri<1), ++ ; iyi üreme (1<absorbans değeri<1,5), +++ ; çok iyi üreme (1,5<absorbans değeri)

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin hiçbirisi pH 2,5 ve 3,9'da gelişim göstermemiştir. İzolatlardan 3 tanesi pH 5,0'da gelişmezken, 8 suş zayıf gelişmiş kalan 51 suş ise iyi gelişmiştir. pH 8,5 ve 9,6 da tüm izolatlar üremiştir. pH 8,6'da 15 suş iyi üreme gösterirken kalan 47 suş çok iyi üreme göstermiştir. İzolatlardan 5 tanesi pH 9,6'da zayıf gelişirken, 41 tanesi iyi gelişmiş, 16 tanesi çok iyi gelişmiştir.

Samsun ilinde Beyaz peynirlerden izole edilen *Lactobacillus pentosus* S056, *L. pentosus* S058, *Loigolactobacillus coryniformis* spp. *torquens* S232, *E. faecium* S013, *E. faecium* S017, *E. faecium* S1113, *E. faecalis* S135, *E. durans* S092, *E. durans* S104, *E. durans* S112, *E. durans* S202, *Enterococcus gallinarum* S142 suşların farklı pH değerlerinde gelişim özellikleri çalışmamızla benzerlik göstermiş ve tüm izolatlar pH 9,0'da gelişmiştir (Mohammed and Çon 2021).

Esen (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise Sürk peynirinden izole edilen *C. alimentarius* (9), *L. plantarum* (11) ve *L. acidipiscis* (6) suşlarının hepsi pH 5,0; 8,5 ve 9,6'da gelişmiştir. pH 3,0'da ise 5 *C. alimentarius*, 2 *L. acidipiscis* suşu gelişmemiş, *L. plantarum* suşlarının hepsi gelişme göstermiştir.

Asit Üretme Yetenekleri

İzolatların asit üretme yetenekleri yağsız sütte (%10 w/v) yapılmış olup 6, 12, 24 ve 48. saatlerde pH ölçümü ve titrasyon asitliği deneyleri gerçekleştirilmiştir. Fermente süt ürünlerinde hızlı asit üreten starter kültürlerin seçimi, istenmeyen mikroorganizmaların gelişiminin engellenmesi ve ürünün karakteristik tat ve aromasının oluşması için gereklidir (Aspri *et al.* 2017). Laktik asit bakterilerinin asit üretme kapasiteleri 24 saat inkübasyonun sonunda;

- I. Sütün pH değerini 2 birimden daha fazla düşürenler: Yüksek asit üretme kapasitesi,
- II. Sütün pH değerini 1,5–2 birim düşürenler: Orta asit üretme kapasitesi,

III. Sütün pH değerini 1,5 birimden daha az düşürenler: Düşük asit üretme kapasitesi

olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (Anagnostopoulos *et al.* 2018).

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin 6, 12, 24 ve 48. saatlerde pH ve titrasyon asitliğinde oluşturdukları değişiklikler Tablo 22’de verilmiştir.

Tablo 22. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Farklı İnkübasyon Sürelerinde Asit Üretim Miktarları

İzolat No	6. Saat		12. Saat		24. Saat		48. Saat	
	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)
L1	6,30±0,01	0,207±0,00	5,58±0,01	0,321±0,01	4,94±0,01	0,513±0,00	4,60±0,01	0,639±0,00
L2	6,50±0,01	0,153±0,01	6,07±0,15	0,213±0,02	5,16±0,12	0,411±0,01	4,71±0,07	0,651±0,03
L3	6,39±0,01	0,177±0,01	5,80±0,07	0,267±0,02	5,03±0,07	0,459±0,01	4,69±0,03	0,657±0,00
L4	6,58±0,01	0,153±0,01	6,54±0,02	0,158±0,00	6,34±0,01	0,189±0,00	4,88±0,03	0,621±0,01
L6	6,60±0,01	0,135±0,00	6,50±0,01	0,153±0,00	6,43±0,01	0,177±0,01	4,45±0,03	0,783±0,00
L7	6,47±0,02	0,165±0,01	5,79±0,02	0,249±0,01	5,28±0,00	0,459±0,00	4,75±0,00	0,657±0,00
L8	6,52±0,01	0,153±0,00	6,16±0,02	0,189±0,00	5,99±0,01	0,237±0,01	5,62±0,05	0,339±0,01
L9	6,45±0,02	0,135±0,00	5,72±0,07	0,285±0,01	5,03±0,08	0,495±0,00	4,71±0,06	0,591±0,01
L10	6,57±0,03	0,141±0,00	6,47±0,04	0,171±0,01	6,07±0,16	0,231±0,02	4,86±0,10	0,609±0,01
L11	6,52±0,02	0,147±0,00	5,85±0,01	0,255±0,01	5,49±0,00	0,351±0,00	5,02±0,01	0,519±0,00
L12	6,51±0,02	0,153±0,00	5,86±0,02	0,243±0,00	5,49±0,00	0,351±0,00	5,03±0,01	0,531±0,00
L13	6,38±0,01	0,177±0,01	5,87±0,01	0,255±0,01	5,45±0,01	0,351±0,00	4,91±0,02	0,531±0,03
L14	6,48±0,02	0,171±0,00	5,83±0,01	0,249±0,01	5,47±0,01	0,369±0,00	4,99±0,00	0,513±0,00
L15	6,50±0,01	0,141±0,00	5,92±0,10	0,261±0,00	5,45±0,17	0,357±0,04	4,96±0,04	0,483±0,01
L16	6,59±0,03	0,141±0,00	6,54±0,02	0,165±0,01	6,03±0,20	0,225±0,03	4,56±0,01	0,645±0,02
L17	6,48±0,01	0,153±0,00	5,88±0,00	0,243±0,00	5,54±0,00	0,369±0,00	5,11±0,01	0,507±0,01
L18	6,57±0,01	0,153±0,00	6,03±0,10	0,213±0,01	5,34±0,11	0,345±0,01	4,98±0,10	0,417±0,01
L19	6,56±0,07	0,135±0,00	6,51±0,05	0,153±0,01	6,19±0,08	0,201±0,01	4,81±0,05	0,567±0,00
L20	6,45±0,02	0,159±0,00	5,49±0,10	0,333±0,03	4,77±0,12	0,555±0,09	4,43±0,05	0,771±0,05
L21	6,42±0,00	0,171±0,00	5,98±0,02	0,231±0,01	5,65±0,06	0,303±0,01	5,21±0,12	0,441±0,03
L22	6,52±0,03	0,147±0,00	5,44±0,06	0,357±0,01	4,79±0,05	0,483±0,01	4,46±0,01	0,711±0,00
L23	6,74±0,04	0,135±0,00	6,58±0,10	0,141±0,01	5,93±0,04	0,255±0,01	4,59±0,10	0,633±0,07
L24	6,50±0,00	0,135±0,00	6,44±0,01	0,153±0,00	6,24±0,06	0,195±0,01	4,48±0,00	0,771±0,01
L25	6,63±0,01	0,135±0,00	6,57±0,06	0,153±0,00	6,24±0,04	0,177±0,01	4,74±0,05	0,513±0,03
L26	6,64±0,02	0,135±0,00	6,63±0,02	0,135±0,00	5,33±0,15	0,393±0,01	4,49±0,08	0,669±0,02
L27	6,62±0,01	0,135±0,00	6,63±0,01	0,135±0,00	5,38±0,02	0,417±0,01	4,54±0,01	0,675±0,01

Tablo 22. (Devam)

İzolat No	6. Saat		12. Saat		24. Saat		48. Saat	
	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)
L28	6,50±0,03	0,153±0,00	6,46±0,03	0,165±0,01	5,72±0,19	0,303±0,05	4,56±0,04	0,627±0,01
L29	6,62±0,01	0,135±0,00	6,54±0,01	0,153±0,00	5,74±0,23	0,315±0,07	4,22±0,03	0,987±0,02
L30	6,45±0,01	0,177±0,01	5,83±0,01	0,261±0,00	5,21±0,00	0,441±0,00	4,86±0,02	0,567±0,00
L31	6,62±0,00	0,135±0,00	6,55±0,01	0,135±0,00	6,45±0,01	0,165±0,00	4,46±0,08	0,765±0,01
L32	6,58±0,01	0,147±0,01	6,49±0,01	0,159±0,01	6,10±0,07	0,207±0,00	4,54±0,04	0,693±0,00
L33	6,60±0,01	0,135±0,00	6,53±0,00	0,153±0,00	6,35±0,00	0,171±0,00	4,56±0,07	0,729±0,00
L34	6,49±0,01	0,147±0,01	6,46±0,01	0,153±0,00	6,16±0,23	0,225±0,04	4,48±0,10	0,693±0,09
L35	6,76±0,00	0,135±0,00	6,70±0,00	0,135±0,00	6,31±0,15	0,177±0,01	4,69±0,16	0,597±0,13
L36	6,07±0,08	0,249±0,02	5,12±0,03	0,441±0,01	4,56±0,09	0,621±0,01	4,49±0,02	0,699±0,01
L37	6,15±0,02	0,213±0,01	5,54±0,12	0,291±0,01	4,99±0,10	0,471±0,02	4,69±0,10	0,555±0,02
L38	6,20±0,06	0,225±0,00	5,34±0,04	0,333±0,03	4,75±0,16	0,591±0,09	4,48±0,12	0,723±0,06
L39	6,12±0,07	0,225±0,01	5,30±0,06	0,375±0,01	4,83±0,02	0,513±0,01	4,58±0,01	0,603±0,03
L40	6,52±0,00	0,153±0,00	5,81±0,04	0,279±0,00	5,18±0,01	0,453±0,01	4,84±0,01	0,555±0,01
L41	6,63±0,01	0,135±0,00	6,54±0,00	0,165±0,01	6,16±0,08	0,213±0,01	4,49±0,01	0,753±0,01
L42	6,57±0,00	0,135±0,00	6,46±0,00	0,171±0,00	6,25±0,00	0,189±0,00	5,16±0,04	0,537±0,02
L43	6,37±0,01	0,189±0,00	5,89±0,03	0,255±0,02	5,42±0,07	0,375±0,02	4,73±0,03	0,591±0,03
L44	6,65±0,02	0,135±0,00	6,58±0,01	0,153±0,01	5,67±0,15	0,255±0,04	3,94±0,07	1,047±0,01
L45	6,48±0,03	0,147±0,01	6,39±0,04	0,165±0,01	6,04±0,01	0,225±0,00	4,79±0,01	0,525±0,01
L46	6,09±0,07	0,207±0,00	5,27±0,09	0,351±0,03	4,67±0,04	0,609±0,02	4,45±0,00	0,609±0,02
L47	6,52±0,01	0,135±0,00	6,47±0,00	0,171±0,00	6,08±0,18	0,243±0,03	4,43±0,00	0,819±0,00
L48	6,64±0,02	0,135±0,00	6,56±0,04	0,147±0,01	6,00±0,02	0,201±0,02	4,63±0,09	0,765±0,03
L49	6,47±0,00	0,135±0,00	6,38±0,01	0,153±0,00	5,88±0,05	0,237±0,01	4,51±0,02	0,801±0,01
L50	6,04±0,10	0,231±0,01	5,59±0,07	0,315±0,01	5,02±0,10	0,459±0,01	4,56±0,07	0,633±0,01
L51	6,61±0,01	0,135±0,00	6,50±0,10	0,159±0,02	6,18±0,20	0,183±0,03	4,98±0,09	0,507±0,07
L52	6,59±0,04	0,135±0,00	5,75±0,31	0,255±0,06	4,45±0,01	0,813±0,01	4,25±0,01	0,819±0,00
L53	6,58±0,01	0,135±0,00	6,44±0,01	0,153±0,00	5,97±0,05	0,219±0,02	4,86±0,03	0,585±0,01
L54	6,57±0,02	0,135±0,00	5,95±0,05	0,219±0,01	5,32±0,03	0,363±0,01	4,88±0,03	0,525±0,01
L55	6,13±0,06	0,207±0,00	5,76±0,06	0,261±0,00	5,44±0,03	0,399±0,01	4,74±0,05	0,621±0,05
L56	6,60±0,00	0,135±0,00	6,47±0,00	0,153±0,00	6,09±0,13	0,195±0,01	4,47±0,04	0,657±0,01
L57	6,20±0,03	0,177±0,01	5,82±0,06	0,243±0,00	5,28±0,06	0,411±0,03	4,93±0,04	0,471±0,02
L58	6,59±0,00	0,135±0,00	6,30±0,02	0,189±0,00	5,68±0,09	0,279±0,03	5,09±0,17	0,429±0,01
L59	6,13±0,038	0,213±0,07	5,74±0,12	0,267±0,02	5,38±0,13	0,357±0,04	4,96±0,15	0,537±0,09
L60	6,63±0,00	0,135±0,00	6,55±0,02	0,153±0,00	6,22±0,04	0,183±0,01	4,49±0,01	0,657±0,00
L61	6,48±0,01	0,153±0,00	6,37±0,00	0,171±0,00	6,16±0,03	0,219±0,01	4,55±0,04	0,669±0,02

Tablo 22. (Devam)

İzolat No	6. Saat		12. Saat		24. Saat		48. Saat	
	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)
L62	6,64±0,01	0,135±0,00	6,58±0,06	0,141±0,01	6,10±0,16	0,183±0,03	4,39±0,03	0,771±0,09
L63	6,51±0,01	0,135±0,00	6,42±0,01	0,153±0,00	5,76±0,18	0,297±0,05	4,59±0,05	0,699±0,02
L64	6,30±0,27	0,171±0,03	5,88±0,22	0,231±0,03	5,05±0,13	0,441±0,04	4,49±0,11	0,675±0,06
L65	6,23±0,01	0,201±0,01	5,64±0,04	0,315±0,00	5,08±0,04	0,507±0,02	4,57±0,02	0,645±0,01
L66	6,53±0,02	0,147±0,02	6,45±0,01	0,165±0,01	4,46±0,12	0,729±0,06	3,93±0,00	1,347±0,01
L67	6,64±0,00	0,135±0,00	6,58±0,01	0,141±0,01	5,71±0,08	0,321±0,01	4,66±0,07	0,639±0,03
L68	6,29±0,22	0,171±0,03	5,68±0,03	0,291±0,01	4,97±0,08	0,483±0,02	4,50±0,10	0,663±0,07
L69	6,26±0,06	0,207±0,00	5,36±0,05	0,411±0,01	4,71±0,02	0,591±0,01	4,38±0,00	0,771±0,01
L70	5,83±0,07	0,315±0,04	5,09±0,25	0,447±0,08	4,59±0,17	0,711±0,15	4,33±0,09	0,945±0,10
L71	6,12±0,02	0,219±0,01	4,61±0,01	0,639±0,01	4,39±0,01	0,729±0,00	4,36±0,01	0,789±0,02
L72	6,45±0,07	0,153±0,03	5,22±0,04	0,417±0,02	4,54±0,02	0,717±0,02	4,42±0,01	0,717±0,05
L73	6,59±0,03	0,153±0,00	5,77±0,19	0,237±0,03	5,11±0,16	0,423±0,05	4,77±0,03	0,531±0,00
L74	6,56±0,02	0,135±0,00	5,92±0,05	0,213±0,01	5,18±0,13	0,405±0,03	4,66±0,09	0,591±0,08
L75	6,56±0,04	0,135±0,00	6,54±0,03	0,141±0,01	5,13±0,07	0,429±0,04	4,35±0,02	0,921±0,01
L76	6,71±0,01	0,135±0,00	6,59±0,06	0,141±0,01	5,65±0,33	0,285±0,08	4,47±0,08	0,777±0,04
L77	6,56±0,01	0,135±0,00	6,57±0,01	0,141±0,01	5,02±0,19	0,495±0,07	4,30±0,01	0,993±0,01
L78	6,64±0,02	0,135±0,00	6,61±0,00	0,135±0,00	5,69±0,15	0,285±0,01	4,41±0,01	0,753±0,05
L79	6,73±0,01	0,135±0,00	6,66±0,01	0,153±0,00	6,12±0,06	0,207±0,00	4,46±0,04	0,831±0,02
L80	6,73±0,00	0,135±0,00	6,65±0,01	0,153±0,00	5,70±0,07	0,267±0,01	4,53±0,05	0,705±0,04
L81	6,61±0,02	0,135±0,00	6,52±0,01	0,153±0,00	4,70±0,07	0,609±0,01	4,32±0,00	0,723±0,01
L82	6,63±0,11	0,153±0,00	6,48±0,24	0,171±0,01	5,62±0,10	0,273±0,01	4,25±0,10	0,867±0,14
L83	6,64±0,03	0,135±0,00	6,53±0,01	0,153±0,00	6,25±0,01	0,189±0,00	4,52±0,03	0,717±0,01

Yapılan analizler sonucunda MRS agardan izole edilen suşların 6. saatte pH değerleri 5,83-6,76 arasında olup asit üretim miktarının laktik asit cinsinden 0,135-0,315 g/100 mL olduğu tespit edilmiştir. On ikinci saatin sonunda pH değerleri 4,61-6,70 arasında olup asit üretim miktarlarının 0,639-0,135 g/100 mL arasında değiştiği belirlenmiştir.

İzolatların 24. saat sonunda pH değerleri 4,39-6,45 arasında olup asit üretim miktarlarının 0,729-0,165 g/100 mL arasında değiştiği bulunmuştur. Yukarıda verilen sınıflandırmaya göre, 24. saatteki pH değişimi göz önüne alındığında, L20, L22, L36, L38, L39, L46, L52, L66, L69, L70, L71, L72 ve L81 suşlarının yüksek asit üretme kapasitesine sahip oldukları tespit edilmiştir. L1, L2, L3, L7, L9, L30, L37, L40, L50, L57, L64, L65, L68, L73, L74, L75 ve L77 izolatlarının ise orta seviyede asit üretme kapasitesine sahip oldukları belirlenmiştir. Kalan 52 izolatın ise asit üretme kapasiteleri düşük bulunmuştur.

Kırk sekizinci saate gelindiğinde ise pH 3,93-5,62 arasında iken asit üretim miktarlarının 1,347-0,339 g/100 mL arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu süre sonunda MRS izolatları arasında en az asit üretim yeteneğine sahip suşun L8 olduğu, en yüksek asit üretim yeteneğine sahip suşun ise L66 olduğu saptanmıştır.

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin 6, 12, 24 ve 48. saatlerde pH ve titrasyon asitliğinde oluşturdukları değişiklikler Tablo 23'te verilmiştir.

Tablo 23. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Farklı İnkübasyon Sürelerinde Asit Üretim Miktarları

İzolat No	6. Saat		12. Saat		24. Saat		48. Saat	
	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)
E201	6,15±0,02	0,180±0,00	5,80±0,03	0,246±0,01	5,45±0,03	0,348±0,01	5,02±0,04	0,558±0,01
E202	6,18±0,00	0,180±0,00	5,80±0,01	0,234±0,00	5,38±0,03	0,354±0,01	4,97±0,05	0,558±0,00
E203	6,24±0,03	0,174±0,01	5,96±0,05	0,216±0,00	5,64±0,06	0,279±0,00	5,20±0,01	0,468±0,01
E204	6,23±0,01	0,174±0,01	5,89±0,04	0,228±0,01	5,56±0,05	0,297±0,00	5,19±0,04	0,468±0,01
E205	6,01±0,01	0,204±0,01	5,42±0,04	0,342±0,00	4,98±0,03	0,480±0,01	4,78±0,01	0,504±0,00
E206	6,14±0,01	0,168±0,01	5,54±0,00	0,330±0,01	5,10±0,02	0,456±0,01	4,64±0,01	0,666±0,01
E207	6,02±0,02	0,204±0,01	5,42±0,05	0,342±0,00	4,99±0,04	0,480±0,01	4,78±0,01	0,570±0,01
E208	6,08±0,01	0,204±0,01	5,75±0,03	0,264±0,01	5,34±0,04	0,342±0,00	4,91±0,07	0,576±0,00
E209	5,98±0,01	0,222±0,01	5,52±0,04	0,360±0,00	5,06±0,05	0,474±0,01	4,69±0,04	0,636±0,01
E210	6,36±0,05	0,162±0,00	5,84±0,02	0,234±0,00	5,40±0,02	0,336±0,01	4,75±0,06	0,618±0,02
E211	6,41±0,05	0,162±0,00	5,87±0,00	0,234±0,00	5,44±0,02	0,330±0,01	4,81±0,10	0,606±0,04
E212	5,65±0,07	0,270±0,01	5,26±0,11	0,396±0,01	4,75±0,10	0,570±0,01	4,57±0,00	0,762±0,01
E213	5,96±0,00	0,198±0,00	5,50±0,00	0,330±0,01	5,03±0,01	0,456±0,01	4,54±0,00	0,750±0,00
E214	5,90±0,09	0,204±0,01	5,46±0,08	0,342±0,01	4,97±0,07	0,462±0,02	4,52±0,03	0,750±0,01
E215	6,58±0,02	0,126±0,00	6,50±0,03	0,138±0,01	5,11±0,14	0,420±0,04	4,48±0,05	0,750±0,01
E216	6,03±0,01	0,204±0,01	5,43±0,00	0,342±0,00	5,01±0,00	0,486±0,00	4,78±0,01	0,612±0,01
E217	6,05±0,01	0,210±0,01	5,45±0,01	0,336±0,01	5,01±0,00	0,474±0,01	4,80±0,01	0,612±0,01
E218	6,20±0,02	0,168±0,01	5,76±0,01	0,258±0,01	5,33±0,02	0,390±0,01	4,89±0,01	0,606±0,01
E219	6,16±0,02	0,174±0,01	5,62±0,05	0,294±0,01	5,21±0,07	0,420±0,04	4,79±0,05	0,600±0,01
E220	6,17±0,00	0,168±0,01	5,76±0,00	0,264±0,01	5,36±0,01	0,354±0,02	4,94±0,02	0,588±0,01
E221	6,18±0,00	0,174±0,01	5,66±0,12	0,282±0,03	5,32±0,03	0,372±0,01	4,80±0,07	0,612±0,04
E222	5,96±0,00	0,228±0,01	5,49±0,00	0,36±0,00	5,06±0,00	0,486±0,00	4,77±0,00	0,618±0,01
E223	6,54±0,01	0,138±0,01	6,44±0,01	0,162±0,00	5,51±0,02	0,324±0,00	4,55±0,01	0,750±0,01
E224	5,78±0,01	0,270±0,00	5,49±0,02	0,360±0,00	4,99±0,00	0,480±0,01	4,59±0,01	0,708±0,01
E225	5,80±0,03	0,270±0,00	5,46±0,04	0,360±0,00	5,02±0,01	0,486±0,00	4,61±0,00	0,654±0,01
E226	5,70±0,08	0,282±0,02	5,34±0,09	0,402±0,01	4,76±0,11	0,552±0,02	4,49±0,03	0,792±0,01

Tablo 23. (Devam)

İzolat No	6. Saat		12. Saat		24. Saat		48. Saat	
	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)	pH	Asit Üretimi (g/100 mL)
E227	5,82±0,04	0,234±0,00	5,41±0,03	0,330±0,01	4,85±0,02	0,504±0,03	4,50±0,01	0,792±0,01
E228	6,17±0,03	0,204±0,01	5,76±0,00	0,270±0,00	5,42±0,00	0,330±0,00	4,92±0,01	0,564±0,01
E229	6,25±0,00	0,192±0,01	5,90±0,01	0,234±0,00	5,46±0,01	0,330±0,01	4,88±0,01	0,564±0,01
E230	6,23±0,01	0,180±0,00	5,93±0,03	0,222±0,01	5,33±0,04	0,360±0,00	4,78±0,08	0,696±0,01
E231	6,33±0,04	0,144±0,00	5,78±0,09	0,258±0,01	5,35±0,05	0,366±0,01	4,70±0,08	0,678±0,01
E232	6,24±0,00	0,162±0,00	5,96±0,01	0,228±0,01	5,45±0,01	0,342±0,00	4,87±0,01	0,612±0,01
E233	6,16±0,01	0,186±0,01	5,71±0,01	0,252±0,01	5,27±0,01	0,420±0,01	4,99±0,01	0,558±0,01
E234	6,18±0,02	0,174±0,01	5,50±0,03	0,330±0,01	5,13±0,08	0,480±0,02	4,86±0,06	0,606±0,01
E235	6,19±0,06	0,174±0,01	5,64±0,06	0,318±0,01	5,28±0,03	0,390±0,01	4,76±0,03	0,678±0,01
E236	6,19±0,04	0,174±0,01	5,45±0,04	0,336±0,01	5,03±0,08	0,462±0,01	4,75±0,08	0,672±0,02
E237	6,17±0,01	0,168±0,01	5,76±0,00	0,258±0,01	5,39±0,01	0,366±0,01	4,97±0,02	0,594±0,01
E238	6,17±0,02	0,168±0,01	5,52±0,01	0,318±0,01	5,10±0,01	0,474±0,01	4,78±0,01	0,564±0,02
E239	6,21±0,02	0,174±0,01	5,74±0,05	0,276±0,01	5,42±0,00	0,360±0,00	5,01±0,01	0,474±0,01
E240	6,19±0,01	0,174±0,01	5,74±0,01	0,276±0,01	5,29±0,02	0,354±0,01	4,90±0,00	0,558±0,01
E241	6,09±0,02	0,180±0,00	5,54±0,00	0,324±0,00	5,13±0,01	0,468±0,00	4,79±0,01	0,666±0,01
E242	6,17±0,01	0,174±0,01	5,76±0,01	0,264±0,01	5,38±0,01	0,360±0,00	5,00±0,02	0,552±0,02
E243	6,45±0,01	0,144±0,00	6,21±0,01	0,174±0,01	4,92±0,00	0,516±0,01	4,42±0,00	0,918±0,01
E244	6,42±0,00	0,144±0,00	6,42±0,00	0,144±0,00	5,14±0,01	0,438±0,01	4,50±0,02	0,906±0,01
E245	5,94±0,03	0,180±0,00	5,52±0,01	0,318±0,01	5,01±0,01	0,456±0,02	4,69±0,01	0,672±0,02
E246	5,95±0,04	0,228±0,01	5,45±0,01	0,318±0,01	4,98±0,01	0,468±0,01	4,69±0,02	0,714±0,01
E247	6,09±0,01	0,198±0,00	5,64±0,00	0,270±0,00	5,21±0,00	0,414±0,00	4,89±0,00	0,585±0,02
E248	6,07±0,02	0,186±0,01	5,53±0,01	0,324±0,00	5,07±0,00	0,456±0,01	4,71±0,00	0,666±0,01
E249	6,06±0,03	0,210±0,01	5,52±0,09	0,312±0,02	5,03±0,10	0,402±0,01	4,70±0,08	0,612±0,00
E250	6,07±0,01	0,198±0,00	5,81±0,02	0,252±0,00	5,48±0,05	0,336±0,01	4,88±0,06	0,648±0,04
E251	6,07±0,07	0,198±0,00	5,49±0,00	0,336±0,01	5,04±0,00	0,492±0,01	4,74±0,00	0,684±0,00
E252	6,19±0,01	0,180±0,00	5,56±0,00	0,312±0,01	5,20±0,00	0,426±0,01	4,95±0,00	0,582±0,01
E253	5,77±0,03	0,252±0,00	5,37±0,04	0,378±0,00	4,78±0,06	0,546±0,01	4,48±0,03	0,780±0,03
E254	6,09±0,02	0,210±0,01	5,24±0,01	0,456±0,02	4,84±0,01	0,588±0,01	4,70±0,00	0,684±0,00
E255	6,14±0,04	0,186±0,01	5,51±0,08	0,294±0,01	5,07±0,06	0,462±0,01	4,81±0,02	0,636±0,01
E256	6,05±0,06	0,198±0,00	5,43±0,01	0,354±0,01	4,90±0,07	0,498±0,01	4,63±0,05	0,708±0,02
E257	6,13±0,01	0,198±0,00	5,42±0,01	0,336±0,01	5,00±0,00	0,474±0,01	4,82±0,01	0,588±0,01
E258	6,19±0,02	0,174±0,01	5,73±0,06	0,252±0,01	5,27±0,05	0,366±0,01	4,83±0,06	0,564±0,01
E259	6,19±0,01	0,192±0,01	5,61±0,01	0,306±0,00	5,10±0,02	0,474±0,01	4,79±0,01	0,552±0,01
E260	6,06±0,01	0,198±0,00	5,70±0,01	0,270±0,00	5,30±0,00	0,390±0,01	4,97±0,02	0,546±0,03
E261	6,23±0,03	0,180±0,01	5,61±0,01	0,288±0,00	5,09±0,01	0,444±0,01	4,79±0,01	0,582±0,02
E262	6,21±0,02	0,186±0,01	5,62±0,03	0,306±0,00	5,10±0,01	0,450±0,01	4,81±0,01	0,558±0,00

Muhtemel enterokok izolatlarının ise 6 saat sonunda pH değerleri 5,65-6,58 arasında olup asit üretim miktarının 0,270-0,126 g/100 mL arasında değişim gösterdiği bulunmuştur. Suşların 12 saat sonunda pH değerleri 5,24-6,50 arasında olup asit üretim miktarları 0,456-0,138 g/100 mL arasında olduğu tespit edilmiştir.

Yirmi dördüncü saate gelindiğinde ise pH değerleri 4,75-5,64 arasında, asit üretim miktarlarının ise 0,570-0,279 g/100 mL arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Yukarıda verilen sınıflandırmaya göre, 24. saatteki pH değişimi göz önüne alındığında, E212 ve E226 suşlarının yüksek asit üretme kapasitesine sahip oldukları tespit edilmiştir. E206, E207, E209, E213, E214, E215, E216, E217, E219, E222, E224, E225, E227, E234, E235, E236, E238, E240, E241, E243, E244, E245, E246, E247, E248, E249, E251, E252, E254, E255, E256, E257, E258, E259, E260, E261 ve E262 izolatlarının ise orta seviyede asit üretme kapasitesine sahip oldukları belirlenmiştir. Kalan 23 muhtemel enterokok izolatının ise asit üretme kapasiteleri düşük bulunmuştur.

İnkübasyonun 48. saatinde pH değerleri 4,42-5,20 arasında iken asit üretim miktarlarının 0,918-0,468 g/100 mL arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu süre sonunda muhtemel enterokok izolatları arasında en az asit üretim yeteneğine sahip suşun E203 olduğu, en yüksek asit üretim yeteneğine sahip suşun ise E243 olduğu bulunmuştur.

Domingos-Lopes *et al.* (2017) tarafından geleneksel Pico peynirinden izole edilen *Leuconostoc mesenteroides* L3C21R7, *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* (L2A1K8, L2B21R3 ve L3C21M6) suşlarının asit üretme yetenekleri incelenmiştir. Buna göre 24. saatte *L. mesenteroides* L3C21R7 suşunun yağsız sütün pH değerini 1,01 birim, *L. paracasei* spp. *paracasei* L2A1K8, L2B21R3 ve L3C21M6 suşlarının ise sırasıyla 1,20; 0,22 ve 1,25 birim düşürdükleri bulunmuştur. Suşların hiçbirisi süt pH'ını 1,5 birimden fazla düşürmediğinden, suşlar yavaş asit üreticileri olarak sınıflandırılmış ve peynir üretiminde yardımcı kültür olarak kullanılabilecekleri ifade edilmiştir.

İspanya'nın geleneksel Genestoso peynirinden izole edilen *L. lactis* spp. *lactis* (13 suş), *L. mesenteroides* (2 suş), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (1 suş), *L. paracasei*, (2 suş), *L. plantarum* (1 suş) ve *E. faecalis* (5 suş) bakterilerinin yağsız sütteki asit üretme yetenekleri değerlendirilmiştir. Buna göre 24. saatte 10 adet *L. lactis* spp. *lactis* suşu ve 4 adet *E. faecalis* suşunun hızlı asit üreticisi oldukları belirlenmiştir (González *et al.* 2010).

Asit üretme yetenekleri göz önüne alındığında L20, L22, L36, L38, L39, L46, L52, L66, L69, L70, L71, L72, L81, E212 ve E226 izolatlarının Beyaz peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılabileme potansiyelleri olduğu belirlenmiştir. Orta ve yavaş asit üreten

suşlar ise diğer özellikleri uygun bulunması halinde yardımcı veya biyokoruyucu kültür olarak kullanılabileceklerdir.

İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Antibiyotiklere Karşı Dirençleri

Fermente gıdalarda kullanılacak olan starter, yardımcı veya biyokoruyucu kültürler ve probiyotik mikroorganizmaların taşınabilir antibiyotik direnç geni içermemeleri bir diğer önemli kriterdir. Kromozomal genlerde bulunan veya mutasyon sonucu oluşan, doğal dirençli (içgüdüsel) bakterilerin gıdalarda kullanımı herhangi bir risk oluşturmamaktadır. Öte yandan, plazmit veya transpozon gibi taşınabilir direnç geni içeren mikroorganizmaların bu genlerini patojenler de dahil diğer bakterilere aktarabilme ihtimallerinden dolayı gıdalarda veya hayvan yemlerinde kullanılmaması gerekmektedir (Arellano *et al.* 2020; Meral ve Korukluoğlu, 2014; Sharma *et al.* 2014).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA)'ne göre, uygun fonksiyonel suşların seçimi için genellikle hücre duvarı sentezi inhibitörleri (ampisilin ve vankomisin) ve protein sentezi inhibitörleri (gentamisin, kanamisin, streptomisin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin ve kloramfenikol) olmak üzere iki grup antibiyotik önerilmektedir (Anonymous 2012).

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin söz konusu antibiyotiklere karşı dirençleri Tablo 24'te verilmiştir.

Tablo 24. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Antibiyotiklere Karşı Dirençleri Ortalamaları (mm)

İzolat No	AMP (10µg)	VAN (30µg)	GEN (10µg)	KAN (30µg)	STR (10µg)	ERY (15µg)	CLI (10µg)	TET (30µg)	CLA (30µg)
L1	37 (H)	24 (H)	8 (D)	9 (D)	- (D)	29 (H)	30 (H)	40 (H)	31 (H)
L2	42 (H)	28 (H)	11 (D)	9 (D)	- (D)	31 (H)	36 (H)	43 (H)	36 (H)
L3	42 (H)	23 (H)	8 (D)	11 (D)	- (D)	34 (H)	37 (H)	44 (H)	37 (H)
L4	29 (H)	- (D)	14 (D)	10 (D)	8 (D)	30 (H)	34 (H)	26 (H)	31 (H)
L6	46 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	26 (H)	16 (O)	22 (H)	32 (H)
L7	34 (H)	26 (H)	10 (D)	11 (D)	- (D)	26 (H)	28 (H)	32 (H)	20 (H)
L8	40 (H)	24 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	30 (H)	22 (H)	36 (H)	28 (H)
L9	40 (H)	24 (H)	10 (D)	- (D)	- (D)	38 (H)	7 (D)	44 (H)	36 (H)
L10	27 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	36 (H)	32 (H)	46 (H)	35 (H)
L11	41 (H)	28 (H)	11(D)	32 (H)	- (D)	16 (O)	36 (H)	34 (H)	36 (H)
L12	24 (H)	26 (H)	10 (D)	10 (D)	- (D)	12 (D)	30 (H)	38 (H)	26 (H)
L13	40 (H)	29 (H)	12 (D)	9 (D)	- (D)	32 (H)	38 (H)	15 (D)	36 (H)
L14	40 (H)	37 (H)	6 (D)	- (D)	- (D)	16 (O)	30 (H)	40 (H)	29 (H)
L15	31 (H)	26 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	28 (H)	36 (H)	41 (H)	23 (H)

Tablo 24. (Devam)

İzolant No	AMP (10µg)	VAN (30µg)	GEN (10µg)	KAN (30µg)	STR (10µg)	ERY (15µg)	CLI (10µg)	TET (30µg)	CLA (30µg)
L16	41 (H)	- (D)	7 (D)	- (D)	- (D)	28 (H)	15 (D)	28 (H)	31 (H)
L17	41 (H)	26 (H)	7 (D)	- (D)	7 (D)	14 (D)	33 (H)	38 (H)	28 (H)
L18	46 (H)	33 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	39 (H)	15 (D)	16 (O)	47 (H)
L19	42 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	23 (H)	16 (O)	27 (H)	24 (H)
L20	40 (H)	31 (H)	12 (D)	12 (D)	8 (D)	31 (H)	46 (H)	42 (H)	38 (H)
L21	38 (H)	21 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	15 (D)	8 (D)	32 (H)	38 (H)
L22	41 (H)	31 (H)	14 (D)	12 (D)	- (D)	35 (H)	45 (H)	43 (H)	38 (H)
L23	30 (H)	- (D)	- (D)	8 (D)	- (D)	31 (H)	44 (H)	35 (H)	35 (H)
L24	29 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	26 (H)	39 (H)	30 (H)	30 (H)
L25	38 (H)	- (D)	8 (D)	10 (D)	- (D)	38 (H)	18 (O)	32 (H)	36 (H)
L26	27 (H)	- (D)	7 (D)	8 (D)	- (D)	31 (H)	41 (H)	34 (H)	33 (H)
L27	31 (H)	- (D)	10 (D)	- (D)	- (D)	36 (H)	36 (H)	20 (O)	36 (H)
L28	31 (H)	31 (H)	- (D)	- (D)	11 (D)	37 (H)	27 (H)	40 (H)	41 (H)
L29	41 (H)	33 (H)	- (D)	- (D)	11 (D)	33 (H)	32 (H)	40 (H)	37 (H)
L30	38 (H)	24 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	22 (H)	24 (H)	36 (H)	34 (H)
L31	26 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	32 (H)	38 (H)	31 (H)	32 (H)
L32	31 (H)	- (D)	9 (D)	- (D)	- (D)	24 (H)	31 (H)	3 (D)	31 (H)
L33	34 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	28 (H)	38 (H)	29 (H)	35 (H)
L34	28 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	28 (H)	20 (O)	21 (H)	35 (H)
L35	32 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	25 (H)	34 (H)	30 (H)	36 (H)
L36	29 (H)	29 (H)	13 (D)	9 (D)	- (D)	31 (H)	41 (H)	39 (H)	38 (H)
L37	37 (H)	27 (H)	12 (D)	- (D)	- (D)	31 (H)	43 (H)	36 (H)	37 (H)
L38	29 (H)	32 (H)	13 (D)	10 (D)	- (D)	35 (H)	46 (H)	47 (H)	38 (H)
L39	24 (H)	27 (H)	10 (D)	11 (D)	- (D)	29 (H)	43 (H)	35 (H)	37 (H)
L40	45 (H)	32 (H)	10 (D)	- (D)	- (D)	39 (H)	49 (H)	39 (H)	40 (H)
L41	30 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	37 (H)	37 (H)	38 (H)	35 (H)
L42	25 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	29 (H)	40 (H)	25 (H)	33 (H)
L43	40 (H)	24 (H)	8 (D)	8 (D)	- (D)	31 (H)	41 (H)	41 (H)	32 (H)
L44	49 (H)	28 (H)	11 (D)	- (D)	18 (O)	34 (H)	18 (O)	39 (H)	38 (H)
L45	28 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	33 (H)	36 (H)	36 (H)	31 (H)
L46	31 (H)	22 (H)	8 (D)	8 (D)	- (D)	22 (H)	29 (H)	36 (H)	31 (H)
L47	27 (H)	- (D)	11 (D)	- (D)	- (D)	27 (H)	32 (H)	27 (H)	29 (H)
L48	29 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	33 (H)	34 (H)	35 (H)	30 (H)
L49	31 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	32 (H)	32 (H)	34 (H)	33 (H)
L50	33 (H)	23 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	22 (H)	35 (H)	31 (H)	31 (H)

Tablo 24. (Devam)

İzolat No	AMP (10µg)	VAN (30µg)	GEN (10µg)	KAN (30µg)	STR (10µg)	ERY (15µg)	CLI (10µg)	TET (30µg)	CLA (30µg)
L51	41 (H)	29 (H)	10 (D)	- (D)	- (D)	33 (H)	44 (H)	45 (H)	35 (H)
L52	43 (H)	31 (H)	13 (D)	14 (D)	- (D)	38 (H)	41 (H)	47 (H)	42 (H)
L53	37 (H)	- (D)	17 (O)	12 (D)	11 (D)	31 (H)	22 (H)	33 (H)	27 (H)
L54	41 (H)	28 (H)	9 (D)	9 (D)	- (D)	33 (H)	34 (H)	43 (H)	37 (H)
L55	30 (H)	22 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	24 (H)	32 (H)	32 (H)	26 (H)
L56	42 (H)	24 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	11 (D)	49 (H)	13 (D)	37 (H)
L57	61 (H)	37 (H)	15 (D)	22 (H)	27 (H)	42 (H)	31 (H)	13 (D)	49 (H)
L58	61 (H)	34 (H)	10 (D)	17 (O)	22 (H)	43 (H)	38 (H)	55 (H)	38 (H)
L59	45 (H)	27 (H)	8 (D)	- (D)	- (D)	35 (H)	17 (O)	45 (H)	39 (H)
L60	35 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	22 (H)	24 (H)	20 (O)	26 (H)
L61	37 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	22 (H)	15 (D)	21 (H)	17 (O)
L62	32 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	33 (H)	41 (H)	35 (H)	31 (H)
L63	35 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	23 (H)	30 (H)	23 (H)	27 (H)
L64	42 (H)	34 (H)	10 (D)	- (D)	- (D)	36 (H)	29 (H)	48 (H)	50 (H)
L65	39 (H)	29 (H)	8 (D)	- (D)	10 (D)	33 (H)	44 (H)	40 (H)	18 (O)
L66	43 (H)	27 (H)	32 (H)	- (D)	- (D)	36 (H)	48 (H)	45 (H)	40 (H)
L67	32 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	30 (H)	39 (H)	36 (H)	30 (H)
L68	33 (H)	28 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	27 (H)	39 (H)	38 (H)	30 (H)
L69	36 (H)	28 (H)	10 (D)	- (D)	8 (D)	30 (H)	37 (H)	39 (H)	32(H)
L70	40 (H)	28 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	30 (H)	42 (H)	42 (H)	35 (H)
L71	36 (H)	24 (H)	10 (D)	12 (D)	- (D)	25 (H)	38 (H)	38 (H)	30 (H)
L72	41 (H)	38 (H)	18 (O)	18 (O)	- (D)	32 (H)	46 (H)	47 (H)	39 (H)
L73	42 (H)	30 (H)	- (D)	8 (D)	8 (D)	41 (H)	15 (D)	49 (H)	37 (H)
L74	38 (H)	25 (H)	- (D)	10 (D)	- (D)	32 (H)	30 (H)	44 (H)	34 (H)
L75	33 (H)	- (D)	13 (D)	- (D)	- (D)	24 (H)	39 (H)	29 (H)	24 (H)
L76	38 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	42 (H)	39 (H)	41 (H)	38 (H)
L77	45 (H)	- (D)	10 (D)	- (D)	- (D)	27 (H)	15 (D)	28 (H)	34 (H)
L78	38 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	30 (H)	37 (H)	24 (H)	29 (H)
L79	30 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	35 (H)	38 (H)	39 (H)	36 (H)
L80	26 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	31 (H)	29 (H)	37 (H)	32 (H)
L81	28 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	31 (H)	29 (H)	36 (H)	31 (H)
L82	44 (H)	32 (H)	10 (D)	8 (D)	20 (O)	38 (H)	23 (H)	38 (H)	37 (H)
L83	31 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	32(H)	27 (H)	40 (H)	31 (H)

AMP: Ampisilin, VAN: Vankomisin, GEN: Gentamisin, KAN: Kanamisin, STR: Streptomisin, ERY: Eritromisin, CLI: Klindamisin, TET: Tetrasiklin, CLA: Kloramfenikol. -; inhibisyon zonu yok, D; Dirençli (≤ 15 mm), O; orta (16–20 mm) ve H; hassas (≥ 21 mm)

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinden tümünün ampisilin antibiyotiğine karşı hassasasiyet gösterdiği belirlenmiştir. İzolatlardan 47 tanesi vankomisine hassasiyet gösterirken 35 tanesinin dirençli olduğu anlaşılmıştır. Laktik asit bakterilerinin büyük çoğunluğu gentamisin (79 suş), kanamisin (78 suş) ve streptomisin (78 suş) antibiyotiklerine direnç göstermiştir. L53 ve L72 suşları gentamisine karşı orta seviyede hassasiyet gösterirken L66 suşunun hassas olduğu bulunmuştur. L58 ve L72 suşları kanamisin antibiyotiğine karşı orta seviyede duyarlı olup L11 ve L57 suşlarının hassas olduğu tespit edilmiştir. L44 ve L82 suşları ise streptomisine karşı karşı orta seviyede hassasiyet gösterirken L57 ve L58 suşlarının hassas olduğu anlaşılmıştır. İzolatların 76 tanesi eritromisine karşı hassas bulunurken; L11 ve L14 suşları orta seviyede duyarlı; L12, L17, L21 ve L56 suşlarının ise dirençli olduğu belirlenmiştir. Klindamisin antibiyotiğine gelindiğinde ise 69 izolatın hassas, 6 izolatın (L6, L19, L25, L34, L44 ve L59) orta seviyede duyarlı kalan 7 suşun (L9, L16, L18, L21, L61, L73 ve L77) ise dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bakterilerden 75 tanesi tetrasikline karşı hassas, 3 tanesi (L18, L27 ve L60) orta seviyede duyarlı kalan 4 tanesi (L13, L32, L56 ve L57) ise dirençli bulunmuştur. İzolatlardan 80'i klaritromisine karşı hassas bulunurken 2 suş (L61 ve L65) orta seviyede hassasiyet göstermiştir.

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin bazı antibiyotiklere karşı dirençleri Tablo 25'te verilmiştir.

Tablo 25. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Bazı Antibiyotiklere Karşı Dirençleri Ortalamaları (mm)

İzolat No	AMP (10µg)	VAN (30µg)	GEN (10µg)	KAN (30µg)	STR (10µg)	ERY (15µg)	CLI (10µg)	TET (30µg)	CLA (30µg)
E201	30 (H)	17 (O)	7,5 (D)	9 (D)	- (D)	23 (H)	12 (D)	29 (H)	25 (H)
E202	35 (H)	18 (O)	7 (D)	8 (D)	- (D)	32 (H)	10 (D)	34 (H)	29 (H)
E203	27 (H)	17 (O)	8,5 (D)	14 (D)	- (D)	21 (H)	10 (D)	32 (H)	27 (H)
E204	32 (H)	18 (O)	7 (D)	14 (D)	- (D)	21 (H)	24 (H)	14 (D)	30 (H)
E205	30 (H)	20 (O)	11 (D)	16 (O)	10 (D)	22 (H)	10 (D)	39 (H)	31 (H)
E206	32 (H)	20 (O)	18 (O)	- (D)	- (D)	21 (H)	30 (H)	34 (H)	27 (H)
E207	30 (H)	16 (O)	14 (D)	8 (D)	- (D)	20 (O)	10 (D)	32 (H)	27 (H)
E208	30 (H)	20 (O)	12 (D)	8 (D)	- (D)	13 (D)	32 (H)	31 (H)	30 (H)
E209	36 (H)	19 (O)	12 (D)	8 (D)	- (D)	14 (D)	30 (H)	16 (O)	27 (H)
E210	32 (H)	20 (O)	12 (D)	- (D)	- (D)	10 (D)	12 (D)	34 (H)	28 (H)
E211	32 (H)	22 (H)	8 (D)	- (D)	- (D)	16 (O)	12 (D)	32 (H)	30 (H)
E212	29 (H)	22 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	25 (H)	30 (H)	31 (H)	27 (H)
E213	29 (H)	20 (O)	10 (D)	- (D)	- (D)	29 (H)	30 (H)	13 (D)	28 (H)
E214	31 (H)	22 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	26 (H)	30 (H)	12 (D)	28 (H)

Tablo 25. (Devamı)

İzolat No	AMP (10µg)	VAN (30µg)	GEN (10µg)	KAN (30µg)	STR (10µg)	ERY (15µg)	CLI (10µg)	TET (30µg)	CLA (30µg)
E215	20 (O)	14 (D)	16 (O)	17 (O)	12 (D)	20 (O)	17 (O)	26 (H)	29 (H)
E216	31 (H)	18 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	10 (D)	10 (D)	22 (H)	27 (H)
E217	30 (H)	16 (O)	10 (D)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	10 (D)	26 (H)
E218	28 (H)	16 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	20 (O)	10 (D)	10 (D)	25 (H)
E219	28 (H)	19 (O)	10 (D)	- (D)	- (D)	20 (O)	12 (D)	10 (D)	24 (H)
E220	24 (H)	17 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	20 (O)	11 (D)	26 (H)	25 (H)
E221	27 (H)	16 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	19 (O)	11 (D)	10 (D)	25 (H)
E222	42 (H)	22 (H)	26 (H)	16 (O)	10 (D)	10 (D)	38 (H)	36 (H)	30 (H)
E223	40 (H)	22 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	32 (H)	42 (H)	32 (H)	28 (H)
E224	35 (H)	20 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	28 (H)	32 (H)	31 (H)	26 (H)
E225	34 (H)	22 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	28 (H)	32 (H)	28 (H)	28 (H)
E226	32 (H)	20 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	27 (H)	30 (H)	30 (H)	27 (H)
E227	27 (H)	21 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	26 (H)	29 (H)	29 (H)	26 (H)
E228	34 (H)	20 (O)	16 (O)	10 (D)	- (D)	16 (O)	32 (H)	31 (H)	24 (H)
E229	32 (H)	20 (O)	8 (D)	7 (D)	- (D)	30 (H)	10 (D)	31 (H)	27 (H)
E230	24 (H)	17 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	25 (H)	12 (D)	29 (H)	27 (H)
E231	26 (H)	22 (H)	8 (D)	- (D)	- (D)	28 (H)	10 (D)	32 (H)	29 (H)
E232	25 (H)	17 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	26 (H)	16 (O)	33 (H)	27 (H)
E233	15 (D)	16 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	21 (H)	23 (H)	11 (D)	27 (H)
E234	26 (H)	16 (O)	8 (D)	- (D)	- (D)	24 (H)	32 (H)	12 (D)	29 (H)
E235	29 (H)	17 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	18 (O)	10 (D)	10 (D)	23 (H)
E236	24 (H)	16 (O)	9 (D)	6 (D)	- (D)	25 (H)	9 (D)	35 (H)	35 (H)
E237	28 (H)	16 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	24 (H)	11 (D)	33 (H)	25 (H)
E238	34 (H)	20 (O)	10 (D)	- (D)	- (D)	22 (H)	31 (H)	34 (H)	26 (H)
E239	27 (H)	18 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	22 (H)	10 (D)	28 (H)	25 (H)
E240	26 (H)	17 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	10 (D)	12 (D)	24 (H)
E241	34 (H)	18 (O)	8 (D)	- (D)	- (D)	19 (O)	29 (H)	26 (H)	27 (H)
E242	28 (H)	16 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	22 (H)	12 (D)	10 (D)	26 (H)
E243	45 (H)	27 (H)	8 (D)	- (D)	- (D)	31 (H)	43 (H)	35 (H)	31 (H)
E244	24 (H)	21 (H)	- (D)	- (D)	- (D)	- (D)	14 (D)	- (D)	29 (H)
E245	27 (H)	24 (H)	20 (O)	6 (D)	- (D)	20 (O)	13 (D)	34 (H)	29 (H)
E246	32 (H)	20 (O)	8 (D)	- (D)	- (D)	16 (O)	28 (H)	33 (H)	31 (H)
E247	30 (H)	16 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	26 (H)	24 (H)	30 (H)	27 (H)
E248	32 (H)	22 (H)	10 (D)	- (D)	- (D)	20 (O)	32 (H)	35 (H)	31 (H)
E249	- (D)	20 (O)	8 (D)	- (D)	- (D)	10 (D)	10 (D)	33 (H)	30 (H)

Tablo 25. (Devam)

İzolat No	AMP (10µg)	VAN (30µg)	GEN (10µg)	KAN (30µg)	STR (10µg)	ERY (15µg)	CLI (10µg)	TET (30µg)	CLA (30µg)
E250	31 (H)	20 (O)	12 (D)	- (D)	- (D)	19 (O)	31 (H)	32 (H)	33 (H)
E251	39 (H)	22 (H)	14 (D)	8 (D)	- (D)	19 (O)	12 (D)	35 (H)	32 (H)
E252	22 (H)	16 (O)	10 (D)	- (D)	- (D)	23 (H)	10 (D)	11 (D)	31 (H)
E253	32 (H)	19 (O)	- (D)	- (D)	- (D)	27 (H)	31 (H)	28 (H)	25 (H)
E254	30 (H)	18 (O)	10 (D)	- (D)	- (D)	19 (O)	8 (D)	30 (H)	29 (H)
E255	27 (H)	21 (H)	12 (D)	10 (D)	- (D)	34 (H)	12 (D)	14 (D)	29 (H)
E256	10 (D)	21 (H)	9 (D)	- (D)	- (D)	20 (O)	32 (H)	31 (H)	34 (H)
E257	27 (H)	16 (O)	10 (D)	- (D)	- (D)	24 (H)	10 (D)	35 (H)	30 (H)
E258	10 (D)	20 (O)	10 (D)	- (D)	- (D)	10 (D)	10 (D)	31 (H)	29 (H)
E259	28 (H)	22 (H)	28 (H)	- (D)	10 (D)	18 (O)	12 (D)	34 (H)	30 (H)
E260	25 (H)	20 (O)	10 (D)	- (D)	8 (D)	20 (O)	33 (H)	29 (H)	29 (H)
E261	11 (D)	21 (H)	9 (D)	- (D)	8 (D)	30 (H)	12 (D)	30 (H)	25 (H)
E262	26 (H)	22 (H)	10 (D)	- (D)	8 (D)	14 (D)	12 (D)	33 (H)	26 (H)

AMP: Ampisilin, VAN: Vankomisin, GEN: Gentamisin, KAN: Kanamisin, STR: Streptomisin, ERY: Eritromisin, CLI: Klindamisin, TET: Tetrasiklin, CLA: Kloramfenikol. -; inhibisyon zonu yok, D; dirençli (≤ 15 mm), O; orta seviye (16–20 mm) ve H; hassas (≥ 21 mm)

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerinden 56 tanesinin ampisilin antibiyotiğine karşı hassas olduğu, E215'in orta seviyede hassasiyet gösterdiği kalan 5 tanenin (E233, E249, E256, E258 ve E261) ise direnç gösterdiği belirlenmiştir. İzolatlardan 18 tanesi vankomisine hassasiyet gösterirken 43 tanesinin orta seviyede duyarlı, E215 suşunun ise dirençli olduğu anlaşılmıştır. Muhtemel enterokokların büyük çoğunluğu, MRS agardan izole edilen LAB'a benzer olarak, gentamisin (56 suş), kanamisin (59 suş) ve streptomisin (62 suş, tamamı) antibiyotiklerine direnç göstermiştir. E206, E215, E228 ve E245 suşları gentamisine karşı orta seviyede hassasiyet gösterirken E222 ve E259 suşlarının hassas olduğu bulunmuştur. E205, E215 ve E222 suşları kanamisin antibiyotiğine karşı orta seviyede duyarlı olup hiçbir suş bu antibiyotiğe karşı hassas bulunamamıştır. İzolatların 32 tanesi eritromisine karşı hassas bulunurken, 19 suşun orta seviyede duyarlı, 11 suşun ise dirençli olduğu belirlenmiştir. Klindamisin antibiyotiğine gelindiğinde ise 26 izolatın hassas, 2 izolatın (E215 ve E232) orta seviyede duyarlı kalan 34 suşun ise dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bakterilerden 46 tanesi tetrasikline karşı hassas, E209 suşu orta seviyede duyarlı kalan 15 tanesi ise dirençli bulunmuştur. Muhtemel enterokokların tamamının klaritromisine karşı hassas oldukları belirlenmiştir.

Çalışmamızda izole edilen laktik asit bakterileri genel olarak bir hücre duvarı sentezi inhibitörü olan ampisiline karşı hassas bulunmuşlardır. Benzer olarak Tayland'ın geleneksel

fermente gıdalarından izole edilen *Weissella thailandensis* (1 suş), *Enterococcus thailandicus* (2 suş) ve *Limosilactobacillus fermentum* (3 suş) suşlarının da ampisiline karşı hassas oldukları ifade edilmiştir (Suwannaphan 2021). Mohammed and Çon (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da Beyaz peynirden izole edilen *L. pentosus* (2 suş), *Lo. coryniformis* spp. *torquens* (1 suş), *E. faecium* (3 suş), *E. faecalis* (1 suş), *E. durans* (4 suş), *E. gallinarum* (1 suş) suşlarının hepsi ampisiline hassas bulunmuştur. Öte yandan, Colombo *et al.* (2020) silaj, süt, işkembe ve inek ağız mukozası gibi kaynaklardan izole ettikleri *L. casei* (3 suş), *Lactobacillus acidophilus* (1 suş), *Lactobacillus nagelli* (1 suş), *Lactobacillus harbinensis* (1 suş), *L. fermentum* (1 suş), *L. plantarum* (1 suş), *P. pentosaceus* (1 suş) ve *Weissella paramesenteroides* (1 suş) suşlarının ampisiline karşı direnç gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Lactobacillus, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri içgüdüsel olarak vankomisine direnç gösterirler. Bu direnç peptidoglikanlarında D-Ala-D-Ala dipeptidinden ziyade D-Ala-D-laktat bulundurmalarından kaynaklanmaktadır (Klein *et al.* 2000). Antibiyotiğin hedefi bakteride bulunmadığı ve taşınabilir bir gen ile aktarılamadığından bu direnç içgüdüsel (doğal) olarak sınıflandırılır (DeLisle and Perl 2003). Enterokoklarda ise vankomisin direnç operonları *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* ve *vanN* bulunabildiği ifade edilmiştir (Eshaghi *et al.* 2015). Direnç geni taşıyan türlerin bu genleri patojenlere aktarma ihtimali olduğundan gıda zincirinde kullanılmaması gerekmektedir (Akpınar Kankaya and Tuncer 2020). Albayrak and Duran (2021), Beyaz peynirden izole ettikleri enterokoklardan 14 izolatın (%78) vankomisine duyarlı olduğunu, 4 izolatın (%22) ise orta düzeyde duyarlılık gösterdiğini belirlemişlerdir. Gupta *et al.* (2021) Hindistan'ın geleneksel fermente balık ürünü Shidal'dan izole ettikleri 11 adet *Lactobacilli* ve 11 adet *Pediococci* suşlarının hepsinin vankomisine dirençli olduğu, 5 adet *Enterococci* suşunun ise hassasiyet gösterdiğini bulmuşlardır.

Bazı LAB'ların gentamisin, kanamisin ve streptomisine içgüdüsel olarak direnç gösterdiği bilinmektedir (Zhou *et al.* 2005; Ammor *et al.* 2007, Abriouel *et al.* 2015). Çalışmamıza benzer olarak, Meleh *et al.* (2020) probiyotik özelliklerini inceledikleri *Lactobacillus delbrueckii* 45E, *L. fermentum* 28E, *Lactobacillus mucosae* 28C, *Lactobacillus reuteri* 29A, *L. reuteri* 29B, *L. reuteri* RC-14 suşlarının kanamisin ve gentamisin antibiyotiklerine direnç, ampisiline ise hassasiyet gösterdiklerini belirlemişlerdir. Geleneksel Brezilya peynirlerinden izole edilen 220 laktik asit bakterilerinin teknolojik özelliklerinin incelendiği başka bir çalışmada ise izolatların çoğu gentamisin (%94,6) ve vankomisine (%97,3) ve tümü streptomisine (%100) dirençli bulunmuştur (Margalho *et al.* 2020).

Gupta *et al.* (2021) izole ettikleri 11 adet *Lactobacilli* ve 11 adet *Pediococci* suşlarının hepsinin eritromisine duyarlı olduğunu, 5 adet *Enterococci* suşundan 3 tanesinin hassasiyet gösterdiğini *Enterococcus lactis* N/M-4 ve *Enterococcus hirae* suşlarının ise dirençli olduğunu bulmuşlardır. Benzer olarak Mohammed and Çon (2021) *L. pentosus* (2 suş), *L. coryniformis* spp. *torquens* (1 suş) suşlarının da eritromisine duyarlı olduğunu bulmuşlardır. *Enterococcus* suşlarından ise yalnızca *E. faecium* S013 suşu orta seviyede hassasiyet gösterirken kalan 8 suşun hassas olduğu tespit edilmiştir. Holzapfel *et al.* (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *E. faecium* suşunun eritromisine içgüdüsel olarak dirençli olduğu ifade edilmiştir.

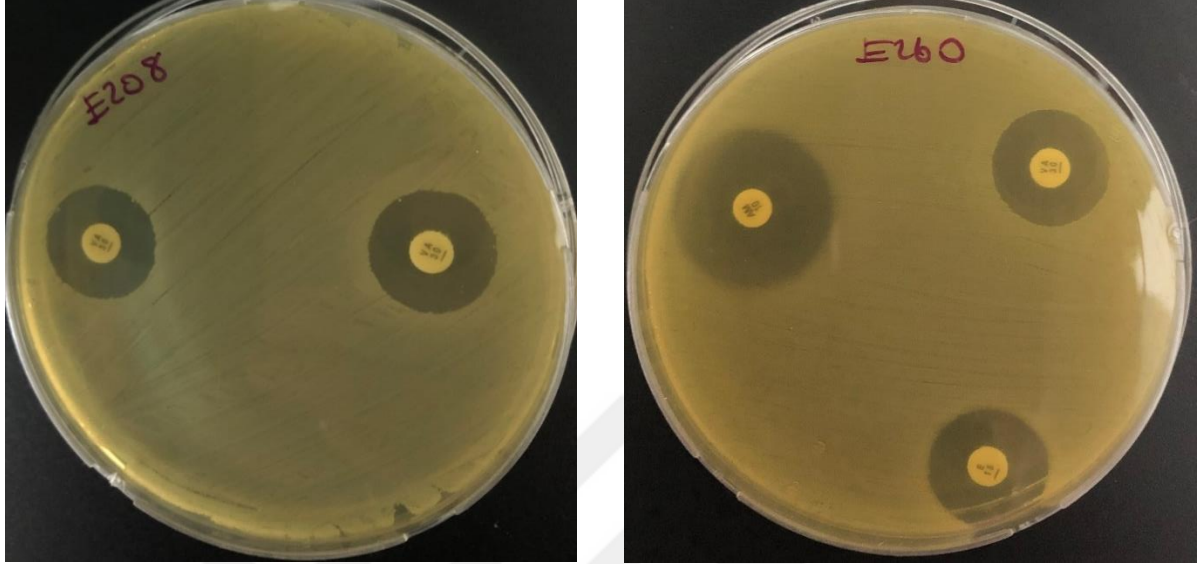
Jahan *et al.* (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmada et ve fermente et ürünlerinden izole ettikleri 13 adet *E. faecium* suşundan 10 tanesinin, 15 adet *E. faecalis* suşunun hepsinin ve 1 adet *E. gallinarum* suşunun klindamisine dirençli olduğunu bulmuşlardır. Bir başka çalışmada ise sofralık zeytinden izole edilen tüm *E. faecium* (32 suş), *W. paramesenteroides* (1 suş), *L. mesenteroides* (1 suş) ve *L. plantarum* (1 suş) suşlarının klindamisine hassasiyet gösterdikleri tespit edilmiştir (El Issaoui *et al.* 2021). Nikodinoska *et al.* (2023), fermente spontan olarak fermente olan sosislerden izole ettikleri tüm *Latilactobacillus sakei* (33 suş), *Latilactobacillus curvatus* (6 suş), *L. mesenteroides* (2 suş) suşlarının klindamisine hassasiyet gösterdiklerini bildirmişlerdir. Genel olarak, çoğu *Lactobacillus* türü protein sentezini inhibe edebilen klindamisin antibiyotikğine hassasiyet göstermektedir (Abriouel *et al.* 2015).

Çalışma kapsamında izole edilen laktik asit bakterileri genel olarak bir protein sentezi inhibitörü olan tetrasikline karşı hassas bulunmuşlardır. Benzer olarak Brezilya peynirlerinden izole edilen 220 adet laktik asit bakterisinin %95'i tetrasikline hassasiyet göstermiştir. Albayrak and Duran (2021), Beyaz peynirden izole ettikleri enterokoklardan 13 izolatın tetrasikline duyarlı olduğunu, 5 izolatın ise direnç gösterdiğini belirlemişlerdir. Meleh *et al.* (2020) ise probiyotik özelliklerini inceledikleri *L. delbrueckii* 45E, *L. reuteri* 29A, *L. reuteri* 29B, suşlarının tetrasikline hassasiyet gösterdiklerini, *L. fermentum* 28E suşunu orta düzeyde duyarlı olduğunu, *L. mucosae* 28C ve *L. reuteri* RC-14 suşlarının ise dirençli olduğunu bulmuşlardır.

Analiz edilen 144 adet laktik asit bakterisinin tamamı kloramfenikole duyarlı bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına benzer olarak Erginkaya *et al.* (2018) geleneksel fermente süt ürünlerinden (Beyaz peynir, Tulum peyniri, yoğurt, çökelek, kefir ve krema) izole ettikleri 72 adet laktik asit bakterisinden 1 tanesinin kloramfenikole direnç gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bir başka çalışmada geleneksel fermente Kore ürünlerinden izole edilen *L.*

mesenteroides H40, *L. plantarum* FI10604, *L. brevis* FI10700 ve *Lactobacillus perolens* FI10842 suşlarının da kloramfenikole hassas oldukları bulunmuştur (Son *et al.* 2018).

Antibiyotik direnç testi yapılan E208 ve E260 izolatlarına ait örnek görüntü Şekil 9’da verilmiştir.



Şekil 9. Antibiyotik direnç testi yapılan E208 ve E260 izolatlarına ait görüntü

İzole edilen laktik asit bakterilerinin proteolitik ve lipolitik aktiviteleri

Laktik asit bakterilerinin proteolitik ve lipolitik aktiviteleri fermente süt ürünlerinin tekstür ve aroması üzerine etki eden diğer önemli özelliklerdir (Araújo-Rodrigues *et al.* 2021; Fox 1989). LAB'ların proteolitik aktiviteleri, proteolitik enzimlerin salınması yoluyla sütte optimum gelişim için gereklidir. Sentezledikleri proteaz ve peptidazlar ile LAB süt kazeinini aminoasit ve azot kaynağı olarak kullanabilirler. Proteolizde tür içi ve türler arası değişkenlik, LAB izolatları için yaygın olarak rapor edilmiştir (Franciosi *et al.* 2009). Proteolitik aktivitesi yüksek olan LAB'ların Beyaz peynir üretiminde kullanımı üründe yumuşamaya sebep olabileceğinden seçilecek suşların orta veya düşük proteolitik aktiviteye sahip olması gerektiği ifade edilmiştir (Dağdemir and Özdemir 2008). Peynirde lipoliz trigliseritlerin enzimatik hidrolizi sonucunda metilketonlar, sekonder alkoller, esterler ve laktonlar gibi aroma bileşiklerinin öncül maddesi olan yağ asitlerinin oluşumu ile gerçekleşmektedir (Aspri *et al.* 2017). Peynir üretiminde kullanılacak starter kültürlerin yüksek lipolitik aktiviteye sahip olması üründe ransit tat oluşumuna yol açabileceğinden, aroma oluşumuna yetecek miktarda zayıf lipolitik aktiviteye sahip suşların seçiminin daha avantajlı olabileceği ifade edilmektedir (Herrero *et al.* 1996).

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin proteolitik ve lipolitik aktiviteleri Tablo 26’da verilmiştir.

Tablo 26. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Proteolitik ve Lipolitik Aktiviteleri

İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite	Lipolitik Aktivite	İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite	Lipolitik Aktivite
L1	-	-	L43	-	+
L2	-	-	L44	-	-
L3	-	+	L45	-	-
L4	-	-	L46	-	-
L6	-	-	L47	-	+
L7	-	-	L48	-	-
L8	-	-	L49	-	-
L9	-	-	L50	-	-
L10	-	-	L51	-	-
L11	-	-	L52	-	-
L12	-	-	L53	-	-
L13	-	-	L54	-	-
L14	-	-	L55	-	-
L15	-	+	L56	-	-
L16	-	-	L57	-	-
L17	-	-	L58	-	-
L18	-	+	L59	-	-
L19	-	-	L60	-	-
L20	-	-	L61	-	-
L21	-	-	L62	-	-
L22	-	-	L63	-	-
L23	-	-	L64	-	-
L24	-	-	L65	-	-
L25	-	-	L66	-	-
L26	-	-	L67	-	-
L27	-	-	L68	-	-
L28	-	-	L69	-	-
L29	-	-	L70	-	-
L30	-	-	L71	-	-
L31	-	-	L72	-	-
L32	-	-	L73	-	-
L33	-	-	L74	-	+
L34	-	-	L75	-	-
L35	-	-	L76	-	-
L36	-	-	L77	-	-

Tablo 26. (Devam)

İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite	Lipolitik Aktivite	İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite	Lipolitik Aktivite
L37	-	-	L78	-	-
L38	-	-	L79	-	-
L39	-	-	L80	-	-
L40	-	-	L81	-	-
L41	-	-	L82	-	-
L42	-	+	L83	-	-

Yapılan değerlendirmeler sonucundan MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinden hiçbirinin proteolitik aktivite göstermediği; L3, L15, L18, L42, L43, L47 ve L74 suşlarının ise lipolitik aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir.

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilerin proteolitik ve lipolitik aktiviteleri Tablo 27’de verilmiştir.

Tablo 27. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Proteolitik ve Lipolitik Aktiviteleri

İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite	Lipolitik Aktivite	İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite	Lipolitik Aktivite
E201	-	+	E232	-	+
E202	-	+	E233	-	+
E203	-	+	E234	-	+
E204	-	+	E235	-	+
E205	-	+	E236	-	+
E206	-	+	E237	-	+
E207	-	+	E238	-	+
E208	-	+	E239	-	+
E209	-	+	E240	-	+
E210	-	+	E241	-	+
E211	-	+	E242	-	-
E212	-	-	E243	-	-
E213	-	-	E244	-	-
E214	-	-	E245	-	+
E215	-	+	E246	-	+
E216	-	+	E247	-	+
E217	-	+	E248	-	+
E218	+	+	E249	-	+
E219	-	+	E250	-	+

Tablo 27. (Devam)

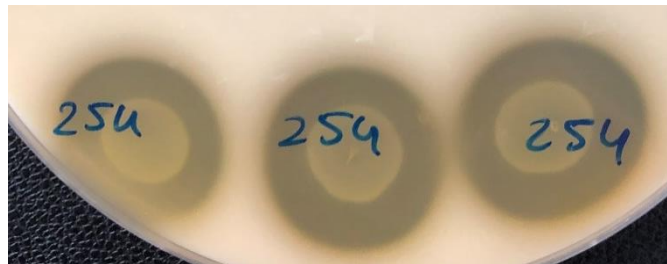
İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite	Lipolitik Aktivite	İzolat Kodu	Proteolitik Aktivite	Lipolitik Aktivite
E220	-	+	E251	-	-
E221	-	+	E252	+	+
E222	-	+	E253	+	-
E223	-	-	E254	+	+
E224	-	-	E255	-	+
E225	-	-	E256	-	+
E226	+	-	E257	-	+
E227	-	-	E258	-	+
E228	-	-	E259	-	+
E229	-	-	E260	-	+
E230	-	+	E261	-	+
E231	-	-	E262	-	+

Enterokok izolatlarından ise 5 tanesinin (E218, E226, E252, E253 ve E254) proteolitik aktivite, 46 tanesinin ise lipolitik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Albayrak and Duran (2021) Beyaz peynirlerden izole edilen 40 adet enterokoktan hiçbirinin proteolitik ve lipolitik aktivite göstermediğini tespit etmişlerdir. Silva *et al.* (2019) ise çiğ süt, pastörize süt ve kremadan izole ettikleri 19 laktik asit bakterisinden 18 tanesinin proteolitik, 5 tanesinin ise lipolitik aktivite gösterdiklerini ifade etmişlerdir. Aspri *et al.* (2017) ise analiz ettikleri 72 adet LAB'dan 56 tanesinin proteolitik aktivite gösterdiğini fakat hiçbirinin lipolitik aktivite göstermediğini belirtmişlerdir.

Çalışmada kullanılan yöntemler ile sadece yüksek proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip suşlar belirlenebildiğinden aktivite göstermeyen suşlar Beyaz peynir üretiminde kültür olarak kullanılabilir.

Proteolitik ve lipolitik aktivite gösteren E254 ve L47 izolatlarına ait görüntüler sırasıyla Şekil 10 ve Şekil 11'de verilmiştir.



Şekil 10. Proteolitik aktivite gösteren E254 izolatına ait görüntü



Şekil 11. Lipolitik aktivite gösteren L47 izolatına ait görüntü

İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Patojenlere Karşı Antagonistik Aktiviteleri

Starter kültür seçiminde dikkat edilmesi gereken bir diğer kriter ise patojen mikroorganizmaların gelişimini engellemeleridir. LAB organik asitler, bakteriyosinler, CO₂, H₂O₂, diasetil, etanol ve reuterin gibi antimikrobiyal metabolitleri sentezleyerek patojenleri inhibe edebilirler (Agriopoulou *et al.* 2020; Mani-López *et al.* 2018). Antimikrobiyal aktivitenin kaynağı hakkında fikir sahibi olmak için laktik asit bakterilerinin geliştiği besiyeri santrifüjlendikten sonra süpernatanta 3 farklı işlem uygulanmıştır. Bu amaçla; organik asitlerin etkisinin belirlenmesi için süpernatantların pH'ları 6,0 ayarlanmış, bakteriyosin moleküllerinin etkisinin tespiti için enzim uygulaması yapılmış ve ısıya dayanıklı olmayan H₂O₂ gibi moleküllerin etkisinin anlaşılması için ise ısıl işlem uygulanmıştır. Buna göre pH'sı ayarlanan ve sıcaklık uygulanan süpernatantlar Gram-pozitif patojenler üzerinde inhibisyon zonu oluştururken, enzim uygulanan süpernatantın ise zon oluşturmaması muhtemel bakteriyosin moleküllerinin varlığını göstermektedir.

İzole edilen laktik asit bakterilerinin *Escherichia coli* O157:H7 BC12, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella* Typhimurium RSHMB 95091 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 patojenlerine karşı antagonistik aktiviteleri Tablo 28'de verilmiştir.

Tablo 28. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Patojenlere Karşı Antagonistik Aktiviteleri Çapları Ortalamaları (mm)

İzola t No	<i>Escherichia coli</i> O157:H7			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Listeria monocytogenes</i>			<i>Salmonella</i> Typhimurium			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	BC12			ATCC 29213			ATCC 7644			RSHMB 95091			ATCC 9027		
	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S
L1	-	11,5	12	-	12,5	13	-	13,5	12,5	-	11,5	9,5	-	14	12,5
L2	-	-	-	-	17,5	16	-	10,5	-	-	11,5	-	-	10,5	12
L3	-	-	-	-	-	-	-	-	10,5	-	-	-	-	-	-
L4	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	20,5	15
L6	-	10,5	-	-	17	-	-	15	12	-	13	11,5	-	13	18,5
L7	-	-	-	-	19,5	-	-	-	-	-	-	-	-	20	14
L8	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	15	10
L9	-	-	-	-	13,5	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-
L10	-	-	-	-	13,5	15	-	-	-	-	10	-	-	9,5	16,5
L11	-	-	-	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-	15,5	11
L12	-	-	-	-	15	17	-	-	-	-	-	-	-	16,5	15
L13	-	-	-	-	15	20	-	-	-	-	-	-	-	19	16
L14	-	-	-	-	13,5	17	-	-	-	-	-	-	-	17,5	15
L15	-	-	-	-	13,5	-	-	-	-	-	9	-	-	-	11

Tablo 28. (Devam)

[illegible]

Tablo 28. (Devam)

İzola t No	<i>Escherichia coli</i> O157:H7			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Listeria monocytogenes</i>			<i>Salmonella</i> Typhimurium			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	BC12			ATCC 29213			ATCC 7644			RSHMB 95091			ATCC 9027		
	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S
L30	-	-	-	-	9,5	-	-	9,5	10,5	-	10	-	-	-	-
L31	-	11,5	13,5	-	9,5	15,5	-	-	13,5	-	12	-	-	12,5	-
L32	-	-	-	-	11,5	13	-	13	14	-	13	11,5	-	12	-
L33	-	-	9	-	-	10,5	-	13	-	-	-	-	-	11,5	12
L34	-	15	-	-	19,5	18,5	-	-	-	-	10	-	-	12,5	15
L35	-	8,5	-	-	11	13,5	-	12,5	11,5	-	11,5	10,5	-	11,5	-
L36	-	10,5	-	-	15,5	15,5	-	-	-	-	-	-	-	10,5	-
L37	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	15,5	-
L38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L39	-	-	-	-	-	13,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L41	-	-	10,5	-	13,5	10,5	10,5	-	-	-	-	-	-	11,5	-
L42	-	-	-	-	-	16,5	-	-	-	-	12,5	-	-	-	12
L43	-	12	-	-	16,5	17,5	-	-	-	-	11,5	-	-	-	11

Tablo 28. (Devam)

[illegible]

Tablo 28. (Devam)

İzolat No	<i>Escherichia coli</i> O157:H7			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Listeria monocytogenes</i>			<i>Salmonella</i> Typhimurium			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	BC12			ATCC 29213			ATCC 7644			RSHMB 95091			ATCC 9027		
	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S
L58	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	10,5	12	-	-	-
L59	-	-	-	-	-	9	-	10,5	-	-	-	-	-	-	-
L60	-	12	-	-	13,5	15,5	-	19,5	19,5	-	12	16,5	-	20,5	12
L61	-	-	11,6	-	21,5	21,5	-	-	-	-	11,6	-	-	24,3	23
L62	-	-	10,5	-	15,5	12	-	12	-	-	-	-	-	13	-
L63	-	-	10,3	-	19,6	18	-	-	-	-	10,3	-	-	23	21,3
L64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L65	-	-	9,5	-	-	15,5	-	-	10,5	9,5	10	12,5	-	11,5	-
L66	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,5	-	-	-
L67	-	11,5	10	-	10,3	12,5	-	12	12,5	-	12,6	13	-	15	13,5
L68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L69	-	-	-	-	-	-	-	-	9,6	-	-	-	-	-	12,3
L70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L71	-	-	-	-	-	11,5	-	10,5	-	-	-	9,5	-	12,5	-

Tablo 28. (Devam)

İzolat No	<i>Escherichia coli</i> O157:H7			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Listeria monocytogenes</i>			<i>Salmonella</i> Typhimurium			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	BC12			ATCC 29213			ATCC 7644			RSHMB 95091			ATCC 9027		
	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S
L72	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L73	-	-	-	-	10	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L74	-	12	8,5	-	13,5	17	-	-	-	-	-	10,5	-	-	-
L75	-	-	-	-	-	12	-	9,5	10,5	-	-	15	-	14,5	-
L76	-	11,5	9,5	-	12	13	-	-	-	-	-	9,5	-	-	-
L77	-	10,6	-	-	11	17	-	14,6	12	-	13,3	9,3	-	17,6	16
L78	-	-	-	-	-	-	-	-	9,6	-	-	-	-	9,6	-
L79	-	13,5	11,5	-	18,5	17,5	-	12	12	-	12	12	-	-	15
L80	-	13	-	-	12,5	14	-	-	13,6	-	10,3	9,6	-	17,6	14,3
L81	-	-	-	-	10	14,3	-	11,3	10	-	10,6	-	-	14,3	12
L82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L83	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	11	8,6

pH; pH ayarlaması, E;enzim uygulaması, S; sıcaklık uygulaması

MRS agardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal etkileri incelendiğinde inhibisyonun çoğunlukla pH ayarlanmayan süpernatantlarda olduğu belirlenmiştir. Bu durum antimikrobiyal aktivite kaynağının organik asitler olduğunu göstermektedir. pH nötralizasyonu ve ısıtma işlemi uygulanan süpernatantlardan *L. monocytogenes* ATCC 7644'e karşı antimikrobiyal aktivite gösteren L41 ve L54 izolatları muhtemel bakteriyosin üreticisi olarak değerlendirilmiştir. Bu suşların bakteriyosin genlerini içerip içermedikleri sonraki aşamalarda PCR ile belirlenmiştir.

KAA agardan izole edilen muhtemel enterokokların *E. coli* O157:H7 BC12, *S. aureus* ATCC 29213, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. Typhimurium* RSHMB 95091 ve *P. aeruginosa* ATCC 9027 patojenlerine karşı antagonistik aktiviteleri Tablo 29'da verilmiştir.



Tablo 29. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Grubu Bakterilerin Bazı Patojenlere Karşı Antagonistik Aktiviteleri Çapları Ortalamaları (mm)

[illegible]

Tablo 29. (Devam)

[illegible]

Tablo 29. (Devam)

[illegible]

Tablo 29. (Devam)

İzolat No	<i>Escherichia coli</i> O157:H7			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Listeria monocytogenes</i>			<i>Salmonella</i> Typhimurium			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
	BC12			ATCC 29213			ATCC 7644			RSHMB 95091			ATCC 9027		
	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S	pH	E	S
E257	-	-	-	-	7,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E258	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E259	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E260	-	-	-	11,5	-	-	11,5	-	12	-	-	-	-	-	-
E261	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E262	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

pH; pH ayarlaması, E;enzim uygulaması, S; sıcaklık uygulaması

Muhtemel enterokok izolatlarından hiçbirisi *E. coli* O157:H7 BC12 ve *S. Typhimurium* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiş ve yalnızca E213 ve E214 kodlu suşların enzim uygulanan süpernatantları *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. İzolatlardan 20 tanesi *S. aureus*'a karşı 7-13,5 mm zon çapı aralığında antimikrobiyal etki göstermişlerdir. *L. monocytogenes*'e karşı ise 5 izolat 11-14 mm zon çapı aralığında etki gösterirken E208 ve E260 suşları muhtemel bakteriyosin üreticisi olarak değerlendirilmiştir. Bu suşların bakteriyosin genlerini içerip içermedikleri sonraki aşamalarda PCR ile belirlenmiştir.

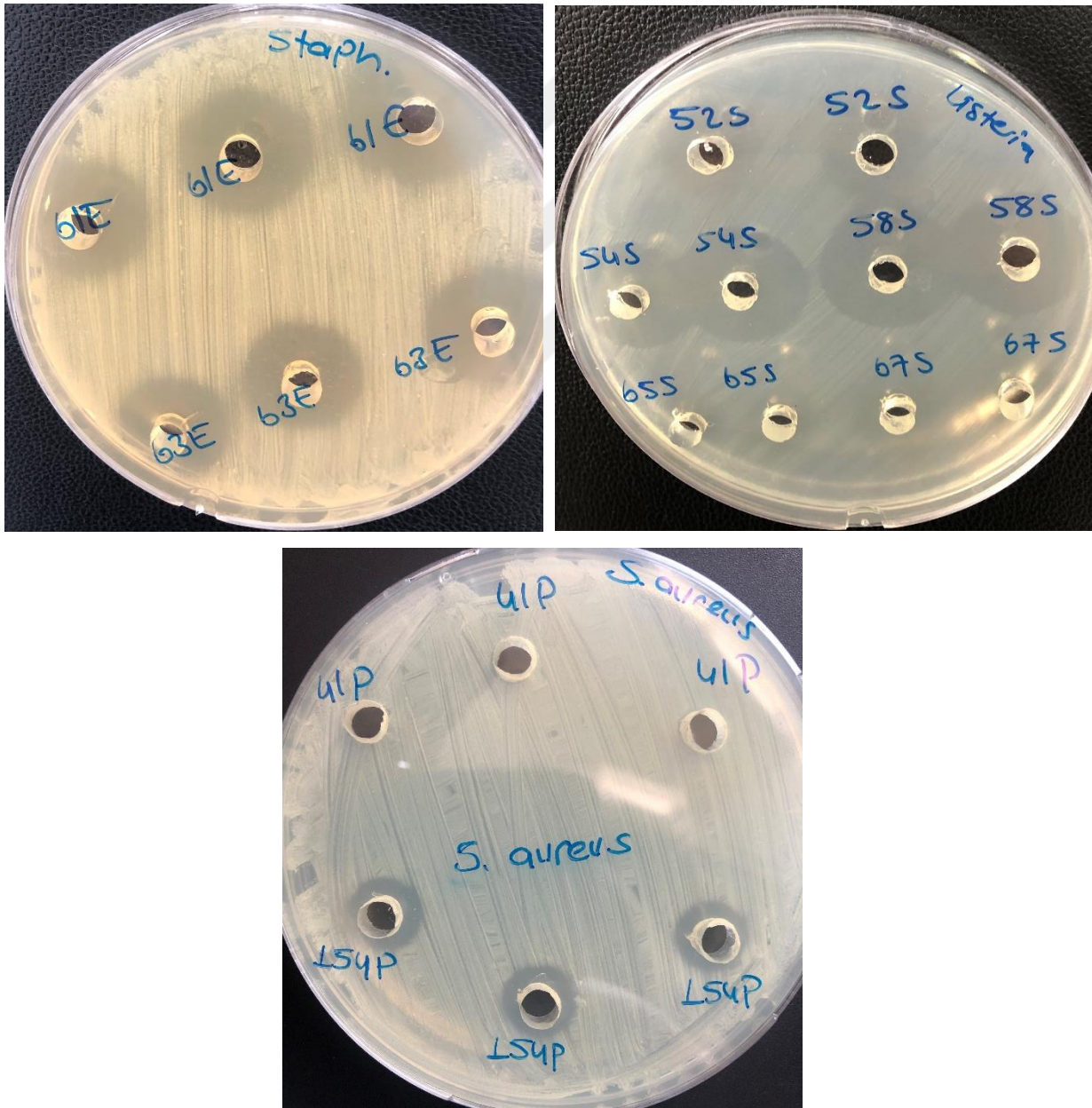
Tayland'ın geleneksel fermente gıdalarından izole edilen *W. thailandensis* (1 suş), *E. thailandicus* (2 suş) ve *L. fermentum* (3 suş) suşlarına ait pH'sı ayarlanmış süpernatantlarının *E. coli*, *S. aureus* ve *S. Typhimurium* patojenleri üzerindeki inhibisyon etkileri incelenmiştir. Buna göre hiçbir izolat *S. aureus* patojenine antimikrobiyal etki göstermezken iki *L. fermentum* suşu *E. coli* ve yalnızca bir *L. fermentum* suşu ise *S. Typhimurium* üzerine zayıf bir inhibisyon etki göstermiştir (Suwannaphan 2021).

Gupta *et al.* (2021) tarafında gerçekleştirilen çalışmada ise fermente balık ürünü Shidal'dan izole edilen 11 adet *Lactobacilli*, 11 adet *Pediococci* ve 5 adet *Enterococci* suşlarının *S. enterica*, *E. coli*, *B. subtilis* ve *S. aureus* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini belirlemiştir. Buna göre izolatlara ait hücresiz süpernatantlar tüm patojenlere karşı yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirken, pH'sı nötralize edilen süpernatantlar *S. aureus*'a karşı aktivite göstermemiş, diğer patojenlere karşı ise bazı suşlar hiç etki göstermezken diğerlerinin etkisi minimuma (6-10 mm) düşmüştür.

Islam *et al.* (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada çiğ keçi sütünden izole edilen *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *Lactocaseibacillus casei* spp. *casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* spp. *mesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* spp. *dextranicum*, *P. pentosaceus*, *S. thermophilus*, *L. lactis* ve *E. faecalis* suşlarının *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. aerogenes* ve *B. cereus*'a karşı antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiştir. Buna göre bakterilere ait hücresiz süpernatantlardan yalnızca 3 tanesi *B. cereus*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken *L. fermentum* hariç tüm suşlar *L. monocytogenes*'e karşı 11-15 mm zon çapı aralığında antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. *L. acidophilus* ve *L. bulgaricus* (8-10 mm zon çapı) *S. aureus*'a karşı diğer suşlardan daha düşük inhibisyon aktivitesi gösterirken, *L. lactis* aktivite göstermemiştir. *L. plantarum* hariç tüm suşlar *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, *L. mesenteroides* spp. *mesenteroides* ve *L. lactis* *E. aerogenes*'e karşı aktivite göstermemiştir.

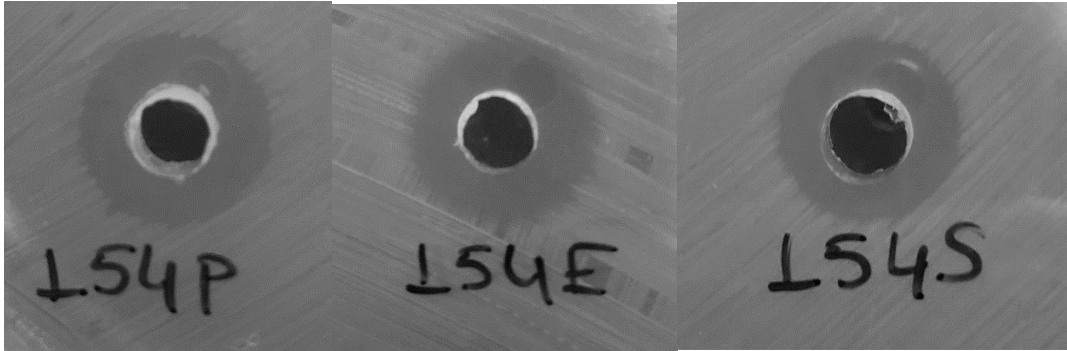
Yerlikaya and Akbulut (2019), çiğ süt ve fermente süt ürünlerinden izole ettikleri 25 adet *E. faecium* ve 5 adet *E. durans* suşunun *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Campylobacter jejuni*, *P. aurescens*, *B. cereus* ve *Aeromonas hydrophila* patojenlerine karşı antimikrobiyal etkilerini tespit etmişlerdir. Bazı suşlar test edilen patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite göstermezken en yüksek etki *E. durans* 61E5 suşu tarafından *A. hydrophila*'ya karşı bulunmuştur (18 mm). Tüm izolatlar incelendiğinde suşların büyük kısmı sırasıyla çoktan aza olmak üzere *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* patojenlerine karşı aktivite göstermiştir.

Bazı izolatların *S. aureus* ve *L. monocytogenes* patojenlerine karşı gösterdikleri antimikrobiyal zon çapları Şekil 12'de verilmiştir.



Şekil 12. Bazı izolatların *S. aureus* ve *L. monocytogenes* patojenlerine karşı gösterdikleri antimikrobiyal zon çapları

L54 kodlu izolata ait pH ayarlama, enzim ve sıcaklık uygulamaları yapılan süpernatantların *L. monocytogenes* patojenine karşı gösterdikleri antimikrobiyal zon çapları Şekil 13'te verilmiştir.



Şekil 13. L54 kodlu izolata ait pH ayarlama, enzim ve sıcaklık uygulamaları yapılan süpernatantların *L. monocytogenes* patojenine karşı gösterdikleri antimikrobiyal zon çapları

İzolatların rep-PCR (repetitive element palindromic PCR) Profilleri ve 16S rRNA Dizi Analizi Sonuçları

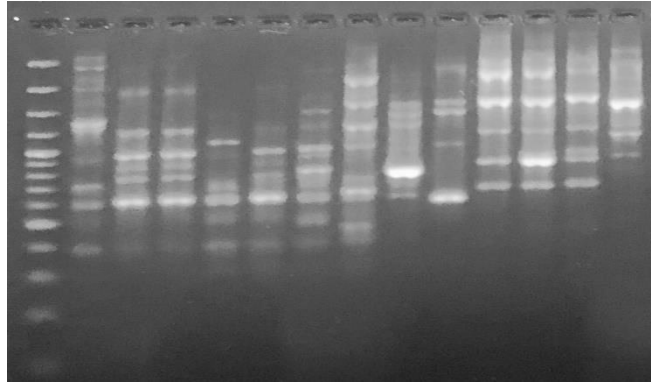
rep-PCR mikroorganizmaların genomunda yaygın olarak bulunan ve tekrarlayan korunmuş DNA bölgelerinin PCR amplifikasyonuna dayalı suş hatta serotip bazında ayırım yapabilen getotipik bir uygulamadır (Spigaglia and Mastrantonio 2003). Tez kapsamında geleneksel Beyaz peynirlerden izole edilen 144 adet LAB'ların ayırımı için rep-PCR gerçekleştirilmiştir. rep-PCR sonuçlarına göre MRS agardan izole edilen LAB 19, KAA agardan izole edilen muhtemel enterokoklar ise 6 farklı gruba ayrılmıştır. İzolatların teknolojik özellikleri göz önüne alınarak (muhtemel bakteriyosin üreticileri ve starter kültür olarak kullanılma ihtimali olan suşlar) her bir rep-PCR grubundan en az bir suş seçilmiş ve 16S rRNA dizi analizi yapılmıştır. İzolatların genotipik karakterizasyonu, *Enterococcus faecium* (*E. faecium*, 30,6%), *Streptococcus lutetiensis* (*S. lutetiensis*, 13,2%), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*, 12,5%), *Lactococcus lactis* (*L. lactis*, 7,6%), *Lacticaseibacillus paracasei* (*L. paracasei*, 7,6%), *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*, 6,3%), *Streptococcus macedonicus* (*S. macedonicus*, 4,9%), *Lactobacillus curvatus* (*L. curvatus*, 4,9%), *Lacticaseibacillus paracasei* spp. *tolerans* (*L. paracasei* spp. *tolerans*, 3,5%), *Enterococcus durans* (*E. durans*, 2,7%), *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis* (*L. delbrueckii* spp. *lactis*, 2,1%), *Enterococcus italicus* (*E. italicus*, 1,4%), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (*Leu. pseudomesenteroides*, 1,4%), *Lactiplantibacillus paraplantarum* (*L. paraplantarum*, 0,7%), *Pediococcus parvulus* (*P. parvulus*, 0,7%) dahil 14 farklı tür ve 15 farklı suşa ait LAB izolatlarının varlığını ortaya çıkarmıştır. Sonuçlar sırasıyla Tablo 30 ve Tablo 31'de verilmiştir.

Tablo 30. MRS Agardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerine Ait rep-PCR Gruplandırması ve Sekans Analizi Sonuçları

rep-PCR Grubu	İzolat Kodu	Suş Adı	Benzerlik Oranı (%)	Accession Numarası
1	L1 , L2, L4, L13	<i>Lactococcus lactis</i>	99,47	NR_113960.1
2	L3, L7, L9, L43	<i>Enterococcus durans</i>	99,70	NR_036922.1
3	L6, L10, L27, L31, L32, L33, L60, L61, L63	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	99,90	NR_117813.1
4	L8 , L21	<i>Enterococcus faecalis</i>	99,84	NR_113902.1
5	L11, L56 , L59, L73, L74	<i>Enterococcus faecium</i>	99,89	NR_113904.1
6	L12, L14 , L17, L18, L30	<i>Enterococcus faecium</i>	99,80	NR_113904.1
7	L15, L66 , L67	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>	96,04	NR_114168.1
8	L16, L19, L45 , L48, L49, L62, L76, L83	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i>	99,10	NR_025880.1
9	L20, L22, L36 , L38, L39	<i>Streptococcus macedonicus</i>	100,00	NR_037002.1
10	L23, L24, L25, L26 , L28, L29, L77	<i>Lactobacillus curvatus</i>	99,70	NR_113334.1
11	L34	<i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i>	100,00	NR_025447.1
12	L35, L46, L51, L52 , L54 , L71, L72	<i>Lactococcus lactis</i>	99,91 99,90	NR_113960.1 NR_113960.1
13	L37 , L40	<i>Streptococcus macedonicus</i>	99,91	NR_037002.1
14	L41 , L42, L44, L75, L82	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> spp. <i>tolerans</i>	99,71	NR_113823.1
15	L47, L53	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	99,48	NR_040814.1
16	L50, L55 , L64, L65, L68, L69, L70	<i>Streptococcus lutetiensis</i>	99,90	NR_115719.1
17	L57 , L58	<i>Enterococcus italicus</i>	97,87	NR_104571.1
18	L78	<i>Pediococcus parvulus</i>	100,00	GU644442.1
19	L79, L80 , L81	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i>	99,28	NR_113337.1

* Kalın yazı tipinde ifade edilen izolatlar 16S rRNA dizi analizi yapılanları temsil etmektedir.

MRS agardan izole edilen LAB'lara ait örnek rep-PCR profili Şekil 14'te verilmiştir.



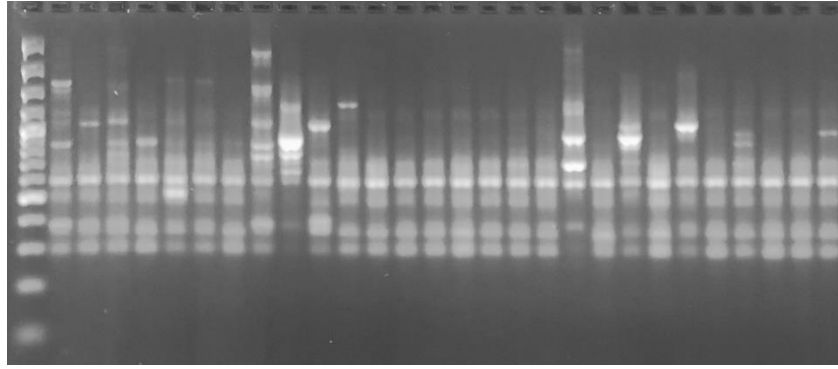
Şekil 14. MRS agardan izole edilen LAB'lara ait örnek rep-PCR profili

Tablo 31. KAA Agardan İzole Edilen Muhtemel Enterokok Cinsi Bakterilere Ait rep-PCR Gruplandırması ve Sekans Analizi Sonuçları

rep-PCR Grubu	İzolat Kodu	Suş Adı	Benzerlik Oranı (%)	Accession Numarası
1	E201 , E202, E205	<i>Enterococcus faecalis</i>	100,00	NR_113902.1
2	E203 , E207, E216, E217, E218, E220, E242	<i>Enterococcus faecalis</i>	99,90	NR_113902.1
3	E204, E206, E211, E223, E228, E229 , E230, E231, E234, E239, E240, E241, E246, E247, E248, E249, E250, E251, E252, E254, E256, E258, E260 , E261	<i>Enterococcus faecium</i>	99,30	NR_113904.1
			99,56	NR_114742.1
4	E208 , E209, E210, E221, E222, E232, E233, E235, E238, E245	<i>Enterococcus faecium</i>	99,61	NR_114742.1
5	E212, E213, E214, E215, E219, E224 , E225, E226, E227, E243, E253, E255	<i>Streptococcus lutetiensis</i>	98,13	NR_042051.1
6	E236, E237 , E244, E257, E259, E262	<i>Enterococcus faecalis</i>	98,67	NR_113902.1

* Kalın yazı tipinde ifade edilen izolatlar 16S rRNA dizi analizi yapılanları temsil etmektedir.

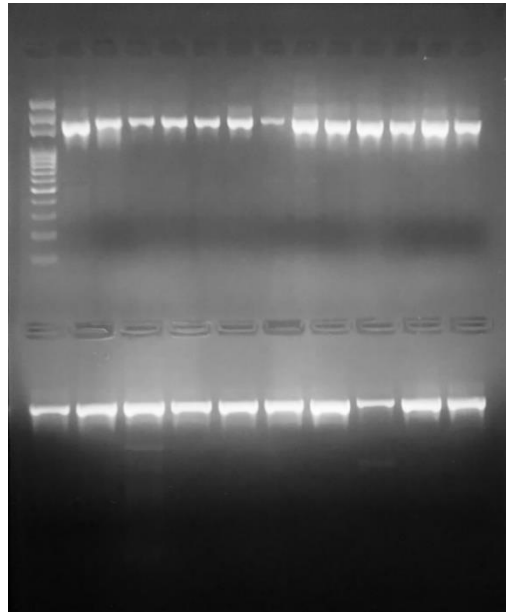
KAA agardan izole edilen Muhtemel enterokok grubu bakterilere ait örnek rep-PCR profili Şekil 15'te verilmiştir.



Şekil 15. KAA agardan izole edilen muhtemel enterokok grubu bakterilere ait örnek rep-PCR profili

Analiz edilen Beyaz peynir örneklerinin mikrobiyotası enterokokların (%47,2) baskın grup olduğunu göstermektedir. Bu durum enterokokların tuza dayanıklı olmaları ile açıklanmaktadır (Terzić-Vidojević *et al.* 2020). Benzer olarak Albayrak and Duran (2021)'da geleneksel Beyaz peynirden izole ettikleri 40 izolatın da enterokok olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca salamura Beyaz peynirlerde *Lactococcus*, *Lactiplantibacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus*'un bulunabildiği başka çalışmalarda da bildirilmiştir (Dağdemir and Özdemir; Frece *et al.* 2016; Uymaz *et al.* 2019). İzole edilen LAB'lardan *S. lutetiensis* hariç hepsi peynir mikrobiyotasında bulunabilmekte ve birçoğu peynir üretiminde kullanılabilmektedir. Fakat *S. lutetiensis* mastitis ile ilişkilendirilmiştir (Chen *et al.* 2021). Bu suşun starter kültür olarak kullanılmaması veya kullanılmadan önce virülans faktörler içerip içermediği gibi güvenlik değerlendirmelerine tabi tutulması gerekmektedir (Fugl *et al.* 2017).

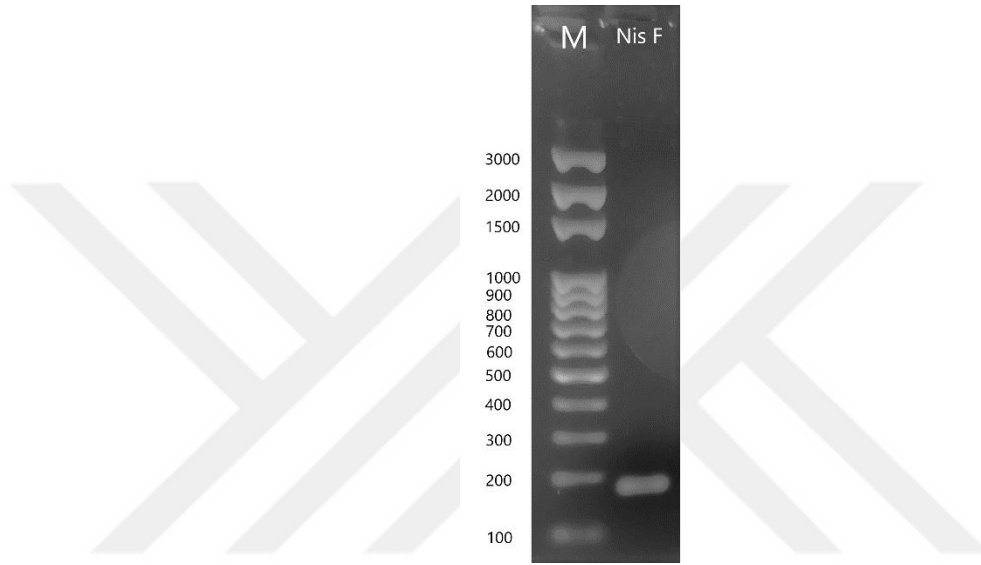
16S rRNA geninin (1500 bp) amplifikasyonunu gösteren agaroz jel görüntüsü Şekil 16'da verilmiştir.



Şekil 16. 16S rRNA geninin (1500 bp) amplifikasyonunu gösteren agaroz jel görüntüsü

Bakteriyosin Üretiminden Sorumlu Genlerin PCR ile Belirlenmesi

Yapılan antimikrobiyal aktivite testleri sonucunda muhtemel bakteriyosin üreticisi olabileceği düşünülen *L. paracasei* spp. *tolerans* L41, *L. lactis* L54, *E. faecium* E208 ve *E. faecium* E260 suşlarına Tablo 2’de verilen bakteriyosin primerleri kullanılarak PCR yapılmış ve ürünler jel elektroforezde yürütülerek görüntülenmiştir. Yapılan analizler sonucunda *L. lactis* L54 suşunun nisin genini içerdiği, diğer suşların ise test edilen genlerden herhangi birini içermedikleri tespit edilmiştir. *L. lactis* L54 suşuna ait nisin geninin agaroz jel elektroforez sonucu Şekil 17’de sunulmuştur.

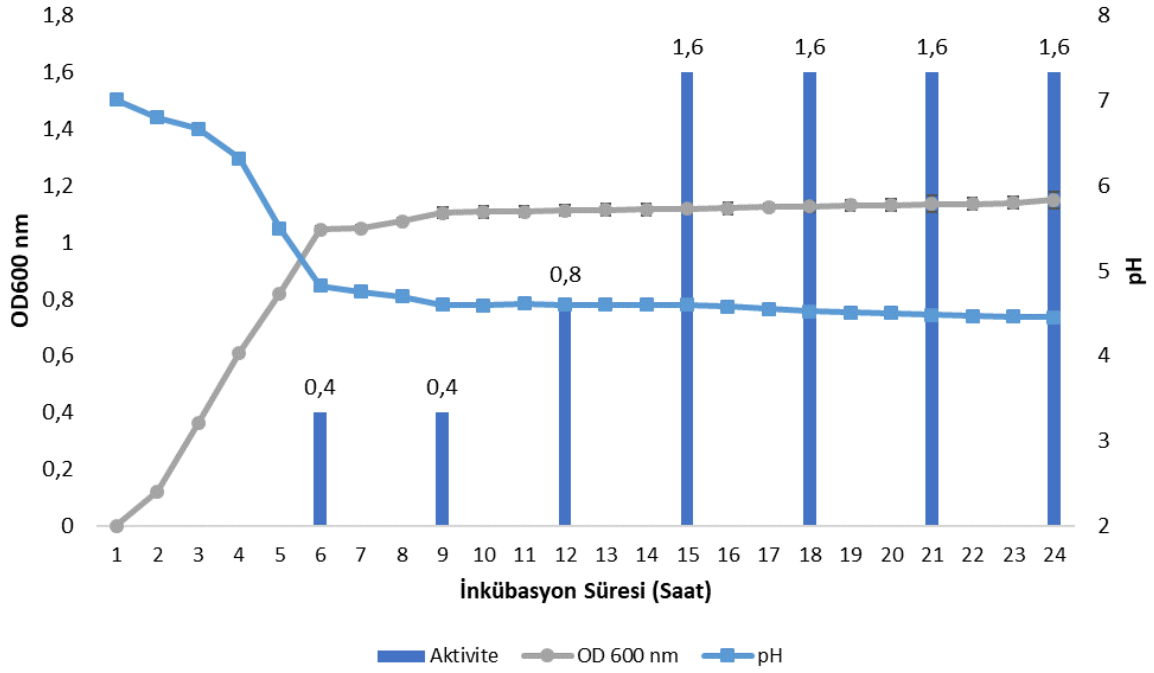


Şekil 17. *L. lactis* L54 suşuna ait nisin (180 bç) geninin ampilifikasyonunu gösteren agaroz jel görüntüsü (M:Marker)

Bakteriyosin Karakterizasyonu

Gelişme eğrisinin çizilmesi ve gelişme boyunca bakteriyosin üretim kinetiğinin izlenmesi

L. Lactis L54 suşuna ait gelişme eğrisi ve bu süre boyunca bakteriyosin üretim kinetiği Şekil 18’de verilmiştir.



Şekil 18. *L. Lactis* L54 suşuna ait gelişme eğrisi ve bakteriyosin üretim kinetiği (kAU/mL) (1 kAU/mL = 1000 AU/mL)

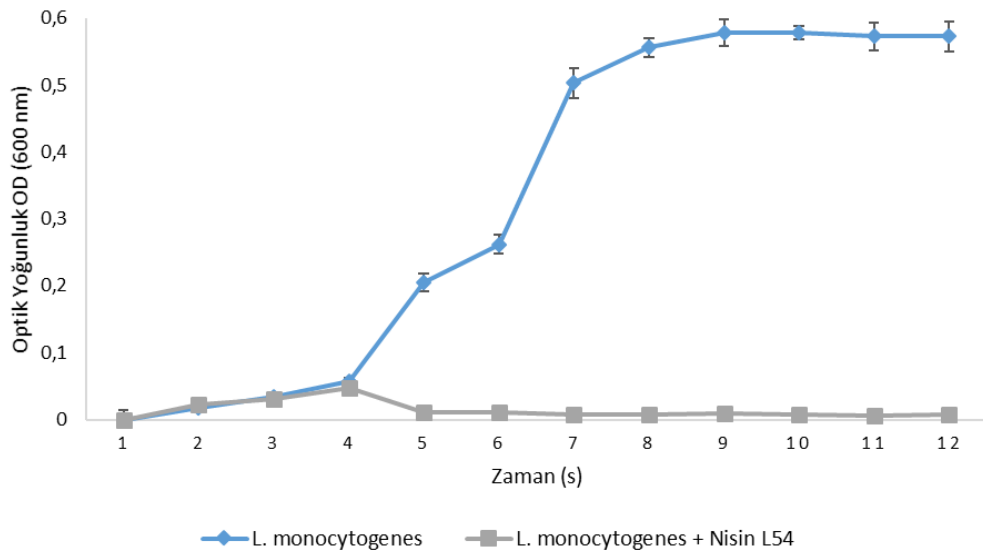
L. Lactis L54 suşunun 24 saatlik gelişimi boyunca M17 besiyerinin pH değeri 7,01'den 4,45'e düşmüştür. Logaritmik fazın sonu olan 6. saatte 400 ± 0.00 AU/mL miktarında bakteriyosin üretildiği tespit edilmiş ve 9. saatte aynı değer bulunmuştur. Bakteriyosin aktivitesi 12. saatte 800 ± 0.00 AU/mL'ye yükselmiş, 15. saatte ise 1.600 ± 0.00 AU/mL olarak bulunmuş ve 24. saate kadar stabil kalmıştır. OD₆₀₀ nm'de ölçülen bakteri konsantrasyonu ise 6. saate kadar 1,045'e yükselirken, 24. saatin sonunda bu değer 1,149 olarak bulunmuştur.

Benzer olarak Goyal *et al.* (2018) *L. lactis* 63 suşunun da logaritmik fazın sonunda bakteriyosin üretimine başladığını ve 22. saatin sonunda saflaştırdıkları bakteriyosinin maksimum aktivitesinin 20.000 AU/mL'ye yükseldiğini bulmuşlardır. Cheigh *et al.* (2002)'de yaptıkları çalışmada *L. lactis* spp. *lactis* A164 suşunun maksimum bakteriyosin aktivitesi olan 131.000 AU/mL'ye durağan fazın başında ulaştığını belirlemişlerdir.

Besiyerinin bileşimi, aşılana kültürün yaşı, sıcaklık, başlangıç pH'sı, oksijen konsantrasyonu gibi birçok faktör bakteriyosin üretimini etkilemektedir (Guerra and Pastrana 2002; Tafreshi *et al.* 2010; Zamfir *et al.* 2016). Öte yandan aktivite testlerinde yapılan metodolojik farklılıklar sonuçları kıyaslamayı zorlaştırmaktadır (Anastasiadou *et al.* 2008).

Bakteriyosinin *in vitro* koşullarda *L. monocytogenes* üzerine etkisi

Nisin L54'ün *in vitro* koşullarda *L. monocytogenes* üzerine etkisi Şekil 19'da gösterilmiştir.



Şekil 19. Nisin L54'ün *in vitro* koşullarda *L. monocytogenes* üzerine etkisi

Nisin L54 içeren hüresiz süpernatantın erken logaritmik faza ulaşan *L. monocytogenes* ATCC 7644 üzerine eklenmesiyle *L. monocytogenes* ATCC 7644'ün sıvı besiyerinde gelişimi engellenmiştir. Bu durumda nisin L54'ün bakteriyostatik bir etki gösterdiği söylenebilir.

Nisin L54'e benzer olarak, *L. lactis* spp. *lactis* MK02R suşu tarafından üretilen nisin de *L. monocytogenes* Scott A ve *L. innocua* ATCC 33090 patojenlerinin gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir (Kruger *et al.* 2013). Başka bir çalışmada ise Gutiérrez-cortés *et al.* (2018b) *P. pentosaceus* 63, 145, 146 ve 147 suşları tarafından üretilen pediosinlerin *L. monocytogenes* gelişimini durdurduğunu tespit etmişlerdir. Öte yandan Pinto *et al.* (2010) *E. faecium* ALP7 tarafından üretilen enterosin B ve *P. pentosaceus* ALP57 tarafından üretilen pediosin PA-1 bakteriyosinlerinin *L. monocytogenes* ESB54 ve *L. innocua* 2030c patojenlerinin gelişimini yavaşlattığını fakat tamamen inhibe edemediğini bulmuşlardır.

Sıcaklık uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi

Sıcaklık uygulamasının nisin L54'ün aktivitesini düşürme oranları (%) Tablo 32'de verilmiştir.

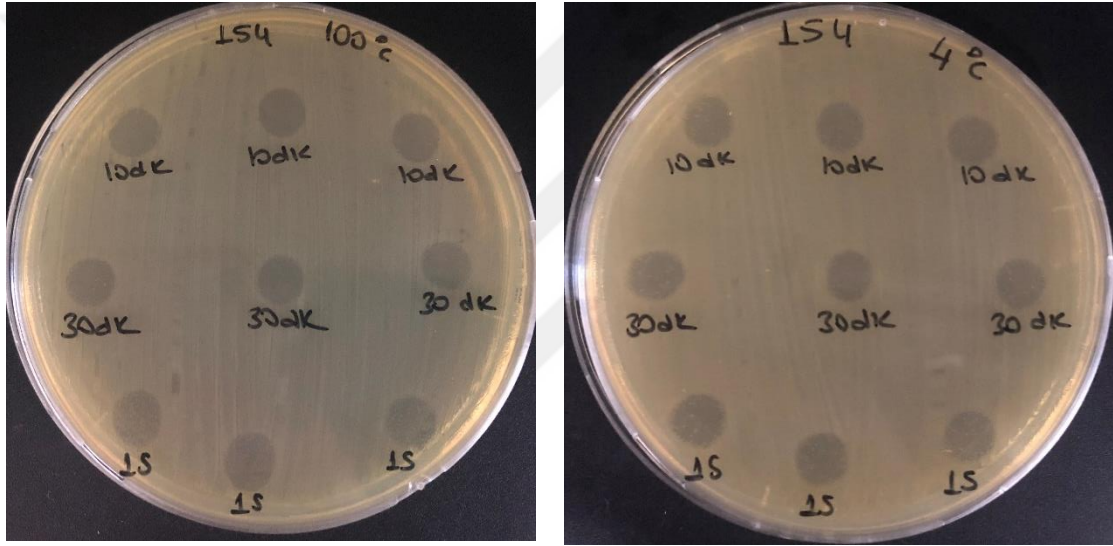
Tablo 32. Sıcaklık Uygulamasının Nisin L54'ün Aktivitesini Düşürme Oranları (%)

Bakteriyosin	4 °C			80 °C			90 °C			100 °C			121 °C	K
	10 dk	30 dk	60 dk	10 dk	30 dk	60 dk	10 dk	30 dk	60 dk	10 dk	30 dk	60 dk	15 dk	OS
Nisin L54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,69	100	0

K: kontrol, OS: Oda sıcaklığı

Nisin L54'ün aktivitesi 4, 80 ve 90 °C'de bir saat ve 100 °C'de yarım saate kadar bekletildiğinde herhangi bir azalma göstermemiş, 100 °C'de bir saat bekletildiğinde ise %7,69'luk bir düşüş belirlenmiştir. Öte yandan otoklav koşullarında (121 °C'de 15 dk) bekletilen nisin L54'ün aktivitesi tamamen kaybolmuştur. Nisin L54'ün yüksek sıcaklıklarda aktivitesini oldukça iyi koruduğu anlaşılmaktadır. Bu durum sıcaklık uygulaması yapılan gıdalarda dahi nisin L54'in aktivitesini kaybetmeden biyokoruyucu olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışma sonuçlarına benzer olarak, farklı *L. lactis* suşları tarafından üretilen nisinlerin yüksek sıcaklıklara oldukça dirençli olduğu bulunmuştur (Kumari *et al.* 2012, Ribeiro *et al.* 2016).

Sıcaklık uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri Şekil 20'de verilmiştir.



Şekil 20. Sıcaklık uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri

Enzim uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi

Enzim uygulamasının nisin L54'ün aktivitesini düşürme oranları (%) Tablo 33'te verilmiştir.

Tablo 33. Enzim Uygulamasının Nisin L54'ün Aktivitesini Düşürme Oranları (%)

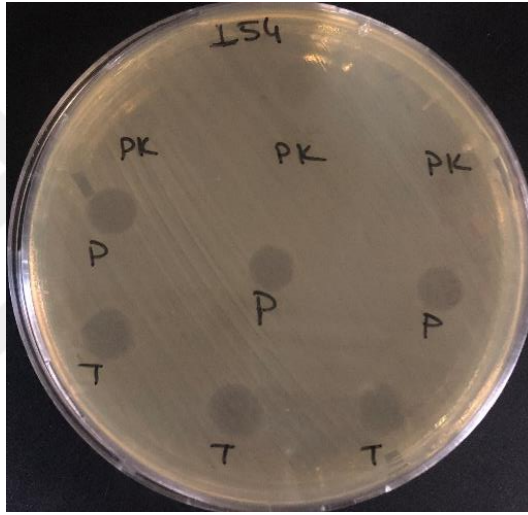
Bakteriyosin /Enzim	Proteinaz K	Pepsin	Tripsin	Rennet	Lizozim	Katalaz	K
Nisin L54	100	11,54	5,77	7,7	0	0	0

K: kontrol

Nisin L54, lizozim ve katalaz enzimleriyle muamele edildiğinde aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Pepsin, tripsin ve rennet ile muamele sırasıyla %11,54; %5,77 ve %7,77 oranlarında azalmaya yol açarken, proteinaz K ile muamele aktiviteyi

tamamen inhibe etmiştir. Bu durum antimikrobiyal etki kaynağının bakteriyosin olduğunu doğrulamaktadır. Nisin L54'ün rennet enzimine karşı oldukça dayanıklı olması peynir üretiminde kullanımının mümkün olduğunu ortaya çıkarmıştır. Gıdalarda bulunabilen lizozim ve katalaza dirençli olması ise yine bu enzimleri içeren ürünlerde aktivitesini kaybetmeden kullanılabileceğini göstermektedir. Benzer olarak, Goyal *et al.* (2018) *L. lactis* 63 suşu tarafından üretilen nisin proteaz ile mumalesi sonucunda aktivitesini tamamen kaybettiği; pepsin, kimotripsin ve papain ile muamele edildiğinde ise aktivitesinde bir miktar düşüş olduğu belirlenmiştir. Lizozimle muamele edilen nisin aktivitesinde ise herhangi bir değişim olmamıştır (Goyal *et al.* 2018).

Enzim uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri Şekil 21'de verilmiştir.



Şekil 21. Enzim uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüsü

Kimyasal uygulamasının bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi

Kimyasal uygulamasının nisin L54'ün aktivitesini düşürme oranları (%) Tablo 34'te verilmiştir.

Tablo 34. Kimyasal Uygulamasının Nisin L54'ün Aktivitesini Düşürme Oranları (%)

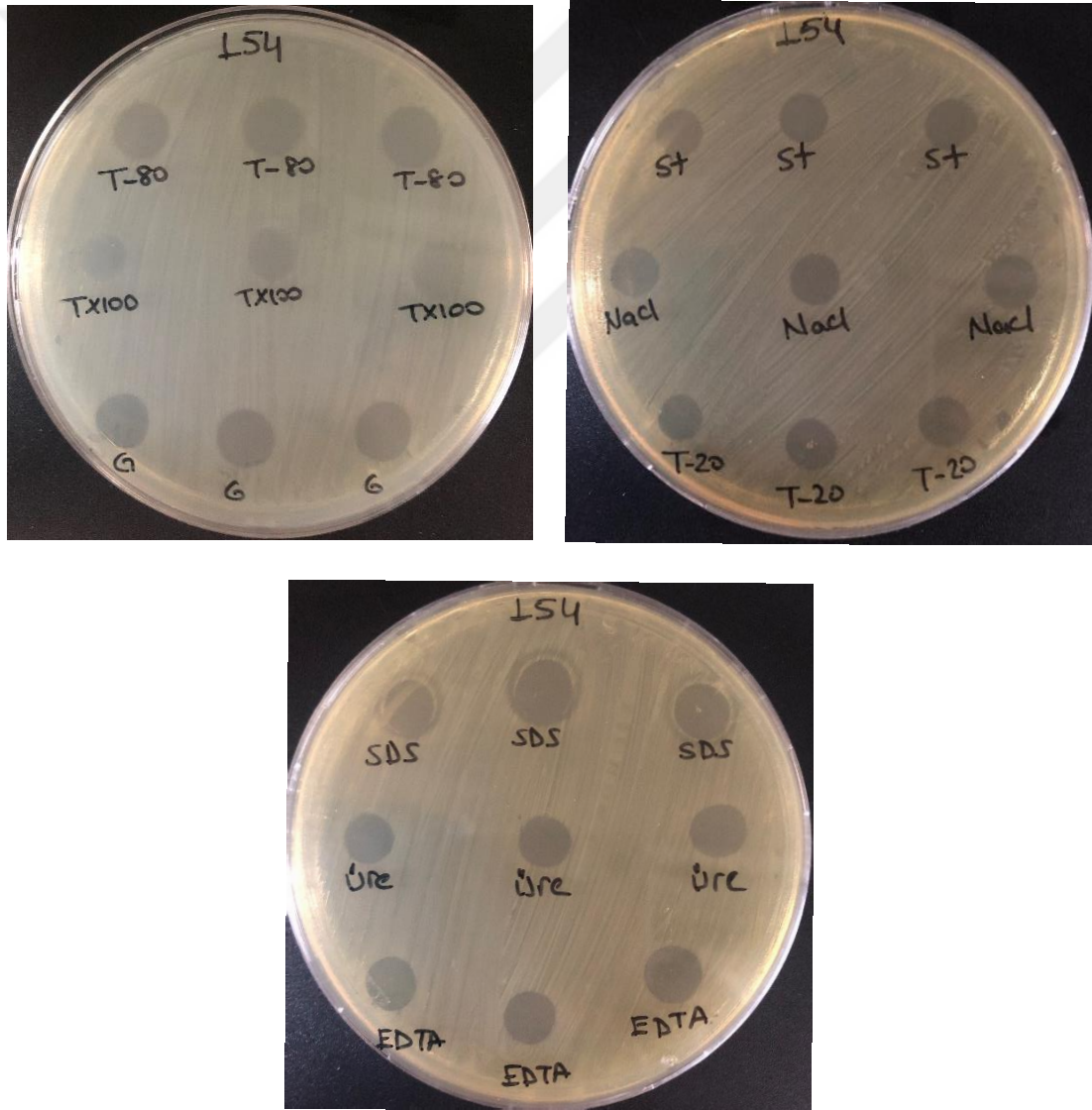
Bakteriyosin /Kimyasal	SDS	Tween-20	Tween-80	Üre	EDTA	Süt Tozu	Triton X100	NaCl	Gliserol	K
Nisin L54	-129,17	0	0	0	0	0	0	0	0	0

K: kontrol

Nisin L54 Tween-20, Tween-80, Üre, EDTA, süt tozu, Triton X100, NaCl ve gliserol ile muamele edildiğinde aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Öte yandan SDS ile muamele edilen nisin L54'ün aktivitesi %29,17 oranında artış göstermiştir. SDS ilave edilip pozitif kontrol olarak kullanılan sıvı besiyeri de inhibisyon aktivitesi göstermiştir.

Bakteriyosin aktivitesinde meydana gelen artış SDS'in antimikrobiyal etkisinden kaynaklanabilmektedir. Ayrıca bazı araştırmacılar, söz konusu artışın SDS'in bakteriyosinlerin potansiyelini artırıcı etkisinin sonucu olabileceğini ifade etmektedirler (Azhar *et al.* 2017; Kaktcham *et al.* 2019). Benzer olarak Kaktcham *et al.* (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *L. lactis* spp. *lactis* 2MT suşu tarafından üretilen nisin aktivitesi SDS muamelesinden sonra %16,66 oranında artmıştır. Ayrıca Tween 80, Tween 20 ve üre *L. lactis* spp. *lactis* 2MT'nin ürettiği nisin aktivitesini etkilememiştir. Nisin L54'ün gıda sanayiinde kullanılabilen kimyasallara karşı dayanıklı olması gıdalarda aktivitesini kaybetmeden kullanılabileceğini göstermektedir.

Kimyasal uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri Şekil 22'de verilmiştir.



Şekil 22. Kimyasal uygulamasının nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri

Farklı pH değerlerinin bakteriyosin aktivitesi üzerine etkisi

Farklı pH değerlerinin nisin L54'ün aktivitesini düşürme oranları (%) Tablo 35'te verilmiştir.

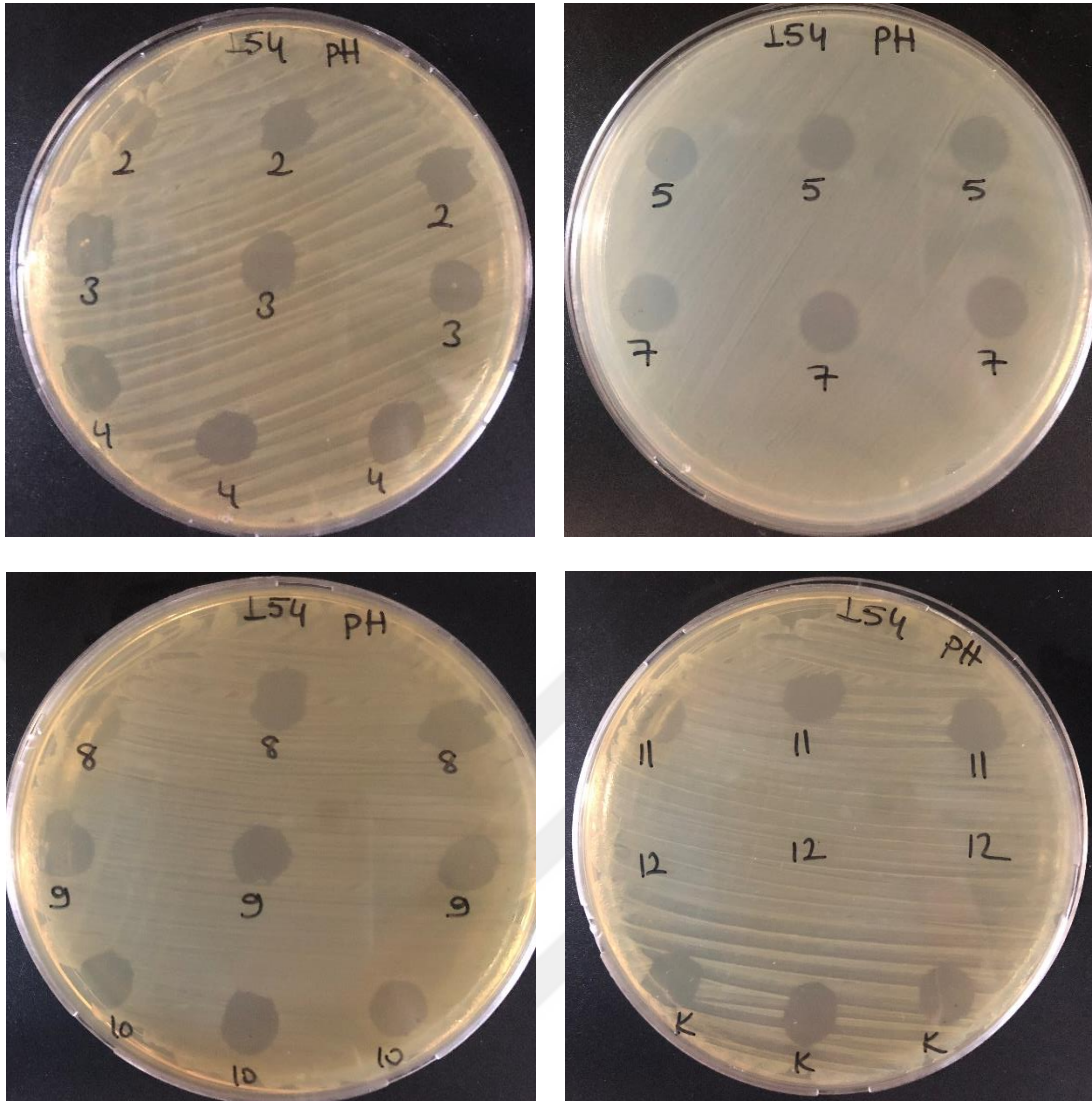
Tablo 35. Farklı pH Değerlerinin Nisin L54'ün Aktivitesini Düşürme Oranları (%)

Bakteriyosin /pH	2,00	3,00	4,00	5,00	7,00	8,00	9,00	10,00	11,00	12,00	K (6,00)
Nisin L54	3,23	0	0	0	0	0	12,9	12,9	22,58	100	0

K: kontrol

Nisin L54, pH 3,0-8,0 aralığında bekletildiğinde aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmazken, pH 2,0'de hafif bir azalma (%3,23) meydana gelmiştir. Bazik pH'lara çıkıldıkça nisin L54 aktivitesi azalmış, pH 12,0'de ise tamamen kaybolmuştur. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde nisin L54'ün oldukça geniş bir pH aralığında aktivitesini koruduğu anlaşılmaktadır. Özellikle pH'nın 3-5 aralığına düşüşü ile aktivite kaybının olmaması bu bakteriyosinin fermente gıdalarda kullanılabileceğini göstermektedir. Brezilya'nın geleneksel fermente et ürünü olan Charqui'den izole edilen *L. lactis* spp. *lactis* 69'un ürettiği nisin de pH 2,0-10,0 aralığında aktivitesini korumuş, pH değeri 12,0'ye yükseldiğinde ise aktivitesini tamamen kaybetmiştir (Biscola *et al.* 2013).

Farklı pH değerlerinin nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri Şekil 23'te verilmiştir.



Şekil 23. Farklı pH değerlerinin nisin L54 üzerine etkisinin belirlendiği örnek petri görüntüleri

Bakteriyosin spektrumunun belirlenmesi

Nisin L54 Bakteriyosininin Spektrumu Tablo 36’da verilmiştir.

Tablo 36. Nisin L54 Bakteriyosininin Spektrumu

Mikroorganizma	Kaynak	Besiyeri ve inkübasyon sıcaklıkları	Zon çapı (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	NA, 37 °C	-
<i>Yersinia enterocolitica</i> spp. <i>enterocolitica</i>	ATCC 27729	BHI, 26 °C	-
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	NA, 37 °C	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium	RSHMB 95091	NA, 37 °C	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 7644	BHI, 37 °C	10,34 ± 0,58
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	NA, 37 °C	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (Metisilin ve oksasiline dirençli)	ATCC 43300	NA, 37 °C	6,00 ± 0,00
<i>Bacillus spizizenii</i> (<i>Bacillus subtilis</i> spp. <i>spizizenii</i>)	ATCC 6633	BHI, 30 °C	-
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 33019	NA, 30 °C	5,00 ± 0,00
<i>Bacillus coagulans</i>	ATCC 7050	NA, 30 °C	-
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175	BHI, 37 °C	-
<i>Streptococcus lutetiensis</i> L55	Tez	MRS, 37 °C	18,34 ± 0,58
<i>Streptococcus macedonicus</i> L36	Tez	MRS, 37 °C	14,00 ± 1,00
<i>Enterococcus faecium</i> E208	Tez	GM17, 35 °C	7,67 ± 0,58
<i>Enterococcus faecium</i> E260	Tez	GM17, 35 °C	8,00 ± 0,00
<i>Enterococcus durans</i> L43	Tez	MRS, 37 °C	-
<i>Enterococcus italicus</i> L57	Tez	MRS, 37 °C	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	BHI, 37 °C	5,33 ± 0,58
<i>Pediococcus parvulus</i> L78	Tez	MRS, 37 °C	19,00 ± 1,00
<i>Lactobacillus helveticus</i>	ATCC 15009	MRS, 37 °C	16,67 ± 0,58
<i>Lactobacillus casei</i>	ATCC 393	MRS, 37 °C	-
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> spp. <i>tolerans</i> L41	Tez	MRS, 37 °C	-
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> T6	GMBKK	MRS, 30 °C	15,00 ± 0,00
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> L63	Tez	MRS, 30 °C	-

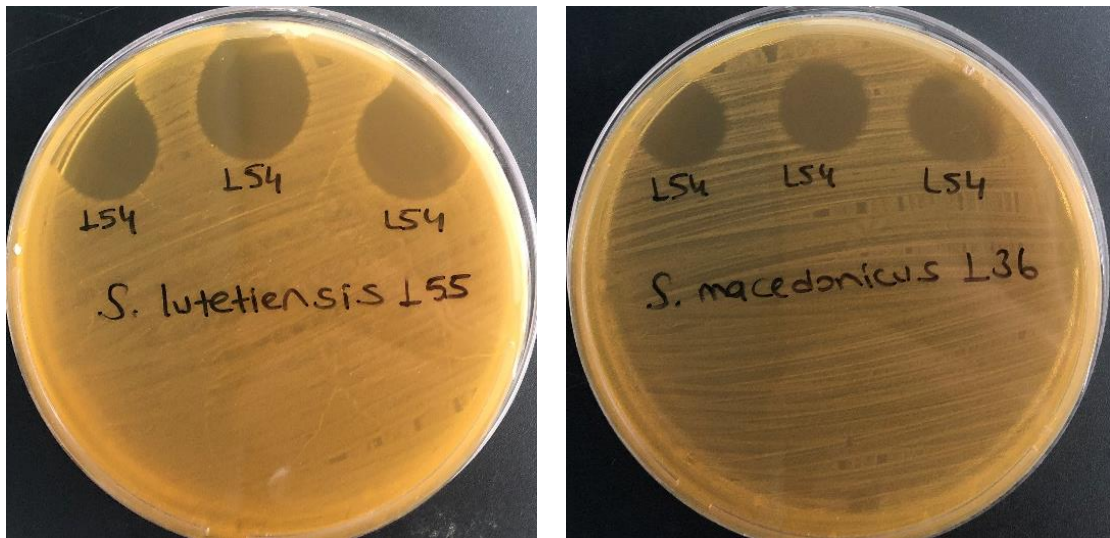
GMBKK; Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu, ATCC; Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu, DSMZ; Alman Mikroorganizma ve Hücre Kültürü Koleksiyonu, RSHMB; Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Başkanlığı. NA; nutrient agar, BHI; brain hearth infusion agar, MRS; De Man, Rogosa, Sharpe agar, GM17; %0,5 glikoz içeren M17 agar.

Nisin L54 test edilen patojenlerden *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 43300 ve *B. cereus* ATCC 33019'a karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Gram negatif (*P. aeruginosa* ATCC 9027, *Y. enterocolitica* spp. *enterocolitica* ATCC 27729, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. Typhimurium* RSHMB 95091) ve bazı Gram pozitif (*S. aureus* ATCC 29213, *B. spizizenii* ATCC 6633, *B. coagulans* ATCC 7050 ve *S. mutans* ATCC 25175) patojenler nisin

L54'ten etkilenmemiştir. Test edilen LAB'lardan ise *S. macedonicus* L36, *E. faecium* E208, *E. faecium* E260, *E. faecalis* ATCC 29212, *P. parvulus* L78, *L. helveticus* ATCC 15009, *L. plantarum* T6 ve *S. lutetiensis* L55 nisin L54'e karşı hassas bulunmuştur. En yüksek antimikrobiyal etkinin *P. parvulus* L78 ($19,00 \pm 1,00$ mm) ve ardından *S. lutetiensis* L55 ($18,34 \pm 0,58$ mm)'e karşı olduğu tespit edilmiştir. Öta yandan bazı LAB'lar (*E. durans* L43, *E. italicus* L57, *L. casei* ATCC 393, *L. paracasei* spp. *tolerans* L41 ve *L. plantarum* L63) da nisin L54'ten etkilenmemiştir. Patojenler ve starter olmayan LAB'lar (muhtemel mastitis etmeni *S. lutetiensis* dahil) inhibe edebilmesi *L. lactis* L54 suşunun Beyaz peynir üretiminde biyokoruyucu kültür olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Kaya and Şimşek (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmada tarhanadan izole edilen *L. lactis* PFC77 suşu tarafından üretilen nisin'in *E. coli* ATCC 25922 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 suşlarına karşı antimikrobiyal etki göstermediği, *M. luteus* DSM1790, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. faecalis* ATCC 19433 suşlarını ise inhibe edebildiği belirlenmiştir. Benzer olarak başka çalışmalarda da nisin Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olduğu ifade edilmiştir (Millette *et al.* 2007; Hwanhlem *et al.* 2013; Kruger *et al.* 2013). Öte yandan, Kaktcham *et al.* (2019) *L. lactis* spp. *lactis* 2MT suşunun ürettiği nisin Gram negatif *Vibrio* sp. ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 patojenlerini inhibe edebildiğini ifade etmişlerdir. Başka araştırmacılar da nisin Gram negatif patojenleri inhibe edebileceğini belirlemişlerdir (Kumari *et al.* 2012; Pisano *et al.* 2015). Garcera *et al.* (1993) Gram negatif bakterilerde bulunan dış membran zarar gördüğünde bu bakterilerin de nisinden etkilenebileceğini bildirmişlerdir.

Bakteriyosin spektumuna ait örnek petri görüntüleri Şekil 24'te verilmiştir.



Şekil 24. Nisin L54'ün *S. lutetiensis* L55 ve *S. macedonicus* L36'ya karşı gösterdiği antimikrobiyal etkiye ait petri görüntüsü

Bakteriyosin Kodlayan Nisin Geninin Dizi Analizi

L. lactis L54'ün genomundan çoğaltılan nisin L54'ü kodlayan genin dizi ve homolojisi Şekil 25'de verilmiştir.

Nis L54	1	CTGTTTCGAAGAAAGATT	60
EU057979.1	35		94
KY496773.1	395		454
L16226.1	208		267
Nis L54	61	CCGGTTGTAAACAGGAGCTCTGATGGGTTGTAACATGAAACAGCAACTTGTAAATTGTA	120
EU057979.1	95		154
KY496773.1	455		514
L16226.1	268	C.....	327
Nis L54	121	GCGTTCACGTAAGCAAA	137
EU057979.1	155		171
KY496773.1	515	.TA.....	531
L16226.1	328	.TA.....	344

Şekil 25. *L. lactis* L54'ün genomundan çoğaltılan nisin L54'ü kodlayan genin dizi ve homolojisi

Dizi analizi yapılan nisin L54 geni NCBI'da bulunan nisin F (EU057979.1), nisin Z (KY496773.1) ve nisin A (L16226.1) genleri ile karşılaştırılmış ve sırasıyla %100; % 98,54 ve % 97,81 oranlarında homoloji gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum *L. lactis* L54'ün nisin ürettiğini doğrulamaktadır.

Goyal *et al.* (2018) *L. lactis* spp. *lactis* 63 suşuna ait nisin geninin dizi analizini yapmışlardır. Buna göre analiz edilen gen NCBI'da bulunan nisin Z (X61144) geni ile %100 homoloji gösterirken, 1 aminoasidin nisin A (AM410671) geninden farklı olduğu tespit edilmiştir. Kaya and Şimşek (2020) ise *L. lactis* PFC77 tarafından üretilen nisinin nisin Z ile %100 homoloji gösterdiğini ifade etmişlerdir.

L. lactis L54'ün Güvenlik Değerlendirmesi

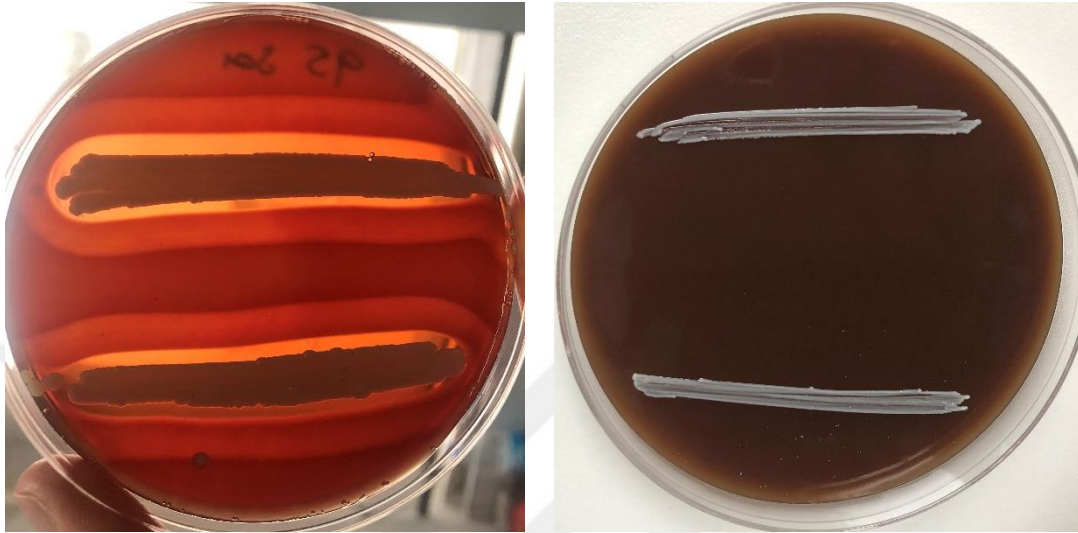
LAB suşları GRAS (Generally recognized as safe/Genel olarak güvenli) statüsünde olarak kabul edilse de gıdalarda kullanılacak biyokoruyucu, starter, yardımcı kültürler ve probiyotiklerin güvenli oldukları kanıtlanmalıdır.

Hemolitik aktivite

Hemolitik aktivite mikroorganizmaların patojeniteleri hakkında bilgi edinmek için yapılması gereken önemli bir testtir. Bağırsaklarda bulunan bariyerin incelenmesi/zarar görmesi durumunda ortamda bulunan patojenler veya kommensal bakterilerin kana geçme ihtimali bulunmaktadır (Miquel *et al.* 2015). Gıda üretiminde kullanılacak suşların hemolitik aktivite göstermemesi gerekmektedir. Yapılan değerlendirme sonucunda *L. lactis* L54'ün hemolitik

aktivite göstermediği (γ -hemolitik) belirlenmiştir. Benzer olarak Cosentino *et al.* (2012) ve Kondrotiene *et al.* (2020) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda da analiz edilen *L. lactis* suşlarının hemolitik aktivite göstermedikleri rapor edilmiştir.

β -hemolitik *S. aureus* ATCC 29213 ve γ -hemolitik *L. casei* ATCC 393 suşlarına ait görüntü Şekil 26'da verilmiştir.



β -hemolitik *S. aureus* ATCC 29213

γ -hemolitik *L. casei* ATCC 393

Şekil 26. β -hemolitik *S. aureus* ATCC 29213 ve γ -hemolitik *L. casei* ATCC 393 suşlarına ait görüntü

DNase Aktivitesi

DNA moleküllerini hidrolize eden DNase enzimlerini üreten mikroorganizmaların fermente gıdaların üretiminde kullanılmaması gerekmektedir (Somashekaraiah *et al.* 2019). Analiz sonucunda *L. lactis* L54'ün DNase aktivitesi göstermediği belirlenmiştir. Marco *et al.* (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da *L. lactis* LLH20 suşunun DNase aktivitesi göstermediği tespit edilmiştir.

DNase pozitif *S. aureus* ATCC 29213 suşuna ait görüntü Şekil 27'de verilmiştir.



DNase pozitif *S. aureus* ATCC 29213

Şekil 27. DNase aktivitesi gösteren *S. aureus* ATCC 29213 suşuna ait görüntü

Virülans Genlerin Belirlenmesi

L. lactis L54 suşunun *esp*, *efaAfs*, *cylA*, *hyl*, *asa* ve *ace* genlerinden hiçbirini içermediği belirlenmiştir. Kaktcham *et al.* (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada *L. lactis* spp. *lactis* 3MT suşunun da *ace* ve *cylA* genlerini içermediği belirlenmiştir. Öte yandan, Hwanhlem *et al.* (2013) *L. lactis* spp. *lactis* KT2W2L suşunun *ace* ve *asa1* genlerini taşıdığını, Biscola *et al.* (2014) ise *L. lactis* 69 suşunun *ace* ve *esp* içerdiğini belirlemişlerdir.

Test edilen patojenite özelliklerinden hiçbirini taşıyamaması, *L. lactis* L54 suşunun Beyaz peynirde güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

Peynir Üretimi, Çiğ Süt ve Peynirlerde Yapılan Analizler

Çiğ ve pastörize sütte yapılan mikrobiyolojik analizler

Beyaz peynir örneklerinin üretiminde kullanılan çiğ ve pastörize sütlere ait bazı mikrobiyolojik özellikler Tablo 37’de verilmiştir.

Tablo 37. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Çiğ ve Pastörize Sütlerin Mikrobiyolojik Özellikleri (log kob/mL)

Mikrobiyolojik Özellikler	Çiğ Süt	Pastörize Süt
Koliform grubu bakteri sayısı	3,41 ± 0,12	< 1
TAMB Sayısı	5,13 ± 0,02	4,49 ± 0,02
Maya ve küf sayısı	2,80 ± 0,06	< 2
M17 agarda gelişen laktokok sayısı	4,39 ± 0,07	< 2

Verilen değerler üç tekerrür ortalaması ve standart sapmalarıdır.

Çiğ Sütte yapılan fizikokimyasal analizler

Beyaz peynir örneklerinin üretiminde kullanılan çiğ ve pastörize sütlere ait bazı fizikokimyasal özellikler Tablo 38’de verilmiştir.

Tablo 38. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Çiğ Sütün Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

Fizikokimyasal Özellikler	Çiğ Süt
Yağ (%)	4,45 ± 0,07
Kurumadde (%)	13,45 ± 0,21
Protein (%)	3,15 ± 0,07
pH	6,77 ± 0,00
Antibiyotik Testi	Uygun

Verilen değerler üç tekerrür ortalaması ve standart sapmalarıdır.

Üretilen peynirlerde yapılan mikrobiyolojik analizler

Depolama süresince Beyaz peynir örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçları standart sapmaları ile birlikte Tablo 39’da verilmiştir.

Tablo 39. Beyaz Peynir Örneklerinde Yapılan Bazı Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları (log kob/g)

Mikrobiyolojik Özellikler	Depolama Süresi (Gün)	Peynir Örnekleri				
		P1	P2	L1	L2	L3
M17 agarda gelişen laktokok sayısı	1	6,95 ± 0,07	6,87 ± 0,05	Y	6,85 ± 0,14	6,80 ± 0,14
	15	7,00 ± 0,14	6,89 ± 0,08	Y	6,87 ± 0,05	6,82 ± 0,05
	30	6,90 ± 0,08	6,88 ± 0,04	Y	6,95 ± 0,04	6,78 ± 0,04
	45	6,78 ± 0,04	6,80 ± 0,14	Y	6,80 ± 0,07	6,70 ± 0,07
	60	6,90 ± 0,07	6,78 ± 0,02	Y	6,89 ± 0,05	6,80 ± 0,05
	75	6,60 ± 0,07	6,70 ± 0,14	Y	6,85 ± 0,05	6,87 ± 0,05
	90	6,40 ± 0,14	6,41 ± 0,11	Y	6,61 ± 0,14	6,70 ± 0,14
<i>L. monocytogenes</i> sayısı	1	< 2	< 2	4,30 ± 0,07	4,26 ± 0,07	4,36 ± 0,05
	15	< 2	< 2	6,15 ± 0,08	4,15 ± 0,08	4,69 ± 0,07
	30	< 2	< 2	6,15 ± 0,08	4,72 ± 0,05	5,30 ± 0,07
	45	< 2	< 2	6,18 ± 0,04	5,69 ± 0,04	5,94 ± 0,05
	60	< 2	< 2	6,11 ± 0,05	5,88 ± 0,02	5,90 ± 0,03
	75	< 2	< 2	6,07 ± 0,04	5,74 ± 0,07	5,79 ± 0,06
	90	< 2	< 2	6,00 ± 0,14	5,70 ± 0,05	5,79 ± 0,06
Koliform grubu bakteri sayısı	1	< 1	< 1	Y	Y	Y
	15	< 1	< 1	Y	Y	Y
	30	< 1	< 1	Y	Y	Y
	45	< 1	< 1	Y	Y	Y
	60	< 1	< 1	Y	Y	Y
	75	< 1	< 1	Y	Y	Y
	90	< 1	< 1	Y	Y	Y
Maya ve küf sayısı	1	< 2	< 2	Y	Y	Y
	15	< 2	< 2	Y	Y	Y
	30	< 2	< 2	Y	Y	Y
	45	< 2	< 2	Y	Y	Y
	60	< 2	< 2	Y	Y	Y
	75	< 2	< 2	Y	Y	Y
	90	< 2	< 2	Y	Y	Y

Y:Yapılmadı. (P1) *L. lactis* L54 inoküle edilen peynir, (P2) ticari kültür inoküle edilen peynir, (L1) *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir, (L2) *L. lactis* L54 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir, (L3) ticari kültür ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir. Verilen değerler üç tekerrür ortalaması ve standart sapmalarıdır.

M17 agarda gelişen laktokok sayısı

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen M17 agarda gelişen laktokok sayıları ve varyans analiz sonuçları ise sırasıyla Tablo 39 ve Tablo 40'ta verilmiştir.

Tablo 40. Beyaz Peynir Örneklerinin M17 Agarda Gelişen Laktokok Sayısı Sonuçlarına Ait Varyans Analiz Test Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	F
Peynir Örneği (A)	3	1,544
Depolama Süresi (B)	6	14,279**
AxB	18	1,999*
Hata	28	
Genel	56	

*(p<0,05) düzeyinde önemli; ** (p<0,01) düzeyinde önemli

Varyans analizi sonuçlarına göre örneklerin M17 agarda gelişen laktokok sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı (p>0,05) (Tablo 40) belirlenmiştir. M17 agarda gelişen laktokok sayılarının depolama süresince değişimi ile peynir örneği x depolama süresi interaksyonunun etkisinin ise istatistiksel olarak sırasıyla p<0,01 ve p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Beyaz peynir örneklerinin M17 agarda gelişen laktokok sayıları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 41'de verilmiştir.

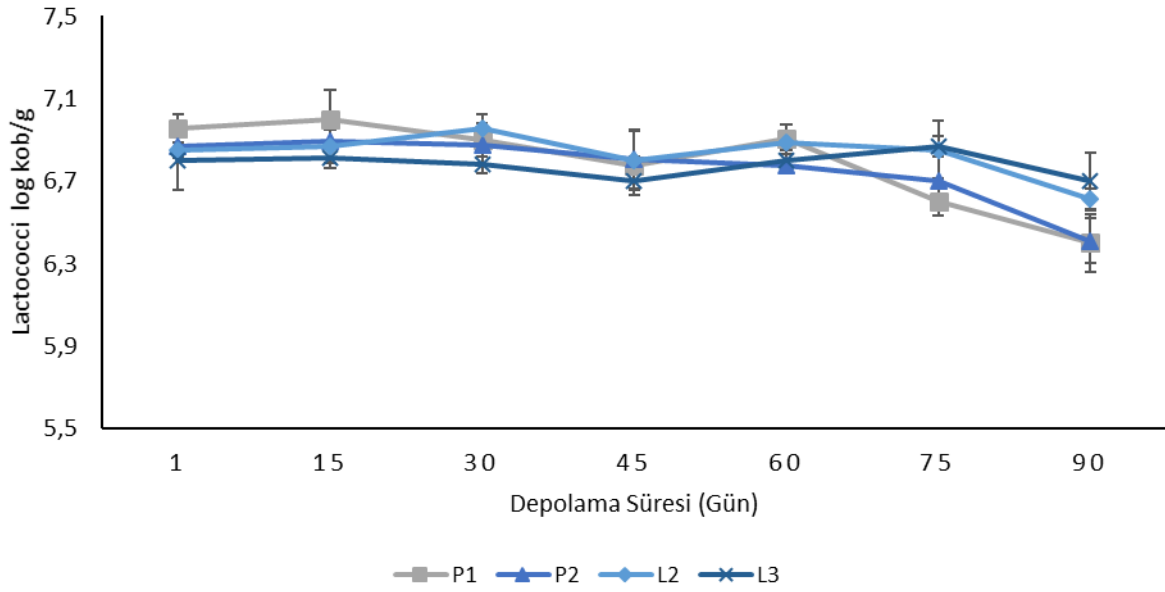
Tablo 41. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait M17 Agarda Gelişen Laktokok Sayıları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	M17 agarda gelişen laktokok sayısı
1	6	6,87 ± 0,09 ^{ab}
15	6	6,89 ± 0,10 ^a
30	6	6,87 ± 0,08 ^a
45	6	6,77 ± 0,09 ^{bc}
60	6	6,84 ± 0,07 ^{abc}
75	6	6,75 ± 0,14 ^c
90	6	6,53 ± 0,16 ^d

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,01 düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları incelendiğinde en yüksek ortalama laktokok sayıları 1. (6,87 ± 0,09), 15. (6,89 ± 0,10) ve 30. (6,87 ± 0,08) günde belirlenirken, en düşük ortalama laktokok sayısının 90. (6,53 ± 0,16) günde belirlendiği görülmektedir. Benzer olarak

Dimitrellou *et al.* (2014), Feta peyniri örneklerindeki en yüksek laktokok sayısının 15. ve 30. günde olduğunu depolamanın 30. gününden sonra laktokok sayısının azaldığını tespit etmişlerdir. Kırmacı *et al.* (2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise otokton *L. lactis* spp. *lactis* MBLL9, MBLL23 ve MBL27 suşları kullanılarak Beyaz peynir üretilmiş ve 1, 15, 30, 60 ve 90. günde analiz edilmiştir. Buna göre tüm örneklerdeki laktokok sayısı 1. günden itibaren azalma göstermiş ve 90. günde en düşük sayıya ulaşmıştır. Beyaz peynir örneklerinin laktokok sayılarına ait peynir örneği x depolama süresi interaksyonu Şekil 28’de verilmiştir.



Şekil 28. Beyaz peynir örneklerinde bulunan laktokok (log kob/g) sayısının depolama süresi boyunca değişimi. (P1) *L. lactis* L54 inoküle edilen peynir, (P2) ticari kültür inoküle edilen peynir, (L2) *L. lactis* L54 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir, (L3) ticari kültür ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir

Şekil 25 incelendiğinde, M17 agarda gelişen laktokok sayısının tüm örneklerde benzer bir değişim gösterdiği ve depolamanın 30. gününe kadar genel olarak sabit kaldığı görülmektedir. Depolamanın 60. gününden sonra ise örneklerdeki laktokok sayısının azaldığı belirlenmiştir.

***Listeria monocytogenes* sayısı**

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen *L. monocytogenes* sayıları ve varyans analiz sonuçları sırasıya Tablo 39 ve Tablo 42’de verilmiştir.

Tablo 42. Beyaz Peynir Örneklerinin *L. monocytogenes* Sayısı Sonuçlarına Ait Varyans Analiz Test Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	F
Peynir Örneği (A)	2	380,923**
Depolama Süresi (B)	6	514,453**
AxB	12	63,053**
Hata	21	
Genel	42	

*(p<0,05) düzeyinde önemli; ** (p<0,01) düzeyinde önemli

Varyans analizi sonuçlarına göre örneklerin *L. monocytogenes* sayıları arasında önemli düzeyde (p<0,01) farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Ayrıca depolama süresi ve peynir örneği x depolama süresi interaksyonunun etkisi de istatistiki olarak p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 42).

Beyaz peynir örneklerinin *L. monocytogenes* sayıları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 43'te verilmiştir.

Tablo 43. Beyaz Peynir Örneklerine Ait *L. monocytogenes* Sayıları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Peynir Örneği	n	<i>L. monocytogenes</i> sayısı
L1	14	5,84 ± 0,66 ^a
L2	14	5,15 ± 0,73 ^c
L3	14	5,39 ± 0,61 ^b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,01 düzeyinde farklıdır. (L1) *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir, (L2) *L. lactis* L54 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir, (L3) ticari kültür ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir.

Örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları incelendiğinde, en yüksek *L. monocytogenes* sayısının L1 örneğinde, en düşüğün ise L2 örneğinde bulunduğu görülmektedir. Nisin L54 üreten *L. lactis* L54 suşunun Beyaz peynire katılması ile *L. monocytogenes* sayısının ticari starter katılan ve starter katılmadan üretilen peynirlere göre önemli düzeyde düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Benzer olarak, Furtado *et al.* (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada Minas tipi keçi peynirinde bakteriyosin üreten *L. lactis* DF4Mi suşunun kullanımı ile 10 günlük depolama boyunca *L. monocytogenes* ScottA sayısındaki değişim belirlenmiştir. Buna göre yalnızca *L. monocytogenes* ScottA katılan kontrol örneklerindeki sayı (3,91 ± 0,05) sürekli artmış ve 10. günde 6,32 ± 0,08'e yükselmiştir. *L. lactis* DF4Mi suşunun inoküle edildiği peynirlerde ise *L. monocytogenes*

sayısı 4. günde $3,52 \pm 0,03$ 'ten $3,25 \pm 0,04$ 'e düşmüş, 10. günde ise $3,76 \pm 0,03$ 'e yükselmiştir.

Dal Bello *et al.* (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise nisin üreten *L. lactis* 29FL1 ve 41FL1 suşlarının peynire ilavesi ile *L. monocytogenes* sayısında herhangi bir azalma olmadığını bildirmişlerdir. Öte yandan, Kasaroğlu *et al.* (2012) nisin üreten *L. lactis* spp. *lactis* LL27 suşunun Beyaz peynire ilavesiyle *L. monocytogenes* sayısının 90. günde 10^7 kob/g'den <10 kob/g'a düştüğünü tespit etmişlerdir.

Bakteriyosin üreten suşların peynirdeki antimikrobiyal etkileri başlangıçta ilave edilen kültür/patojen miktarı, bakteriyosinin çeşidi, depolama sıcaklığı ve peynir çeşidi gibi faktörlerden etkilenebilmektedir (Pisano *et al.* 2022). Nisin L54 *in vitro* koşullarda (Şekil 19) *L. monocytogenes* ATCC 7644'ü tamamıyla inhibe edebilirken, Beyaz peynirde antimikrobiyal etkinin daha zayıf olduğu görülmektedir. Bu durum bakteriyosinlerin süt proteinlerine adsorpsiyonu, peynir bileşenlerinden etkilenmesi (NaCl, yağ, proteolitik enzimler) veya ortamda bulunan diğer mikroorganizmaların ürettiği proteazlar tarafından parçalanmasından kaynaklanabilmektedir (Falardeau *et al.* 2021; Samelis and Kakouri 2018; Sarantinopoulos *et al.* 2002).

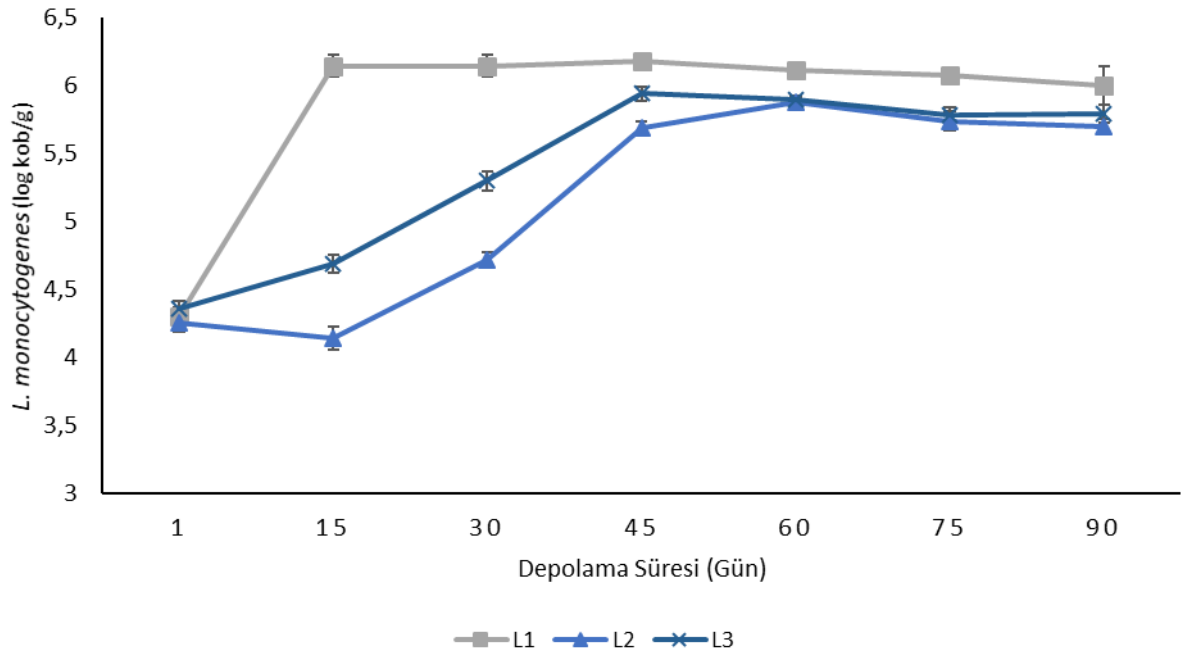
Beyaz peynir örneklerinin *L. monocytogenes* sayıları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 44'te verilmiştir.

Tablo 44. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait *L. monocytogenes* Sayıları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	<i>L. monocytogenes</i> sayısı
1	6	$4,30 \pm 0,07^f$
15	6	$4,99 \pm 0,93^e$
30	6	$5,38 \pm 0,64^d$
45	6	$5,92 \pm 0,22^{ab}$
60	6	$5,96 \pm 0,12^a$
75	6	$5,86 \pm 0,17^{bc}$
90	6	$5,82 \pm 0,16^c$

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p < 0,01$ düzeyinde farklıdır.

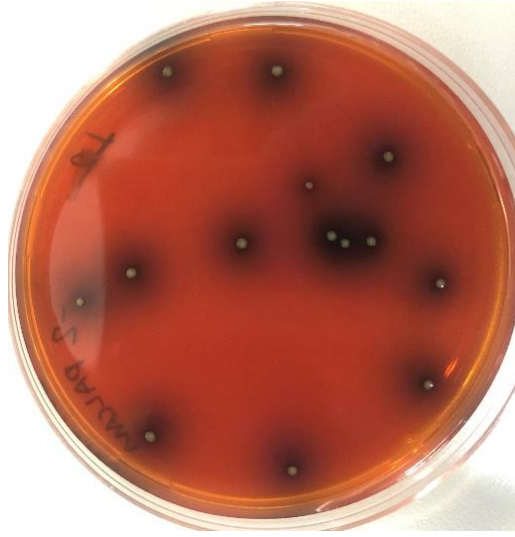
Depolama sürelerine ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları incelendiğinde, *L. monocytogenes* sayılarının depolamanın 60. gününe kadar arttığı ve bu günden sonra azalma olduğu görülmektedir. Beyaz peynir örneklerinin *L. monocytogenes* sayılarına ait peynir örneği x depolama süresi interaksyonu Şekil 29'da verilmiştir.



Şekil 29. Beyaz peynir örneklerinde bulunan *L. monocytogenes* (log kob/g) sayısının depolama süresi boyunca değişimi. (L1) *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir, (L2) *L. lactis* L54 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir, (L3) ticari kültür ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 inoküle edilen peynir

Şekil 26 incelendiğinde, L1 peynirindeki *L. monocytogenes* sayısı 15. güne kadar hızla artış göstermiş ve 45. güne kadar genel olarak sabit kalmıştır. Depolamanın 45. gününden sonra ise L1 örneğindeki *L. monocytogenes* sayısında hafif bir azalma olduğu görülmektedir. *L. lactis* L54 ilave edilen L2 peynirindeki *L. monocytogenes* sayısı 15. günde hafif bir azalma gösterirken 60. güne kadar artmış ve depolamanın 75. ve 90. günlerinde bir miktar azalma olmuştur. L2 örneğindeki *L. monocytogenes* sayısının depolamanın tüm günlerinde diğer iki örnekten daha az olduğu bulunmuştur. Ticari kültür kullanılarak üretilen L3 örneğindeki *L. monocytogenes* sayısının ise 45. güne kadar arttığı ve bu günden sonra bir miktar azaldığı görülmektedir.

PALCAM agarda gelişme gösteren *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojenine ait petri fotoğrafı Şekil 30'da görülmektedir.



Şekil 30. PALCAM agarda gelişme gösteren *L. monocytogenes* ATCC 7644 patojenine ait petri görüntüsü

Koliform grubu bakteri sayısı

Analiz edilen tüm Beyaz peynir örneklerinde depolama boyunca koliform grubu bakteri sayısı tespit edilebilir seviyenin (<1 log kob/g) altında bulunmuştur (Tablo 39). Peynir üretiminde kullanılan pastörize sütte de koliform grubu bakterilerin bulunmadığı tespit edilmiştir. Peynirlerde koliform grubu bakterilerin bulunmaması pastörizasyondan sonraki üretim aşamalarında uygulanan işlemlerde herhangi bir kontaminasyon olmadığını göstermektedir. Benzer olarak Devranbay (2016), farklı oranlarda kekik ve kimyon katılarak pastörize süttten üretilen Beyaz peynirlerde koliform grubu bakteri saptanmadığını belirtmiştir.

Maya ve küf sayısı

Analiz edilen tüm Beyaz peynir örneklerinde depolama boyunca maya ve küf sayısı tespit edilebilir seviyenin (<2 log kob/g) altında bulunmuştur (Tablo 39). Üretimde kullanılan pastörize sütte de maya ve küf tespit edilememiştir. Bu durum üretimdeki hijyen uygulamalarının yeterli olduğu ve kontaminasyon olmadığını göstermektedir. Peynirlerin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne (Anonim 2011) uyduğu belirlenmiştir. Benzer olarak, Çolak Şaşmazer (2022) *Bifidobacterium bifidum* BB-12 ve *Lactobacillus acidophilus* LA-5 probiyotiklerini katarak pastörize süttten ürettiği Beyaz peynirlerde de maya ve küf bulunmadığını bildirmiştir.

Üretilen peynirlerde yapılan fizikokimyasal analizler

Fizikokimyasal analizler yalnızca *L. lactis* L54 (P1) ve ticari starter kültür (P2) kullanılarak üretilen peynirlere yapılmıştır. Güvenli olmayacağından dolayı *L. monocytogenes* ATCC 7644 içeren peynirlerin fizikokimyasal özellikleri belirlenememiştir. Depolama

süresince Beyaz peynir örneklerinde yapılan fizikokimyasal analiz sonuçları standart sapmaları ile birlikte Tablo 45'te, varyans analiz sonuçları ise Tablo 46'da verilmiştir. Depolamanın her bir gününde P1 ve P2 örnekleri arasındaki farklılığın değerlendirilebilmesi için bağımsız örneklem *t*-testi yapılmış ve önemli bulunan farklılıklar ilgili bölümlerde verilmiştir.

Tablo 45. Beyaz Peynir Örneklerinde Yapılan Bazı Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Fizikokimyasal Özellikler	Depolama Süresi (Gün)	Peynir Örnekleri	
		P1	P2
pH	1	6,52 ± 0,01	6,35 ± 0,02
	30	6,44 ± 0,00	6,00 ± 0,01
	60	6,19 ± 0,01	5,42 ± 0,01
	90	5,85 ± 0,01	5,56 ± 0,02
Yağ (%)	1	24,00 ± 0,28	24,00 ± 0,00
	30	22,50 ± 0,42	23,00 ± 0,00
	60	21,50 ± 0,00	22,75 ± 0,35
	90	19,50 ± 0,35	20,50 ± 0,35
Kurumadde (%)	1	42,82 ± 0,11	43,58 ± 0,14
	30	41,40 ± 0,42	42,54 ± 0,28
	60	38,58 ± 0,14	39,91 ± 0,12
	90	37,45 ± 0,63	38,60 ± 0,15
NaCl (%)	1	4,21 ± 0,00	4,21 ± 0,00
	30	4,76 ± 0,05	4,68 ± 0,00
	60	4,91 ± 0,00	4,91 ± 0,00
	90	5,50 ± 0,14	5,38 ± 0,05
Protein (%)	1	16,25 ± 0,14	16,32 ± 0,11
	30	15,64 ± 0,05	15,05 ± 0,07
	60	13,71 ± 0,12	13,70 ± 0,07
	90	12,54 ± 0,08	12,39 ± 0,02

(P1) *L. lactis* L54 inoküle edilen peynir, (P2) ticari kültür inoküle edilen peynir. Verilen değerler üç tekerrür ortalaması ve standart sapmalarıdır.

Tablo 46. Beyaz Peynir Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Parametrelerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	F				
		pH	Yağ	Kurumadde	NaCl	Protein
Peynir Örneği (A)	1	3098,778**	23,819**	50,605**	3,030	13,174**
Depolama Süresi (B)	3	2108,852**	140,879**	240,614**	312,970**	1316,391**
AxB	3	2999,667**	3,871	0,607	1,091	9,877**
Hata	8					
Genel	16					

*(p<0,05) düzeyinde önemli; ** (p<0,01) düzeyinde önemli

Beyaz peynir üretimi ve depolanmasına ait görüntüler Şekil 31'de verilmiştir.



Şekil 31. Beyaz peynir üretimi ve depolanmasına ait görüntüler

pH

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen pH değerleri Tablo 45'te, varyans analizi sonuçları ise Tablo 46'da verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin pH değerleri üzerinde peynir örneği, depolama süresi ve peynir örneği x depolama süresi interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Peynir örneklerine ait en yüksek pH değeri (6,52) depolamanın başlangıcında P1 örneğinde belirlenirken, en düşük pH değeri (5,42) ise P2 örneğinde depolamanın 60. gününde belirlenmiştir.

Depolamanın her bir gününde P1 ve P2 örnekleri arasındaki farklılığın değerlendirilebilmesi için yapılan bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin pH değerleri arasında bulunan önemli değişiklikler Tablo 47'de verilmiştir.

Tablo 47. Bağımsız Örneklem *t*-Testine Göre Örneklerin pH Değerleri Arasında Belirlenen Farklılıklar

Fizikokimyasal Özellik	Depolama Süresi (Gün)	Peynir Örnekleri		p
		P1	P2	
pH	1*	6,52 ± 0,01	6,35 ± 0,02	0,017
	30**	6,44 ± 0,00	6,00 ± 0,01	0,001
	60**	6,19 ± 0,01	5,42 ± 0,01	0,000
	90**	5,85 ± 0,01	5,56 ± 0,02	0,001

* ($p<0,05$) düzeyinde önemli; ** ($p<0,01$) düzeyinde önemli

Peynirlerin bağımsız örneklem *t*-testi sonuçları incelendiğinde P1 örneğinin pH'sı depolamanın tüm günlerinde P2 örneğinden önemli derecede yüksek bulunmuştur. Mevcut durumun, P1 örneğinde *L. lactis* L54'ün tek başına kullanılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. *L. lactis* spp. *cremoris* ve *L. lactis* spp. *lactis* içeren ticari kültür kullanılarak üretilen P2 peynirinde iki suş bulunmasının pH'yı daha hızlı düşürdüğü görülmektedir. Nitekim *L. lactis* L54 suşunun asit üretme kapasitesi düşük bulunduğu (Tablo 22) asit üretme kapasitesi yüksek olan bir suşla birlikte kullanılması peynir pH'sının daha fazla düşmesine yardımcı olabilecektir.

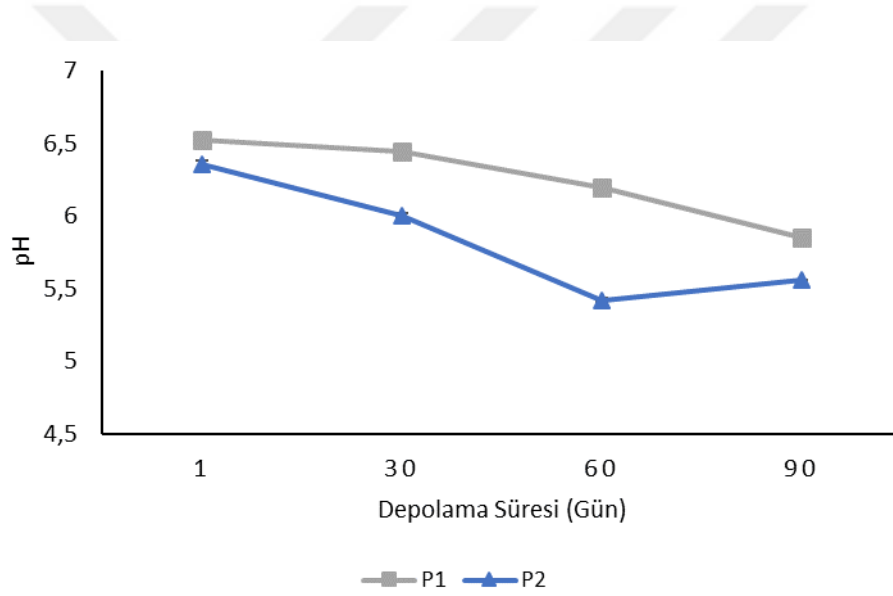
Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 48'de verilmiştir.

Tablo 48. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait pH Değerleri Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	pH
1	4	6,43 ± 0,09 ^a
30	4	6,22 ± 0,25 ^{ab}
60	4	5,80 ± 0,44 ^{bc}
90	4	5,70 ± 0,16 ^c

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p < 0,01$ düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre depolamanın başlangıcında 6,43 olan pH değeri 30. günde 6,22, 60. günde 5,80 ve 90. günde 5,70'e düşmüştür. Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerine ait peynir örneği x depolama süresi interaksyonu Şekil 32'de verilmiştir.



Şekil 32. Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerinin depolama süresi boyunca değişimi. (P1) *L. lactis* L54 inoküle edilen peynir, (P2) ticari kültür inoküle edilen peynir

Depolama süresince örneklerdeki pH değişimi incelendiğinde, P1 örneğinin pH değeri depolama boyunca düşüş gösterirken, P2 örneğinin pH'sı 60. güne kadar düşmüş, 60. günden sonra bir miktar yükselmiştir. P2 peynirinin 90. gündeki pH değerinde meydana gelen yükselme, peynirde meydana gelen proteoliz sonucunda ortaya çıkan bazı bileşenlerden kaynaklanabilmektedir (Novella-rodriguez *et al.* 2000; Öner *et al.* 2006). Benzer şekilde, Hayaloğlu *et al.* (2005), iki suş içeren starter kültür (*L. lactis* ssp. *lactis* ve *L. lactis* ssp. *cremoris*) kullanarak ürettikleri peynirlerin pH değerlerinin starter kullanılmadan üretilen peynirden daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Kırmacı *et al.* (2011), otokton *L. lactis* spp. *lactis* MBLL9, MBLL23 ve MBL27 suşlarını kullanarak ürettikleri Beyaz peynirlerin pH değerlerinin 90 günlük depolama boyunca düştüğünü belirlemişlerdir. En hızlı düşüş

MBLL23 suşunun katıldığı örnekte belirlenirken en yavaş düşüş MBLL9 suşunun eklendiği örnekte belirlenmiştir.

Yağ miktarı

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen yağ miktarları Tablo 45'te, varyans analizi sonuçları ise Tablo 46'da verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin yağ miktarları üzerinde peynir örneği ve depolama süresi faktörlerinin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunurken peynir örneği x depolama süresi interaksiyonunun etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur. En yüksek yağ miktarı her iki örnekte de olgunlaşmanın başlangıcında (%24,00) bulunurken en düşük yağ miktarı olgunlaşmanın son gününde P1 (%19,50) örneğinde bulunmuştur.

Depolamanın her bir gününde P1 ve P2 örnekleri arasındaki farklılığın değerlendirilebilmesi için yapılan bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin yağ miktarları arasında bulunan önemli değişiklikler Tablo 49'da verilmiştir.

Tablo 49. Bağımsız Örneklem *t*-Testine Göre Örneklerin Yağ Miktarları Arasında Belirlenen Farklılıklar

Fizikokimyasal Özellik	Depolama Süresi (Gün)	Peynir Örnekleri		p
		P1	P2	
Yağ (%)	1	24,00 ± 0,28	24,00 ± 0,00	1,000
	30	22,50 ± 0,42	23,00 ± 0,00	0,238
	60*	21,50 ± 0,00	22,75 ± 0,35	0,038
	90	19,50 ± 0,35	20,50 ± 0,35	0,095

*($p<0,05$) düzeyinde önemli; ** ($p<0,01$) düzeyinde önemli

Beyaz peynirlerin *t*-testi sonuçlarına göre, depolamanın 1, 30 ve 90. günlerinde örnekler arasında herhangi bir fark bulunamazken, 60. günde P2 örneğinin yağ miktarı P1 örneğinden istatistiki olarak $p<0,05$ düzeyinde yüksek bulunmuştur.

Beyaz peynir örneklerinin yağ miktarları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 50'de verilmiştir.

Tablo 50. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Yağ Miktarları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	Yağ
1	4	24,00 ± 0,16 ^a
30	4	22,75 ± 0,38 ^b
60	4	22,13 ± 0,75 ^b
90	4	20,00 ± 0,65 ^c

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p < 0,01$ düzeyinde farklıdır.

Peynirlerin Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları incelendiğinde, örneklerdeki yağ miktarının depolama boyunca düştüğü görülmektedir. Yağ miktarındaki azalmanın depolama boyunca kurumadde miktarında meydana gelen düşüşten kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer olarak, Erkaya and Şengül (2015) tarafından probiyotik bakteri katılarak üretilen Beyaz peynirlerin yağ miktarları da, kurumadde miktarları ile paralel olarak, 120 günlük depolama boyunca azalma eğilimi göstermiştir. Öner *et al.* (2006) mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerini inceledikleri Beyaz peynirdeki yağ miktarının depolama boyunca kurumadde miktarına paralel olarak azaldığını ifade etmişlerdir.

Kurumadde miktarı

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen kurumadde miktarları Tablo 45'te, varyans analizi sonuçları ise Tablo 46'da verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin kurumadde miktarları üzerinde peynir örneği ve depolama süresi faktörlerinin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunurken peynir örneği x depolama süresi interaksiyonunun etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur. Peynir örneklerine ait en yüksek kurumadde miktarı (%43,58) depolamanın başlangıcında P2 örneğinde belirlenirken, en düşük kurumadde miktarı (%37,45) ise P1 örneğinde depolamanın 90. gününde belirlenmiştir.

Depolamanın her bir gününde P1 ve P2 örnekleri arasındaki farklılığın değerlendirilebilmesi için yapılan bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin kurumadde miktarları arasında bulunan önemli değişiklikler Tablo 51'de verilmiştir.

Tablo 51. Bağımsız Örneklem *t*-Testine Göre Örneklerin Kurumadde Miktarları Arasında Belirlenen Farklılıklar

Fizikokimyasal Özellik	Depolama Süresi (Gün)	Peynir Örnekleri		P
		P1	P2	
Kurumadde (%)	1*	42,82 ± 0,11	43,58 ± 0,14	0,027
	30	41,40 ± 0,42	42,54 ± 0,28	0,087
	60*	38,58 ± 0,14	39,91 ± 0,12	0,010
	90	37,45 ± 0,63	38,60 ± 0,15	0,131

* (p<0,05) düzeyinde önemli; ** (p<0,01) düzeyinde önemli

Peynirlerin *t*-testi sonuçlarına göre, depolamanın 30. ve 90. günlerinde örnekler arasında herhangi bir fark bulunamazken, 1. ve 60. günde P2 örneğinin kurumadde miktarı P1 örneğinden istatistiki olarak p<0,05 düzeyinde yüksek bulunmuştur.

Beyaz peynir örneklerinin kurumadde miktarları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 52’de verilmiştir.

Tablo 52. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Kurumadde Miktarları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	Kurumadde
1	4	43,20 ± 0,45 ^a
30	4	41,97 ± 0,72 ^b
60	4	39,25 ± 0,78 ^c
90	4	38,03 ± 0,76 ^d

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,01 düzeyinde farklıdır.

Örneklerin Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre peynirlerin kurumadde miktarları depolama boyunca düşmüştür. Benzer olarak, Devranbay (2016) tarafından üretilen farklı kekik ve kimyon içeren Beyaz peynirlerinde en yüksek kurumadde miktarları depolamanın başında (%41,78) tespit edilmiş olup, depolama boyunca azalmış ve en düşük değer (%34,46) 90. günde bulunmuştur. Hayaloğlu *et al.* (2005), farklı starter kültür kombinasyonları ve kültür katılmadan üretilen Beyaz peynirlerin kurumadde miktarlarının da depolama boyunca azaldığını tespit etmişlerdir. Beyaz peynirde depolama boyunca meydana gelen kurumadde miktarındaki azalma diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Dağdemir 2006; Öner *et al.* 2006).

NaCl miktarı

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen NaCl miktarları Tablo 45'te, varyans analizi sonuçları ise Tablo 46'da verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin NaCl miktarları üzerinde depolama süresi faktörünün etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunurken, peynir örneği ve peynir örneği x depolama süresi interaksiyonunun etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük NaCl miktarı (%4,21) depolamanın başlangıcında her iki örnekte belirlenirken, en yüksek NaCl miktarı (%5,50) ise P1 örneğinde depolamanın 90. gününde belirlenmiştir.

Depolamanın her bir gününde P1 ve P2 örnekleri arasındaki farklılığın değerlendirilebilmesi için yapılan bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin NaCl miktarları arasında önemli bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

Beyaz peynir örneklerinin NaCl miktarları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 53'te verilmiştir.

Tablo 53. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait NaCl Miktarları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	NaCl
1	4	4,21 ± 0,00 ^d
30	4	4,72 ± 0,05 ^c
60	4	4,91 ± 0,00 ^b
90	4	5,44 ± 0,12 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,01$ düzeyinde farklıdır.

Peynirlere ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre depolama boyunca örneklerdeki NaCl miktarı artmış ve bu artışın istatistiki olarak önemli olduğu ($p<0,01$) bulunmuştur. Benzer olarak Cankurt (2018) tarafından gerçekleştirilen çalışmada farklı stabilizörler kullanılarak üretilen ve %12 NaCl içeren salamura bekletilen Beyaz peynirlerdeki en düşük tuz oranı (%4,06) depolamanın başında belirlenmiştir. Tüm örneklerdeki NaCl miktarı depolama boyunca artmış ve en yüksek tuz oranı (%6,00) depolamanın sonu olan 30. günde tespit edilmiştir. Kara (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da çiğ ve haşlanmış kişniş katılarak üretilen Beyaz peynirlerdeki NaCl miktarının depolama boyunca arttığı ifade edilmiştir.

Protein miktarı

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen protein miktarları Tablo 45'te, varyans analizi sonuçları ise Tablo 46'da verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin protein miktarları üzerinde peynir örneği, depolama süresi ve peynir örneği x depolama süresi interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Peynir örneklerine ait en yüksek protein miktarı (%16,32) depolamanın başlangıcında P2 örneğinde belirlenirken, en düşük protein miktarı (%12,39) ise yine P2 örneğinde depolamanın 90. gününde belirlenmiştir.

Depolamanın her bir gününde P1 ve P2 örnekleri arasındaki farklılığın değerlendirilebilmesi için yapılan bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin protein miktarları arasında bulunan önemli değişiklikler Tablo 54'te verilmiştir.

Tablo 54. Bağımsız Örneklem *t*-Testine Göre Örneklerin Protein Miktarları Arasında Belirlenen Farklılıklar

Fizikokimyasal Özellik	Depolama Süresi (Gün)	Peynir Örnekleri		p
		P1	P2	
Protein (%)	1	16,25 ± 0,14	16,32 ± 0,11	0,639
	30*	15,64 ± 0,05	15,05 ± 0,07	0,012
	60	13,71 ± 0,12	13,70 ± 0,07	0,931
	90	12,54 ± 0,08	12,39 ± 0,02	0,141

*($p<0,05$) düzeyinde önemli; ** ($p<0,01$) düzeyinde önemli

Peynir örneklerinin *t*-testi sonuçlarına göre depolamanın yalnızca 30. gününde P1 örneğinin protein miktarı istatistiki olarak $p<0,05$ düzeyinde P2 örneğinden yüksek bulunmuş, diğer günlerde fark bulunamamıştır.

Beyaz peynir örneklerinin protein miktarları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 55'te verilmiştir.

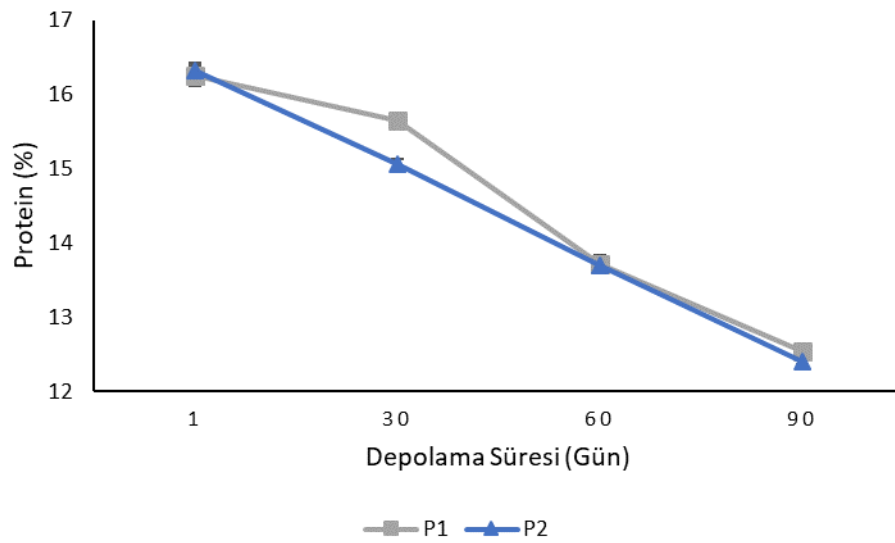
Tablo 55. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Protein Miktarları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	Protein
1	4	16,28 ± 0,11 ^a
30	4	15,35 ± 0,34 ^b
60	4	13,71 ± 0,08 ^c
90	4	12,47 ± 0,10 ^d

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,01$ düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre, depolama süresince protein miktarında istatistiksel olarak önemli düzeyde ($p<0,01$) azalma belirlenmiştir. Salamura peynirlerin protein miktarlarında görülen bu azalma proteinlerin suda çözünen azotlu bileşenlere dönüşerek salamuraya geçmeleri ile açıklanmaktadır (Karaca 2007). Benzer olarak Erkaya and Şengül (2015) tarafından probiyotik kültür katılarak salamura ve vakum ambalajlarda depolanan Beyaz peynirlerin özellikleri incelenmiştir. Buna göre salamurada depolanan örneklerin protein miktarlarında azalma olurken, vakum ambalajla depolanan örneklerin protein miktarlarında istatistiki olarak bir fark olmadığı ifade edilmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin protein miktarlarına ait peynir örneği x depolama süresi interaksyonu Şekil 33'te verilmiştir.



Şekil 33. Beyaz peynir örneklerinin protein miktarlarının depolama süresi boyunca değişimi. (P1) *L. lactis* L54 inoküle edilen peynir, (P2) ticari kültür inoküle edilen peynir

Şekil 30 incelendiğinde örneklerin protein miktarları depolama boyunca düşüş göstermiş ve 30. günde P2 örneğinin protein miktarı P1 örneğinden düşük bulunmuştur.

Duyusal Analiz

Depolama süresince Beyaz peynir örneklerinin duyu özelliklerinde meydana gelen değişimler Tablo 56'da, duyu analiz parametrelerine ait varyans analizi test sonuçları ise Tablo 57'de verilmiştir. Panelistler tarafından Beyaz peynir örneklerinin renk, tekstür, tat ve koku, tuzluluk, oksidasyon ve genel kabul edilebilirlik özellikleri değerlendirilmiştir.

Tablo 56. Beyaz Peynir Örneklerine Yapılan Duyusal Analiz Sonuçları

Duyusal Özellikler	Depolama Süresi (Gün)	Peynir Örnekleri	
		P1	P2
Renk	1	8,34 ± 0,87	8,10 ± 0,86
	30	8,50 ± 0,89	8,50 ± 0,89
	60	8,25 ± 0,85	8,25 ± 0,77
	90	8,03 ± 0,74	7,92 ± 0,92
Tekstür	1	8,06 ± 1,36	7,34 ± 1,28
	30	7,69 ± 1,13	7,94 ± 0,99
	60	7,94 ± 1,06	8,13 ± 0,80
	90	7,63 ± 1,18	7,16 ± 1,07
Tat ve Koku	1	7,51 ± 1,41	7,71 ± 1,12
	30	7,63 ± 0,81	7,69 ± 0,79
	60	8,13 ± 0,80	8,19 ± 0,66
	90	7,32 ± 1,24	7,40 ± 0,79
Tuzluluk	1	4,97 ± 1,53	5,09 ± 1,81
	30	5,44 ± 2,53	5,56 ± 2,53
	60	8,00 ± 0,73	8,07 ± 0,77
	90	7,81 ± 0,54	7,75 ± 0,45
Oksidasyon	1	8,40 ± 1,02	8,56 ± 0,51
	30	8,31 ± 0,87	8,31 ± 0,87
	60	8,25 ± 0,66	8,25 ± 0,68
	90	7,84 ± 0,77	8,06 ± 0,25
Genel Kabul Edilebilirlik	1	7,79 ± 0,80	7,62 ± 0,81
	30	7,50 ± 0,80	7,52 ± 0,82
	60	8,13 ± 0,72	8,13 ± 0,62
	90	7,66 ± 0,66	7,49 ± 0,63

(P1) *L. lactis* L54 inoküle edilen peynir, (P2) ticari kültür inoküle edilen peynir. Verilen değerler üç tekerrür ortalaması ve standart sapmalarıdır.

Tablo 57. Beyaz Peynir Örneklerinin Duyusal Analiz Parametrelerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	F					
		Renk	Tekstür	Tat ve Koku	Tuzluluk	Oksidasyon	Genel Kabul Edilebilirlik
Peynir Örneği (A)	1	0,346	0,888	0,329	0,050	0,510	0,389
Depolama Süresi (B)	3	2,083	1,797	3,638*	30,293**	2,841*	4,503**
AxB	3	0,145	1,460	0,037	0,025	0,179	0,162
Hata	120						
Genel	128						

*($p<0,05$) düzeyinde önemli; ** ($p<0,01$) düzeyinde önemli

Renk

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen renk puanları Tablo 56'da, varyans analizi sonuçları ise Tablo 57'de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin renk puanları üzerinde peynir örneği, depolama süresi ve peynir örneği x depolama süresi etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

Bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin renk puanları arasında da önemli bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Tekstür

Peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen tekstür puanları Tablo 56'da, varyans analizi sonuçları ise Tablo 57'de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, örneklerin tekstür puanları üzerinde peynir örneği, depolama süresi ve peynir örneği x depolama süresi etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$) bulunmuştur.

Bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin tekstür puanları arasında da önemli bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Tat ve koku

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen tat ve koku puanları Tablo 56'da, varyans analizi sonuçları ise Tablo 57'de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin tat ve koku puanları üzerinde depolama süresinin etkisi istatistiksel olarak

önemli ($p<0,05$) bulunurken, peynir örneği ve peynir örneği x depolama süresi interaksyonu etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Bağımsız örneklem t -testine göre örneklerin tat ve koku puanları arasında da önemli bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin tat ve koku puanları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 58’de verilmiştir.

Tablo 58. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Tat ve Koku Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	Tat ve Koku
1	32	$7,61 \pm 1,26^b$
30	32	$7,66 \pm 0,79^b$
60	32	$8,16 \pm 0,72^a$
90	32	$7,36 \pm 1,03^b$

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları incelendiğinde Beyaz peynirlerin tat ve koku özelliklerinin 60. günde en yüksek puanları aldığı, diğer günlerde ise istatistiksel olarak bir fark olmadığı ($p>0,05$) görülmektedir. Örneklerin en çok 60. günde beğenilmesi tüketicilerin olgunlaşmış Beyaz peynir sevmeleriyle açıklanabilir.

Tuzluluk

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen tuzluluk puanları Tablo 56’da, varyans analizi sonuçları ise Tablo 57’de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin tuzluluk puanları üzerinde peynir örneği ve peynir örneği x depolama süresi interaksyonu etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$), depolama süresi etkisinin ise önemli ($p<0,01$) olduğu bulunmuştur.

Bağımsız örneklem t -testine göre örneklerin tuzluluk puanları arasında da önemli bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin tuzluluk puanları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 59’da verilmiştir.

Tablo 59. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Tuzluluk Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	Tuzluluk
1	32	5,03 ± 1,65 ^b
30	32	5,50 ± 2,49 ^b
60	32	8,03 ± 0,74 ^a
90	32	7,78 ± 0,49 ^a

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p < 0,01$ düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre, peynir örneklerinin 60. ve 90. günlerindeki tuzluluk puanları 1. ve 30. günlerden yüksek bulunmuştur. Tuzlu tat için 8-9 normal, 7-6 az var, 5-4 yok, 3-2 var, 1 çok var olarak değerlendirilmiştir. Buna göre panelistler 1. ve 30. günlerde örnekleri tuzsuz bulurken, 60. ve 90. günlerde normal bulmuşlardır.

Oksidasyon

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen oksidasyon puanları Tablo 56'da, varyans analizi sonuçları ise Tablo 57'de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin oksidasyon puanları üzerinde depolama süresinin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) bulunurken, peynir örneği ve peynir örneği x depolama süresi etkisi istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin oksidasyon puanları arasında da önemli bir farklılık olmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin oksidasyon puanları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 60'ta verilmiştir.

Tablo 60. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Oksidasyon Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	Oksidasyon
1	32	8,48 ± 0,80 ^a
30	32	8,31 ± 0,86 ^{ab}
60	32	8,25 ± 0,67 ^{ab}
90	32	7,95 ± 0,57 ^b

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları incelendiğinde, Beyaz peynirlere ait oksidasyon puanlarının depolama boyunca düştüğü görülmektedir. Puanlarda düşüş olmasına rağmen peynirlerdeki oksidasyon 90. günde dahi kabul edilebilir değerlerin üzerinde bulunmuştur.

Genel kabul edilebilirlik

Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince belirlenen genel kabul edilebilirlik puanları Tablo 56’da, varyans analizi sonuçları ise Tablo 57’de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre, peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanları üzerinde depolama süresinin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunurken, peynir örneği ve peynir örneği x depolama süresi interaksyonu etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Bağımsız örneklem *t*-testine göre örneklerin genel kabul edilebilirlik puanları arasında da önemli bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanları açısından depolama süreleri arasındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Tablo 61’de verilmiştir.

Tablo 61. Beyaz Peynir Örneklerinin Depolama Sürelerine Ait Genel Kabul Edilebilirlik Puanları Ortalamalarının Duncan Çoklu Karşılaştırma Test Sonuçları

Depolama Süresi (Gün)	n	Genel Kabul Edilebilirlik
1	32	$7,70 \pm 0,80^b$
30	32	$7,51 \pm 0,80^b$
60	32	$8,12 \pm 0,66^a$
90	32	$7,58 \pm 0,64^b$

* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden $p<0,01$ düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre, Beyaz peynirlerin genel kabul edilebilirlik puanları 60. günde depolamanın diğer günlerine nazaran daha yüksek bulunmuştur. Benzer sonuçlar örneklerin tat ve koku puanları arasında da tespit edilmiştir. Söz konusu durumun panelistlerin taze peynirden ziyade olgunlaşmış peynir tadını sevmeleriyle açıklanabileceği düşünülmektedir. Depolamanın son gününde meydana gelen düşüş ise oksidasyon ve tuz miktarındaki artış gibi durumlardan kaynaklanabilmektedir.

Duyusal analiz puanları genel olarak değerlendirildiğinde *L. lactis* L54 kullanılarak üretilen peynirlerin istatistiki olarak kontrol peynirinden farklı olmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmamıza benzer olarak, Çolak Şaşmazer (2022) tarafından *B. bifidum* BB-12 ve *L. acidophilus* LA-5 kullanılarak üretilen probiyotik peynirin kontrol peyniri ile istatistiksel anlamda fark bulunmadığı ifade edilmiştir. Özer *et al.* (2009) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da probiyotik bakteri kullanılarak üretilen Beyaz peynirlerin duysal özelliklerinin kontrol peynirinden farklı olmadığı tespit edilmiştir. Öte yandan, Dağdemir (2006) farklı kültür kombinasyonları kullanılarak (A: *L. lactis* spp. *lactis* + *L. lactis* spp. *cremoris*, B: *L. lactis* spp. *lactis* + *L. lactis* spp. *cremoris* + *E. faecalis*, C: *L. lactis* spp. *lactis* + *L. lactis* spp. *cremoris* + *L. casei*) üretilen peynirlere ait duysal değerlendirmede ise B peynirinin en yüksek tekstür, tat ve koku ve genel kabul edilebilirlik puanlarını aldığını bildirmiştir.



SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Erzurum piyasasından temin edilen 20 adet Beyaz peynir örneğinin mikrobiyolojik analiz sonuçları incelendiğinde bazı örneklerde bulunan maya ve koliform grubu bakterilerin sayılarının çok yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun sütün pastörize edilmeden kullanılması ve/veya pastörizasyondan sonraki üretim, ambalajlama ve taşıma işlemlerinde uygulanması gereken hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmadığından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.
2. Beyaz peynir örneklerinden izolen edilen 144 adet LAB'dan (82 MRS agardan, 62 KAA agardan) yalnızca 2 tanesinin heterofermentatif olduğu kalan 142 suşun ise homofermantatif özellik gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca 81 (%56,25) tanesi arjinini hidrolize edebilirken 63 (%43,75) tanesinin edemedikleri tespit edilmiştir.
3. Farklı sıcaklıklarda gelişme özellikleri incelenen LAB'lardan 47 (%32,6) tanesinin Beyaz peynirin de depolama sıcaklıkları olan 4, 10 ve 15 °C'lerde üreyebildikleri saptanmıştır.
4. LAB'ların farklı NaCl konsantrasyonlarına dayanımı incelendiğinde ise 96 (%66,67) tanesinin %6,5 NaCl içeren besiyerinde gelişme gösterdiği kalan 48 (%33,33) suşun ise gelişemediği belirlenmiştir.
5. Beyaz peynirin pH değeri 4,5'in altına kadar düşebilmektedir. Bu sebeple izolatlar değerlendirilirken pH 3,9 eşik değer olarak seçilmiştir. Farklı pH değerlerinde gelişimleri incelenen LAB'lardan 30 (%20,8) tanesi pH 3,9'da gelişebilirken kalan izolatlar bu pH değerinde gelişim göstermemiştir.
6. Asit üretme hızları tespit edilen izolatlardan L20, L22, L36, L38, L39, L46, L52, L66, L69, L70, L71, L72, L81, E212 ve E226'nın yüksek asit üretme kapasitesine (>2 birim) sahip oldukları belirlenmiştir. Bu izolatların diğer teknolojik özelliklerinin de uygun bulunması halinde Beyaz peynirde starter kültür olarak kullanılabilecekleri kanaatine varılmıştır.
7. EFSA tarafından önerilen antibiyotiklere karşı dirençleri ölçülen LAB'ların genel olarak gentamisin, kanamisin ve streptomisine karşı dirençli oldukları, ampisilin, vankomisin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin ve kloramfenikole karşı ise hassas oldukları tespit edilmiştir. LAB'ların gentamisin, kanamisin ve streptomisine karşı içgüdüsel olarak dirençli oldukları bilinmektedir. Gıdalarda kullanılacak olan kültürlerin taşınabilir direnç genlerini içermemeleri gerekmektedir. Bu sebeple sonraki

- aşamalarda izolatların taşınabilir direnç geni içerip içermediklerinin belirlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.
8. Yüksek proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip suşlar Beyaz peynirde yumuşama ve ransit tat oluşumuna neden olabilmektedirler. Çalışmada kullanılan metotlar ile yüksek proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahip suşlar belirlenebilmektedir. Bu sebeple proteolitik ve lipolitik aktivite göstermeyen tüm suşların diğer teknolojik özelliklerine bağlı olarak Beyaz peynir üretiminde kullanılabilecekleri kanaatine varılmıştır.
 9. Gıdalarda bulunabilen bazı önemli patojenlere karşı antogonistik aktiviteleri belirlenen LAB'ların supernatatlarına uygulanan pH ayarlama, enzim ve sıcaklık uygulamaları antimikrobiyal etkinin kaynağının anlaşılmasına yardımcı olmuştur. Buna göre aktivitelerinin daha çok asit üretiminden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Öte yandan L41, L54, E208 ve E260 suşlarının muhtemel bakteriyosin üreticisi oldukları belirlenmiştir.
 10. İzolatların 16S rRNA dizi analizleri sonuçlarına göre peynirlerde (*E. faecium*, *S. lutetiensis*, *E. faecalis*, *L. lactis*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *S. macedonicus*, *L. curvatus*, *L. paracasei* spp. *tolerans*, *E. durans*, *L. delbrueckii* spp. *lactis*, *E. italicus*, *L. pseudomesenteroides*, *L. paraplantarum*, *P. parvulus*) 14 farklı tür ve 15 farklı suşa ait LAB izolatlarının bulunduğu belirlenmiştir.
 11. İzolatların tüm teknolojik özellikleri göz önüne alındığında *S. macedonicus* L36, *L. lactis* L46 ve *L. lactis* L52'nin Beyaz peynirde starter kültür olarak kullanılabilecekleri belirlenmiştir.
 12. Bakteriyosin genlerinin içerip içermedikleri test edilen LAB'lardan yalnızca *L. lactis* L54'ün nisin genini içerdiği tespit edilmiştir.
 13. Bakteriyosin karakterizasyonu analizlerine göre nisin L54'ün bakteriyel gelişimin 6. saatinde üretilmeye başlanıp, 15. saatte maksimum aktivitesine ulaştığı ve 24. saatte kadar aktivitesini koruduğu anlaşılmıştır. *In vitro* koşullarda nisin L54 *L. monocytogenes* gelişimini tamamen inhibe edebilmiştir. Ayrıca nisin L54 yüksek sıcaklıklar, gıdalarda bulunabilen proteolitik olmayan çeşitli enzimler, gıda sanayii ve endüstride kullanılan çeşitli kimyasallar ve düşük pH değerlerine karşı stabilitesini oldukça iyi korumuştur. Bakteriyosin spektrumu belirlenen nisin L54'ün bazı Gram pozitif patojenlere ve LAB'lara karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Nisin L54 geninin dizi analiz sonuçları ise nisin F ile %100 homoloji gösterdiğini açığa çıkarmıştır. Tüm bu özellikler göz önüne alındığında nisin L54 üreten *L. lactis* L54'ün fermente gıdalarda biyokoruyucu kültür olarak kullanılabileceği sonucuna

varılmıştır. Ayrıca sonraki aşamalarda nisin L54'ün saflaştırılarak gıdalarda kullanılabilme potansiyelinin araştırılabileceği kanaatine varılmıştır.

14. Güvenlik değerlendirmesi yapılan *L. lactis* L54 suşunun hemolitik ve DNase aktivitesi göstermediği ve test edilen virülans genleri içermediği belirlenmiştir. Buna göre *L. lactis* L54'ün Beyaz peynirde güvenle kullanılabileceğini sonucuna varılmıştır.
15. Üretilen peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri incelendiğinde depolama boyunca *L. lactis* L54 ilave edilen örneklerdeki *L. monocytogenes* sayısı, kültür katılmadan sadece patojen aşılansarak üretilen peynirlerden istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulunmuştur.
16. Fizikokimyasal özellikler göz önüne alındığında *L. lactis* L54 ve ticari starter kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynirlerin arasında yağ, NaCl, kurumadde ve protein miktarları açısından çok önemli farklılıklar olmadığı belirlenmiştir. Öte yandan depolama boyunca *L. lactis* L54 katılarak üretilen peynirlerin pH değerleri ticari starter kültür katılarak üretilenlerden daha yüksek bulunmuştur.
17. Beyaz peynir örneklerinin duysal özellikleri incelendiğinde *L. lactis* L54 suşunun peynirin duysal özellikleri üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmadan kullanılabileceği görülmüştür.
18. Yapılan çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde nisin üreten *L. lactis* L54 suşunun Beyaz peynirde bakteriyostatik bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu suşun Beyaz peynirin fizikokimyasal ve duysal özelliklerini etkilemeden starter, yardımcı veya biyokoruyucu kültür olarak kullanılabileceği açığa çıkarılmıştır. Öte yandan *L. lactis* L54'ün asit üretme kapasitesi yüksek olan bir starter kültür veya patojene spesifik bakteriyofajlar ile birlikte kullanılması veya modifiye atmosfer gibi bir yöntemle desteklenmesinin etkinliğini daha da artıracığı görüşüne varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abriouel, H., Muñoz, M.D.C.C., Lerma, L.L., Montoro, B.P., Bockelmann, W., Pichner, R., Kabisch, J., Cho, G., Franz, C.M.A.P., Galvez, A., Benomar, N., 2015. New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus* species from fermented foods. *Food Research International*, 78, 465-481.
- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn-Król, M. and Varzakas, T., 2020. Lactic acid bacteria as antibacterial agents to extend the shelf life of fresh and minimally processed fruits and vegetables: Quality and safety aspects. *Microorganisms*, 8 (6), 952.
- Ahmed, N.H., El Soda, M., Hassan, A.N. and Frank, J., 2005. Improving the textural properties of an acid-coagulated (Karish) cheese using exopolysaccharide producing cultures. *LWT-Food Science and Technology*, 38, 843-847.
- Ahmad, V., Khan, M.S., Jamal, Q.M.S., Alzohairy, M.A., Al Karaawi, M.A. and Siddiqui, M.U., 2017. Antimicrobial potential of bacteriocins: In therapy, agriculture and food preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49, 1-11.
- Akpınar Kankaya, D. and Tuncer, Y., 2020. Antibiotic resistance in vancomycin-resistant lactic acid bacteria (VRLAB) isolated from foods of animal origin. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44 (6), e14468.
- Albayrak, Ç. B. and Duran, M., 2021. Isolation and characterization of aroma producing lactic acid bacteria from artisanal white cheese for multifunctional properties. *LWT-Food Science and Technology*, 150, 112053.
- Al-Holy, M.A., Al-Nabulsi, A., Osaili, T.M., Ayyash, M.M. and Shaker, R.R., 2012. Inactivation of *Listeria innocua* in brined white cheese by a combination of nisin and heat. *Food Control*, 23 (1), 48-53.
- Altın, C., Kabwanga, T.I., Kiran, F. and Özturkoğlu-Budak, S., 2023. Evaluation of autochthonous *Lactococcus lactis* spp. *lactis* strain as a candidate starter culture in white-brined cheese. *Food Science and Biotechnology*, 1-13.
- Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D. and Kuipers, O.P., 2016. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Applied microbiology and biotechnology*, 100, 2939-2951.
- Ammor, M.S. and Mayo, B., 2006. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science*, 76 (1), 138-146.
- Ammor, M. S., Flórez, A. B. and Mayo, B., 2007. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24 (6), 559-570.
- Anagnostopoulos, D. A., Bozoudi, D. and Tsaltas, D., 2018. Enterococci isolated from Cypriot green table olives as a new source of technological and probiotic properties. *Fermentation*, 4 (2), 48.
- Anastasiadou, S., Papagianni, M., Filiouis, G., Ambrosiadis, I. and Koidis, P., 2008. Pediocin SA-1, an antimicrobial peptide from *Pediococcus acidilactici* NRRL B5627: Production conditions, purification and characterization. *Bioresource Technology*, 99 (13), 5384-5390.

- Ankaiah, D., Palanichamy, E., Antonyraj, C. B., Ayyanna, R., Perumal, V., Ahamed, S. I. B. and Arul, V., 2018. Cloning, overexpression, purification of bacteriocin enterocin-B and structural analysis, interaction determination of enterocin-A, B against pathogenic bacteria and human cancer cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116, 502-512.
- Anonim, 1978. Peynirde Yağ Miktarı Tayini (Van Gulik Metodu), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, 2011. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. 29.12.2011-28157 Sayılı Resmi Gazete. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6-1.pdf> (16.04.2023).
- Anonim, 2013. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. 26693 Sayılı Resmi Gazete. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/06/20130630-4.htm> (09.02.2023).
- Anonymous, 1982. Determination of the total solid content (cheese and processed cheese) IDF Standard 4A, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Anonymous, 1993. Determination of the nitrogen and calculation of the crude protein content IDF Standard 20B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Anonymous, 1995. Guideline Determination of Acidifying Activity of Dairy Cultures. IDF Bulletin 306. Brussels, Belgium: international Dairy Federation.
- Anonymous, 2007. Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods - CAC/GL 61-2007. (<http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/CAC/GL 61-2007>).
- Anonymous, 2008. Food and animal feed microbiology - horizontal method for counting yeast and molds. ISO 21527-1. Geneva, Switzerland: International Standardisation Organisation.
- Anonymous, 2010. Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for the detection and enumeration of coliforms - most probable number technique. ISO 4831. Geneva, Switzerland: International Standardisation Organisation.
- Anonymous, 2012. Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal*, 10, 27–40.
- Anonymous, 2015. Microbiology of food and animal feeding stuffs/Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria/Colony-count technique at 30 degrees. ISO 15214:1998. Geneva, Switzerland: International Standardisation Organisation.
- Arellano, K., Vazquez, J., Park, H., Lim, J., Ji, Y., Kang, H.J., Donghyun, C., Jeong, H.W. and Holzapfel, W.H., 2020. Safety evaluation and whole-genome annotation of *Lactobacillus plantarum* strains from different sources with special focus on isolates from green tea. *Probiotics Antimicrobial Proteins*, 12 (3), 1057-1070.
- Araújo-Rodrigues, H., dos Santos, M.T.P., Ruiz-Moyano, S., Tavaría, F.K., Martins, A.P., Alvarenga, N. and Pintado, M.E., 2021. Technological and protective performance of LAB isolated from Serpa PDO cheese: Towards selection and development of an autochthonous starter culture. *LWT-Food Science and Technology*, 150, 112079.
- Aspri, M., Bozoudi, D., Tsaltas, D., Hill, C. and Papademas, P., 2017. Raw donkey milk as a source of *Enterococcus* diversity: Assessment of their technological properties and safety characteristics. *Food Control*, 73, 81-90.

- Ávila, M., Gómez-Torres, N., Gaya, P. and Garde, S., 2020. Effect of a nisin-producing lactococcal starter on the late blowing defect of cheese caused by *Clostridium tyrobutyricum*. *International Journal of Food Science & Technology*, 55 (10), 3343-3349.
- Ayağ, N., 2017. Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerinin Gama Aminobütirik Asit (GABA) İçeriği ile Serbest Amino Asit Profillerinin Belirlenmesi. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Azak, M.G., Kılıç, H., Hızlısoy, H. ve Abay, S., 2012. Erzincan ili Tulum peynirlerinden *Listeria* spp. izolasyonu ve identifikasyonu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9 (3), 149-156.
- Azhar, N. S., Zin, N.H., Haziyaamin, T. and Abdul, T., 2017. *Lactococcus lactis* strain A5 producing nisin-like bacteriocin active against Gram positive and negative bacteria driven. *Tropical Life Sciences Research*, 28 (2), 107-118.
- Barbosa, M. S., Todorov, S.D., Ivanova, I.V., Belguesmia, Y., Choiset, Y., Rabesona, H., Chobert, J.M., Haertlé, T. and Franco, B.D.G.M., 2016. Characterization of a two-peptide plantaricin produced by *Lactobacillus plantarum* MBSa4 isolated from Brazilian salami. *Food Control*, 60, 103-112.
- Benga, L., Benten, W.P.M., Engelhardt, E., Kohrer, K., Gougoula, C. and Sager, M., 2014. 16S ribosomal DNA sequence-based identification of bacteria in laboratory rodents: a practical approach in laboratory animal bacteriology diagnostics. *Laboratory Animals*, 48 (4), 305-312.
- Bintsis, T., 2018. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4 (4), 665.
- Biscola, V., Todorov, S.D., Capuano, V.S.C., Abriouel, H., Gálvez, A. and Franco, B.D.G. D.M., 2013. Isolation and characterization of a nisin-like bacteriocin produced by a *Lactococcus lactis* strain isolated from charqui, a Brazilian fermented, salted and dried meat product. *Meat Science*, 93 (3), 607-613.
- Briges, M., 1953. The classification of lactobacilli by means of physiological tests. *Microbiology*, 9, 234-248.
- Bodyfelt, F.W., Tobias, J. and Trout, G.M., 1988. *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. Van Nostrand Reinhold, 598, New York.
- Cankurt, H. (2019). The effects of adding different stabilizers in brine on the physicochemical, sensory, microbiological and textural properties of white cheese. *Foods*, 8 (4), 1-15.
- Carr, F.J., Chill, D. and Maida, N., 2002. The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28, 281-370.
- Castellano, P., Ibarreche, M.P., Massani, M.B., Fontana, C., Vignolo, G.M., 20017. Strategies for Pathogen biocontrol using lactic acid bacteria and their metabolites: A focus on meat ecosystems and industrial environments. *Microorganisms*, 5, 38.
- Cavicchioli, V.Q., Camargo, A.C., Todorov, S.D. and Nero, L.A., 2017. Novel bacteriocinogenic *Enterococcus hirae* and *Pediococcus pentosaceus* strains with antilisterial activity isolated from Brazilian artisanal cheese. *Journal of Dairy Science*, 100 (4), 2526-2535.
- Ceylan, Z.G. and Demirkaya, A.K., 2007. Erzurum piyasasından temin edilen salamura Beyaz peynirlerde *Listeria monocytogenes* varlığı ve bazı mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 38 (2), 137-141.

- Cheigh, C.I., Choi, H.J., Park, H., Kim, S.B., Kook, M.C., Kim, T.S., Hwang, J.K. and Pyun Y.R., 2002. Influence of growth conditions on the production of a nisin-like bacteriocin by *Lactococcus lactis* spp. *lactis* A164 isolated from kimchi. *Journal of Biotechnology*, 95 (3), 225-235.
- Chen, P., Qiu, Y., Liu, G., Li, X., Cheng, J., Liu, K., Qu, W., Zhu, C., Kastelic, J.P., Han, B. and Gao, J., 2021. Characterization of *Streptococcus lutetiensis* isolated from clinical mastitis of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104 (1), 702-714.
- Colombo, M., Nero, L. A. and Todorov, S.D., 2020. Safety profiles of beneficial lactic acid bacteria isolated from dairy systems. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51, 787-795.
- Cosentino, S., Fadda, M.E., Deplano, M., Melis, R., Pomata, R. and Pisano, M.B., 2012. Antilisterial activity of nisin-like bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* spp. *lactis* isolated from traditional Sardinian dairy products. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 1-8.
- Cotter, P.D., Hill, C. and Ross, R.P., 2005. Bacteriocins: Developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3 (10), 777-788.
- Cui, Y., Zhang, C., Wang, Y., Shi, J., Zhang, L., Ding, Z., Q.u.X. and Cui, H., 2012. Class IIa bacteriocins: diversity and new developments. *International Journal of Molecular Sciences*, 3,16668-16707.
- Çolak Şaşmaz, R., 2022. Probiyotik Beyaz Peynir Üretim Olanaklarının Araştırılması. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Uludağ Üniversitesi, Bursa.
- Dağdemir, E., 2006. Salamura Beyaz Peynirlerden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Seçilen Bazı İzolatların Kültür Olarak Kullanılabilme İmkanları. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- da Silva Sabo, S., Vitolo, M., González, J.M.D. and Oliveira, R.P.d.S., 2014. Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria. *Food Research International*, 64, 527-536.
- Dal Bello, B., Zeppa, G., Bianchi, D.M., Decastelli, L., Traversa, A., Gallina, S., Coisson, J. D., Locatelli, M., Travaglia, F. and Cocolin, L., 2013. Effect of nisin-producing *Lactococcus lactis* starter cultures on the inhibition of two pathogens in ripened cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 66 (4), 468-477.
- Deegan, L.H., Cotter, P.D., Hill, C. and Ross, P., 2006. Bacteriocins: Biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *International Dairy Journal*, 16, 1058-1071.
- DeLisle, S. and Perl, T.M., 2003. Vancomycin-resistant enterococci: a road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance. *Chest* 123, 504-518.
- Devi, S.M. and Halami, P.M., 2011. Detection and characterization of pediocin PA-1/AcH like bacteriocin producing lactic acid bacteria. *Current Microbiology*, 63 (2), 181-5.
- Devranbay, Ş., 2016. Kekikli ve Kimyonlu Beyaz Peynir Üretimi. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar.
- de Kwaadsteniet, M., Ten Doeschate, K. and Dicks, L.M., 2008. Characterization of the structural gene encoding nisin F, a new lantibiotic produced by a *Lactococcus lactis* spp. *lactis* isolate from freshwater catfish (*Clarias gariepinus*). *Applied and environmental microbiology*, 74 (2), 547-549.

- Diep, D.B., Mathiesen, G., Eijsink, V.G.H. and Nes, I.F., 2009. Use of lactobacilli and their pheromone-based regulatory mechanism in gene expression and drug delivery. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10, 62-73.
- Diep, D.,B., Skaugen, M., Salehian, Z., Holo, H. and Nes, I.F., 2007. Common mechanisms of target cell recognition and immunity for class II bacteriocins. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 104, 2384-2389.
- Dimitrellou, D., Kandyliis, P., Sidira, M., Koutinas, A.A. and Kourkoutas, Y., 2014. Free and immobilized *Lactobacillus casei* ATCC 393 on whey protein as starter cultures for probiotic Feta-type cheese production. *Journal of Dairy Science*, 97 (8), 4675-4685.
- Domingos-Lopes, M.F.P., Stanton, C., Ross, P.R., Dapkevicius, M.L.E. and Silva, C.C.G., 2017. Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food Microbiology*, 63, 178-190.
- Drider, D., Fimland, G., Hechard, Y., McMullen, L.M. and Prevost, H., 2006. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70 (2), 564-82.
- Drosinos, E. H., Paramithiotis, S., Kolovos, G., Tsikouras, I. and Metaxopoulos, I., 2007. Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*, 24 (3), 260-270.
- Du Toit, M., Franz, C.M., Dicks, L.M. and Holzapfel, W.H., 2000. Preliminary characterization of bacteriocins produced by *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolated from pig faeces. *Journal of Applied Microbiology*, 88 (3), 482-94.
- El Issaoui, K., Khay, E.O., Abrini, J., Zinebi, S., Amajoud, N., Senhaji, N.S. and Abriouel, H., 2021. Molecular identification and antibiotic resistance of bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from table olives. *Archives of Microbiology*, 203, 597-607.
- Enkhtur, B., 2021. Fermente Gıdılardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Ektzopolisakkaritlerin Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun.
- Erkaya, T. and Şengül, M., 2015. Bioactivity of water soluble extracts and some characteristics of white cheese during the ripening period as effected by packaging type and probiotic adjunct cultures. *Journal of Dairy Research*, 82 (1), 47-55.
- Erginkaya, Z., Turhan, E.U. and Tatlı, D., 2018. Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. *Iranian journal of veterinary research*, 19 (1), 53-56.
- Esen, Y., 2021. Sürk Mikrobiyotasının Belirlenmesi ve Uygun Suşlar Kullanılarak Üretilen Sürklerin Olgunlaşma Periyodu Boyunca İncelenmesi. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Eshaghi, A., Shahinas, D., Li, A., Kariyawasam, R., Banh, P., Desjardins, M., Melano, R.G. and Patel, S.N., 2015. Characterization of an *Enterococcus gallinarum* isolate carrying a dual *vanA* and *vanB* cassette. *Journal of clinical microbiology*, 53 (7), 2225-2229.
- Falardeau, J., Trmčić, A. and Wang, S., 2021. The occurrence, growth, and biocontrol of *Listeria monocytogenes* in fresh and surface-ripened soft and semisoft cheeses. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20 (4), 4019-4048.
- Favaro, L., Basaglia, M., Casella, S., Hue, I., Dousset, X., Gombossy de Melo Franco, B.D. and Todorov, S.D., 2014. Bacteriocinogenic potential and safety evaluation of

- non-starter *Enterococcus faecium* strains isolated from home made white brine cheese. Food Microbiology, 38, 228-39.
- Favaro, L., Penna, A.L B. and Todorov, S.D., 2015. Bacteriocinogenic LAB from cheeses—application in biopreservation? Trends in Food Science & Technology, 41 (1), 37-48.
- Federici, S., Ciarrocchi, F., Campana, R., Ciandrini, E., Blasi, G. and Baffone, W., 2014. Identification and functional traits of lactic acid bacteria isolated from Ciauscolo salami produced in Central Italy. Meat Science, 98 (4), 575-84.
- Fox, P.F., 1989. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. Journal of Dairy Science, 72, 1379-1400.
- Fugl, A., Berhe, T., Kiran, A., Hussain, S., Laursen, M.F., Bahl, M.I., Hailu, Y., Sørensen, K.I., Guya, M.E., Ipsen, R. and Hansen, E.B., 2017. Characterisation of lactic acid bacteria in spontaneously fermented camel milk and selection of strains for fermentation of camel milk. International Dairy Journal, 73, 19-24.
- Furtado, D.N., Todorov, S.D., Landgraf, M., Destro, M.T. and Franco, B.D., 2015. Bacteriocinogenic *Lactococcus lactis* spp. *lactis* DF04Mi isolated from goat milk: Application in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh Minas-type goat cheese. Brazilian Journal of Microbiology, 46, 201-206.
- Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A. and Poznanski, E., 2009. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. International Dairy Journal, 19, 3-11.
- Franz, C.M.A.P., van Belkum, M.J., Holzapfel, W.H., Abriouel, H. and Gálvez, A., 2007. Diversity of enterococcal bacteriocins and their grouping in a new classification scheme. FEMS Microbiology Reviews, 31, 293-3.
- Frece, J., Vrdoljak, M., Filipčić, M., Jelić, M., Čanak, I., Jakopović, Ž., Pleadin, J., Gobin, I., Dragičević, T.L. and Markov, K., 2016. Microbiological quality and variability of natural microbiota in Croatian cheese maturing in lambskin sacks. Food Technology and Biotechnology, 54 (2), 129-134.
- Garcera, M.J.G., Elferink, M.G., Driessen, A.J. and Konings, W.N., 1993. *In vitro* pore-forming activity of the lantibiotic nisin: Role of protonmotive force and lipid composition. European Journal of Biochemistry, 212 (2), 417-422.
- Gómez, N.C., Ramiro, J.M.P., Quecan, B.X.V. and de Melo Franco, B.D.G., 2016. Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and *Escherichia coli* O157:H7 biofilms formation. Frontiers in microbiology, 7, 863-863.
- González, L., Sacristán, N., Arenas, R., Fresno, J.M. and Eugenia Tornadijo, M., 2010. Enzymatic activity of lactic acid bacteria (with antimicrobial properties) isolated from a traditional Spanish cheese. Food Microbiology, 27 (5), 592-597.
- Goyal, C., Malik, R.K. and Pradhan, D., 2018. Purification and characterization of a broad spectrum bacteriocin produced by a selected *Lactococcus lactis* strain 63 isolated from Indian dairy products. Journal of Food Science and Technology, 55 (9), 3683-369.
- Gönç, S. ve Kılıç, S., 2000. Beyaz peynirde *Listeria monocytogenes* aranması üzerinde bir araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 37 (1), 105-111.
- Guerra, N.P. and Pastrana, L., 2002. Nisin and pediocin production on mussel-processing waste supplemented with glucose and five nitrogen sources. Letters in Applied Microbiology, 34 (2), 114-118.

- Gupta, S., Mohanty, U. and Majumdar, R.K., 2021. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented fish product Shidal of India with reference to their probiotic potential. . LWT-Food Science and Technology, 146, 111641.
- Gutiérrez-Cortés, C., Suarez, H., Buitrago, G., Nero, L.A. and Todorov, S.D., 2018a. Enhanced bacteriocin production by *Pediococcus pentosaceus* 147 in co-culture with *Lactobacillus plantarum* LE27 on cheese whey broth. Frontiers in Microbiology, 9, 2952-2952.
- Gutiérrez-Cortés, C., Suarez, H., Buitrago, G., Nero, L.A. and Todorov, S.D., 2018b. Characterization of bacteriocins produced by strains of *Pediococcus pentosaceus* isolated from Minas cheese. Annals of Microbiology, 68 (6), 383-398.
- Güner, A. and Telli, N., 2011. A survey on the presence of *Listeria monocytogenes* in various semi-hard cheeses from different regions of Turkey. Journal of Animal and Veterinary Advances, 10 (14), 1890-94.
- Gürsoy, O. and Kesenkaş, H., 2011. Peynir Mikrobiyolojisi. Peynir Biliminin Temelleri, Ed: A.A. Hayaloğlu, B. Özer. Sidas, İzmir, 399-562.
- Haddadin, S.Y., 2005. Kinetic studies and sensorial analysis of lactic acid bacteria isolated from white cheese made from sheep raw milk. Pakistan Journal of Nutrition, 4, 78-84.
- Halami, P. M., Ramesh, A. and Chandrashekar, A., 2005. Fermenting cucumber, a potential source for the isolation of pediocin-like bacteriocin producers. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21 (8), 1351-1358.
- Hammad, A.M., Hassan, H.A. and Shimamoto, T., 2015. Prevalence, antibiotic resistance and virulence of *Enterococcus* spp. in Egyptian fresh raw milk cheese. Food Control, 50, 815-820.
- Hanchi, H., Hammami, R., Kourda, R., Hamida, J.B., Fliss, I., 2014. Bacteriocinogenic properties and in vitro probiotic potential of Enterococci from Tunisian dairy products Archives of Microbiology. 196, 331-344.
- Harrigan, W.F., 1998. Laboratory methods in food microbiology. Academic Press San Diego, CA, USA.
- Hayaloğlu, A.A., 2017. Cheese varieties ripened under brine. Cheese, Ed: P.L.H., McSweeney, P. F., Fox, P.D. Cotter and D.W. Everett. Academic Press. 997-1040
- Hayaloğlu, A.A., Güven, M. and Fox, P.F., 2002. Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish white cheese 'Beyaz peynir'. International Dairy Journal, 12 (8), 635-648.
- Hayaloğlu, A.A., Guven, M., Fox, P F. and McSweeney, P.L.H., 2005. Influence of starters on chemical, biochemical, and sensory changes in Turkish white-brined cheese during ripening. Journal of Dairy science, 88 (10), 3460-3474.
- Hayaloğlu, A.A., Özer, B.H. and Fox, P.F., 2008. Cheeses of Turkey: Varieties ripened under brine. Dairy Science and Technology, 88 (2), 225-244.
- Hayaloğlu, A.A., 2009. Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese. International Journal of Food Science and Technology, 44, 1388-1394.
- Hayaloğlu, A.A., Topçu, A. ve Koca, N., 2011. Peynir Analizleri. Peynir Biliminin Temelleri, Ed: A.A. Hayaloğlu, B. Özer. Sidas, İzmir, 399-562.

- Hayek, S.A. and Ibrahim, S.A., 2013. Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 73-87.
- Hernández-González, J. C., Martínez-Tapia, A., Lazcano-Hernández, G., García-Pérez, B.E. and Castrejón-Jiménez, N.S., 2021. Bacteriocins from lactic acid bacteria. A powerful alternative as antimicrobials, probiotics, and immunomodulators in veterinary medicine. *Animals*, 11 (4), 979.
- Herrero, M., Mayo, B., Gonzalez, B. and Suarez, J.E., 1996. Evaluation of technologically important traits in lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentations. *Journal of Applied Microbiology*, 81 (5), 565-570.
- Holo, H., Jeknic, Z., Daeschel, M., Stevanovic, S. and Nes, I.F., 2001. Plantaricin W from *Lactobacillus plantarum* belongs to a new family of two-peptide lantibiotics. *Microbiology*, 147 (3), 643-51.
- Holzappel, W., Arini, A., Aeschbacher, M., Coppolecchia, R. and Pot, B., 2018. *Enterococcus faecium* SF68 as a model for efficacy and safety evaluation of pharmaceutical probiotics. *Beneficial Microbes*, 9 (3), 375-388.
- Hu, M., Zhao, H., Zhang, C., Yu, J. and Lu, Z., 2013. Purification and characterization of plantaricin 163, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 163 isolated from traditional Chinese fermented vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (47), 11676-82.
- Hwanhlem, N., Biscola, V., El-Ghaish, S., Jaffrès, E., Dousset, X., Haertlé, T., H-Kittikun, A. and Chobert, J.M., 2013. Bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from mangrove forests in southern Thailand as potential 501 bio-control agents: Purification and characterization of bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* spp. *lactis* KT2W2L. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 5 (4), 264-278.
- Islam, M.Z., Uddin, M.E., Rahman, M.T., Islam, M.A. and Harun-ur-Rashid, M., 2021. Isolation and characterization of dominant lactic acid bacteria from raw goat milk: Assessment of probiotic potential and technological properties. *Small Ruminant Research*, 205, 106532.
- Jahan, M., Krause, D.O. and Holley, R.A., 2013. Antimicrobial resistance of *enterococcus* species from meat and fermented meat products isolated by a PCR-based rapid screening method. *International Journal of Food Microbiology*, 163 (2), 89-95.
- Kaktcham, P.M., Kouam, E.M.F., Tientcheu, M.L.T., Temgoua, J.B., Wachter, C., Ngoufack, F.Z. and de Lourdes Perez-Chabela, M., 2019. Nisin-producing *Lactococcus lactis* spp. *lactis* 2MT isolated from freshwater Nile tilapia in Cameroon: Bacteriocin screening, characterization, and optimization in a low-cost medium. *LWT-Food Science and Technology*, 107, 272-279.
- Kara, T., 2016. Pıhtıya Çiğ ve Haşlanmış Kişniş (*Coriandrum Sativum* L.) Katılarak Üretilen Beyaz Peynirlerin Kalitesi. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Karaca, O.B., 2007. Mikrobiyel Kaynaklı Proteolitik ve Lipolitik Enzim Kullanımının Beyaz Peynirlerin Özellikleri ve Olgunlaşmaları Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Karakuş, M., Borçaklı, M., Alperden, I., 1992. Beyaz peynirin olgunlaşması sürecinde laktik asit bakterileri. *Gıda*, 17, 363- 369.
- Kasaroğlu, K., Akçelik, N., Şanlıbaba, P. and Akçelik, M., 2012. The effect of nisin producer strain *Lactococcus lactis* spp. *lactis* LL27 on the inhibition of *Listeria*

- monocytogenes* in Beyaz cheese. Selçuk Journal of Agriculture and Food Sciences, 26 (1), 77-83.
- Kaya, H.İ. and Şimşek, Ö., 2020. Characterization of *Pediococcus acidilactici* PFC69 and *Lactococcus lactis* PFC77 Bacteriocins and Their Antimicrobial Activities in Tarhana Fermentation. Microorganisms, 8, 1083.
- Kenneally, P.M., Leuschner, R.G. and Arendt, E.K., 1998. Evaluation of the lipolytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes. Journal of applied microbiology, 84, 839-846.
- Khalid, K., 2011. An overview of lactic acid bacteria. International Journal of Biosciences, 1 (3), 1-13.
- Khelissa, S., Chihib, N.E. and Gharsallaoui, A., 2021. Conditions of nisin production by *Lactococcus lactis* spp. *lactis* and its main uses as a food preservative. Archives of Microbiology, 203, 465-480.
- Kırmacı, H.A., Hayaloğlu, A.A., Özer, B., Akcelik, M. and Akkoc, N., 2011. Proteolytic properties of Turkish white-brined cheese (Beyaz peynir) made by using wild-type *Lactococcal* strains. International Journal of Dairy Technology, 64 (3), 394-401.
- Kingcha, Y., Tosukhowong, A., Zendo, T., Roytrakul, S., Luxananil, P., Chareonpornsook, K., Valyasevi, R., Sonomoto, K. and Visessanguan, W., 2012. Anti-listeria activity of *Pediococcus pentosaceus* BCC 3772 and application as starter culture for Nham, a traditional fermented pork sausage. Food Control, 25 (1), 190-196.
- Klein, G., Hallmann, C., Casas, I.A., Abad, J., Louwers, J. and Reuter, G., 2000. Exclusion of *vanA*, *vanB* and *vanC* type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods. Journal of Applied Microbiology, 89, 815-824.
- Kondrotiene, K., Lauciene, L., Andruleviciute, V., Kasetiene, N., Serniene, L., Sekmokiene, D. and Malakauskas, M., 2020. Safety assessment and preliminary *in vitro* evaluation of probiotic potential of *Lactococcus lactis* strains naturally present in raw and fermented milk. Current Microbiology, 77, 3013-3023.
- Konings, W.N., 2002. The cell membrane and the struggle for life of lactic acid bacteria. Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications. Ed: Siezen, R.J., Kok, J., Abee, T. and Schaafsma, G. Springer Science & Business Media, Dordrecht, Netherlands, 3–27.
- Kramarenko, T., Roasto, M., Keto-Timonen, R., Mäesaar, M., Meremäe, K., Kuningas, M., Hörman, A. and Korkeala, H., 2016. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat vacuum and modified atmosphere packaged meat and fish products of Estonian origin at retail level. Food Control, 67, 48-52.
- Kruger, M.F., Barbosa, M.d.S., Miranda, A., Landgraf, M., Destro, M.T., Todorov, S.D., and Gombossy de Melo Franco, B.D., 2013. Isolation of bacteriocinogenic strain of *Lactococcus lactis* spp. *lactis* from rocket salad (*Eruca sativa* Mill.) and evidences of production of a variant of nisin with modification in the leader-peptide. Food Control, 33 (2), 467-476.
- Kumari, A., Akkoc, N. and Akcelik, M., 2012. Purification and partial characterization of bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LL171. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28, 1647-1655.
- Larsen, M.H., Kallipolitis, B.H., Christiansen, J.K., Olsen, J.E. and Ingmer, H., 2006. The response regulator ResD modulates virulence gene expression in response to carbohydrates in *Listeria monocytogenes*. Molecular Microbiology, 61, 1622-1635.

- Lavilla-Lerma, L., Pérez-Pulido, R., Martínez-Bueno, M., Maqueda, M. and Valdivia, E., 2013. Characterization of functional, safety, and gut survival related characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from farmhouse goat's milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 163 (2-3), 136-145.
- Leroy, F. and De Vuyst, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science and Technology*, 15, 67-78.
- Lianou, A. and Koutsoumanis, K.P., 2013. Strain variability of the behavior of foodborne pathogens: A review. *International Journal of Food Microbiology*, 167, 310-321.
- Linares, D.M., Cruz Martin, M., Ladero, V., Alvarez, M.A. and Fernandez, M., 2011. Biogenic amines in dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51 (7), 691-703.
- Maldonado, A., Ruiz-Barba, J.L. and Jimenez-Diaz, R., 2003. Purification and genetic characterization of plantaricin NC8, a novel coculture-inducible two-peptide bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* NC8. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (1), 383-9.
- Mani-López, E., Palou, E. and López-Malo, A., 2018. Biopreservatives as agents to prevent food spoilage. *Microbial contamination and food degradation*. Ed: Holban, A.M. and Grumezescu, A.M. Academic Press, 235–270.
- Margalho, L.P., Feliciano, M.D.E., Silva, C.E., Abreu, J.S., Piran, M.V.F. and Sant'Ana, A.S., 2020. Brazilian artisanal cheeses are rich and diverse sources of nonstarter lactic acid bacteria regarding technological, biopreservative, and safety properties-insights through multivariate analysis. *Journal of Dairy Science*, 103 (9), 7908–7926.
- Marco, I. De, Fusieger, A., Augusto, L., Pinto, A. and Schittler, L., 2022. Biocatalysis and agricultural biotechnology bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) synthesized by *Lactococcus lactis* LLH20: Antilisterial activity and application for biopreservation of minimally processed lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, 102355.
- Martin-Platero, A.M., Valdivia, E., Maqueda, M. and Martinez-Bueno, M., 2009. Characterization and safety evaluation of enterococci isolated from Spanish goats' milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 132 (1), 24-32.
- Martínez-Cuesta, C.M., Bengoechea, J., Bustos, I., Rodríguez, B., Requena, T. and Peláez, C., 2010. Control of late blowing in cheese by adding lactacin 3147-producing *Lactococcus lactis* IFPL 3593 to the starter. *International Dairy Journal*, 20 (1), 18-24.
- Martínez-Cuesta, M.C., Kok, J., Herranz, E., Peláez, C., Requena, T. and Buist, G., 2000. Requirement of autolytic activity for bacteriocin-induced lysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (8), 3174-3179.
- Martinez, B., Suarez, J.E. and Rodriguez, A., 1995. Antimicrobials produced by wild lactococcal strains isolated from homemade cheeses. *Journal of Food Protection*, 58 (10), 1118-1123.
- Masuda, Y., Zendo, T. and Sonomoto, K., 2012. New type non-lantibiotic bacteriocins: circular and leaderless bacteriocins. *Beneficial Microbes*, 3, 3-12.
- Maturin L.J. and Peeler J.T., 1998. Aerobic Plate Count, Chapter 3, *Bacteriological Analytical Manual*, 8th Edition, Food and Drug Administration, Gaithersburg, MD, USA.
- Meleh, H.U., Choo, S., Mohd Desa, M.N., Chew, S.Y., Rangasamy, P., Hassan, H. and Than, L.T.L., 2020. Isolation and safety characterisation of lactobacilli strains with

- antimicrobial properties as potential probiotics for human use. *LWT-Food Science and Technology*, 131, 109796.
- Melo, J., Andrew, P.W. and Faleiro, M.L., 2015. *Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. *Food Research International*, 67, 75-90.
- Meral, H. and Korukluoğlu, M., 2014. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (2), 71-82.
- Millette, M., Dupont, C., Archambault, D. and Lacroix, M., 2007. Partial characterization of bacteriocins produced by human *Lactococcus lactis* and *Pediococcus acidilactici* isolates. *Journal of Applied Microbiology*, 102 (1), 274-282.
- Miquel, S., Beaumont, M., Martín, R., Langella, P., Braesco, V. and Thomas, M., 2015. A proposed framework for an appropriate evaluation scheme for microorganisms as novel foods with a health claim in Europe. *Microbial Cell Factories*, 14 (1), 1-11.
- Mohammed, S. and Çon, A.H., 2021. Isolation and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria from traditional cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 152, 112319.
- Mulaw, G., Sisay Tessema, T., Muleta, D. and Tesfaye, A., 2019. *In vitro* evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from some traditionally fermented Ethiopian food products. *International Journal of Microbiology*, 2019, 1-11.
- Musikasang, H., Tani, A., H-kittikun, A. and Maneerat, S., 2009. Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (8), 1337-1345.
- Nagpal, R., Wang, S., Ahmadi, S., Hayes, J., Gagliano, J., Subashchandrabose, S. and Yadav, H., 2018. Human-origin probiotic cocktail increases short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. *Scientific Reports*, 8 (1), 12649.
- Nigutova, K., Serencova, L., Piknova, M., Javorsky, P. and Pristas, P., 2008. Heterologous expression of functionally active enterolysin A, class III bacteriocin from *Enterococcus faecalis*, in *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification*, 60, 20-24.
- Nikodinoska, I., Tabanelli, G., Baffoni, L., Gardini, F., Gaggia, F., Barbieri, F. and Di Gioia, D., 2023. Characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented sausages: Bioprotective, technological and functional properties. *Foods*, 12 (4), 727.
- Novella-rodriguez, S., Veciana-nogues, M.T. and Vidal-carou, M.C., 2000. Biogenic amines and polyamines in milks and cheeses by ion-pair high performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (11), 5117-5123.
- Olaimat, A.N., Al-Holy, M.A., Shahbaz, H.M., Al-Nabulsi, A.A., Abu Ghoush, M.H., Osaili, T.M., Ayyash, M.M. and Holley, R.A., 2018. Emergence of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes* isolated from food products: A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17 (5), 1277-1292.
- Oliveira, M.M.M., Brugnera, D.F., Alves, E. and Piccoli, R.H., 2010. Biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface and biotransfer potential. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 97-106.
- O'Connor, P.M., O'Shea, E.F., Guinane, C.M., O'Sullivan, O., Cotter, P.D., Ross, R.P. and Hill, C., 2015. Nisin H is a new nisin variant produced by the gut-derived strain

- Streptococcus hyointestinalis* DPC6484. Applied and Environmental Microbiology, 81, 3953-3960.
- Oppegård, C., Rogne, P., Emanuelsen, L., Kristiansen, P.E., Fimland, G. and Nissen-Meyer, J., 2007. The two-peptide class II bacteriocins: Structure, production, and mode of action. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 13, 210-219.
- Öner, Z., Gül Karahan, A. and Aloğlu, H., 2006). Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. LWT-Food Science and Technology, 39 (5), 449-454.
- Özer, B., Kırmacı, H.A., Genel, E., Atamer, M. and Hayaloğlu, A., 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. International Dairy Journal, 19, 22-29.
- Özer, B., Kırmacı, H.A., Hayaloğlu, A.A., Akçelik, M. and Akkoc, N., 2011. The effects of incorporating wild-type strains of *Lactococcus lactis* into Turkish white-brined cheese (Beyaz peynir) on the fatty acid and volatile content. International Journal of Dairy Technology, 64 (4), 494-501.
- Özoğlu, F., and Hamed, I., 2018. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 58(10), 1660-1670.
- Padilla, C. and Lobos, O., 2013. Virulence, bacterocin genes and antibacterial susceptibility in *Enterococcus faecalis* strains isolated from water wells for human consumption. Springer Plus, 2 (1), 43.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Kotzekidou, P., 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. Meat Science, 65 (2), 859-867.
- Parada, J.L., Caron, C.R., Medeiros, A.B.P. and Soccol, C.R., 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: Purification, properties and use as biopreservatives. Brazilian Archives of Biology and Technology, 50, 521-542.
- Pehlivanlar Önen, S. and Elmalı, M., 2016. Determination of *L. monocytogenes*, and its antibiotic resistance of local produced cheese consuming in Hatay. Van Veterinary Journal, 27 (1), 25-29.
- Pei, J., Li, X., Han, H. and Tao, Y., 2018. Purification and characterization of plantaricin SLG1, a novel bacteriocin produced by *Lb. plantarum* isolated from yak cheese. Food Control, 84, 111-117.
- Perez, R. H., Zendo, T. and Sonomoto, K., 2014. Novel bacteriocins form lactic acid bacteria (LAB): Various structures and applications. Microbial Cell Factories, 13, 1-13
- Pichhardt, K., 2004. Gıda Mikrobiyolojisi (Gıda Endüstrisi İçin Temel Esaslar ve Uygulamalar). Literatür Yayıncılık, 358 s, İstanbul.
- Pieniz, S., Andreatza, R., Anghinoni, T., Camargo, F. and Brandelli, A., 2014. Probiotic potential, antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus durans* strain LAB18s. Food Control, 37 (1), 251-256.
- Pinto, A. L., Fernandes, M., Pinto, C., Albano, H., Castilho, F., Teixeira, P. and Gibbs, P.A., 2009. Characterization of anti-Listeria bacteriocins isolated from shellfish: Potential antimicrobials to control non-fermented seafood. International Journal of Food Microbiology, 129 (1), 50-58.

- Pisano, M.B., Fadda, M.E., Melis, R., Ciusa, M.L., Viale, S., Deplano, M. and Cosentino, S., 2015. Molecular identification of bacteriocins produced by *Lactococcus lactis* dairy strains and their technological and genotypic characterization. *Food Control*, 51, 1-8.
- Pisano, M.B., Fadda, M.E., Viale, S., Deplano, M., Mereu, F., Blažić, M. and Cosentino, S., 2022. Inhibitory effect of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactococcus lactis* autochthonous strains against *Listeria monocytogenes* in a laboratory cheese model. *Foods*, 11 (5), 715.
- Porto, M.C., Kuniyoshi, T.M., Azevedo, P.O., Vitolo, M. and Oliveira, R.P., 2017. *Pediococcus* spp. An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnology Advances*, 35 (3), 361-374.
- Radulović, Z., Miočinović, J., Pudja, P., Barać, M., Miloradović, Z., Paunović, D. and Obradović, D., 2011. The application of autochthonous lactic acid bacteria in white brined cheese production. *Mljekarstvo*, 61 (1), 15.
- Raheem, D. and Saris, P.E., 2009. Inhibition of toxicogenic *Bacillus licheniformis* 553/1 in Nigerian Wara soft cheese by nisin-producing *Lactococcus lactis* LAC309. *International Journal of Food Science & Technology*, 44 (2), 246-250.
- Ribeiro, S.C., O'Connor, P.M., Ross, R.P., Stanton, C. and Silva, C.C.G., 2016. An anti-listerial *Lactococcus lactis* strain isolated from Azorean Pico cheese produces lacticin 481. *International Dairy Journal*, 63, 18-28.
- Rogers, L.A. and Whittier, E.O., 1928. Limiting factors in the lactic fermentation. *Journal of Bacteriology*, 16, 211-229.
- Saenz, Y., Rojo-Bezares, B., Navarro, L., Diez, L., Somalo, S., Zarazaga, M., Ruiz-Larrea, F. and Torres, C., 2009. Genetic diversity of the *pln* locus among oenological *Lactobacillus plantarum* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 134 (3), 176-83.
- Samelis, J. and Kakouri, A., 2018. Hurdle factors minimizing growth of *Listeria monocytogenes* while counteracting *in situ* antilisterial effects of a novel nisin A producing *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* costarter in thermized cheese milks. *AIMS microbiology*, 4 (1), 19-41.
- Sarantinopoulos, P., Leroy, F., Leontopoulou, E., Georgalaki, M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. and De Vuyst, L., 2002. Bacteriocin production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 in view of its application as an adjunct starter in Greek Feta cheese making. *International Journal of Food Microbiology*, 72 (1-2), 125-136.
- Sarkar, S.L., Hossain, M.I., Monika, S.A., Sanyal, S.K., Roy, P.C., Hossain, M.A. and Jahid, I. K., 2020. Probiotic potential of *Pediococcus acidilactici* and *Enterococcus faecium* isolated from indigenous yogurt and raw goat milk. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 48 (3), 276-286.
- Schleifer, K.H., 2009. Family V. Leuconostocaceae. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (The Firmicutes)*, 2nd ed., Ed: De Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. and Whitman, W.B. Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, 624-643.
- Sert, S., 2002. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Notları (3. Basım). Erzurum: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 102 s, Erzurum.
- Shalaby, A.R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29, 675-690.

- Sharma, P., Tomar, S.K., Goswami, P., Sangwan, V. and Singh, R., 2014. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Research International*, 57, 176-195.
- Silva, E.O.O., Nespolo, C.R., Sehn, C.P., Pinheiro, F.C. and Stefani, L.M., 2019. Lactic acid bacteria with antimicrobial, proteolytic and lipolytic activities isolated from ovine dairy products. *Food Science and Technology*, 40, 293-299.
- 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.
- Somashekaraiah, R., Shruthi, B., Deepthi, B.V. and Sreenivasa, M.Y., 2019. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from neera: a naturally fermenting coconut palm nectar. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1-11.
- Somkuti, G.A. and Steinberg, D.H., 2010. Pediocin production in milk by *Pediococcus acidilactici* in co-culture with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 37 (1), 65-69.
- Son, S.H., Jeon, H.L., Yang, S.J., Sim, M.H., Kim, Y.J., Lee, N.K. and Paik, H.D., 2018. Probiotic lactic acid bacteria isolated from traditional Korean fermented foods based on β -glucosidase activity. *Food Science and Biotechnology*, 27, 123-129.
- Souza, M.J., Ardo, Y. and McSweeney, P.L.H., 2001. Advances in the study of proteolysis in cheese. *International Dairy Journal*, 11 (4), 327-345.
- Spigaglia, P. and Mastrantonio, P., 2003. Evaluation of repetitive element sequence-based PCR as a molecular typing method for *Clostridium difficile*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41 (6), 2454-2457.
- Stephens, S.K., Floriano, B., Cathcart, D.P., Bayley, S.A., Witt, V.F., Jimenez-Diaz, R., Warner, P.J. and Ruiz-Barba, J.L., 1998. Molecular analysis of the locus responsible for production of plantaricin S, a two-peptide bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (5), 1871-7.
- Suwannaphan, S., 2021. Isolation, identification and potential probiotic characterization of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented food. *AIMS Microbiology*, 7 (4), 431-446.
- Swaminathan, B., and Gerner-Smidt, P., 2007. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*, 9, 1236-243.
- Tafreshi S.Y., Mirdamadi, S., Norouzian, D., Khatami, S. and Sardari, S., 2010. Effect of non-nutritional factors on nisin production. *African Journal of Biotechnology*, 9 (9), 1382.
- Temelli, S., Anar, Ş., Sen, C. and Akyuva, P., 2006. Determination of microbiological contamination sources during Turkish white cheese production. *Food Control*, 17 (11), 856-861.
- Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., Fira, D., Jovčić, B., Strahinić, I., Begović, J., Popović, N., Miljković, M., Kojić, M., Topisirović, L. and Golić, N., 2020. Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan countries-technological and probiotic properties. *Food Research International*, 136, 109494.

- Todorov, S.D., and Dicks, L.M.T., 2005. Pediocin ST18, an anti-listerial bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* ST18 isolated from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria. *Process Biochemistry*, 40 (1), 365-370.
- Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T., 2007. Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* ST712BZ isolated from boza. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 166-172.
- Todorov, S.D., Wachsman, M., Tome, E., Dousset, X., Destro, M.T. and Dicks, L.M.T., 2010. Characterisation of an antiviral pediocin-like bacteriocin produced by *Enterococcus faecium*. *Food Microbiology*, 27, 869-879.
- Uymaz, B., Akçelik, N. and Yüksel, Z., 2019. Physicochemical and microbiological characterization of protected designation of origin Ezine cheese: Assessment of non-starter lactic acid bacterial diversity with antimicrobial activity. *Food Science of Animal Resources*, 39 (5), 804-819.
- Üçüncü, M., 1999. Süt Teknolojisi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, 802 s, İzmir.
- Valledor, S.J.D., Bucheli, J.E.V., Holzapfel, W.H. and Todorov, S.D., 2020. Exploring Beneficial properties of the bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* ST10Bz strain isolated from boza, a Bulgarian cereal-based beverage. *Microorganisms*, 8 (10), 1474.
- Van Belkum, M.J., Martin-Visscher, L.A. and Vederas, J.C., 2011. Structure and genetics of circular bacteriocins. *Trends in Microbiology*, 19, 411-418.
- Vandera, E., Parapouli, M., Kakouri, A., Koukkou, A.I., Hatziloukas, E. and Samelis, J., 2020. Structural enterocin gene profiles and mode of antilisterial activity in synthetic liquid media and skim milk of autochthonous *Enterococcus* spp. isolates from artisan Greek Graviera and Galotyri cheeses. *Food Microbiology*, 86, 103335.
- Vankerckhoven, V., Van Autgaerden, T., Vael, C., Lammens, C., Chapelle, S., Rossi, R., Jabes, D. and Goossens, H., 2004. Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (10), 4473-4479.
- Versalovic, J., Schneider, M., De Bruijn, F.J., Lupski, J.R., 1994. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Methods in Molecular and Cellular Biology*, 5 (1), 25-40.
- Von wright, A. and Axelsson, L., 2011. Lactic acid bacteria: an introduction. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 4th ed., Ed: Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. and Von Wright, A., CRC Press, Boca Raton, Florida, 2-14.
- Wang, Y., Qin, Y., Zhang, Y., Wu, R. and Li, P., 2019. Antibacterial mechanism of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 97, 87-93.
- Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwiwathana, A., Benjakul, S. and Visessanguan, W., 2016. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*, 120, 118-132.
- Yerlikaya, O., 2012. Süt ve Geleneksel Süt Ürünlerinden Probiyotik Özellikteki *Enterococcus* Türlerinin İzolasyonu, Tanımlanması ve İzmir Tulum Peyniri Üretiminde Destek Kültür Olarak Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir.

- Yerlikaya, O., 2018. A study on the investigation of some microbiological properties of white cheese produced and served in Aegean and Marmara region. *Journal of Agricultural Faculty of Ege University*, 55 (4), 141-150.
- Yerlikaya, O. and Akbulut, N., 2019. In vitro characterisation of probiotic properties of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* strains isolated from raw milk and traditional dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 73 (1), 98-107.
- Yıldız-Akgül, F., Atasoy, A.F., Yetişemiyen, A., 2018. Çiğ Sütte Yapılan Kimyasal Kontroller ve Testler. *Süt ve Süt Ürünleri Analiz Yöntemleri*, Ed: Z. Öner, H. Şanlıdere-Alaoğlu. Sidas, İzmir, 41-118.
- Yıldız, S., 2018. Yoğurt Kaynaklı Laktik Asit Bakterilerinin Starter Kültür ve Ekzopolisakkarit Üretim Özelliklerinin İncelenmesi. *Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye*.
- Yin, L.J., Wu, C.W. and Jiang, S.T., 2003. Bacteriocins from *Pediococcus pentosaceus* L and S from pork meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (4), 1071-6.
- Yoon, S.H. and Kim, G.B. (2022). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Fresh Cheese Using a Bacteriocin-Producing *Lactococcus lactis* CAU2013 Strain. *Food Science of Animal Resources*, 42 (6), 1009-1019.
- Zhou, J. ., Pillidge, C.J., Gopal, P.K. and Gill, H.S., 2005. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 98, 211-217.
- Zommiti, M., Bouffartigues, E., Maillot, O., Barreau, M., Szunerits, S., Sebei, K., Feuilleley, M., Connil, N. and Ferchichi, M., 2018. *In vitro* assessment of the probiotic properties and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus pentosaceus* MZF16 isolated from artisanal Tunisian meat "Dried Ossban". *Frontiers in Microbiology*, 9, 2607-2607.
- Zamfir, M., Stefan, I.R., Stancu, M.M. and Grosu-Tudor, S.S., 2016. Production, mode of action and sequencing of the corresponding gene of a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* 193. *International Journal of Food Science and Technology*, 51 (10), 2164-2170.
- Zapašnik, A., Sokołowska, B. and Bryła, M., 2022. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. *Foods*, 11 (9), 1283.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C.M., Harris, H., Mattarelli, P., O'Toole, P.W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G.E., Gänzle, G.E. and Lebeer, S., 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 2782-2858.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Hacer MERAL AKTAŞ
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Erzincan Milli Egemenlik Anadolu Lisesi
Lisans:	Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi (2014)
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2017)
Doktora:	Atatürk Üniversitesi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Türk Mühendis ve Mimar Odaları Birliği/ Gıda Mühendisleri Odası Society of Chemical Industry	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	
1. Meral Aktaş, H., Erdoğan, A., 2022. Characterization of technological properties of lactic acid bacteria isolated from Turkish Beyaz (white) cheese. Journal of Food Processing and Preservation, 46 (10), 1-13. 2. Meral Aktaş, H., Erdoğan, H., Çetin, B., 2023. Bacteriocin characterization of autochthonous <i>Lactococcus lactis</i> L54 and its application as starter culture for Beyaz cheese. Food Bioscience, 53, 102739.	