



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**GELENEKSEL PEYNİRLERDEN PROBİYOTİK
ÖZELLİKTEKİ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Sarhan MOHAMMED

Danışman
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

SAMSUN
2021

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**



**GELENEKSEL PEYNİRLERDEN PROBİYOTİK
ÖZELLİKTEKİ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYON**

Yüksek Lisans Tezi

Sarhan MOHAMMED



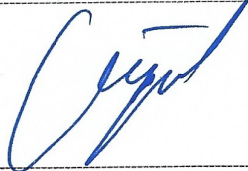
Danışman

Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

SAMSUN
2021

TEZ KABUL VE ONAYI

Sarhan MOHAMMED tarafından, Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON danışmanlığında hazırlanan **Geleneksel Peynirlerden Probiyotik Özellikteki Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Karakterizyonu** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 21.1.2021 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

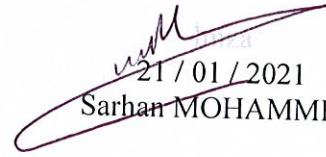
| | Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı | İmza | Sonuç |
|----------------------|---|--|--|
| Başkan (Danışman) | Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü |  | <input checked="" type="checkbox"/> |
| | | | Kabul <input type="checkbox"/> Ret |
| Üye | Prof. Dr. Hasan TEMİZ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü |  | <input checked="" type="checkbox"/> |
| | | | Kabul <input type="checkbox"/> Ret |
| Üye | Doç. Dr. Osman GÜL Kastamonu Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü |  | <input checked="" type="checkbox"/> |
| | | | Kabul <input type="checkbox"/> Ret |

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY
... / ... / ...
Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım yüksek lisans/doktora/sanatta yeterlik tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.


21 / 01 / 2021
Sarhan MOHAMMED


TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: Geleneksel Peynirlerden Probiyotik Özellikteki Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 18.12.2020 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 15

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.


18 / 12 / 2020
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

ÖZET

GELENEKSEL PEYNİRLERDEN PROBİYOTİK ÖZELLİKTEKİ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZYONU

Sarhan MOHAMMED

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

Yüksek Lisans, Ocak/2021

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Samsun ilinde geleneksel olarak üretilmiş 25 peynir örneği probiyotik LAB izolasyonu için kaynak olarak kullanılmıştır. Peynir örneklerinin pH değerlerinin 4,39-6,70 pH; toplam asitlik değerlerinin %0,09-1,59; tuz içeriklerinin %3,86-15,80; kuru maddede tuz içeriklerinin %5,76-24,04; kurumadde içeriklerinin %45,23-83,69; laktobasil sayılarının <2,00-8,16 log kob/g; laktokok/streptokok sayılarının <2,00-8,01 log kob/g; maya küf sayılarının <2,00-7,01 log kob/g; *S. aureus* sayılarının <2,00-5,97 log kob/g; koliform grubu bakteri sayılarının da <1,00-4,35 log kob/g arasında değiştiği saptanmıştır. Örneklerden sadece bir tanesinin 1,00 log kob/g düzeyinde *E. coli* içerdiği belirlenmiştir.

Peynir örneklerinden antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB izolasyonu için yaklaşık 2500 muhtemel LAB kolonisinin antimikrobiyal aktivitesi indikatör mikroorganizmalar *E. coli* ATCC25922 ve *B. cereus* NRRL B-3711 kullanılarak agar spot testi ile taranmış ve antimikrobiyal aktivite zonuna sahip 162 koloniden muhtemel LAB izole edilmiştir. Bu izolatlar çoğaltılıp, saflaştırılıp LAB oldukları doğrulandıktan sonra aynı indikatör organizmalara karşı tekrarlanan agar spot testi ve yeni uygulanan kuyu difüzyon testi sonucu; yeniden gerçekleştirilen agar spot testinde *E. coli* ATCC25922'ye karşı %98,15'inin, *B. cereus* NRRL B-371'e karşı %97,53'ünün; kuyu difüzyon testinde de *E. coli* ATCC25922'ye karşı %32,72'inin, *B. cereus* NRRL B-371'e karşı %31,48'inin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Uygulanan agar spot ve kuyu difüzyon testleri dikkate alınarak çalışmada kullanılmak üzere yüksek aktiviteye sahip 12 adet LAB izolatu seçilmiştir. Seçilen antimikrobiyal aktiviteli LAB izolatlarının 2 adedi *L. pentosus*, 1 adedi *L. coryniformis* subsp. *torquens*, 4 adedi *E. durans*, 3 adedi *E. faecium*, 1 adedi *E. faecalis* ve 1 adedi de *E. gallinarum* olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan bu izolatların probiyotik özelliklerinin tespiti için gerçekleştirilen gastrik suya, safra tuzuna ve antibiyotiğe dayanıklılık; farklı pH, sıcak ve tuz konsantrasyonlarında gelişme; laktik asit üretim ve proteolitik aktivite düzeyleri; β -Galaktosidaz ve glukozdan gaz üretim yeteneklerinin belirlenmesi sonucunda *E. faecium* S1113, *E. durans* S104, *E. durans* S1121 ve *E. durans* S202'ün en iyi probiyotik özelliklere sahip oldukları ortaya konulmuştur.

Anahtar Sözcükler: Probiyotik, Laktik asit bakteri, Geleneksel peynir, PCR.

ABSTRACT

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF PROBIOTIC LACTIC ACID BACTERIA FROM TRADITIONAL CHEESE

Sarhan Mohammed
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Food Engineering
Master, January/2021
Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

In the present study, traditionally procured 25 cheese varieties from different regions of Samsun used as a source for probiotic LAB isolation. The pH values of the cheese samples were between 4.39-6.70 pH; acidity level 0.09-1.59%; salt contents 3.86-15.80%; salt content in dry matter 5.76-24.04%; dry matter 45.23-83.69%; lactobacilli <2.00-8.16 log cfu/g; lactococci / streptococci <2.00-8.01 log cfu/g; yeast and mold <2.00-7.01 log cfu/g; *S. aureus* <2.00-5.97 log cfu/g; Coliform bacteria <1.00-4.35 log cfu/g. *E. coli* was detected only in one sample 1.00 log cfu/g.

Agar spot tests were used to study the antibacterial activity of approximately 2500 LAB strains isolated from cheese samples. In all, 162 strains of lactic acid bacteria were shown to produce inhibition zones against indicator strains *E. coli* ATCC25922 and *B. cereus* NRRL B-3711. Isolates displaying antibacterial activity were purified and confirmed as LAB, repeated agar spot and well diffusion tests were applied to determine the antibacterial activity of LAB against the same indicator organisms. As a result of reiterated antimicrobial activity tests; 98.15%; 32.72%; against *E. coli* ATCC25922, 97.53%; 31.48% against *B. cereus* NRRL B-371; determined with antimicrobial activity via agar spot and well diffusion test, respectively. Considering the result of the agar spot and well diffusion tests, 12 LAB isolates (2 *L. pentosus*, *L. coryniformis* subsp. *torquens*, 4 *E. durans*, 3 *E. faecium*, *E. faecalis* and *E. gallinarum*) with high activity were used in further analysis. The suitable properties of potential probiotic strains were tested for bile and gastric juice tolerance, antibiotic resistance, survival at different temperatures, pH ranges, salt concentrations, acid-producing ability, proteolytic activity, β -galactosidase production, and the ability to produce gas from glucose. The strains with the best potential as starter culture were *E. faecium* S1113, *E. durans* S104, *E. durans* S1121, and *E. durans* S202.

Keywords: Probiotic, Lactic acid bacteria, Traditional cheese, PCR.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON'a, teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum. Ayrıca çalışmamda, bilgi ve birikiminden faydalandığım Prof. Dr. Hasan TEMİZ ve Dr. Nilgün ÖZDEMİR'e, hayatımın her alanında manevi desteğini esirgemeyen, dualarını hiç eksik etmeyip bugünlere gelmeme vesile olan biricik annem Gamila ALHUDİFİ'ye teşekkürü borç bilirim. Ve bu projeyi maddi olarak destekleyen "Ondokuz Mayıs Üniversitesi Proje Yönetimi Ofisi'ne (PYO)" teşekkür ederim.

Sarhan MOHAMMED

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-----------|
| SİMGELER VE KISALTMALAR | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | ix |
| TABLolar DİZİNİ | x |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Laktik Asit Bakterileri | 3 |
| 1.2. Probiyotikler | 9 |
| 1.3. Peynir..... | 11 |
| 2. MATERYAL VE METOT..... | 15 |
| 2.1. Materyal..... | 15 |
| 2.2. Metot..... | 16 |
| 2.2.1. Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri..... | 16 |
| 2.2.1.1. Peynirden Mikrobiyolojik Analizler için Örnek Alınması..... | 16 |
| 2.2.1.2. Laktik Asit Bakteri Sayımı | 16 |
| 2.2.1.3. Koliform Grubu Bakteri ve <i>E. coli</i> Sayımı | 16 |
| 2.2.1.4. Maya-küf Sayımı | 17 |
| 2.2.1.5. <i>Staphylococcus aureus</i> Sayımı..... | 17 |
| 2.2.2. Peynir Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri | 17 |
| 2.2.2.1. pH Değeri..... | 17 |
| 2.2.2.2. Titrasyon Asitliği (% Asitlik) | 17 |
| 2.2.2.3. Tuz İçeriği..... | 18 |
| 2.2.2.4. Kurumadde İçeriği | 18 |
| 2.2.3. Peynirlerden Antimikrobiyal Aktiviteli LAB İzolasyonu | 19 |
| 2.2.4. LAB izolatlarının Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi | 20 |
| 2.2.5. Antimikrobiyal Aktiviteli LAB İzolatlarının Endüstriyel Özellikleri | 21 |
| 2.2.5.1. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme | 21 |
| 2.2.5.2. Farklı pH Değerlerinde Gelişme | 21 |
| 2.2.5.3. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme..... | 21 |
| 2.2.5.4. Glukozdan Gaz Üretimi | 21 |
| 2.2.5.5. Asit Üretim Düzeylerinin Belirlenmesi | 22 |
| 2.2.5.6. Proteolitik Aktivite Düzeylerinin Belirlenmesi | 22 |
| 2.2.6. Antimikrobiyal Aktiviteli LAB İzolatlarının Probiyotik Özellikleri..... | 23 |
| 2.2.6.1. β -Galaktosidaz Testi | 23 |
| 2.2.6.2. Antibiyotiklere Duyarlılık..... | 23 |
| 2.2.6.3. LAB Süspansiyonu Hazırlama..... | 24 |
| 2.2.6.4. Safra Tuzuna Dayanıklılık | 24 |
| 2.2.6.5. Mide Suyuna Dayanıklılık..... | 24 |
| 2.2.7. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Tanımlanması..... | 25 |
| 2.2.8. İstatistiki analiz..... | 26 |
| 3. BULGULAR VE TARTIŞMA..... | 27 |
| 3.1. Kimyasal ve Fiziksel Analiz Bulguları..... | 27 |
| 3.2. Mikrobiyolojik Analiz Bulguları | 31 |
| 3.3. Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakteri İzolasyonu ve Tanımlanması.. | 35 |
| 3.4. LAB İzolatlarının Endüstriyel ve Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi | 37 |
| 3.4.1. Antimikrobiyal Aktivite | 37 |
| 3.4.2. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme | 40 |
| 3.4.3. Farklı pH Değerlerinde Gelişme | 41 |
| 3.4.4. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme | 42 |
| 3.4.5. Asit Üretim Düzeyleri | 43 |
| 3.4.6. Proteolitik Aktivite..... | 51 |
| 3.5. Antimikrobiyal Aktiviteli LAB İzolatlarının Probiyotik Özellikleri | 52 |
| 3.5.1. β -Galaktosidaz Testi..... | 52 |
| 3.5.2. Antibiyotiklere Duyarlılık | 53 |

| | |
|--|-----------|
| 3.5.3. Safra Tuzuna Dayanıklılık | 54 |
| 3.5.4. Mide Suyuna Dayanıklılık | 56 |
| 4. SONUÇ | 59 |
| KAYNAKLAR | 62 |
| EKLER | 72 |
| ÖZ GEÇMİŞ..... | 79 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

- EFSA:** European Food Safety Authority
EMP : Embden-Meyerhof-Parnas
FAO : Food and Agriculture Organization
G+C : Guanin + Sitozin
kob/g: Bir gram örnekteki koloni oluşturan birim
log : Logaritma
LAB : Laktik asit bakterileri
PZR : Polimeraz zincir reaksiyonu
UV : Ultraviyole
WHO: World Health Organization
Δ : Değişim
~ : Yaklaşık
TE : Tespit edilmedi
PZR : Polimeraz zincir reaksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1. Laktik asit bakterilerinin filogenetik pozisyonu | 7 |
| Şekil 1.2. Bölgelere göre dünya süt üretimi (A) ve süt ürünleri ihracatı (B) | 11 |
| Şekil 1.3. Türkiye’de yıllara göre peynir üretim miktarları | 13 |
| Şekil 3.1. LAB izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi | 38 |
| Şekil 3.2. LAB izolatlarının % asit üretme ve pH düşürme yetenekleri | 50 |
| Şekil 3.3. LAB izolatlarının proteolitik aktivite yetenekleri | 51 |

TABLolar DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Tablo 1.1. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması..... | 4 |
| Tablo 1.2. Gıda örneklerinde bulunan bazı LAB türlerinin bazı klasik fenotipik özellikleri .. | 5 |
| Tablo 1.3. LAB'nin çoğalma/tolerans yetenekleri ve habitatları ile ilişkilendirilmesi..... | 6 |
| Tablo 1.4. Laktik asit bakterilerinin fizyolojisi..... | 8 |
| Tablo 1.5. Probiyotiklerin taşınması gerekli özellikleri ile olası ve kanıtlanmış etkileri..... | 10 |
| Tablo 1.6. Dünya peynir üretimi..... | 11 |
| Tablo 2.1. Geleneksel üretilmiş peynir örneklerinin temin edildiği ilçeler | 15 |
| Tablo 2.2. ONPG peptonlu su hazırlaması | 23 |
| Tablo 2.3. LAB izolatlarının 16S rRNA gen gölgesi dizi analizinde kullanılan primerler.... | 26 |
| Tablo 3.1. Samsun ili geleneksel peynir ürünlerinin kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları.. | 27 |
| Tablo 3.2. Peynir örneklerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin ilçelere göre değişimi..... | 30 |
| Tablo 3.3. Peynir örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları | 32 |
| Tablo 3.4. Peynir örneklerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin ilçelere göre değişimi | 34 |
| Tablo 3.5. Peynir izolatu laktik asit bakterilerinin yakın tip türleri ile filogenetik benzerliği | 36 |
| Tablo 3.6. Peynir izolatu laktik asit bakterilerinin temel özellikleri..... | 36 |
| Tablo 3.7. Peynir izolatu edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivitesi | 38 |
| Tablo 3.8. LAB izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişme yetenekleri..... | 41 |
| Tablo 3.9. LAB izolatların farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri..... | 42 |
| Tablo 3.10. LAB izolatların farklı tuz değerlerinde gelişme yetenekleri..... | 43 |
| Tablo 3.11. LAB izolatlarının pH düşürme kapasiteleri | 45 |
| Tablo 3.12. LAB izolatlarının % asit üretim kapasiteleri | 48 |
| Tablo 3.13. LAB izolatlarının proteolitik aktivite kapasiteleri | 51 |
| Tablo 3.14. LAB izolatlarının β -galaktosidaz aktiviteleri | 52 |
| Tablo 3.15. LAB izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları | 53 |
| Tablo 3.16. LAB izolatlarının %1 (w/v) safra tuzuna dayanıklılıkları | 55 |
| Tablo 3.17. LAB izolatlarının mide suyu ortamında 3 saat muameleye dayanıklılıkları | 57 |

1. GİRİŞ

Yaşamın sürdürülmesi ve sağlığın korunması için yeterli ve dengeli bir şekilde alınması gerekli besin öğelerini içeren gıdalarımız içerisinde süt ve süt ürünleri çok önemli bir grubu oluşturmaktadır. Süt ve süt ürünleri, içerdiği besin maddeleri ile zeka ve vücut gelişimine önemli katkıları olan çok değerli ve vazgeçilmez bir temel gıda kaynağıdır. Bu grup gıdalar içerisinde de tüm dünyada en yaygın üretilen ve tüketilen peynirlerdir.

Günümüzde gıdalar tüketiciler tarafından yalnızca lezzet ve besin içerikleri ile değil, aynı zamanda fonksiyonel özelliklerine bakılarak da değerlendirilmektedir. Tüketici bilincinin ve sağlıklı gıdalara olan yönelimin artmasıyla beraber ‘sağlık üzerinde pozitif etkiler oluşturmayı hedefleyen gıdalar’ olarak tanımlanan fonksiyonel gıdaların üretimi hız kazanmıştır (Wang et al., 2010). Fonksiyonel gıdalar içerisinde de süt ve süt ürünleri en önemli grubu oluşturmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların fermente sütler ve yoğurt üretiminde kullanılması veya bu ürünlere çeşitli şekillerde ilavesi üzerine çok sayıda araştırma ve ticari uygulama mevcut olmasına rağmen, söz konusu ürünler bazı probiyotik mikroorganizmaların yüksek seviyede bulunması ve canlılıklarını sürdürebilmesi için optimum bir ortam sağlamamaktadır. Bu noktada alternatif bir yaklaşım olarak probiyotik mikroorganizmaların peynir ve peynir benzeri ürünlere ilavesi fikri gündeme gelmiştir (Gürsoy ve Kinik, 2006).

Günümüzde fonksiyonel gıdaların tüketimine olan yönelim, bunların üretiminde kullanılacak starter kültürlerin seçiminde probiyotik özelliklere sahip olmasını da önemli kılmış ve beraberinde starter seçimlerinde yeni kriterlere dikkat edilmesi gerekliliğini getirmiştir. Fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılan probiyotik mikroorganizmaların tüketiciler üzerindeki olumlu sağlık etkilerinin yanı sıra ürünün özelliklerinde olumsuz değişime neden olmaması, hatta ilave teknolojik ve ekonomik yararlar sağlaması, yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde son derece kritik bir olgu olarak ortaya çıkmıştır (Wang et al., 2010).

Probiyotik mikroorganizmalar; insan ve hayvanların doğal mikloflorasına ait özellikleri geliştiren, tüketimleri sonucu ağızda, sindirim sisteminde, üst solunum yollarında ya da ürogenital kanallarda yararlı etkileri ile konakçının sağlığını koruyan, buralarda oluşan enfeksiyonların iyileşmesine katkıda bulunan, tek veya karışık olarak

kullanılabilen kültürlerdir (Kütük, 2015). Günümüzde probiyotik bakteriler denilince ilk akla gelen gruplar bifidobakteriler ve laktik asit bakterileri (LAB) olmaktadır. Bununla birlikte, stafilokoklar, basilluslar, mayalar, vb. birçok gruptan mikroorganizma bulunmaktadır.

Birçok probiyotik tür içeren LAB fermente süt ürünlerinin üretimi ve olgunlaşmasında büyük önem taşıyan mikroorganizmalardır (Morandi et al, 2006). Peynir teknolojisinde de ürüne dinamizm kazandırarak birçok bilimsel disipline çalışma olanağı sağlayan laktik asit bakterilerini (Gürsoy ve Kinik, 2006) teknolojik öneme sahip kılan özellikleri arasında; aroma geliştirme yeteneğine sahip olmaları, bakteriyosin ve ekzopolisakkarit oluşturabilmeleri, bakteriyofajlara olan dirençlilikleri, laktoz ve sitrat metabolizmaları, antibiyotik ve ağır metallere dirençleri gibi özellikleri başta gelmektedir (Morandi et al., 2006).

İnsan gastrointestinal yolu da LAB'ni içeren önemli bir kaynaktır. Gastrointestinal yol; gastrointestinal epitel ve bağışıklık hücreleri ile yerleşik mikrobiyotayı içeren, 10^{13} - 10^{14} hücreden oluşan karmaşık bir ekosistemdir (Quinto et al., 2014). Mikrobiyota adı verilen ve memeli bağırsağını kolonize eden yaklaşık 10^{14} mikroorganizma konakçı sağlığına olumlu katkıda bulunmaktadır. Yerleşik gastrointestinal mikrobiyota, patojenik mikroorganizmalara karşı koruyucu bir bariyer sağlamaktadır. Bu mikroorganizmalar arasında yer alan LAB, vücut ve gıda ile etkileşim halinde bulunmaktadır (Kamada et al., 2013). İnce bağırsakların ana sakinleri *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* ve *Streptococcus* (10^3 - 10^4 kob/g) cinsleri iken; kalın bağırsak çok daha yüksek sayılarda ve çeşitlilikte cinsleri (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Eubacterium*; 10^{11} – 10^{12} kob/g) içermektedir (Biedermann and Rogler, 2015; Quinto et al., 2014).

Tarih boyunca insan kültürü ve refahı ile yakından ilişkili olan LAB günümüzde de yaşamlarımıza müdahale eden, fermente gıdaların duyuşal, kalite ve güvenlik özelliklerine olumlu etkileri olan endüstriyel olarak en önemli bakteri gruplarından birisidir. Bu organizmalar; gıda üretimi, sağlığın iyileştirilmesi ve makromoleküller ile enzim ve diğer metabolitlerin üretimi olmak üzere birçok alanda uzun zamandır kullanılmakla birlikte halen gıda biyoteknolojisi uygulamalarında gelişme potansiyeli bulunmaktadır. Bunun gerçekleşmesi için yeni LAB suşlarını keşfetmek ve karakterize etmek gerekmektedir (Holzapfel and Wood, 2014). Gıda teknolojisinde önemli rol oynamış ve insan tarafından gıda üretimi ve gıda muhafazası için uzun bir kullanım

geçmişine sahip LAB'nin doğal suşlarının geleneksel ürünlerden izolasyonu işlemleri, gıda fermantasyonları için starter kültürleri elde etmede halen başvurulan klasik bir yöntemdir (Bettache et al., 2012).

1.1. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri uzun yıllardır üzerinde çalışılan bir grup olması dolayısı ile mikrobiyoloji biliminin doğuşu ile birlikte birçok bilgi edinilmiş ve sınıflandırılmıştır. Zamanla artan bilgi birikimi ve gelişen laboratuvar teknikleri ile ilk sınıflandırmalarda zamanla değişimler meydana gelmiştir. Günümüze yakın olarak yapılan bir sınıflandırmada LAB; Firmicutes şubesinin, Bacilli sınıfının, Lactobacillales takımının altında gruplandırılmıştır (Holzapfel and Wood, 2014). Giderek genişleyen bu grup içinde geniş bir çeşitlilik gösteren LAB'nin taksonomik tanımlaması, altı familya içerisinde: *Aerococcaceae* (7 cins), *Carnobacteriaceae* (16 cins), *Enterococcaceae* (7 cins), *Lactobacillaceae* (3 cins), *Leuconostocaceae* (cins) ve *Streptococcaceae* (3 cins) (Tablo 1.1) olmak üzere toplam 40 cins içermektedir (Garrity and Holt, 2001; Holzapfel and Wood, 2014).

Laktik asit bakterileri, kok, çomak veya ovoid şeklinde bulunabilmekte, gelişme sıcaklıkları bakımından termofil ve mezofil özellik göstermektedirler. LAB'nin farklı sıcaklık derecelerine (0-50°C), yüksek tuz konsantrasyonlarına (%25 NaCl), düşük ve yüksek pH değerlerine (2,8-9,6 pH) ve farklı safra tuzu konsantrasyonlarına dayanıklılıkları farklı habitatlarda bulunmaları ile ilişkilendirilmektedir. Glikozu karbon kaynağı olarak kullanan laktobasiller homo ve heterofermentatif olarak parçalamakta ve son fermantasyon ürünü olarak laktik asit oluşturmaktadırlar (Darsanaki et al., 2013).

LAB, süt ürünleri, tahıl ürünleri, et ve balık ürünleri, bira, şarap, meyve ve meyve suları, salamura sebzeler, püre, lahana turşusu, silaj ve ekşihamur gibi karbonhidrat içeren substratların bulunduğu zengin habitatlarda bulunurlar (Dworkin et al., 2006). Gıdalarda bulunan bazı LAB türleri ve bunların seçilmiş birkaç klasik fenotipik özelliği ile aşırı koşullarda çoğalma/tolerans özelliklerinin habitatları ile ilişkilendirilmiş örnekleri Tablo 1.2 ve Tablo 1.3'te özetlenmiştir (Holzapfel and Wood, 2014).

Tablo 1.1. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması (Holzapfel and Wood, 2014)

| Familya | Cins | Tip türü | Tür sayısı |
|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-------------------|
| Aerococcaceae | Abiotrophia | <i>Ab. defectiva</i> | 1 |
| | Aerococcus | <i>Ae. viridans</i> | 7 |
| | Dolosicoccus | <i>Dc. paucivoran</i> | 1 |
| | Eremococcus | <i>Ere. coleocola</i> | 1 |
| | Facklamia | <i>F. hominis</i> | 6 |
| | Globicatella | <i>Glo. sanguinis</i> | 2 |
| | Ignavigranum | <i>Ig. ruoffiae</i> | 1 |
| Carnobacteriaceae | Alkalibacterium | <i>Alk. olivapovliticus</i> | 9 |
| | Allofustis | <i>Af. seminis</i> | 1 |
| | Alloiococcus | <i>Ai. otitis</i> | 1 |
| | Atopobacter | <i>Ap. phocae</i> | 1 |
| | Atopococcus | <i>Ac. tabaci</i> | 1 |
| | Atopostipes | <i>At. suicloacalis</i> | 1 |
| | Bavariicoccus | <i>B. seileri</i> | 1 |
| | Carnobacterium | <i>C. divergens</i> | 10 |
| | Desemzia | <i>D. incerta</i> | 1 |
| | Dolosigranulum | <i>Dg. pigrum</i> | 1 |
| | Granulicatella | <i>Gra. adiacens</i> | 3 |
| | Isobaculum | <i>Is. melis</i> | 1 |
| | Lacticigenium | <i>Lg. naphthae</i> | 1 |
| Marinilactibacillus | <i>M. psychrotolerans</i> | 2 | |
| Trichococcus (incl. Lactosphaera) | <i>Tr. flocculiformis</i> | 5 | |
| Enterococcaceae | Catelicoccus | <i>Cat. marimammalium</i> | 1 |
| | Enterococcus | <i>Ent. faecalis</i> | 43 |
| | Melissococcus | <i>Me. plutonius</i> | 1 |
| | Pilibacter | <i>Pi. termiti</i> | 1 |
| | Tetragenococcus | <i>Tet. halophilus</i> | 5 |
| | Vagococcus | <i>V. fluvialis</i> | 8 |
| Lactobacillaceae | Lactobacillus | <i>Lb. delbrueckii</i> | 151 |
| | Paralactobacillus | <i>Pl. selangorensis</i> | 1 |
| | Pediococcus | <i>Ped. damnosus</i> | 11 |
| Leuconostocaceae | Fructobacillus | <i>Fru. fructosus</i> | 5 |
| | Leuconostoc | <i>Leuc. mesenteroides</i> | 13 |
| | Oenococcus | <i>O. oeni</i> | 2 |
| | Weissella | <i>W. viridescens</i> | 15 |
| Streptococcaceae | Lactococcus | <i>Lc. lactis</i> | 7 |
| | Lactovum | <i>Lv. miscens</i> | 1 |
| | Streptococcus | <i>Str. pyogenes</i> | 78 |
| Diğer 'LAB' | Bifidobacterium | <i>Bif. bifidum</i> | 41 |

Tablo 1.2. Gıda örneklerinde bulunan bazı LAB türlerinin bazı klasik fenotipik özellikleri

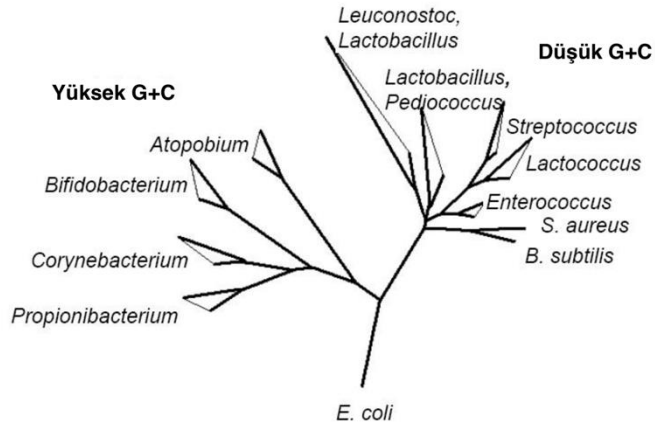
| Fenotipik Özellik | Değer | Organizma | Bulunduğu Gıda |
|--------------------------------|-------------------------------|---|---|
| Düşük pH | pH 2,8 | <i>Lb. suebicus</i> | Elma Şarabı/ Armut Püresi Pirinç Sirkesi Mide / Üst Oniki Parmak Bağırsağı |
| | pH 3,2 | <i>Lb. acetotolerans</i> | |
| | pH ~3,0 | <i>Lb. acidophilus</i> | |
| Yüksek pH | pH 9,6 | <i>Ent. faecium</i> | Soya'nın Bacillus Fermantasyonu |
| Safra tuzları ve pankreas suyu | Fizyolojik konsantrasyon | <i>C. divergens</i> | Et |
| | | <i>Lb. acidophilus</i> | İnce Bağırsak |
| | | <i>Lb. reuteri /Lb. paracasei</i> | |
| Tuz (NaCl) | %18-24 %26,4 (Tolerans) | <i>Tet. muritacticus</i> | Tuzlu Fermente Balık |
| | | <i>C. viridans</i> | Vakumlu Bologna |
| Düşük sıcaklıklar | 0-2°C | <i>Leuc. gelidum</i> | Soğukta Depolanan Vakumlu Et |
| Yüksek sıcaklıklar | 55°C 50°C'ye kadar | <i>Lb. delbrueckii</i> <i>Str. thermophilus</i> <i>Lb. helveticus</i> | Emmental Tipi Peynir İtalyan Tipi Sert Peynirler |
| Nitrit | >150 ppm | Çeşitli LAB | İşlenmiş Et |
| Sorbik asit | >2 g/kg | Çeşitli LAB | Korunmuş Meyve Suları |
| Şerbetçiotu direnci | 55 ppm iso- α -asit | <i>Ped. damnosus</i> | |
| | | <i>Ped. claussenii</i> <i>Lb. brevis</i> | |
| Etanol | %15 %13 | <i>Lb. fructivorans</i> | Ketçap Şarap |
| | | <i>O. oeni</i> | |
| Radyasyon direnci | γ D10 = >1,0 kGy | <i>Lb. sakei</i> | İşlenmiş Et (Radurize) |
| Isıl direnç | D ₆₅ = 20-30 min | <i>W. viridescens</i> | İşlenmiş Etler |
| | | <i>Ent. faecalis</i> | |

Tablo 1. 3. LAB'nin çoğalma/tolerans yetenekleri ve habitatları ile ilişkilendirilmesi (Holzapfel and Wood, 2014)

| Familiya | Cins | Morfoloji | Motilit | Glukozdan CO₂ üretimi | pH 9,6'da gelişme | %6,5 NaCl'de gelişme | Arginin hidrolizi | 10°C'de gelişme | 45°C'de gelişme | DNA'da %G+C oranı |
|--------------------------|----------------------------|---|------------------|---|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| <i>Aerococcaceae</i> | <i>Aerococcus</i> | Koklar, oval, tek/çift/dörtlü | - | - | TE | + | -/+ | + | - | 35-44,4 |
| | <i>Dolosicoccus</i> | Koklar, tek/çift/zincir/grup | - | - | TE | + | -/+ | - | -/+ | 35-40 |
| | <i>Facklamia</i> | Ovoid koklar, çift/küme/zincir | - | - | TE | + | TE | - | +/- | 41-42 |
| <i>Carnobacteriaceae</i> | <i>Carnobacterium</i> | Çubuklar, tek/çift/zincir | + | - | +/- | -/+ | + ^b | + | - | 32-44 |
| | <i>Marinilactibacillus</i> | Düz çubuklar, tek/çift | +/- | +/- | + | + | + | + | + | 34,6-36,2 |
| | <i>Trichococcus</i> | Koklar, tek/çift/zincir | +/- | +/- | - ^c | - ^c | + | + | - | - |
| <i>Enterococcaceae</i> | <i>Enterococcus</i> | Oval koklar, çift/zincir/küçük grup | -/+ ^a | - | + | + | + | + | + | 32,5-44,9 |
| | <i>Tetragenococcus</i> | Koklar, tek/çift/dörtlü | - | - | + | + | + | - | -/+ ^a | 34-44,5 |
| | <i>Lactobacillus</i> | Kısa ve uzun çubuklar, düz veya düzensiz, tek/çift/zincir | -/+ ^a | -/+ ^a | - | -/+ ^a | -/+ ^a | -/+ ^a | -/+ ^a | 32-55 |
| <i>Lactobacillaceae</i> | <i>Paralactobacillus</i> | Çubuklar | - | - | TE | - | - | TE | - | 46 |
| | <i>Fructobacillus</i> | Çubuklar, tek/çift | - | + | TE | TE | - | TE | - | 43-44 |
| | <i>Leuconostoc</i> | Oval koklar, çift/zincir | - | + | TE | TE | - | +/- ^a | +/- ^a | 38-44 |
| <i>Leuconostocaceae</i> | <i>Weissella</i> | Kısa çubuk veya oval, çift/kısa/zincir | - | + | TE | +/- | +/- ^a | +/- ^a | +/- ^a | 37-47 |
| | <i>Lactococcus</i> | Oval koklar, çift/zincir | - | - | - | - | +/- ^a | - ^a | - | 34-43 |
| <i>Streptococcaceae</i> | <i>Streptococcus</i> | Oval koklar, çift/zincir | - | - | - | +/- ^a | - | - ^a | - | 33-46 |

(a) Bazı türler/suşları. (b) *C. viridans* hariç tüm türler arginin hidrolaz pozitif. (c) *T. patagoniensis* hariç. TE: Tespit edilmed.

Laktik asit bakterileri DNA'larında düşük G+C oranına ($\leq 55\%$) sahiptirler (Şekil 1.1) (Wood and Holzapfel, 1995). Morfolojik, metabolik ve fizyolojik karakteristiklerine göre; Gram pozitif, katalaz negatif, sitokrom içermeyen, aerobik olmayan ama aerotolerant olan, hareketsiz, spor oluşturmayan, karbonhidrat fermantasyonunda son ürün olarak laktik asit üreten bakteriler şeklinde tanımlanabilirler (Cai et al., 2012).



Şekil 1.1. Laktik asit bakterilerinin filogenetik pozisyonu

Laktik asit bakterileri “güvenli bakteriler” olarak kabul edilirler. Koruyucu kültür olarak gıdalarda bulunan patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaları inhibe etmek ve/veya raf ömrünü uzatmak için; starter kültür olarak da gıdanın duyusal özelliklerinde olumlu değişimleri sağlamak için kullanılırlar (Aslım, 1994). LAB, gelişme için zengin besinlere (karbonhidratlar, aminoasitler, vitaminler, mineraller) ihtiyaç duyarlar. Şekerlerin laktik aside dönüştürülmesi olarak tanımlanabilecek “laktik asit fermantasyonu” dikkate alınarak zorunlu homofermentatif, zorunlu heterofermentatif ve fakültatif heterofermentatif olarak üç gruba ayrılırlar (Tablo 1.4) (Holzapfel and Wood, 2014).

Tablo 1.4. Laktik asit bakterilerinin fizyolojisi (Holzapfel and Wood, 2014)

| Metabolizma | Metabolik Yol | Organizma |
|----------------------------|--|---|
| Karbonhidrat Metabolizması | Homolaktik fermantasyon (EMP) | <i>Enterococcaceae, Lactobacillaceae, Streptococcaceae.</i> |
| | Heterolaktik fermentasyon | <i>Leuconostocaceae, Lactobacillus</i> |
| Pentoz Fermantasyonu | Homolaktik Pentoz fermantasyonu | <i>Lb. vini</i> |
| | Pentoz fosfat yolu (laktik asit, son ürün) | <i>Lb. plantarum</i> NCIMB 8826 |
| Disakkarit Fermantasyonu | 6-Fosfoglukonat ya da Pentoz fosfat | Süt ürünleri ve Ekşi hamur LAB |
| | Obligate Homofermantatif LAB | <i>Lactobacillus</i> |
| LAB Metabolik Kategorileri | Fakültatif Heterofermantatif LAB | <i>Enterococcus, Lactococcus, Lactovum, Paralactobacillus, Pediococcus, Streptococcus, Vagococcus, grup II Lactobacillus spp.</i> |
| | Obligate Heterofermantatif LAB | <i>Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, grup III Lactobacillus spp.</i> |
| Piruvat Metabolizması | Heterofermantatif | <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> |
| Piruvat Format Liyaz | Fakültatif ve Obligate Heterofermantatif | <i>Alkalibacterium, Marinilactibacillus, Trichococcus</i> |
| Piruvat Dehidrojenaz | Heterofermantatif yol (Aerobik) | Heterofermantatif LAB |
| Piruvat Oksidaz | Piruvat → Asetat + CO ₂ + H ₂ O ₂ | <i>Lb. plantarum</i> |
| Elektron Alıcıları | Heterolaktik fermantasyonu | Heterofermantatif LAB |
| Malat Metabolizması | Heterofermantatif | <i>Oenococcus oeni, E. faecalis, L. casei</i> |
| Sitrat Metabolizması | Elektron alıcıları | Birkaç LAB |
| Arginin Metabolizması | Arginin → Ornitin + CO ₂ + ATP + 2 NH ₃ | Birkaç fakültatif heterofermantatif LAB |
| | | Çeşitli heterofermantatif LAB |
| Aminoasit Gereksinim | L-Glutamik asit, L-izolösin, L-lösin | Her LAB |
| | L-Metionin, L-tirozin ve L-triptofan | Birkaç LAB |
| Proteoliz | Proteolitik yol (Proteinaz) | <i>Lb. lactis, Lb. helveticus, Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus, S. thermophilus</i> |
| Lipoliz | Lipoliz yolu (Lipaz) | <i>E. faecalis, E. faecium, Lb. casei, Lb. plantarum</i> |

Gıdalarda, gıda kaynaklı patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaları inhibe etmek ve/veya raf ömrünü uzatmak için kullanılan ve gıdanın duyuşal özelliklerinde değişime sebep olmayan koruyucu kültürler içerisinde en önemli grubu LAB oluşturmaktadır. LAB'nin antagonistik etkisi; diğer mikroorganizmalarla besin öğeleri için yarışma ya da organik asit (asetik, propiyonik ve laktik asit gibi), hidrojen peroksit, antimikrobiyal enzimler, diasetil ve bakteriyosinler gibi bir veya daha fazla

antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler üretmelerinden kaynaklanmaktadır (Devlieghere et al., 2004; Työppönen et al., 2003). Gıda koruma aracı olarak yüzyıllardır kullanılan, aynı zamanda süt ürünleri, sebzeler, et ve balık gibi gıdaların besin değerini de artıran laktik asit fermantasyonunu yürüten birincil organizmalar LAB'dir (Gim, 2015). Fermantasyon sürecinde gerçekleşen organik asit üretimi, proteolitik aktivite, antimikrobiyal maddelerin sentezlenmesi, sitrat metabolizması ve ekzopolisakkarit üretimi gibi çok önemli olaylar ile bu kültürlerin probiyotik nitelikler de taşıması son yıllarda üzerinde çok durulan bir konudur. Bu nedenle, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ve aynı zamanda insan ve hayvan mikroflorasının yaygın bir parçası olan LAB endüstriyel açıdan da büyük önem taşımaktadırlar.

1.2. Probiyotikler

Probiyotik kelimesi "Pro" (Lehine) ve "Biyotik" (Yaşam) kelimelerinden oluşmaktadır. Ancak, "probiyotikler bağırsak mikroflorasını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalardır" tanımı kelimenin anlamını kısıtlamakta ve probiyotik olarak tanımlayabilmek için istenilen etkileri ortaya koyabilecek probiyotik canlı bakteri dozu sağlanmasını gerektirmektedir (FAO/WHO). Ayrıca, probiyotiklerin güvenliğinin de değerlendirilmiş ve doğrulanmış olması gerekmektedir. Çoğu probiyotik bakteri "Genel Olarak Güvenli Olarak Kabul Edilen" (GRAS) statüsü kazanmıştır (Mathur and Singh, 2005). Probiyotik ifadesi muhtemelen ilk kez 1953'te Kollath tarafından tanımlanmıştır (Kołozyn-Krajewska and Dolatowski, 2012). Yem takviyeleri ile ilgili 'probiyotik' kelimesi sadece 1974'ten kalma olsa da canlı mikrobiyal yem takviyelerinin tarihi binlerce yıl öncesine dayanmaktadır (Fuller, 1992). Sadece temel besinleri sağlamakla kalmayan, aynı zamanda sağlık üzerinde olumlu etkilere de sahip olan gıdalar "fonksiyonel gıdalar" olarak adlandırılmaktadırlar. Günümüzde, insan sağlığının geliştirilmesi ile ilişkili yeni fonksiyonel gıdalara büyük ilgi duyulmaktadır. Özellikle, yararlı sağlık etkileriyle ilişkilendiren yayınlanmış çok sayıda çalışma nedeniyle, tüketicilerin probiyotik içeren gıda ürünleri için sürekli artan bir tercihi vardır (Aureli et al., 2011; Tokatlı et al., 2015).

LAB, probiyotik olarak kullanılan en yaygın mikroorganizmalardır (Rivera-Espinoza and Gallardo-Navarro, 2010). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*, gıda endüstrisinde en çok araştırılan ve yaygın olarak kullanılan cinslerdir (Gim, 2015).

Probiyotik mikroorganizmaların faydalı etkilerini verebilmeleri için öncelikle midenin asidik koşullarına ve safra tuzlarına dirençli olmaları gerekmektedir. Daha sonra da gastro-intestinal kanalın bu bölümlerinden canlı geçen hücrelerin bağırsak mukozasına yapışması ve kolonda kolonize olması veya en azından belirli bir süre kolonize olması gerekmektedir (Saxami et al., 2012). Bu nedenle probiyotik gıda ürünlerinin yeterli miktarda (en az 10^5 - 10^7 kob/g) canlı probiyotik mikroorganizma içermesi gerekmektedir (Gim, 2015; Oliveira et al., 2002).

Probiyotik mikroorganizmaların iddia edilen sağlık faydaları: gastrointestinal sistemdeki mikrobiyal dengenin düzenlenmesi, serum kolesterol seviyelerinin azaltılması, laktoz intoleransı semptomlarının hafifletilmesi, kolon kanseri riskinin azaltılması, besinlerin biyoyararlanımının artırılması, duyarlı bireylerin bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve kalsiyum emiliminin iyileştirilmesidir. Probiyotiklerin olası etkileri ile kanıtlanmış etkileri Tablo 1.5'te verilmiştir (Argyri et al., 2013; Gaele, 2001; Yoon et al., 2006).

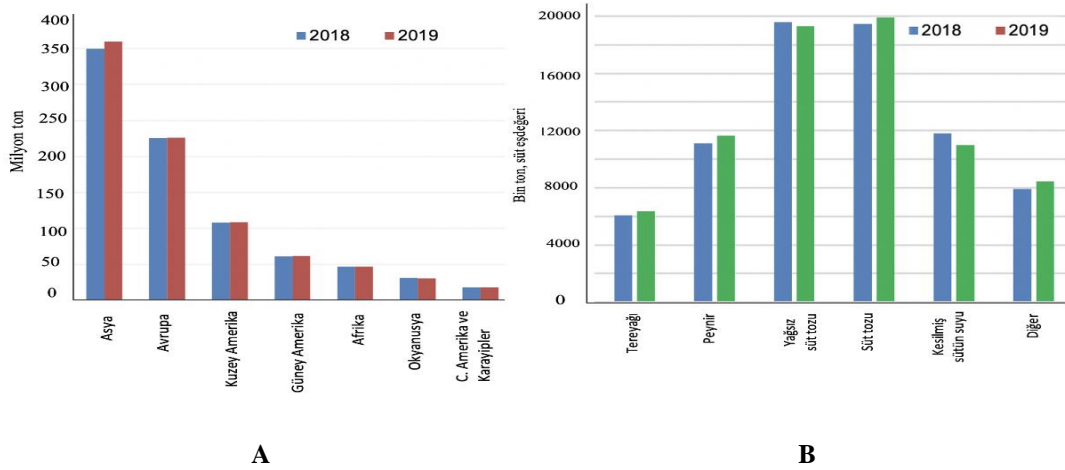
Tablo 1.5. Probiyotiklerin taşınması gerekli özellikleri ile olası ve kanıtlanmış etkileri

| Probiyotik Gereksinimleri | Olası Etkiler | Kanıtlanmış Etkiler |
|--------------------------------|--|---|
| Verimlilik ve güvenlik | Bazı kanserojen mikroorganizmaların etkisini azaltmak | Bağışıklığın güçlendirilmesi |
| Patojenik etki bulunmaması | Enfeksiyonlara karşı direnci arttırmak | Bağırsaklardaki patojenlere etkileri |
| Mide suyu ve safra direnci | Alerjik reaksiyonları bastırmak, bağırsak mikroflorasını güçlendirmek | Yüzeysel mesane tümörlerinin nüksünün azaltılması |
| Bağırsak epiteline yapışabilme | İnflamatuar barsak hastalığı olan hastaların yaşam kalitesini iyileştirmek | Rotavirüs ishali için tedavi süresinin kısaltılması |
| İnsan kaynaklı olma (Tercihan) | | Laktoz intoleransı belirtilerinin hafifletilmesi |

Probiyotiklerin sağlığı geliştirici özellikleri çoğunlukla: (i) *Salmonella*, *Shigella* ve *Helicobacter* gibi patojenik organizmaların büyüme inhibisyonu (Macfarlane and Cummings, 2002), (ii) Laktoz intoleransı semptomlarını azaltması (Li et al., 2012). (iii) Bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi, (iv) Antikarsinojenik ve antimutagenik aktiviteler (de Moreno de LeBlanc ve LeBlanc, 2014) ve (v) Gastrointestinal (GI) bozuklukların hafifletilmesi gibi etkilerle ilişkilendirilmektedir.

1.3. Peynir

Laktik asit bakterileri genellikle besin içeriği bakımından zengin olan ortamlarda, örneğin süt, et ve sebzelerde bulunmaktadır. Süt, içerdiği besin maddeleri nedeniyle insan için değerli bir besin olduğu kadar mikroorganizmalar için de uygun bir üreme ortamı oluşturmakta ve bu nedenle dayanıklılık süresi de oldukça kısa olmaktadır. Sütün dayanıklılık süresinin uzatılabilmesi ancak süt ürünlerine işlenmesiyle mümkün olmaktadır. Süt ürünleri içinde en yaygın olarak bilinen ve en fazla üretileni peynir oluşturmaktadır (Karagöl, 2017). FAO istatistik veri tabanında dünya toplam süt üretimi 2019 yılında %1,4 oranında artarak yaklaşık 852 milyon tona ulaşmıştır. Dünya toplam süt ürünleri ihracatı 2019 yılına göre yüzde 1,0 artarak ve 76,7 milyon ton üretilmiştir (FAO, 2020).



Şekil 1.2. Bölgelere göre dünya süt üretimi (A) ve süt ürünleri ihracatı (B)

Dünya toplam peynir üretimi 2017 yılında 21,1 milyon ton olarak gerçekleşmiş ve bir önceki yıla göre %2,6 oranında artmıştır (Anonim, 2018). Dünya peynir üretiminde son yıllardaki artış eğilimi Tablo 1.6'da özetlenmiştir (FAO, 2020).

Tablo 1.6. Dünya peynir üretimi

| Peynir | Üretim Yılı | | | | | | | |
|-----------------------------|-------------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 |
| Üretim Miktarı (milyon ton) | 18,1 | 18,4 | 18,8 | 19,0 | 19,5 | 20,1 | 20,6 | 21,1 |

Dünya süt dış ticaretinde en çok işlem gören ürünlerden olan peynir, toplam 32 milyar dolarlık ihracat hacmiyle toplam süt ihracatının %37'sini oluşturmaktadır. Dünya Ticaret Örgütü tarafından birleştirilmiş mal sınıflamasına göre peynir ihracatı 5 farklı sınıfa ayrılmaktadır. Bu sınıflara giren peynirlerin süt ürünleri ihracatı içerisindeki oranları da; taze peynir için %21, eritme peynir için %9, rendelenmiş

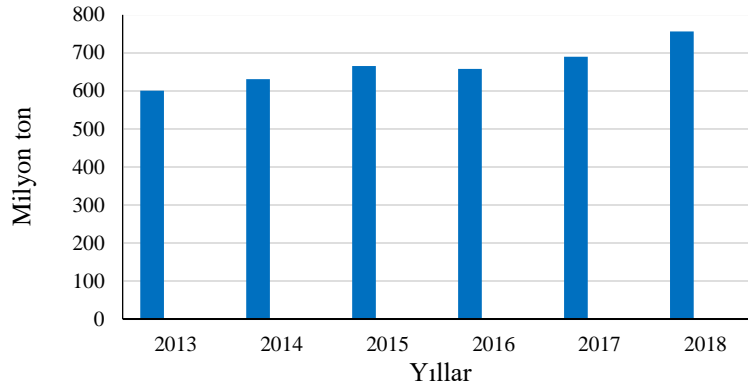
peynir için %6, mavi damarlı peynir için %2 ve diğer peynirler için %62 olarak verilmektedir. Diğer peynirler başlığı altında çoğunlukla yerel ve coğrafi olarak işaretlenmiş gravyer, cheddar, tilsite, feta gibi peynirler bulunmaktadır (Anonymous, 2014).

Dünya genelinde bilinen peynir çeşiti sayısı 2000 civarındadır. Bu çeşitlilik, peynirlerin geniş bir lezzet ve tekstür çeşitliliği göstermesinden, hammadde farkından, ulusların tüketim alışkanlıklarından ve hatta yöresel alışkanlıklardan kaynaklanmaktadır (Karagöl, 2017). İnsanlığın eski kültürel mirasının bir parçası olan ve çağlar boyunca zevkle tüketilen bir gıda maddesi olan, farklı şekil, renk, lezzet ve yapıya sahip, Fransa'da 350 (Masui and Yamada, 2000), İtalya'da 200 (Piumatti et al., 2006), İspanya'da 50, İsviçre'de 20 ve Türkiye'de 130'dan fazla peynir çeşiti bulunduğu bildirilmektedir (Kamber, 2015).

Türkiye'de de peynir üretimi süt endüstrisinin en önemli kollarından birisidir. Bununla birlikte evlerde de salamura beyaz peynir üretimi oldukça yaygındır. Birbirinden çok farklı ev şartlarında üretilen bu peynirlerin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri de birbirinden çok önemli farklılıklar göstermektedir. Türkiye'de Adam (1974) 33 çeşit peynir; (Ünsal, 1997) yaklaşık 230 çeşit peynir; Anonymous (2015) ise 193 çeşit peynir üretildiği bildirilmektedir. TÜİK veri tabanında; yumuşak (%14,82), orta yumuşak (%36,36), sert (%11,40), orta sert (%33,79), ekstra sert (%3,24) ve kesilmiş süttten (%0,36) olmak üzere 6 sınıfta peynir üretildiği bildirilmektedir (Anonim, 2014). Kamber (2007), Türkiye'de üretilen peynirlerin %60'ını beyaz peynirin, %17'sini kaşar peynirinin, %12'sini tulum ve Mihaliç peynirinin ve kalan %11'ini de diğer yerel peynirlerin oluşturduğunu rapor etmiştir.

Türkiye'de peynir üretimi çoğunlukla (%95,2) inek sütünden yapılmaktadır. Türkiye'nin toplam peynir üretimi, 2018 yılında bir önceki yıla göre %9,5 artışla 756000 ton olarak hesaplanmıştır (Anonymous, 2018). Türkiye'de 2018 yılı itibariyle kişi başına düşen yıllık peynir tüketiminin 18,4 kg olduğu tahmin edilmektedir. Uluslararası iş geliştirme ticaret istatistiklerine göre de 2018 yılında Türkiye'nin peynir ihracatının 50.669 ton (166,536,000 \$); ithalatının da 8.412 ton (34,708,000 \$) olarak gerçekleştiği bildirilmektedir (Anonim, 2018). Türkiye, peynir dış ticareti ağırlıklı olarak diğer peynirler diye sınıflanan yerel peynirlerden, eritilmiş peynirlerden ve bölgesel ve coğrafi olarak işaretlenmiş ürünlerin sınıflandırıldığı taze

peynirlerden oluşmaktadır. Taze ve eritme peynirlerde ihracat oranı yüksek iken, diğer peynir grubundaki yerel peynirlerin daha çok ithal edildiği bildirilmektedir (Anonim, 2014). Türkiye’de son yıllarda peynir üretimindeki değişim Şekil 1.3’te verilmiştir (Anonymous, 2018).



Şekil 1.3. Türkiye’de yıllara göre peynir üretim miktarları

Peynir; temel besin maddelerinden protein, yağ, mineral madde ve vitaminler yönünden zengin, gıdadır. Besin değeri çok yüksek ve ayrıca sindirimi de kolay bir hayvansal gıdadır. Peynir, çeşidine bağlı olarak %10-35 arasında yüksek biyolojik değere sahip protein içermektedir. Yine peynir çeşidine bağlı olarak; 100 g peynir yaklaşık 400-440 kalori vermektedir. Kalsiyum ve fosfor bakımından zengindir; özellikle yağda eriyen vitaminler ve B grubu vitaminleri de yüksek oranda içermektedir. Bu nedenle, özellikle yaşlı ve hastaların günlük diyetlerinin vazgeçilmez bir gıdası olarak görülmektedir (Yaygın ve Kılıç, 1993).

Vazgeçilmez bir gıda olan peynirin üretim teknolojisinde; aroma geliştirme yetenekleri, bakteriyosin ve ekzopolisakkarit üretimleri, bakteriyofajlara dirençlilikleri, laktoz ve sitrat metabolizmaları, antibiyotik ve ağır metallere dirençleri gibi özellikleri dikkate alınarak (Fortina et al., 2007; Morandi et al., 2006) kullanılan LAB’nin son yıllarda probiyotik özelliklere sahip olanlarının seçimine dikkat edilerek veya ilaveten probiyotik destek kültürler kullanılarak probiyotik özellikte peynir üretimi üzerine çalışmalar artmaktadır. Günümüzde probiyotik mikroorganizma ilavesi için alternatif bir yaklaşım olarak değerlendirilen peynir ve peynir benzeri ürünlerin daha yüksek pH değeri, yağ içeriği, tamponlama kapasitesi ile oksijen seviyesi ve depolama koşulları açısından probiyotik mikroorganizmaların uzun süre canlılıklarını sürdürme açısından diğer ürünlerden daha avantajlı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca sayılan özelliklerine ilaveten katı peynir matrisinin de hem depolanma hem de insan vücudundan geçişi sırasında bakterileri sıvı bir ortamdan

daha verimli bir şekilde koruyabileceği bildirilmektedir (Kailasapathy and Chin, 2000; Kılıç et al., 2009; Vinderola et al., 2002).

Bu yaklaşımdan hareketle probiyotik peynir starter/destek kültürleri üzerine yapılan kapsamlı araştırmalara Cheddar (Phillips et al., 2006), Gouda (Gomes et al., 1995, 1998), Süzme (Blanchette et al., 1996; Heller, 2001) Türk beyaz (Kasımoğlu et al., 2004; Kılıç et al., 2009), Arjantin (Bergamini et al., 2005, 2006) ve Caprine (Gomes et al., 1998) peynirleri kullanılarak yapılan çalışmalar örnek olarak verilebilir.

Yapılan çalışmalarda, destek başlatıcısı olarak bazı probiyotik mikroorganizma suşları içeren peynirlerde çok sayıda probiyotik mikroorganizmanın varlığının aroma ve lezzeti olumlu yönde etkileyebileceği ve olgunlaşma süresini kısaltabileceği belirtilmektedir (Wang et al., 2010). Bazı çalışmalarda da kullanılan probiyotik bakterilerin diğer laktik asit bakterilerine karşı güçlü bir inhibitör etki gösterdiği bu nedenle probiyotik mikroorganizmaların bu açıdan da dikkatle değerlendirilmesinin gerekliliğine dikkat çekilmiştir. Bu noktalar göz önüne alınarak, starter veya destek kültürü olarak kullanılacak probiyotik mikroorganizmalar ve/veya starter kültürü kombinasyonlarının dikkatle seçilmesi gerektiği söylenebilir (Gürsoy ve Kinik, 2006).

Günümüzde probiyotik gıdalara olan yönelimdeki artış ve bu kültürlerin ithal edildiği dikkate alındığında; probiyotik özellikle geleneksel gıdaların üretimini artırmak, standardize etmek, yerel pazarlarda rekabet gücünü artırmak ve uluslararası ticaretini teşvik etmek için Türkiye'nin, Codex Alimentarius standartları, WHO, FAO ve EFSA mevzuatlarına uygun olarak yeni starter ve probiyotik suşlar geliştirmesinin acil bir ihtiyaç olduğu anlaşılmaktadır. Bu ihtiyaçtan hareketle bu çalışmada geleneksel üretilmiş peynirlerden probiyotik laktik asit bakterilerinin izole edilerek tanımlanması ve starter/destek probiyotik kültür olarak önerilmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, Samsun'da on farklı bölgeden temin edilmiş geleneksel üretilmiş peynirler, probiyotik LAB kültürlerinin izolasyonu için kaynak olarak kullanılmıştır. İzole edilen probiyotik mikroorganizmalar biyokimyasal ve moleküler identifikasyon yöntemleri kullanılarak tanımlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Çalışmada, Samsun ilinin 6 farklı bölgesinden, geleneksel olarak peynir üretimi yapan toplam 25 üreticiden toplanan peynir örnekleri materyal olarak kullanılmıştır.

Tablo 2.1. Geleneksel üretilmiş peynir örneklerinin temin edildiği ilçeler

| Örnek Alınan İlçe | Örnek Sayısı (Adet) |
|-------------------|---------------------|
| Atakum | 6 |
| Bafra | 3 |
| Havza | 4 |
| Lâdik | 4 |
| Vezirköprü | 4 |
| Alaçam | 4 |
| Toplam | 25 |

Geleneksel olarak üretilmiş beyaz peynirin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi ve bunlardan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, tanımlanması ve muhafazasında; de Man, Rogosa, Sharpe broth ve agar (MRS broth; Merck 1.10661 ve MRS agar; Merck 1.10660), M17 Agar (Merck, 1.15108), Fluorocult Violet Red Bile agar (Fluorocult VRB, Merck, 1.04030), Dichloran Rose Bengal Chlorophenicol agar (DRBC agar, Merck, 1.00466) ile Baird–Parker Agar (Merck, 1.05406) + 50 mL/L Egg Yolk–Tellurit (Merck,1.03785) besiyerleri kullanılmıştır.

LAB izolatlarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde ilaveten MRS yarı-katı agar (MRS broth (Merck 1.10660) + %0,7 Agar (HIMEDIA) ile Nutrient yarı-katı agar (Nutrient broth (Merck, 1.05443) + %0,7 Agar (HIMEDIA)) besiyerleri kullanılmıştır. LAB izolatlarının probiyotik ve endüstriyel özelliklerinin belirlenmesinde de Mueller-Hinton Agar (HIMEDIA M1084-500G), glukoz yerine laktoz içeren MRS broth (Anonymous, 2005), sitratsız MRS broth (Schillinger and Lücke, 1987) ve Skim milk (%10'lük) besiyeri kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite belirlenmesinde indikatör organizma olarak da Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Biyoteknoloji Laboratuvarından temin edilen *Escherichia coli* ATCC-25922 ve *Bacillus cereus* NRRL B-3711 kullanılmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

2.2.1.1. Peynirden Mikrobiyolojik Analizler için Örnek Alınması

Üreticilerden steril poşetlerde alınmış peynir örnekleri, laboratuvarında aseptik koşullara dikkat edilerek açılmış, mikrobiyolojik analiz örneği almak için aseptik şartlarda parçalanarak karıştırılmış, 10 g örnek alınmış ve 90 mL 1/4 kuvvetinde Ringer's çözeltisi eklendikten sonra stomacherde 1,5 dakika orta hızda homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan, aynı seyreltme çözeltisi kullanılarak 10^{-6} oranına kadar seyreltmeler yapılmıştır. Mikrobiyolojik analiz örneklerinin alınından sonra parçalanarak karıştırılmış peynir örneklerinden, fiziksel ve kimyasal analizleri için örnek alınmıştır. Tüm analizler 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.1.2. Laktik Asit Bakteri Sayımı

LAB sayımı ve izolasyonu için uygun seyreltilerden (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6}) 100 µL alınıp MRS agar (pH 5,7±0,2) ve M17 agara (pH 7,2±0,2) yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra 15 dakika beklenilmiş ve takiben ters çevrilen MRS agar petripleri 37°C, M17 agar petripleri de 30°C sıcaklıkta %10 CO₂ ortamında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen tüm koloniler sayılmıştır (Şimşek et al., 2006; Tassou et al., 2002).

2.2.1.3. Koliform Grubu Bakteri ve *E. coli* Sayımı

Koliform grubu bakteri sayımı için uygun seyreltilerden (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4}) petri plaklarına 1'er mL aktarılıp, üzerine 45-48°C'ye soğutulmuş Fluorocult VRB agardan 13-15 mL eklenerek dökme ekim yapılmıştır. Petri plakları 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra 0,5 mm'den büyük çapa sahip kırmızı renkli koloniler koliform grup mikroorganizma olarak sayılmıştır. *E. coli* sayımı için koliform belirlenen petri kapları, UV lamba ile kontrol edilmiş ve etrafında parlak mavi renk veren koloniler *E. coli* olarak belirlenmiştir (Lönner et al., 1986; Simsek et al., 2006; Tassou et al., 2002).

2.2.1.4. Maya-küf Sayımı

Maya-Küf grubu mikroorganizma sayımı için uygun seyreltilerden (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4}) 100 µL alınıp DRBC agara yayma ekim yapılmış ve petri plakları 15 dakika bekletildikten sonra ters çevrilerek 25°C de 3-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda plaklarda gelişen tüm koloniler sayılarak maya-küf sayısı belirlenmiştir (Lönner et al., 1986; Simsek et al., 2006; Tassou et al., 2002).

2.2.1.5. *Staphylococcus aureus* Sayımı

Staphylococcus aureus sayımı için uygun seyreltilerden (10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3}) 100 µL alınıp Egg Yolk-Tellurit emülsiyonu içeren Baird-Parker agara yayma yöntemle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petri kutuları 15 dakika bekletildikten sonra ters çevrilmiş ve 37°C'da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Baird-Parker Agar besiyerinde etrafı saydam zonlu 1-1,5 mm çaplı siyah parlak konveks koloniler *S. aureus* olarak sayılmıştır (Smith and Baird-Parker, 1964; Stadhouders et al., 1976).

2.2.2. Peynir Örneklerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

2.2.2.1. pH Değeri

Bu analiz için 5 g peynir örneği bir beher içerisinde 20-30 mL sıcak su (60-70°C) ile iyice ezilerek parçalanmış ve sulu kısım balon jøjeye aktarılmıştır. Aynı işlem 5-6 kez tekrarlanarak her defasında sulu kısım balon jøjeye alınmıştır. Balon jöje içeriğinin soğuması için beklenmiş, balon içeriği saf su ile 500 mL çizgisine kadar tamamlanmış ve filtre kâğıdından süzölmüştür. Takiben süzöntüden 25 mL alınarak bir erlene aktarılmış ve içerisine pH metre (OHAUS ST3100) elektrodu daldırılıp oda sıcaklığında iki farklı okuma yapılmıştır (Karagöl, 2017; Ö Şimşek, 2003; Tassou et al., 2002). İlk ölçüm öncesinde pH metre, pH 4,0 ve 7,0 tamponları kullanılarak kalibre edilmiştir.

2.2.2.2. Titrasyon Asitliği (% Asitlik)

10 g peynir örneği üzerine 40°C'de 100 mL damıtık su ilave edilmiş, iyice ezilip parçalanarak homojenize edilmiş ve kaba filtre kâğıdından süzölmüştür. Süzöntüden 25 mL (2,5 g peynir örneği) alınıp üzerine 2-3 damla %1'lik fenolftalein indikatörü eklenmiştir. 0,1 N NaOH çözeltisi ile 30 saniye kalıcı açık pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarından aşağıda verilen formül 2.1

kullanılarak % asit miktarı laktik asit cinsinden hesaplanmıştır. 1 mL 0,1 N NaOH çözeltisi 0,0090 g laktik aside eşdeğer kabul edilmiştir (Karagöl, 2017).

$$\% \text{Asitlik} = [(V \cdot F \cdot E) / m] \times 100$$

V: Harcanan 0,1 N NaOH miktarı, mL
F: Titrasyonda kullanılan baz-çözeltisinin faktörü
E: 1 mL 0,1 N NaOH'ın eşdeğeri asit miktarı, g
m: Titrasyonda kullanılan peynir miktarı, g

(2.1)

2.2.2.3. Tuz İçeriği

Tuz içeriğinin belirlenmesi için daha önce “2.2.2.1 pH değeri” kısmında anlatıldığı gibi hazırlanan ve filtre kâğıdından süzülen homojenizattan bir erlene 25 mL aktarılmıştır. Üzerine 0,5 mL K₂CrO₄ çözeltisi (%5'lik, suda) ilave edilmiş ve 0,1 N AgNO₃ çözeltisi ile kiremit kırmızı renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Tanık deneme için 25 mL saf suya aynı şekilde potasyum kromat indikatörü eklenerek AgNO₃ çözeltisi ile titre edilmiştir. Örneklerin % tuz oranları titrasyonda harcanan AgNO₃ miktarından hareketle aşağıda verilen formül 2.2 kullanılarak hesaplanmıştır (Karagöl, 2017).

$$\% \text{Tuz} = [(V \times 0,00585) / m] \times 100$$

V : Harcanan 0,1 N AgNO₃ miktarı, mL
m : Titrasyonda kullanılan peynir miktarı, g

(2.2)

2.2.2.4. Kurumadde İçeriği

Örneklerin kurumadde içerikleri Demirci ve Gündüz (1991) tarafından verilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kuru ve temiz kurumadde kapları içerisine deniz kumu ve bir baget konulduktan sonra 100±2°C'de kurutulup, desikatörde soğutulmuş ve darası alınmıştır. Takiben her bir kurutma kabına yaklaşık 5 g peynir örneği tartılıp, baget ve kum yardımı ile iyice parçalanmıştır. Takiben 4 saat aralıklarla 100±2°C'deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. Elde edilen tartım sonuçlarından aşağıda verilen formül 2.3 kullanılarak % kurumadde içeriği hesaplanmıştır.

$$\% \text{Kurumadde} = (G_3 - G_1 / G_2 - G_1) \times 100$$

G1: Kurutma kabının darası, g
G2: Örnek+Kabin kurutma öncesi ağırlığı, g
G3: Örnek+Kabin kurutma sonrası ağırlığı, g

(2.3)

2.2.3. Peynirlerden Antimikrobiyal Aktiviteli LAB İzolasyonu

Peynir örneklerinden antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB izolasyonu için uygun 1/4 kuvvetinde Ringer's çözeltilinde hazırlanmış seyreltilerden bir petri kabında 20-150 arasında koloni olacak şekilde MRS ve M17 agara yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. MRS agar petrileri 37°C, M17 agar (pH 7,2±0,2) petrileri de 30°C sıcaklıkta %10 CO₂ ortamında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şimşek et al., 2006). Takiben 20-150 arasında koloni içeren MRS ve M17 agar plakları üzerine Nutrient Broth besiyerinde 30°C'de 18 saat geliştirilmiş indikatör mikroorganizmaları (*Bacillus cereus*, *E. coli*) içeren 7 mL yarı-katı besiyeri ikinci katman olarak dökülüp, 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda etrafında inhibisyon zonu bulunan antimikrobiyal aktiviteli muhtemel LAB kolonileri aşı iğnesi ile alınarak MRS broth besiyerine aşılanmış ve 30°C sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişme görülen koloniler daha sonra saflık ve doğrulama testlerine tabi tutulmuşlardır.

Antimikrobiyal aktiviteli muhtemel LAB izolatlarının doğrulanması ve saflık kontrolü için her bir izolatın MRS broth kültüründen MRS broth ve agar besiyerlerine ekim yapılmış ve 30°C sıcaklıkta 18-24 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonrası MRS broth besiyerinde gelişen genç kültürlerle Şimşek (2003) tarafından bildirilen yöntem kullanılarak Gram boyama, mikroskopik saflık kontrolü ve katalaz testleri uygulanmıştır.

Gram boyama testi uygulandıktan sonra mikroskop incelemesi sonrasında menekşe renkli bakteriler Gram pozitif olarak ve farklı morfolojide mikroorganizma içermeyen kültürler de saf kültür olarak kabul edilmiştir. Aynı kültürlerin MRS agarda geliştirilmiş kolonileri üzerine de H₂O₂ damlatılıp, kolonilerin etrafında gaz habbeciklerinin oluşması gözlenmiş ve oluşanlar katalaz pozitif, oluşmayanlar katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Carr et al., 2002; Kim et al., 2001).

Doğrulama testleri sonucunda Gram pozitif, katalaz negatif ve saf olan kültürler, kriyoprotektan olarak %30 gliserol içeren MRS broth'a aşılanmış ve -80°C'de depolanmıştır.

2.2.4. LAB izolatlarının Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

LAB izolatlarının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi Tagg ve McGiven (1971) tarafından bildirilen agar spot ve kuyu difüzyon yöntemleri uygulanarak belirlenmiştir. Bu amaçla; LAB izolatları MRS broth'da 30°C'de %10 CO₂ ortamında 24 saat geliştirilerek çoğaltılmıştır. İndikatör mikroorganizmalar ise Nutrient Broth besiyerinde 30°C'de 18 saat geliştirilmiştir.

Agar spot testi için MRS broth'da geliştirilmiş LAB izolatlarından bir petride 4-6 adet olacak şekilde MRS agar üzerine nokta ekim yapılmış ve 30°C'de %10 CO₂ ortamında 24 saat geliştirilmiştir. Daha sonra üzerlerine indikatör bakterileri (*Bacillus cereus*, *E. coli*) 0,5 McFarland bulanıklık oluşturacak miktarda (10⁸ kob/mL) içeren 7 mL yarı-katı besiyeri ikinci katman olarak dökülüp, 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda koloniler etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapı ölçülmüştür.

Agar spot testinde antimikrobiyal aktiviteli olarak belirlenen LAB izolatları, kuyu difüzyon testi için MRS broth besiyerinde %10 CO₂ ortamında 30°C'de 24 saat geliştirilmiştir. Gelişen kültürler 4500 rpm değerinde 15 dakika santrifüj edilmiş ve üst sıvı, çöken katı fazın karışmamasına dikkat edilerek, yeni tüplere aktarılmıştır. Takiben, 6N NaOH ile 6,0 pH'ya ayarlanmış ve 0,45 µm por çaplı membran filtreden (Merck, Millex, Millipore) geçirilerek sterilize edilmiştir. Bir gün önce hazırlanmış 15 mL Nutrient agar içeren petri kapları üzerine, 0,5 McFarland bulanıklık oluşturacak miktarda (10⁸ kob/mL) indikatör bakteri süspansiyonu (*E. coli* veya *B. cereus*) içeren 7 mL yarı-katı Nutrient agar ikinci bir tabaka olarak dökülmüştür. Yarı-katı agarın katılaşmasını takiben steril cam pastör pipetinin arkası kullanılarak her petri kabında 4-6 adet olacak şekilde 5 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Takiben pH değeri 6,0 pH'ya ayarlanmış ve filtreden geçirilerek sterilize edilmiş, bakteri üst sıvılarından her bir kuyucuğa 100 µL doldurulmuştur. 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrası etrafında indikatör mikroorganizma gelişmemiş olan kuyucukların etrafındaki inhibisyon zonlarının çapı ölçülmüştür.

2.2.5. Antimikrobiyal Aktiviteli LAB İzolatlarının Endüstriyel Özellikleri

Laktik asit bakterilerinin endüstriyel özellikleri olarak; farklı tuz konsantrasyonlarında, farklı pH değerlerinde ve farklı sıcaklıklarda gelişme testleri ile glukozdan gaz üretiminin varlığı, asit üretim düzeyleri ve proteolitik aktivite düzeylerinin belirlenmesi testleri aşağıda verilen yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.5.1. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme

%3,0, %5,0, %6,5, %8,0, %9,0, %10 ve %12 NaCl içeren 3,0 mL MRS broth besiyerine 18-24 saatlik taze LAB kültürleri ile %1 aşılama yapıp, 30°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. Bulanıklık oluşan tüplerde gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (Sánchez et al., 2000).

2.2.5.2. Farklı pH Değerlerinde Gelişme

2,5, 3,0, 3,5 ve 4,0 ve 9,6 pH değerine ayarlanmış 3,0 mL MRS broth besiyerine 18-24 saatlik taze LAB kültürleri ile %1 aşılama yapıp, 30°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. Bulanıklık oluşan tüplerde gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (G-Alegría et al., 2004).

2.2.5.3. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme

MRS broth besiyerinde çoğaltılmış 18 saatlik kültürlerden 3,0 mL MRS broth besiyerine %1 aşılama yapıp 10°C, 15°C ve 45°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. Bulanıklık oluşan tüplerde gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şimşek, 2003; Tassou et al., 2002).

2.2.5.4. Glukozdan Gaz Üretimi

LAB'nin glukozdan gaz üretimi Schillinger ve Lücke (1987) tarafından verilen yöntem modifiye edilerek sitratsız MRS broth besiyerinde Durham tüpü eşliğinde belirlenmiştir. 18 saatlik taze LAB kültürleri ile %1 aşılama yapıp sitratsız MRS broth besiyerleri 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Her gün Durham tüpü içerisinde gaz oluşumu gözlenmiş ve gaz gözlenenler pozitif olarak işaretlenmiştir (Schillinger and Lücke, 1987).

2.2.5.5. Asit Üretim Düzeylerinin Belirlenmesi

Laktik asit üretim düzeylerinin belirlenmesi amacıyla 18 saatlik aktif kültürden 50 mL MRS broth besiyerine %1 oranında aşılınmış ve 30°C’de 0, 3, 6, 12, 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sonunda pH ve titrasyon asitlikleri belirlenmiştir. pH değerini belirlemek için her bir ölçüm zamanında 4 mL örnek alınmış ve 4,0 ve 7,0 tamponunda standardize edilmiş pH metre’nin elektrodu daldırılarak iki farklı okuma yapılmıştır (Şimşek, 2003; Tassou et al., 2002).

Titrasyon asitliğini (% asitlik) belirlemek için 2 mL örnek üzerine 8 mL saf su konulduktan sonra 3 damla %3’lük fenolftalein damlatılmış ve 0,05 N NaOH ile pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarı formül 2.4 kullanılarak hesaplanmış ve sonuç % asitlik olarak (laktik asit üzerinden) ifade edilmiştir (Karagöl, 2017).

$$\% \text{ Asitlik} = [(V \cdot F \cdot E) / m] \times 100 \quad (2.4)$$

V: Harcanan 0,05 N NaOH miktarı, mL
F: Titrasyonda kullanılan baz-çözeltilisinin-faktörü
E: 1 mL 0,05 N NaOH’ın eşdeğeri asit miktarı, g
m: Titrasyonda kullanılan örnek miktarı, mL

İzolatların fermantasyon süresine bağlı olarak oluşturdukları pH değeri ve % asitlik değerindeki değişim değeri (Δ), yukarıda anlatıldığı şekilde belirlenen başlangıç (0. zaman) pH ve % asitlik değerlerinden 3, 6, 12, 24, 48 ve 72 saat sonunda belirlenen pH ve % asitlik değerlerinin çıkartılması ile hesaplanmıştır.

2.2.5.6. Proteolitik Aktivite Düzeylerinin Belirlenmesi

LAB izolatlarının proteolitik aktivite düzeylerinin belirlenmesi Spencer ve Ragout de Spencer (2001) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Proteolitik aktivite testi için 18 saatlik taze LAB kültürlerinden 5 mL steril skim milk (%10’luk) besiyerine %1 oranında aşılınmış ve 30°C’de 42 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra, her bir örneğe 1 mL distile su ve 10 mL 0,72 N Trikloroasetik Asit (TCA) ilave edilmiş ve karıştırılıp 10 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda örnekler Whatman 1 filtre kağıdından süzülmüştür. Süzüntüden 5 mL alınıp üzerine 10 mL Na₂CO₃ + Na₄P₂O₇ çözeltisinden (75 g Na₂CO₃ + 10 g Na₄P₂O₇ saf su ile çözündürülüp 500 mL’ye tamamlanmıştır) konulup karıştırılmıştır. Ardından bunun üzerine 3 mL taze fenol ayıracı (1 kısım Folin Ciocalteus çözeltisi + 2 kısım su) konularak mavi renk oluşuncaya kadar sürekli karıştırılmıştır. Takiben örnekler 4500 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonunda üstte kalan berrak mavi kısım

alınarak spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda OD ölçümü yapılmıştır. Örneklerin proteolitik aktivite düzeyleri, hazırlanan proteolitik aktivite standart kurvesi/formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Aslım, 1994; Yüksekdağ and Beyatlı, 2003). Proteolitik aktivite standart kurvesinin hazırlanmasında, oluşan aminoasitlere eşdeğer olarak tirozin aminoasiti esas alınmıştır. Bu amaçla; 5 mL steril skim milk (%10'luk) besiyerleri içerisine 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08, 0,10, 0,15 ve 0,20 mg/mL tirozin eklenmiş ve yukarıdaki aynı yöntem kullanılarak spektrofotometrede okuma basamağına getirilen örneklerde 550 nm dalga boyunda OD ölçümü gerçekleştirilmiştir. Örneklerin içerdiği tirozin miktarına karşılık gelen OD değerlerinden proteolitik aktivite standart kurvesi çizilmiştir.

2.2.6. Antimikrobiyal Aktiviteli LAB İzolatlarının Probiyotik Özellikleri

2.2.6.1. β -Galaktosidaz Testi

Karbon kaynağı olarak glukoz yerine laktoz içeren MRS besiyerinde geliştirilmiş bir gecelik (18 saat) kültürden bir öze dolusu alınarak 0,25 mL fizyolojik tuzlu su ile süspanse edilmiştir. Bu süspansiyonun üzerine 0,25 mL O-Nitrophenyl β -D-Galactopyranoside (ONPG) Peptonlu Su (Tablo 2.2) ilave edilerek optimum sıcaklıkta 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda tüplerde sarı rengin meydana gelmesi ONPG'nin hidrolize edildiğini göstermiş ve β -Galaktosidaz testi pozitif olarak kabul edilmiştir. Rengin değişmeden kalması da negatif olarak değerlendirilmiştir (Anonymous, 2005).

Tablo 2.2. ONPG peptonlu su hazırlaması

| A çözeltisi | B Çözeltisi |
|---|--|
| 10,0 g Tripton, 5,0 g NaCl 100 mL distile suda çözündürülüp 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir (pH 7,5). | 0,6 g O-Nitrophenyl β -D-Galactopyranoside 100 mL 0,01 M Sodyum Fosfat Tamponuna eklenmiş ve 0,45 μ m porlu filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir (pH 7,5). |

Hazırlanan A çözeltisinden 30,0 mL ve B çözeltisinden 10,0 mL alınarak karıştırılmıştır.

2.2.6.2. Antibiyotiklere Duyarlılık

Laktik asit bakteri izolatlarının yaygın kullanılan 8 farklı antibiyotiğe (Amoxicillin, Ampicillin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamicin, Metronidazole, Tetracycline ve Vancomycin) karşı duyarlılıkları test edilmiştir. Bu amaçla LAB izolatlarının bir gecelik (18 saat) taze kültürleri 0,5 McFarland ünitesine eşdeğer bulanıklıkta (10^8 kob/mL) seyreltilmiş ve 100 μ L örnek Mueller-Hinton agara yayma

yöntemle ekilmiştir. Takiben her bir petriye 5 antibiyotik diski yerleştirilmiş ve 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası antibiyotik diskleri etrafındaki inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüş ve NCLS standartlarına göre hassasiyet durumları belirlenmiştir (Erginkaya et al., 2019; Plessas et al., 2017).

2.2.6.3. LAB Süspansiyonu Hazırlama

LAB izolatlarının safra tuzu ve mide suyuna dayanıklılık testlerinde kullanmak için LAB süspansiyonu (LABS) hazırlanmıştır. Bu amaçla; LAB izolatları 20 mL MRS broth'da bir gece (18-24 saat) inkübe edilmiş ve takiben 4500 rpm'de, 4°C sıcaklıkta 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısmı uzaklaştırılarak hücre pelleti elde edilmiştir. Hücre pelleti 10 mL steril Phosphate Buffered Saline solusyonu (PBS; pH 7,2) ile aseptik şartlar korunarak iki kez yıkanmıştır. Takiben pellet 5 mL PBS içinde tekrar süspansiyon haline getirilmiştir (~10⁸ hücre/mL).

2.2.6.4. Safra Tuzuna Dayanıklılık

%1 (w/v) safra tuzları içeren 10 mL PBS çözeltisine (pH 8,0) 500 µL LAB süspansiyonu (LABS) ilave edilmiş, karıştırılmış ve 37°C'de 0, 60, 120 ve 240 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin 0, 60, 120 ve 240. dakikalarında 1 mL örnek alınıp steril fizyolojik su ile 10⁻⁵'e kadar seyreltileri hazırlanmıştır. Takiben 10⁻³, 10⁻⁴ ve 10⁻⁵'lik seyreltilerden MRS agara yayma ve damlatma yöntemleri ile ekimler yapılmış ve gelişen koloniler sayılmıştır. Elde edilen sayım sonuçlarından formül 2.5 ve 2.6 kullanılarak safra tuzuna dayanıklılık; % canlı kalma oranı ve değişimi ($\Delta \log \text{kob/mL}$) olarak hesaplanmıştır (Plessas et al., 2017; Tokatlı et al., 2015).

$$\text{Canlı Kalma Oranı (\%)} = (X / X_0) \times 100 \quad \begin{array}{l} X_0: \text{Başlangıç Canlı Mikroorganizma Sayısı (log kob/g)} \\ X: \text{İnkübasyon Sonu Canlı Mikroorganizma Sayısı (log kob/g)} \end{array} \quad (2.5)$$

$$\text{Canlı Hücre Sayısındaki Değişim (\Delta log/kob/mL)} = X_0 - X \quad (2.6)$$

2.2.6.5. Mide Suyuna Dayanıklılık

Mide suyuna dayanıklılığı ölçmek için %0,3 pepsin (w/v) ve %0,5 NaCl (w/v) içeren ve HCl ile pH değeri 2,0 ve 3,0 pH'ya ayarlanmış 2 farklı mide suyu solusyonu hazırlanmıştır. LAB süspansiyonundan 2 deney tüpüne 1'er mL aktarılıp 4°C sıcaklık ve 4500 rpm değerinde 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısmı uzaklaştırılarak elde edilen pelletlerden birisinin üzerine 2,0 pH, diğerinin üzerine 3,0 pH değerine sahip mide suyu solüsyonundan 10'er mL eklenmiş ve 37°C sıcaklıkta 3 saat

inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. dakikasında ve 3. saatinde 1 mL örnek alınıp steril fizyolojik su ile 10^{-5} 'e kadar seyreltileri hazırlanmıştır. Takiben 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ve 10^{-5} seyreltilerden MRS agara yayma ve damlatma yöntemleri ile ekimler yapılmış ve gelişen koloniler sayılmıştır. Elde edilen sayım sonuçlarından formül 2.5 ve 2.6 kullanılarak mide suyuna dayanıklılık; % canlı kalma oranı ve değişimi (Δ log kob/mL) olarak belirlenmiştir (Gardiner et al., 1999; Vinderola and Reinheimer, 2003).

2.2.7. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Tanımlanması

Antimikrobiyal aktivite ve istenilen probiyotik ve/veya endüstriyel özelliklere sahip olarak belirlenen LAB izolatlarının genomik DNA'larının izolasyonu için MRS broth besiyerinde 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiş sıvı kültürden 1 mL alınıp steril 1,5 mL'lik eppendorflara transfer edilmiş ve 13000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek hücre pelleti çöktürülmüştür. Yeterli hücre pelleti (yaklaşık 300-400 μg) steril TE tamponu ile 3 kez yıkanmış ve DNA izolasyonuna kadar -20°C 'de tutulmuştur. Genomik DNA izolasyonu üretici firmanın (Invitrogene Genomic DNA Isolation Kit) belirttiği şekilde DNA izolasyon kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. LAB izolatlarının tanımlanması için 16S rRNA gen bölgesi 0,2 mL'lik PZR tüplerinde Termal Cycler kullanılarak saf olarak elde edilmiş DNA örneklerinin 16S rRNA genini kodlayan DNA bölgesinin çoğaltılması forward $5'$ -AGAGTTTGATCCTGGCTCAG- $3'$ ve reverse $5'$ -AAGGAGGTGATCCAGCCGCA- $3'$ primer çiftleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Özel, 2012; Vancanneyt et al., 2006; Vuyst et al., 2002).

İzolatların 16S rRNA gen bölgesinin çoğaltılmasında her bir suş için 50 μL 'lik PZR karışımı kullanılmıştır. Bu karışım için önce 1,5 mL'lik PZR tüplerine her bir örnek için 25 μL master mix (GoTaq® Hot Start Colorless Master Mix), 1,0 μL primer (forward ve reverse) ve 21 μL steril ultra saf su konularak karıştırılmış, takiben bu karışımdan, her bir örnekten 1-5 μL DNA (50 ng/ μL son konsantrasyon) DNA örnekleri içeren 0,2 mL'lik PZR tüplerine, buz üzerinde toplam reaksiyon karışımı 50 μL olmuş şekilde transfer edilmiştir. PZR işlemi 95°C 15 dakika ön denatürasyon, 35 çevrim 95°C 1 dakika, 55°C 1 dakika, 72°C 3 dakika ve 72°C 10 dakika süre kombinasyonları ile Termal Cycler kullanılarak uygulanmıştır.

Çoğaltılan PZR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde (30 mL 1xTBE tampon, 0,45 g agaroz) PZR DNA marker (Sigma, 50 bç) ile birlikte 100 voltta 30 dakika yürütülerek

GelDoc Sistem (Vilber Lourmat, Quantum ST5) üzerinde kontrol edildikten sonra QIAquick PZR pürifikasyon kiti (Qiagen, Valencia, USA) kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan amplifikasyon ürünü 16S rRNA gen bölgesinin yaklaşık uzunluğunun tamamının dizi analizi, üç primer ile ABI PRISM 3730XL Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems) otomatik dizi analizi cihazı kullanılarak hizmet alımı yoluyla Macrogen Inc. (Güney Kore) firmasında gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi dizi analizinde kullanılan primerler Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.3. LAB izolatlarının 16S rRNA gen gölgesi dizi analizinde kullanılan primerler

| İsim | Diziliş | Bağlanma Bölgesi (5'-3') | Kaynak |
|------|----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| 27F | AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG | 8-27 | (Lane, 1991) |
| 800R | TAC CAG GGT ATC TAA TCC | 800-782 | (Chun and Goodfellow, 1995) |
| Mg5F | AAA CTC AAA GGA ATT GAC GG | 907-926 | (Chun and Goodfellow, 1995) |

(Lane, 1991)'e göre: M, A:C

LAB'lerinin 16S rRNA kodlayan gen bölgesinin dizi analizleri tamamlandıktan sonra elde edilen ABI formatındaki kromatogram dosyaları Chromas versiyon 1.7.5 (C. McCarthy, School of Health Sciences, Griffith University, Queensland, Australia) ile birleştirilmiş ve EzTaxon Server (Kim et al., 2012; URL-13) kullanılarak, en yakın akraba organizmalarla olan 16S rRNA gen bölgesi nükleotit benzerliği belirlenmiştir. Filogenetik analizler için MEGA 5.2 programı, hizalama için de aynı programın CLUSTAL_W seçeneği kullanılmıştır (Tamura et al., 2011). Bootstrap testi 1000 tekrarlı olarak yapılmıştır. En az %98,7 ve daha yüksek benzerliğe sahip izolatlar aynı tür olarak kabul edilmiştir.

2.2.8. İstatistiksel Analiz

Analizler sonucunda elde edilen veriler, SPSS programı (SPSS 22.0) ile tek faktörlü varyans analizi (ANOVA) yapılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel açıdan farklılık Duncan testi kullanılarak %95 güven aralığında ($p < 0,05$) belirlenmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Kimyasal ve Fiziksel Analiz Bulguları

Araştırmada, Samsun ilinden toplanan 25 adet geleneksel peynir örneğinde pH, asitlik, tuz ve kurumadde analizleri yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.1’de sunulmuştur.

Tablo 3.1. Samsun ili geleneksel peynir ürünlerinin kimyasal ve fiziksel analiz sonuçları

| Örnek No | Alındığı İlçe | pH Değeri | Asitlik (%) | Tuz (%) | Kurumadde (%) | Kurumaddede Tuz (%) |
|----------------|---------------|-----------|-------------|---------|---------------|---------------------|
| 1 | Havza | 5,95 | 0,83 | 7,26 | 64,52 | 11,25 |
| 2 | Havza | 5,68 | 0,85 | 4,56 | 45,23 | 10,08 |
| 3 | Havza | 5,80 | 1,59 | 8,90 | 56,91 | 15,64 |
| 4 | Havza | 6,70 | 0,27 | 6,32 | 54,08 | 11,69 |
| 5 | Lâdik | 4,83 | 0,47 | 15,80 | 68,06 | 23,21 |
| 6 | Lâdik | 5,71 | 0,22 | 12,40 | 63,28 | 19,60 |
| 7 | Lâdik | 6,62 | 0,18 | 8,78 | 67,63 | 12,98 |
| 8 | Lâdik | 5,38 | 0,79 | 12,40 | 74,49 | 16,65 |
| 9 | Vezirköprü | 6,65 | 0,09 | 8,78 | 59,67 | 14,71 |
| 10 | Vezirköprü | 5,87 | 0,13 | 9,13 | 83,69 | 10,91 |
| 11 | Vezirköprü | 5,89 | 0,14 | 9,71 | 82,69 | 11,74 |
| 12 | Vezirköprü | 6,43 | 0,09 | 8,07 | 59,73 | 13,51 |
| 13 | Alaçam | 6,21 | 0,72 | 7,02 | 57,99 | 12,11 |
| 14 | Alaçam | 4,53 | 1,12 | 5,83 | 66,97 | 8,71 |
| 15 | Alaçam | 6,18 | 0,72 | 8,31 | 65,44 | 12,70 |
| 16 | Alaçam | 5,47 | 0,99 | 5,85 | 73,28 | 7,98 |
| 17 | Bafra | 4,56 | 0,79 | 11,23 | 46,71 | 24,04 |
| 18 | Bafra | 6,21 | 0,50 | 8,31 | 50,85 | 16,34 |
| 19 | Bafra | 4,39 | 1,34 | 4,56 | 73,05 | 6,24 |
| 20 | Atakum | 6,25 | 0,24 | 10,41 | 62,51 | 16,65 |
| 21 | Atakum | 6,53 | 0,14 | 6,90 | 68,11 | 10,13 |
| 22 | Atakum | 5,98 | 0,63 | 11,70 | 70,42 | 16,61 |
| 23 | Atakum | 5,80 | 0,40 | 3,86 | 67,04 | 5,76 |
| 24 | Atakum | 5,51 | 0,25 | 12,99 | 60,02 | 21,64 |
| 25 | Atakum | 6,38 | 0,40 | 7,37 | 56,71 | 13,00 |
| En düşük | | 4,39 | 0,09 | 3,86 | 45,23 | 5,76 |
| En yüksek | | 6,70 | 1,59 | 15,8 | 83,69 | 24,04 |
| Ortalama | | 5,82 | 0,56 | 8,66 | 63,96 | 13,76 |
| Standart Sapma | | 0,67 | 0,41 | 2,93 | 9,66 | 4,84 |

Alizadeh et al. (2018) tarafından Siahmazgi peynir örneklerinde saptanan pH değerleri (4,2-6,5 pH arasında) ile Ceylan et al. (2019) tarafından Adıyaman peynir örneklerde belirlenen pH değerlerinin de (5,62-7,07 pH arasında, ort. 6,57 pH) örnekler arasında büyük değişimler gösterdiği bildirilmiştir. Hayaloglu ve Karabulut (2013), Civil (5,90 pH), Hellim (6,02 pH), Divle (5,49 pH), Mihaliç (5,44 pH), Örgü (5,40 pH) ve Malatya (5,64 pH) peynirlerinin sahip olduğu pH değerlerinin birbirinden farklılıklar gösterdiğini saptamıştır. Deveci, (2016) incelediği beyaz peynir örneklerinin olgunlaşma süresince en yüksek pH değerine $4,85 \pm 0,03$ pH ile 15. günde,

en düşük pH değerine ise $4,62 \pm 0,06$ pH ile 90. günde sahip olduğunu bildirmiştir. Gölge ve Şahan (2008) inek ve koyun peynirlerinde ortalama pH değerini $5,48 \pm 0,47$ ile $5,63 \pm 0,24$ pH arasında bulmuşlardır. Kavas et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada olgun beyaz peynir pH değerinin $5,43-5,33$ pH arasında değiştiği; Şimşek, (1995) tarafından yapılan çalışmada da 40 adet Beyaz peynir örneğinin ortalama pH değerinin $4,36$ pH olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen ortalama pH değerleri çalışmamızda elde edilenlerden biraz daha düşüktür. Literatür verileri olan bu farklılığın da peynir örneklerinin farklı yörelerden alınması, farklı şartlarda üretilmesi, farklı şartlar altında olgunlaştırılması ve farklı sürelerde olgunlaştırılmış/beklemiş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Peynir örneklerinin toplam asitlik değerleri $0,09-1,59$ arasında birbirinden önemli derecede farklı olarak belirlenmiş ($p < 0,05$) ve ortalama asitlik $0,56$ olarak hesaplanmıştır. Yıldız (2003) tarafından Urfa peynirlerinde elde edilen titrasyon asitliğinin $0,62-2,31$ arasında ve ortalama $1,23 \pm 0,09$ olduğu, Alizadeh et al. (2018) tarafından da araştırılan peynir örneklerinin asitliğinin $0,14-1,90$ arasında değiştiği ve ortalama $0,86 \pm 0,2$ olduğu bildirilmiştir. Beyaz peynirlerde ortalama toplam asitlik değerlerinin, Deveci (2016) tarafından $1,18 \pm 0,08$ olduğu, Tosun (2009) tarafından $1,2$ olduğu, Uraz ve Şimşek (1998) tarafından da $1,31$ olduğu bildirilmiştir. Çalışmada elde edilen toplam asitlik düzeyi literatürde verilen Alizadeh et al. (2018), Deveci (2016), Uraz ve Şimşek, (1998) ve Tosun (2009) tarafından bildirilen asitlik değerlerinden daha düşüktür. Beyaz peynir standardında (TSE 591) peynirdeki asitlik derecesinin 3 'ü geçmemesi gerektiği bildirilmektedir. Asitlik açısından örneklerin tamamı beyaz peynir standartına uymaktadır.

Peynirlerin bir diğer önemli kalite kriteri olan tuz içerikleri $3,86-15,8$ arasında; kurumaddede tuz oranları ise $5,76-24,04$ arasında değişmiş ve sırasıyla ortalama $8,66$ ve $13,76$ olarak bulunmuştur. Örnekler arasında tuz ve kurumaddede tuz içerikleri açısından büyük farklılık olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliğinde peynir üretiminde türüne göre değişmek üzere, kurumaddede tuz oranının $3,0-7,5$ arasında olmasına izin verilmiştir (TGK, 2015). Test edilen beyaz peynir örneklerinin sadece 2 adedi tebliğe uygundur. Literatür çalışmasında da beyaz peynir örneklerinin tuz oranlarının Tosun, (2009) tarafından yapılan çalışmada $2,95-6,44$ arasında değiştiği bildirilirken, Güven ve Karaca (2001) tarafından tuz oranlarının saklama süresi boyunca arttığı ve 12 hafta süre sonunda 17 'ye ulaştığı bildirilmiştir.

“Geleneksel Türkiye peynirleri ve sınıflandırılması” isimli literatürde Türkiye’de yapılan çalışmaların özetlendiği tabloda tuz değerlerinin %1,09-12,10 arasında değiştiği (Kamber, 2015); Ercan (2009) tarafından da sepet peynirlerinin tuz içeriğinin %2,81-13,69 arasında değiştiği ve ortalama %7,10 olduğu bildirilmektedir. Çalışmada elde edilen ve Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği ile literatürde verilen tuz içeriklerinden oldukça yüksek tuz içeriği değerinin; test edilen örneklerin endüstriyel değil, küçük aile işletmelerinin üretimi olmasından; kendi tüketimleri için hazırlamış ve satışa sunmayacak oldukları peynirleri koruma amaçlı olarak yüksek tuz konsantrasyonlarında saklamaları ve tüketirken tuzunu alarak kullanmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Örnekler arası farklılık da yine ailelerin her birinin farklı saklama alışkanlıklarına sahip olmalarına bağlanmaktadır.

Peynir örneklerine ait kurumadde miktarları %45,23-83,69 arasında ve ortalama %63,96 olarak belirlenmiştir. Örnekler arasında kurumadede içerikleri açısından da büyük farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Beyaz peynirlerin kurumadde oranlarının Uraz ve Şimsek (1998) %31,07-50,66 arasında değiştiğini; Deveci (2016) ise 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda %43,55-49,07 arasında olduğunu bildirmiştir. Ceylan et al. (2019) kurumadde değerlerinin peynir örneklerinde %41,98-70,20 arasında değiştiğini; Dinkçi et al. (2015) Kargı tulum peynirlerinde %65,34, Sancak et al. (2018) Bitlis tulum peynirlerinde %59,35; Hayaloğlu ve Karabulut (2013) Civil peynirinde %43,66 ve Divle tulum peynirinde %60,13 olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. Peynir örneklerinin kurumadde değerleri arasındaki bu farklılıklar peynir çeşiti, kuru tuzlama yapılıp yapılmaması ve tuzda bekletme süresi, salamura suyunun tuz oranı ve peynirin salamurada bekletme süresi gibi faktörlere bağlanabilir. Peynirlerin bu yüksek kurumadde içeriği yine peynirlerin kendi tüketimleri için hazırlamış ve satışa sunmayacak olması nedeni ile karlılığın değil, peynirlerin uzun süreli korunması amacı ile yüksek tuz ile işlenmesi ve korunmasına da bağlanabilir. Geleneksel üretilmiş beyaz peynir örneklerinin tamamı kurumadde içeriği açısından Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliğine uymaktadır.

Tablo 3.2. Peynir örneklerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin ilçelere göre değişimi

| Örneğin Alındığı İlçe | n | pH Değeri | Asitlik (%) | Tuz (%) | Kurumadde (%) | Kurumaddede Tuz (%) |
|--------------------------|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Havza | 4 | 6,03±0,43 ^a | 0,88±0,50 ^a | 6,76±1,70 ^b | 55,18±7,48 ^c | 12,17±2,33 ^{bc} |
| Lâdik | 4 | 5,64±0,71 ^{ab} | 0,42±0,26 ^b | 12,34±2,66 ^a | 68,36±4,29 ^a | 18,11±4,03 ^a |
| Vezirköprü | 4 | 6,21±0,36 ^a | 0,11±0,03 ^c | 8,92±0,73 ^b | 71,44±12,57 ^a | 12,72±1,68 ^{bc} |
| Alaçam | 4 | 5,59±0,73 ^{ab} | 0,89±0,19 ^a | 6,79±1,07 ^b | 65,92±5,96 ^a | 10,42±2,15 ^c |
| Bafra | 3 | 5,07±0,89 ^b | 1,06±0,38 ^a | 8,03±2,99 ^b | 56,87±12,69 ^{bc} | 15,55±7,99 ^{ab} |
| Atakum | 6 | 6,07±0,36 ^a | 0,34±0,17 ^{bc} | 8,87±3,27 ^b | 64,13±5,11 ^b | 13,97±5,34 ^{abc} |

*: Aynı sütunda farklı harfle (a,b,c) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Samsun ilinden temin edilen peynir örneklerinin sahip oldukları bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerin ilçeler bazında karşılaştırılması için istatistiki analiz gerçekleştirilmiş ve değerlendirme sonuçları Tablo 3.2’de verilmiştir. İlçelere göre yapılan değerlendirmede pH değerleri açısından örnekler arasında önemli bir fark bulunmuş (p<0,05) ve en yüksek pH değeri Vezirköprü örnekleri, en düşük pH değeri de Bafra örneklerinde belirlenmiştir. Bafra örnekleri, Vezirköprü ve Havza örneklerinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur (p<0,05). Peynir örneklerinin % asitlik değerleri de pH değerinde olduğu gibi ilçeler arasında istatistiki manada önemli bir farka sahip (p<0,05) bulunmuştur. En yüksek % asitlik değerine sahip Bafra örnekleri ile bunu takip eden Havza ve Bafra örnekleri istatistiki olarak Ladik, Atakum ve Vezirköprü örneklerinden farklı bulunmuştur. Düşük % asitlik değerine sahip Vezirköprü ve Atakum örneklerinde pH değerlerinin yüksek olması anlamlı bulunmuştur. İlçelere göre yapılan değerlendirmede peynir örneklerinin tuz değerleri arasında önemli düzeyde fark bulunmuş (p<0,05) ve en yüksek tuz değerine sahip olarak belirlenen Lâdik örnekleri tuz içeriği açısından diğer tüm peynirlerden farklı bulunmuştur. Diğer ilçe örnekleri arasında istatistiki olarak fark bulunmamakla birlikte miktar olarak Havza ve Alaçam örneklerinin daha düşük tuz içeriğine sahip oldukları belirlenmiştir. Kurumaddede tuz (%KMT) oranının da benzer şekilde ilçeler arasında farklılığa sahip olduğu (p<0,05) ve en yüksek %KMT değerine sahip ilçenin Lâdik olduğu belirlenmiştir. Yine Havza ve Alaçam örneklerinin daha düşük %KMT içeriğine sahip oldukları ve Ladik örneğinden istatistiksel olarak da farklılaştıkları belirlenmiştir. Peynir örneklerinin kurumadde içeriklerinin ilçelere göre yapılan istatistiki değerlendirmesinde; örnekler arasında önemli bir fark bulunduğu (p<0,05) ve daha yüksek kurumadde içeriğine sahip olan Vezirköprü, Ladik ve Alaçam örneklerinin diğerlerinden farklı olduğu saptanmıştır. En düşük içerik Havza

örneklerinde saptanmış ve Bafra dışındaki diğer ilçelerden istatistiki olarak da farklılaştığı belirlenmiştir. Havza, Ladik ve Vezirköprü'den oluşan iç bölge ile Alaçam, Bafra ve Atakum'dan oluşan sahil bölgesi peynir örneklerinin pH, asitlik, tuz, kurumaddede tuz ve kurumadde miktarları açısından karşılaştırılmasında bölgeler arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Araştırma sonuçlarından, Samsun ilinde üretilen geleneksel beyaz peynirlerin pH, toplam asit, tuz, kurumaddede tuz ve kurumadde içeriklerinin birbirinden çok farklı olduğu ve istatistiki olarak ilçelere göre farklılaştığı ($p<0,05$) ancak iç ve sahil bölgesi arasında fark bulunmadığı ($p>0,05$) ortaya konulmuştur. İlçelere ait peynir örnekleri arasında belirlenen bu farklılıkların nedeni; geleneksel olarak kullandıkları üretim ve muhafaza için kullandıkları tuzlama/salamuralama yöntemleri ile olgunlaştırma/depolama uygulamalarındaki farklılıklara bağlanmaktadır.

3.2. Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

Peynir örneklerinin genel mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi için laktik asit bakterisi, *S. aureus* ve koliform grubu bakteri ile maya-küf sayımları yapılmış ve elde edilen mikrobiyolojik sayım sonuçları Tablo 3.3'de verilmiştir.

Geleneksel peynir örneklerinde laktik asit bakteri sayısı laktobasiller için $<2,00-8,16$ log kob/g arasında ve ortalama $6,14$ log kob/g olarak, laktokok/streptokoklar için de $<2,00-8,01$ log kob/g arasında ve ortalama $6,08$ log kob/g olarak belirlenmiştir. Örnekler arasında laktik asit bakteri sayısı açısından önemli farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Beyaz peynir örneklerinde, Öner ve Sarıdağ (2019) tarafından olgunlaşmanın 1. gününde ve 9. ayı sonunda laktobasil sayısı sırasıyla $6,88$ ve $7,77$ log kob/g; enterokok sayısı ise 6. ve 9. ayda sırasıyla $6,39$ ve $6,6$ log kob/g olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.3. Peynir örneklerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları

| Örnek No | Alındığı İlçe | Mikroorganizma Sayısı (log kob/g) | | | | | |
|----------------|---------------|-----------------------------------|-------------------------|--------------|------------------|----------|----------------|
| | | Laktobasil | Laktokok/ Streptokok | Maya- Küf | <i>S. aureus</i> | Koliform | <i>E. coli</i> |
| 1 | Havza | 3,94 | 4,26 | 4,18 | <2,00 | 1,85 | < 1,00 |
| 2 | Havza | 7,28 | 6,41 | 5,43 | <2,00 | 1,40 | < 1,00 |
| 3 | Havza | 6,73 | 4,73 | 2,90 | <2,00 | 1,60 | < 1,00 |
| 4 | Havza | 5,76 | 6,99 | 4,06 | 5,97 | < 1,00 | < 1,00 |
| 5 | Lâdik | 5,51 | 6,91 | 5,44 | <2,00 | 3,31 | < 1,00 |
| 6 | Lâdik | 5,72 | 5,10 | 5,51 | <2,00 | 1,90 | < 1,00 |
| 7 | Lâdik | 6,64 | 6,95 | 6,03 | 5,78 | 3,59 | < 1,00 |
| 8 | Lâdik | 7,38 | 7,44 | <2,00 | <2,00 | < 1,00 | < 1,00 |
| 9 | Vezirköprü | 7,51 | 7,65 | 5,83 | 3,70 | < 1,00 | < 1,00 |
| 10 | Vezirköprü | <2,00 | <2,00 | <2,00 | <2,00 | < 1,00 | < 1,00 |
| 11 | Vezirköprü | 3,45 | 4,00 | 4,79 | 2,30 | 2,35 | < 1,00 |
| 12 | Vezirköprü | 3,91 | 5,47 | 7,00 | 4,10 | 3,13 | < 1,00 |
| 13 | Alaçam | 8,16 | 8,01 | 7,01 | 5,51 | 4,34 | < 1,00 |
| 14 | Alaçam | 6,87 | 6,51 | 5,00 | 4,48 | < 1,00 | < 1,00 |
| 15 | Alaçam | 6,33 | 6,30 | 6,06 | 3,66 | < 1,00 | < 1,00 |
| 16 | Alaçam | 6,12 | 6,05 | 4,30 | <2,00 | < 1,00 | < 1,00 |
| 17 | Bafra | 7,71 | 7,16 | 4,79 | 4,38 | < 1,00 | < 1,00 |
| 18 | Bafra | 7,43 | 7,59 | 5,09 | 5,72 | 2,00 | < 1,00 |
| 19 | Bafra | 7,37 | 7,26 | 5,12 | <2,00 | < 1,00 | < 1,00 |
| 20 | Atakum | 5,06 | 5,51 | <2,00 | 3,79 | 2,69 | 1,00 |
| 21 | Atakum | 5,68 | 5,54 | 4,55 | 5,01 | < 1,00 | < 1,00 |
| 22 | Atakum | 4,26 | 3,48 | 3,06 | 3,28 | < 1,00 | <1,00 |
| 23 | Atakum | 7,32 | 5,05 | 4,02 | 3,28 | 3,02 | < 1,00 |
| 24 | Atakum | 4,97 | 5,67 | 3,58 | 4,84 | 3,80 | < 1,00 |
| 25 | Atakum | 6,31 | 5,95 | 5,85 | <2,00 | 4,35 | < 1,00 |
| En düşük | | <2,00 | <2,00 | <2,00 | <2,00 | <1,00 | <1,00 |
| En yüksek | | 8,16 | 8,01 | 7,01 | 5,97 | 4,35 | 1,00 |
| Ortalama | | 6,14 | 6,08 | 4,98 | 4,39 | 2,81 | 1,00 |
| Standart sapma | | 1,33 | 1,23 | 1,11 | 1,08 | 0,99 | - |

Türkiye Beyaz peynirlerinde 1986-2009 yılları arasında yapılan çalışmalarda laktik asit bakteri sayısının; 8,23 log kob/g (Beyaz peynir, Akara), 5,94 log kob/g (Beyaz peynir, Diyarbakır), 8,34 log kob/g (Beyaz peynir, Bursa) olarak belirlendiği bildirilmiştir. Kamber (2015) tarafından Otlu peynirin 8,08 log kob/g ve Çimi tulum peynirinin 7,78 log kob/g laktokok içerdiği belirlenirken, Yerlikaya (2018) tarafından yapılan çalışmada beyaz peynir örneklerinde *Lactobacillus* spp. sayısının 4,62-8,90 log kob/g arasında, *Lactococcus/Streptococcus* spp. sayısının 4,20-9,51 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen laktik asit bakteri sayılarının genel olarak literatür verilerinden daha düşük olduğu söylenebilir. Bu sonuç, örneklerin sahip oldukları düşük asit içeriklerini de açıklayabilecek bir sonuçtur. LAB sayısının düşük bulunmasında örneklerin yüksek tuz oranlarına sahip olmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Çalışmada incelenen Samsun iline ait 25 adet peynir örneğinin %88'inde maya küf bulunduğu belirlenmiştir. Maya küf içeren peynir örneklerinde sayı 2,90-7,01 log

kob/g arasında ve ortalama 4,98 log kob /g olarak saptanmıştır. Beyaz peynir örneklerinin üretim ve depolama şartlarının hijyenik durumuna işaret eden maya küf sayılarının, Urhan (2012) tarafından piyasa beyaz peynir örneklerinde <2,00-6,92 log kob/g arasında bulunduğu bildirilmiştir. Kamber (2015) tarafından Bursa, Erzurum, Van, Konya, Diyarbakır Beyaz peynir örneklerinin maya küf sayısının sırasıyla 4,73, 4,18, 5,28, 6,72 ve 5,04 log kob/g olduğu bulunmuştur. Yerlikaya (2018) tarafından da beyaz peynir örneklerinin maya küf sayısının <2,00-6,66 log kob/g arasında olduğu saptanmıştır. Maya-küf görülme sıklığı, peynirlerin olgunlaşması ve soğutulmuş depolanması sırasında yaygın ve tekrarlayan bir sorun olarak kabul edilmektedir. Literatüre benzer şekilde çalışmada da elde edilen yaygın ve yüksek sayıdaki maya küf sayısı; Samsun ilinde tüketilen geleneksel üretilmiş beyaz peynirlerin üretim veya depolama koşullarının uygun olmadığına işaret olarak kabul edilebilir.

Samsun ilinden temin edilen 25 adet peynir örneğinin %56'sının koliform grubu bakteri içerdiği ve koliform içeren örneklerde sayının 1,40-4,35 log kob/g arasında (ortalama 2,81 log kob/g) olduğu bulunmuştur. Bu örneklerden sadece birinde *E. coli* varlığına (1,00 log kob/g) rastlanmıştır. Çalışmada olduğu gibi literatürde de koliform bakteri içeriği peynir örnekleri arasında çok değişmektedir. Yıldız (2003) 30 adet Urfa peynir örneğinin 23'ünde koliform grubu mikroorganizma bulunduğunu ve bu örneklerde sayının $9,0 \times 10^{-2}$ - 4×10^7 EMS/g (ort. $3,5 \times 10^6$ EMS/g) olduğunu, yine 18 örneğin de *E. coli* içerdiği ve sayının da $9,0 \times 10^{-2}$ - 4×10^7 EMS/g arasında (ort. $1,1 \times 10^6$ EMS/g) olduğunu tespit etmiştir. Kaptan ve Büyükkılıç (1983) 72 beyaz Peynir örneğinin %91,18'inde koliform mikroorganizma bulunduğunu ve sayının 1,36-8,04 log kob/g olduğunu bulmuşlardır. Urhan (2012) incelediği 50 adet beyaz peynir örneklerinin hepsinde koliform grubu bakteriye rastladığını, ortalama sayının $5,4 \times 10^2$ EMS/g olduğunu ve bunların %74'ünün *E. coli* içerdiğini saptamıştır. Şengül (2006) tarafından da Civil peynirin mikrobiyolojik karakterizasyonu çalışmasında örneklerin %73,23'ünde koliform bakteri bulunduğunu ve en yüksek sayının 5,45 log kob/g olduğu belirlenmiştir.

Samsun ili peynir örneklerin %60'ının tespit edilebilir düzeyde *S. aureus* içerdiği ve bu örneklerde *S. aureus* sayısının 2,30-5,97 log kob/g arasında bulunduğu (ort. 4,39 log kob/g) belirlenmiştir. Yerlikaya (2018) çalışmasında peynirlerde *S. aureus* sayısının <2,00-6,18 log kob/g arasında değiştiğini belirlemiştir. Yıldız (2003), Urfa peynir örneklerinin ortalama 4,45 log kob/g *S. aureus* içerdiğini saptamıştır.

Urhan (2012) tarafından incelenen 50 adet peynir örneğinin 22'sinde *S. aureus* bulunduğu saptanmıştır. Şengül (2006) araştırmasında analiz ettiği Civil peynir örneklerinin %66,67'sinde ve ortalama 5,20 log kob/g ve *S. aureus* tespit etmiştir. Baran (2015) tarafından deneysel olarak üretilen beyaz peynir örneklerinde, olgunlaşmanın ilk gününde 7,00 log kob /g olan *S. aureus* sayısı, 90. günde 2,00 log kob/g değerine düşmüştür. Samsun ilinde ev ölçeğinde üretilen ve saklanan peynir örneklerinin koliform grubu bakteri ve *S. aureus* sayıları hijyenik kalitelerinin düşük olduğuna işaret etmektedir. Ancak örneklerin temininde salamura edilmiş örneklerin alınmasına dikkat edildiğinden sağlık riskleri taşıyabileceği söylenebilir. Bu riske neden olan peynir örneklerinin içerdiği *S. aureus* ve koliform grup bakteri sayısının düşürülmesi için geleneksel üretici ve tüketicilere sağlıklı peynir üretim teknolojisi ile genel gıda hijyen kuralları hakkında bilgi verilmesinin uygun olacağı kanaatine varılmıştır. Samsun ilinden temin edilen peynir örneklerinin Laktobasil, Laktokok/Streptokok ve maya-küf sayılarının ilçeler bazındaki farklılıkları istatistiki olarak değerlendirilmiş ve değerlendirme sonuçları Tablo 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3.4. Peynir örneklerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin ilçelere göre değişimi

| Örneğin Alındığı İlçe | n | Mikroorganizma Sayısı (log kob/g) | | |
|-----------------------|---|-----------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | | Laktobasil | Laktokok/Streptokok | Maya-Küf |
| Havza | 4 | 5,89±1,35 ^{bc*} | 5,57±1.21 ^{bc} | 4,14±0,96 ^b |
| Lâdik | 4 | 5,95±0,55 ^{bc} | 6,26±1.08 ^{abc} | 5,62±0,36 ^a |
| Vezirköprü | 4 | 4,94±2,00 ^c | 5,70±1,64 ^{bc} | 5,87±0,99 ^a |
| Alaçam | 4 | 6,87±0,85 ^{ab} | 6,72±0,82 ^{ab} | 5,54±1,17 ^a |
| Bafra | 3 | 7,50±0,16 ^a | 7,32±0,22 ^a | 5,00±0,17 ^{ab} |
| Atakum | 6 | 5,69±1,13 ^{bc} | 5,13±0,93 ^c | 4,16±0,95 ^b |

*: Aynı sütunda farklı harfle (a,b,c,d) işaretli ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

İlçelere göre yapılan değerlendirmede laktobasil, laktokok/streptokok ve maya-küf sayıları açısından örnekler arasında önemli bir fark bulunduğu belirlenmiştir (p<0,05). Laktobasil ve laktokok/streptokok sayıları en yüksek Bafra örneklerinde belirlenmiş ve bu ilçeyi Alaçam ile Ladik takip etmiştir. En yüksek laktobasil ve laktokok/streptokok sayısını saptandığı Bafra, Alaçam ve Ladik peynir örneklerinde pH değerinin de düşük bulunması; yine % asitliğin yüksek bulunması beklenen ve birbirini destekleyen bir sonuç olmuştur. Bu sonuç genel bilgiler ve Tan and Ertekin (2017) tarafından rapor edilen “laktik asit bakterileri çoğaldıkça ortam asidik olup pH seviyesi düşmektedir” ifadesi ile uyum içerisindedir. Laktik asit bakterilerinin peynir asitliğinin gelişiminde etkili olduğunu doğrulamaktadır. Peynir örneklerindeki maya-

küf sayıları da ilçeler arasında istatistiki manada önemli farklılığa sahip olarak ($p<0,05$) tespit edilmiş ve en yüksek sayı Vezirköprü örneklerinde belirlenmiş ve bu ilçeyi Ladik ile Alaçam takip etmiştir.

3.3. Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakteri İzolasyonu ve Tanımlanması

Çalışmada Samsun ilinden temin edilen 25 peynir örneğinden ekim yapılan MRS ve M17 besiyeri içeren petri plaklarında gelişen yaklaşık 2500 muhtemel LAB kolonisinin antimikrobiyal aktivitesi *E. coli* ATCC25922 ve *B. cereus* NRRL B-3711 indikatör suşları ve agar spot testi kullanılarak saptanmıştır. Agar spot testi sonucunda etrafında inhibisyon zonu bulunan toplam 162 adet antimikrobiyal aktiviteye sahip muhtemel LAB kolonisi (EK 1) aşı iğnesi ile alınarak MRS broth besiyerine aşılınmış, çizgi usulü ekim yöntemleri ile saflaştırılmış, Gram boyama, katalaz ve mikroskopik görünüm testleri kullanılarak LAB oldukları doğrulanarak saf kültür olarak izole edilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB izolatlarının aynı indikatör organizmalar kullanılarak antimikrobiyal aktiviteleri önce agar spot testinde tekrarlanmış, daha sonra kuyu difüzyon metodu ile de test edilmiştir. Bu izolatların yeniden gerçekleştirilen agar spot testinde *E. coli* ATCC25922'ye karşı %98,15'inin, *B. cereus* NRRL B-371'e karşı %97,53'ünün; yeni yapılan kuyu difüzyon testinde ise *E. coli* ATCC25922'ye karşı %32,72'inin, *B. cereus* NRRL B-371'e karşı %31,48'inin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (EK 2).

İndikatör bakterilere karşı yüksek aktiviteye sahip olan, farklı morfolojik görünüm ve örneklerden izole edilmiş olmasına dikkat edilerek 12 adet LAB izolatu çalışmanın devamında kullanılmak için seçilmiş ve tanımlanmıştır. Seçilen yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip 12 LAB izolatının 16S rDNA dizi analizi ile tanımlanma sonuçları ve en yakın olduğu tip türü Tablo 3.5'te verilmiştir.

Tablo 3.5. Peynir izolatu laktik asit bakterilerinin yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği

| İzolat Kodu | En Yakın Tip Türü | % Benzerlik | Nukleotit farkı |
|-------------|--|-------------|-----------------|
| S056 | <i>Lactobacillus pentosus</i> DSM 20314 | 100,00 | 0/1386 |
| S058 | <i>Lactobacillus pentosus</i> DSM 20314 | 99,93 | 1/1408 |
| S232 | <i>Lactobacillus coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> KCTC 3535 | 99,93 | 1/1431 |
| S013 | <i>Enterococcus faecium</i> LMG 11423 | 99,56 | 3/1368 |
| S017 | <i>Enterococcus faecium</i> LMG11423(T) | 99,92 | 1/1316 |
| S1113 | <i>Enterococcus faecium</i> LMG 11423 | 99,85 | 2/1377 |
| S135 | <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 | 100,00 | 0/1411 |
| S092 | <i>Enterococcus durans</i> NBRC 100479 | 99,85 | 1/1357 |
| S104 | <i>Enterococcus durans</i> NBRC 100479 | 99,85 | 2/1360 |
| S142 | <i>Enterococcus durans</i> NBRC 100479 | 99,93 | 1/1392 |
| S1121 | <i>Enterococcus durans</i> NBRC 100479 | 99,85 | 2/1358 |
| S202 | <i>Enterococcus gallinarum</i> NBRC 100675 | 99,93 | 2/1374 |

Tanımlama testleri sonucu beyaz peynirden izole edilen yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip 12 adet saf LAB kültürü; *Lactobacillus pentosus* S056 (*Lactiplantibacillus pentosus* S056), *Lactobacillus pentosus* S058 (*Lactiplantibacillus pentosus* S058), *Lactobacillus coryniformis* subsp. *torquens* S232 (*Loigolactobacillus coryniformis* subsp. *torquens* S232), *Enterococcus faecium* S013, *Enterococcus faecium* S017, *Enterococcus faecium* S1113, *Enterococcus faecalis* S135, *Enterococcus durans* S092, *Enterococcus durans* S104, *Enterococcus durans* S142, *Enterococcus durans* S1121 ve *Enterococcus gallinarum* S202 olarak tanımlanmıştır. Bu tanımlanan izolatlarının temel özellikleri Tablo 3.6’da verilmiştir.

Çalışmada izole edilen ve tanımlanan türler, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232 hariç Türkiye’de beyaz peynirlerden izole edilen türlerdir. Beyaz peynirlerden Çitak et al. (2004) ile Ertürkmen ve Öner (2015) *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. durans*; İspirli et al. (2017) *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans* ve *E. gallinarum*; Özlü ve Atasever (2019) ile Duan et al. (2008) *E. faecium*; Morales et al. (2011) ile Duan et al. (2008) *L. pentosus* türlerini izole etmişlerdir. Bu veriler araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Beyaz peynirlerden daha önce izole edildiğine ait bir literatür bulunmayan *L. coryniformis* türünün başka peynirlerden izole edilebildiği belirlenmiştir. Gerasi et al. (2003) tarafından Manura peynirinden *L. coryniformis*; Prodromou et al. (2001) tarafından da Orinotyri peynirinden *L. coryniformis* subsp. *torquens* izole edilmiştir. Çalışmada 16S rDNA dizi analizi ile tanımlanan antimikrobiyal aktiviteli peynir izolatlarının Gram boyama, morfolojik görünüm, katalaz ve glukozdan gaz üretim yeteneklerinin tanımlama sonuçları ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.6. Peynir izolatu laktik asit bakterilerinin temel özellikleri

| İzolatlar | Gram Boyama | Katalaz | Morfoloji | Glukozdan Gaz Üretimi |
|--|-------------|---------|-----------|-----------------------|
| <i>L. pentosus</i> S056 | + | - | Basil | - |
| <i>L. pentosus</i> S058 | + | - | Basil | - |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | + | - | Basil | - |
| <i>E. faecium</i> S013 | + | - | Kok | - |
| <i>E. faecium</i> S017 | + | - | Kok | - |
| <i>E. faecium</i> S1113 | + | - | Kok | - |
| <i>E. faecalis</i> S135 | + | - | Kok | - |
| <i>E. durans</i> S092 | + | - | Kok | - |
| <i>E. durans</i> S104 | + | - | Kok | - |
| <i>E. durans</i> S202 | + | - | Kok | - |
| <i>E. durans</i> S1121 | + | - | Kok | - |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | + | - | Kok | - |

3.4. LAB İzolatlarının Endüstriyel ve Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

Samsun ilinde üretilen geleneksel beyaz peynirlerden izole edilen antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterilerinin bazı endüstriyel ve probiyotik özellikleri belirlenmiş ve alt başlıklar altında ayrı ayrı tartışılmıştır.

3.4.1. Antimikrobiyal Aktivite

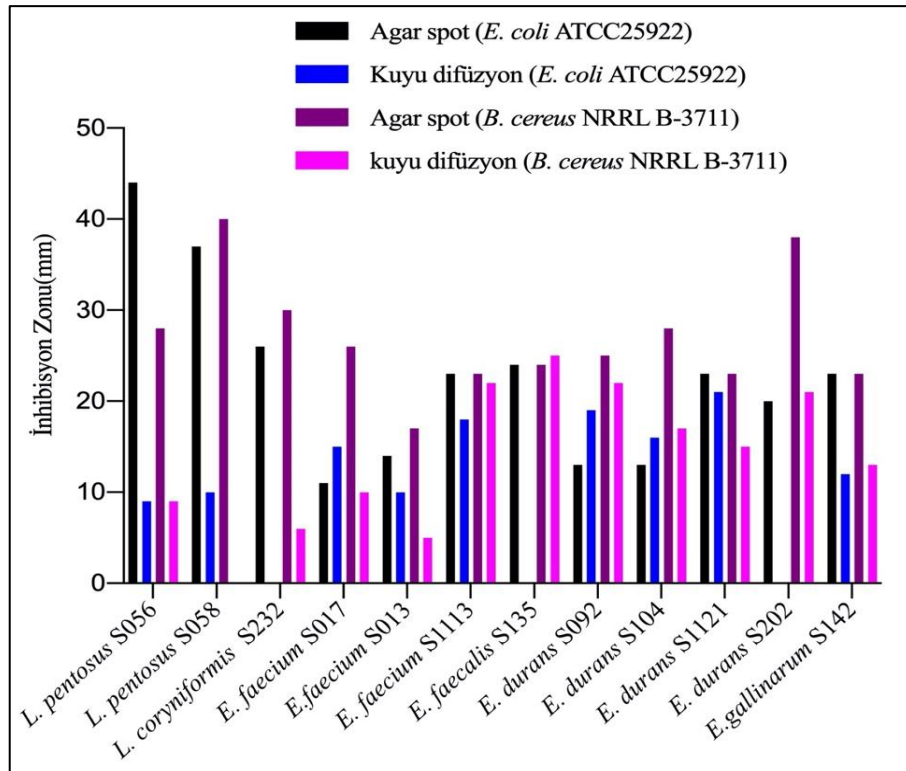
Peynirden izole edilen ve tanımlanan antimikrobiyal aktiviteye sahip 12 adet LAB izolatının indikatör mikroorganizmalar *E. coli* ATCC25922 ve *B. cereus* NRRL B-3711'e karşı agar spot ve kuyu difüzyon testleri uygulanarak belirlenen antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 3.7'de verilmiş ve Şekil 3.1'de görsel olarak sunulmuştur.

LAB izolatlarının gıdalarda önemli indikatör bakterilerden olan *E. coli* ATCC25922'ye karşı agar spot testinde 4 adedi orta, 8 adedi yüksek inhibitör aktivite göstermiştir. Ancak yüksek aktiviteli *E. faecalis* S135, *E. durans* S202, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232 kuyu difüzyon testinde inhibitör etki göstermemiştir. Bu tip sonuçlar daha önceki laboratuvar çalışmalarımızda da elde edilmiştir.

Tablo 3.7. Peynir izolatu edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivitesi

| İzolatu | İnhibisyon Etkinliği* | | | |
|--|--------------------------|---------------|------------------------------|---------------|
| | <i>E. coli</i> ATCC25922 | | <i>B. cereus</i> NRRL B-3711 | |
| | Agar Spot | Kuyu Difüzyon | Agar Spot | Kuyu Difüzyon |
| <i>L. pentosus</i> S056 | +++ | + | +++ | + |
| <i>L. pentosus</i> S058 | +++ | + | +++ | - |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | +++ | - | +++ | + |
| <i>E. faecium</i> S013 | ++ | + | ++ | + |
| <i>E. faecium</i> S017 | ++ | ++ | +++ | + |
| <i>E. faecium</i> S1113 | +++ | ++ | +++ | +++ |
| <i>E. faecalis</i> S135 | +++ | - | +++ | +++ |
| <i>E. durans</i> S092 | ++ | ++ | +++ | +++ |
| <i>E. durans</i> S104 | ++ | ++ | +++ | ++ |
| <i>E. durans</i> S1121 | +++ | +++ | +++ | ++ |
| <i>E. durans</i> S202 | +++ | - | +++ | +++ |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | +++ | ++ | +++ | ++ |

*-:<0,5 mm; +:0,5-10 mm arası (zayıf etki); ++:11-19 mm arası (orta etkili); +++ :> 20,0 mm (yüksek etkili)



Şekil 3.1. LAB izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi

B. cereus NRRL B-3711 indikatör suşuna karşı ise agar spot testinde 1 adedi orta, 11 adedi yüksek düzeyde inhibitör etki gösteren izolatlardan kuyu difüzyon testinde sadece *L. pentosus* S058 inhibitör etki göstermemiştir. *E. durans* S092, *E. durans* S202, *E. faecium* S1113 ve *E. faecalis* S135 izolatları ise agar spot testinde olduğu gibi kuyu difüzyon testinde yüksek inhibisyon etkisi göstermiştir. Agar spot testinde yüksek aktivite gösteren *E. faecium* S1113, *E. durans* S202 ve *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232'nin *E. coli* 'ye karşı, *L. pentosus* S058'inde *B. cereus*'a karşı

inhibitör aktivite göstermemesi kuyu difüzyon testinde süpernatantın pH değerinin 6,5 pH 'ya ayarlanması ile asitliğin etkisinin ve hücrelerin sıvıdan ayrılmış olması nedeni ile de yarışmanın etkisinin ortadan kalkmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

E. faecium S1113, *E. gallinarum* S142, *E. durans* S092, *E. durans* S104, *E. durans* S1121 izolatlarının agar spot kuyu difüzyon testlerinin her ikisinde de indikatör suşlardan hem *E. coli* ATCC25922'ye hem de *B. cereus* NRRL B-3711'e karşı orta veya yüksek inhibitör aktiviteli olduğu saptanmıştır. Bu sonuç ileriki çalışmalar için ümit vericidir.

Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen beyaz peynir örneklerinden izole edilen 12 Enterokok suşunun, bazı Gram pozitif ve Gram negatiflere karşı antimikrobiyal aktivitesi açısından taranma sonuçları 6 *E. faecium*, 2 *E. faecalis* ve 4 *E. durans*'dan oluşan 12 suşun tümünde antimikrobiyal aktivite varlığı doğrulanmıştır (Hajikhani et al., 2007). Hajikhani et al. (2007) izole ettikleri *Enterococcus* suşlarının *B. cereus* ve diğer bazı *Bacillus* spp'a karşı inhibitör etki gösterdiğini ve *E. faecium*'un geniş bir madde spektrumunun antimikrobiyal etkilerinin Gram-negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı etkinliğinin kanıtlandığını da belirtmişlerdir. Kanak ve Yılmaz (2019) tarafından yapılan çalışmada da peynirden izole edilen *E. faecium* izolatı *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktivite (15 mm) göstermiş, *B. cereus*'a karşı ise göstermemiştir. Yerlikaya ve Akbulut (2020) izole ettikleri 30 adet *E. faecium* ve *E. durans* izolatının 27 adedinin *E. coli* 'ye karşı inhibitör etki gösterdiğini bildirmişlerdir. İspirli et al. (2017) Beyaz peynirden izole edilen *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. gallinarum* ve *E. italicus* izolatlarının gıda kaynaklı patojenlere karşı önemli düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Özlü (2015) tarafından peynirlerden izole edilen *L. pentosus* izolatının *E. coli* 'ye karşı inhibitör aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Klingberg et al. (2005) tarafından *L. pentosus* MF1300 suşlarıyla benzer olduğunu göstermiştir. Rahman et al. (2018) tarafından Nile tilapia'dan izole edilen *L. coryniformis* subsp, *B. subtilis*'e karşı 14 mm ve *E. coli*'ye karşı 15 mm antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinlerin, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria* türleri ve *S. aureus* gibi gıda bozulmasına neden olan patojenik mikroorganizmalar üzerinde bakteriyosidal etkileri bulunduğu bilinmektedir (Yüksekdağ ve Beyatlı, 2003). Bu inhibitör etkide en büyük pay ortamın

asitlendirilmesidir. Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu laktik asit ile birlikte formik, propiyonik ve asetik asit gibi düşük konsantrasyonlarda üretilen organik asitler de patojenik mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel etkide görev almaktadır. Ayrıca bakteriyosinler de LAB'nin bu etkisinde önem taşımaktadırlar. Binlerce yıldır güvenle tüketilen bir süt ürünü olan geleneksel peynirlerden izole edilen LAB izolatlarının, *E. coli* ve *B. cereus* gibi Gram pozitif ve Gram negatif patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olmaları gıda koruma teknolojisinde yararlanılabilecek önemli bir potansiyeldir. Nitekim gerek yukarıda özetlenen çalışmalardan görüldüğü gibi gerekse de Abanoz (2014) ve Kanak ve Yılmaz (2019) tarafından bildirildiği gibi birçok çalışma, peynirlerden elde edilen LAB'nin *B. cereus* ve *E. coli* gibi patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur.

3.4.2. Farklı Sıcaklıklarda Gelişme

Peynirlerden izole edilen antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB izolatlarının 10, 15 ve 45°C'de gelişme yetenekleri Tablo 3.8'de verilmiştir. LAB izolatlarından 10°C sıcaklıkta; *L. pentosus* S056 ve S058, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. durans* S092 ve S104 gelişme göstermiş diğer izolatlar gelişmemiştir. 15°C sıcaklıkta; *E. faecalis* S135 dışında tüm izolatlar gelişmiştir. 45°C sıcaklıkta ise *L. pentosus* S056 ve S058, *E. faecium* S013 ve *E. gallinarum* S142 gelişmemiştir. *E. durans* S092 ve S104 ile *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232 hem 10°C hem de 45°C sıcaklıkta gelişme göstermiştir.

Romero-Gil et al. (2013) zeytinlerden izole edilen *L. pentosus* izolatlarının 5,32-41,9°C arasındaki sıcaklıklarda gelişebildiğini göstermiştir. Thapa et al. (2004) tarafından geleneksel fermente balık ürünlerinden izole edilen *L. coryniformis* subsp. *torquens* izolatının 45°C'de gelişme göstermediği; Tohno et al. (2012) tarafından da *L. coryniformis* subsp. *torquens* suşlarının 15°C'de geliştiğini fakat 10°C'de yalnızca %17'sinin geliştiği bildirilmiştir. Durlu-Ozkaya et al. (2001) beyaz peynir izolatı 6 adet *E. faecalis*, 12 adet *E. faecium* ve 10 adet *E. durans* suşunun; Ertürkmen ve Öner (2015) yine beyaz peynir izolatı 5 adet *E. faecalis* ve 2 adet *E. durans* suşunun; Kırmacı et al. (2016) da denediği 70 *Enterococcus* izolatının 10 ve 45°C sıcaklıklarda gelişebildiğini bildirmiştir. Hejazi et al. (2019) tarafından da peynirden izole edilen *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarının 45°C'de gelişme gösterdiği tespit edilmiştir. Hammes ve Vogel (1995) *L. gallinarum*'un 15°C'de gelişebileceğini bildirmiştir. Vernile et al. (2008) tarafından yapılan çalışmada 30°C sıcaklıkta peynirden izole

edilen çubuk formundaki LAB izolatlarının 15°C'de tamamının ve 45°C de %86'sının geliştiği; Kok şeklindeki izolatların ise 45°C'de çoğunun geliştiği bildirilmiştir.

Tablo 3.8. LAB izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde gelişme yetenekleri

| İzolat | Sıcaklık | | |
|--|----------|------|------|
| | 10°C | 15°C | 45°C |
| <i>L. pentosus</i> S056 | + | + | - |
| <i>L. pentosus</i> S058 | + | + | - |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | + | + | + |
| <i>E. faecium</i> S013 | - | + | - |
| <i>E. faecium</i> S017 | - | + | + |
| <i>E. faecium</i> S1113 | - | + | + |
| <i>E. faecalis</i> S135 | - | - | + |
| <i>E. durans</i> S092 | + | + | + |
| <i>E. durans</i> S104 | + | + | + |
| <i>E. durans</i> S1121 | - | + | + |
| <i>E. durans</i> S202 | - | + | + |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | - | + | - |

+: Gelişme var; -: Gelişme yok

Çalışmada beyaz peynirden izolatlarının farklı sıcaklıklarda gelişme yeteneklerinin *E. faecalis* S135 izolatının 15°C sıcaklıkta gelişmemesi sonucu dışında literatür ile uyumlu olduğu saptanmıştır. İzolatların gelecekte probiyotik starter kültür olarak kullanılması açısından düşük sıcaklıklarda (10-15°C) gelişebilmesi olumlu bir özelliktir. Bu nedenle izolatların 15°C'de hemen tamamının 10°C'de ise bir kısmının gelişebilmesi peynirlerin olgunlaştırılabilmesinde kullanılmalarını sağlayacak istenilen bir özelliktir.

3.4.3. Farklı pH Değerlerinde Gelişme

Peynir izolatı antimikrobiyal aktiviteye sahip 12 adet LAB'nin 2,5, 3,0, 3,5, 4,0 ve 9,6 pH değerine ayarlanmış MRS broth besiyerinde gelişme yeteneği test edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.9'da sunulmuştur.

Samsun ili peynir izolatlarından 2,5 pH'da *L. pentosus* S056 ve S058, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. faecium* S1113, *E. durans* S104 ve S1121; 3,0, 3,5, 4,0 ve 9,6 pH'da ise bütün izolatlar gelişme göstermişlerdir.

Durlu-Ozkaya et al. (2001) tarafından beyaz peynirden izole edilen 6 adet *E. faecalis*, 12 adet *E. faecium* ve 10 adet *E. durans* suşunun 9,6 pH'da gelişebildiği; Ertürkmen ve Öner (2015) tarafından da beyaz peynirden izole edilen 5 adet *E. faecalis* ve 2 adet *E. durans* suşunun 9,6 pH'da gelişebildikleri gösterilmiştir.

Tablo 3.9. LAB izolatların farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri

| İzolat | pH Değeri | | | | | |
|--|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 2,5 | 3,0 | 3,5 | 4,0 | 4,5 | 9,6 |
| <i>L. pentosus</i> S056 | + | + | + | + | + | + |
| <i>L. pentosus</i> S058 | + | + | + | + | + | + |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | + | + | + | + | + | + |
| <i>E. faecium</i> S013 | - | + | + | + | + | + |
| <i>E. faecium</i> S017 | - | + | + | + | + | + |
| <i>E. faecium</i> S1113 | + | + | + | + | + | + |
| <i>E. faecalis</i> S135 | - | + | + | + | + | + |
| <i>E. durans</i> S092 | - | + | + | + | + | + |
| <i>E. durans</i> S104 | + | + | + | + | + | + |
| <i>E. durans</i> S1121 | + | + | + | + | + | + |
| <i>E. durans</i> S202 | - | + | + | + | + | + |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | - | + | + | + | + | + |

+: Gelişme var; -: Gelişme yok

Yerlikaya ve Akbulut (2020) tarafından çiğ süt ve çeşitli süt ürünlerinden izole edilen *E. faecium* ve *E. durans* suşlarının 2,5 ve 3,0 pH'da gelişebildiği; Hejazi et al. (2019) tarafından da peynirlerden izole edilen *E. faecalis* izolatının 3,0 pH'da 3 saat için canlılığını muhafaza edebildiği tespit edilmiştir. Özdemir ve Tuncer (2020) çiğ süt ve geleneksel peynirden izole edilen *E. gallinarum* suşlarının pH 9,6 pH'da gelişme gösterdiğini; Rahman et al. (2018) de *L. coryniformis* subsp. *torquens*'in 2-9 pH arasında rahatlıkla gelişme gösterdiğini tespit etmişlerdir. Duan et al. (2008) tarafından da peynirden izole edilen 2 farklı *L. pentosus*'un 3-9 pH değerleri arasında geliştiği saptanmıştır. Samsun peynirleri izolatları yukarıda verilen literatür sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Araştırmada peynirden elde edilen izolatların farklı pH değerlerinde gelişme yetenekleri yukarıda verilen literatür bilgileriyle uyumludur. İzolatlardan elde edilen ve gelecekte bir starter kültürü olarak kullanılması amaçlanan peynir ortamları göz önüne alındığında, düşük pH değerlerinde gelişmeleri beklenen ve istenen bir özelliktir.

3.4.4. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme

Samsun ili beyaz peynirlerinden izole edilen antimikrobiyal aktiviteli LAB izolatlarının %3,0, %5,0, %6,5, %8,0, %9,0, %10 ve %12 NaCl içeren MRS broth besiyerinde gelişme testi gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.10'da sunulmuştur. Peynirlerden elde edilen 12 adet antimikrobiyal aktiviteli LAB izolatlarının %3-9 tuz oranları arasında tamamının rahatlıkla geliştikleri, %10 tuz oranında *E. gallinarum* S142 ile *E. durans* S1121 ve S202 suşlarının gelişme

gösteremedikleri saptanmıştır. %12 tuz içeriğinde ise *L. pentosus* S056 ve S058, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. faecium* S017, *E. durans* S092 ve S104 olmak üzere 6 izolatın gelişebildiği belirlenmiştir.

Tablo 3.10. LAB izolatların farklı tuz değerlerinde gelişme yetenekleri

| İzolat | Tuz Oranı (%) | | | | | | |
|--|---------------|---|-----|---|---|----|----|
| | 3 | 5 | 6,5 | 8 | 9 | 10 | 12 |
| <i>L. pentosus</i> S056 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>L. pentosus</i> S058 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>E. faecium</i> S013 | + | + | + | + | + | + | - |
| <i>E. faecium</i> S017 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>E. faecium</i> S1113 | + | + | + | + | + | + | - |
| <i>E. faecalis</i> S135 | + | + | + | + | + | + | - |
| <i>E. durans</i> S092 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>E. durans</i> S104 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>E. durans</i> S1121 | + | + | + | + | + | - | - |
| <i>E. durans</i> S202 | + | + | + | + | + | - | - |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | + | + | + | + | + | - | - |

+: Gelişme var; -: Gelişme yok

Kırmacı et al. (2016) tarafından test ettiği 70 *Enterococcus* izolatının %6,5 tuz konsantrasyonunda; Hejazi et al. (2019) tarafından peynirden izole edilen *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* suşlarının %4 ve 6,5 tuz oranında; Rahman et al. (2018) tarafından *L. coryniformis* subsp. *torquens*'in %7 tuz oranında; Duan et al. (2008) tarafından peynirden izole edilen *L. pentosus*'un %6,5 tuz oranında ve Özdemir ve Tuncer (2020) tarafından çiğ süt ve geleneksel peynirden izole edilen *E. gallinarum* izolatlarının %6,5 tuz oranında gelişme gösterdiği bildirilmiştir. Bu literatür verileri ile araştırmada Samsun ili beyaz peynir izolatlarında elde edilen sonuçlar tam bir uyum içerisindedir. Çalışmada antimikrobiyal aktiviteye sahip olarak seçilen izolatların tamamının peynir üretiminde önerilen %6-9 tuz oranında gelişebilmesi olumlu ve bir özelliktir.

3.4.5. Asit Üretim Düzeyleri

Samsun ili beyaz peynirlerinden izole edilen 12 adet antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB'nin fermente gıdaların ve özel olarak da peynir üretiminde starter kültür olabilme niteliğini belirleyen en önemli özelliklerden birisi olan asit üretim yeteneği, pH ve % asitlik değerleri olarak 3, 6, 12, 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sonunda belirlenmiş ve pH değeri üzerine etkileri Tablo 3.11'de sunulmuştur.

Besiyeri pH değerlerinde fermantasyon süresine bağlı olarak meydana gelen değişimin belirlenmesi için yapılan istatistikî analiz, ortamın pH değerinde süreye

bağlı olarak önemli farklılıkların bulunduğunu göstermiştir ($p<0,05$). Fermantasyonun 3. saatinde *L. pentosus* S056, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232 ve *E. durans* S092 hariç diğer LAB izolatları ile aşılınmış besiyerlerinin pH değerleri başlangıç değerinden farklı bulunmazken ($p>0,05$); 6. saatinde tüm izolatlar pH değerini önemli düzeyde ($p<0,05$) düşürmüşlerdir. Tüm LAB izolatları ortam pH değerini 24. saate kadar düşürmeye devam etmişler ve fermantasyonun 12. saatinde 6. saatine göre, 24. saatinde de 12. saatine göre pH değerinde önemli düşüş ($p<0,05$) sağlamışlardır. Fermantasyonun 48. saatinde *L. pentosus* S056 izolatı dışındaki LAB izolatları besiyeri pH değerlerini 24. saate göre önemli düzeyde düşürmeye devam ederken ($p<0,05$); 72. saatinde *E. faecium* S013, *E. faecium* S017, *E. faecalis* S135, *E. durans* S092 ve *E. durans* S1121 izolatlarının 48. saate göre önemli düzeyde düşürmeye devam ettiği saptanmıştır. Fermantasyonun 48 ve 72. saatinde bir önceki saate göre pH değerinde önemli düşme sağlayan LAB izolatlarının ulaştıkları son pH değerleri dikkate alındığında devam eden düşüşün daha düşük pH sağlamalarından olmadığı ve yavaş düşürme hızlarına bağlanabileceği sonucuna ulaşılabilmektedir.

Tablo 3.11. LAB izolatlarının pH düşürme kapasiteleri

| İzolot | Süre (Saat) | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------------|--|-------------------------|---------------|--------------------------|-------------|-------------------------|-------------|-------------------------|-------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| | 0 | | 3 | | 6 | | 12 | | 24 | | 48 | | 72 | |
| | pH | | pH | Δ pH** | pH | Δ pH | pH | Δ pH | pH | Δ pH | pH | Δ pH | pH | Δ pH |
| <i>L. pentosus</i> S056 | 5,42±0,01 ^{abA*} | | 5,34±0,03 ^{bb} | 0,08 | 4,33±0,01 ^{hc} | 1,10 | 3,86±0,01 ^{fd} | 1,57 | 3,82±0,01 ^{gE} | 1,61 | 3,82±0,01 ^{te} | 1,61 | 3,82±0,01 ^{deE} | 1,61 |
| <i>L. pentosus</i> S058 | 5,40±0,01 ^{ba} | | 5,36±0,04 ^{ba} | 0,04 | 4,78±0,02 ^{fb} | 0,62 | 3,80±0,01 ^{fc} | 1,60 | 3,90±0,01 ^{fd} | 1,50 | 3,85±0,01 ^{te} | 1,55 | 3,80±0,01 ^{ee} | 1,60 |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | 5,45±0,03 ^{aA} | | 5,38±0,01 ^{bb} | 0,07 | 4,67±0,01 ^{gc} | 0,78 | 4,16±0,01 ^{gd} | 1,30 | 3,99±0,01 ^{ee} | 1,47 | 3,95±0,01 ^{df} | 1,51 | 3,94±0,01 ^{bf} | 1,52 |
| <i>E. faecium</i> S013 | 5,44±0,01 ^{abA} | | 5,43±0,01 ^{aA} | 0,01 | 4,99±0,01 ^{eb} | 0,45 | 4,44±0,01 ^{ec} | 1,00 | 3,97±0,01 ^{ed} | 1,47 | 3,90±0,01 ^{deE} | 1,54 | 3,85±0,01 ^{cdeF} | 1,59 |
| <i>E. faecium</i> S017 | 5,44±0,02 ^{abA} | | 5,43±0,01 ^{aA} | 0,01 | 5,23±0,01 ^{cdB} | 0,21 | 4,60±0,01 ^{bc} | 0,84 | 4,44±0,01 ^{ad} | 1,00 | 4,31±0,01 ^{ae} | 1,13 | 4,26±0,01 ^{af} | 1,18 |
| <i>E. faecium</i> S1113 | 5,45±0,01 ^{aA} | | 5,44±0,01 ^{aA} | 0,01 | 5,24±0,01 ^{bcB} | 0,22 | 4,61±0,01 ^{bc} | 0,85 | 4,26±0,06 ^{cd} | 1,19 | 3,85±0,07 ^{ee} | 1,60 | 3,80±0,07 ^{ee} | 1,65 |
| <i>E. faecalis</i> S135 | 5,44±0,03 ^{abA} | | 5,47±0,01 ^{aA} | 0,03 | 5,38±0,01 ^{ab} | 0,06 | 4,75±0,01 ^{ac} | 0,69 | 4,24±0,01 ^{cd} | 1,21 | 4,02±0,01 ^{ee} | 1,43 | 3,88±0,01 ^{cf} | 1,57 |
| <i>E. durans</i> S092 | 5,46±0,03 ^{aA} | | 5,43±0,02 ^{ab} | 0,04 | 5,23±0,01 ^{cdC} | 0,24 | 4,43±0,01 ^{cd} | 1,04 | 3,96±0,01 ^{ee} | 1,51 | 3,91±0,01 ^{df} | 1,56 | 3,87±0,01 ^{cdG} | 1,60 |
| <i>E. durans</i> S104 | 5,44±0,01 ^{abA} | | 5,43±0,02 ^{aA} | 0,01 | 4,66±0,01 ^{gB} | 0,78 | 3,95±0,01 ^{ec} | 1,50 | 3,87±0,01 ^{fd} | 1,58 | 3,83±0,01 ^{te} | 1,62 | 3,82±0,01 ^{deE} | 1,63 |
| <i>E. durans</i> S1121 | 5,43±0,03 ^{abA} | | 5,46±0,01 ^{aA} | 0,03 | 5,26±0,01 ^{bb} | 0,18 | 4,55±0,01 ^{bc} | 0,89 | 4,13±0,01 ^{dd} | 1,31 | 3,94±0,01 ^{de} | 1,50 | 3,86±0,01 ^{cdF} | 1,58 |
| <i>E. durans</i> S202 | 5,46±0,04 ^{aA} | | 5,45±0,02 ^{aA} | 0,01 | 5,21±0,01 ^{dB} | 0,25 | 4,55±0,07 ^{bc} | 0,91 | 4,31±0,01 ^{bd} | 1,15 | 4,23±0,01 ^{be} | 1,23 | 4,22±0,01 ^{ae} | 1,24 |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | 5,45±0,01 ^{aA} | | 5,45±0,01 ^{aA} | 0,00 | 5,26±0,01 ^{bb} | 0,20 | 4,55±0,07 ^{bc} | 0,90 | 4,31±0,01 ^{bd} | 1,15 | 4,27±0,01 ^{abDE} | 1,19 | 4,23±0,01 ^{ae} | 1,23 |
| En düşük | 5,40±0,01 | | 5,34±0,03 | 0,00 | 4,33±0,01 | 0,06 | 3,80±0,01 | 0,69 | 3,82±0,01 | 1,00 | 3,82±0,01 | 1,13 | 3,80±0,07 | 1,18 |
| En yüksek | 5,46±0,04 | | 5,47±0,01 | 0,08 | 5,38±0,01 | 1,10 | 4,75±0,01 | 1,60 | 4,44±0,01 | 1,61 | 4,31±0,01 | 1,62 | 4,26±0,01 | 1,65 |
| Ortalama | 5,44±0,02 | | 5,42±0,04 | 0,03 | 5,02±0,32 | 0,42 | 4,35±0,33 | 1,09 | 4,10±0,20 | 1,35 | 3,99±0,18 | 1,46 | 3,95±0,18 | 1,50 |

*: Aynı sütunda farklı küçük harfle (a,b,c,d,e,g,h,i,j,k), aynı satırda da farklı büyük harfle (A,B,C,D,E,F,G) işaretlenen örnekler arasındaki fark önemlidir ($p < 0,05$).

***: pH değerindeki değişim miktarı

Bu sonuçlar starter seçiminde başvuru olan hızlı asit üretme yeteneği için önemli bir bilgi sağlamaktadır. *E. faecium* S017, *E. faecalis* S135, *E. durans* S202 ve *E. gallinarum* S142 dışında tüm izolatlar ortam pH değerini 48 saat sonunda 4,0 pH'nın altına düşürmüşlerdir. Bu izolatlardan *E. faecalis* S135 72. saatte ortam pH değerini 4,0 pH'nın altına düşürürken diğerleri düşürememişlerdir. *Lactobacillus* (*Lactiplantibacillus*) üyesi izolatlar; *L. pentosus* S056 ve *L. pentosus* S058 fermantasyonun başlarında *Enterococcus* üyelerinden daha hızlı pH düşüşü sağlayarak sahip oldukları besiyeri pH'sını düşürme kapasitelerine fermantasyonun 12. saatinde erişmiştir. İlerleyen fermantasyon sürelerinde diğer izolatlar bunların değerlerine yaklaşmıştır.

Kırmacı et al. (2016) Urfa peynirden izole edilen *E. faecium*, *E. durans* ve *E. faecalis*'in 24 saat inkübasyon sonrasında ortam pH değerini sırasıyla 4,61, 4,48 ve 4,48 pH değerine düşürdüğünü tespit etmiştir. Dağdemir (2006) tarafından salamura beyaz peynir çalışmasında *Enterococcus* sp. izolatlarının 6 saatlik pH değişiminin 0,10 –1,11 arasında, *Lactobacillus* spp. izolatlarının ise 0,08-0,38 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Ertürkmen ve Öner (2015) beyaz peynirden izole edilen *Enterococcus* spp. izolatlarının yağsız süt besiyerine %1 aşılınmış kültürlerinin 6 ve 24 saat sonunda pH değişiminin *E. faecium* PeE32 izolatında sırasıyla 0,59 ve 2,40 pH; *E. faecalis* İE25 izolatında da sırasıyla 0,67 ve 2,17 pH olduğu belirlenmiştir. Durlu-Ozkaya et al. (2001) beyaz peynirden izole ettikleri 48 *Enterococcus* izolatının sadece 8 tanesinin 24 saat sonunda sütün pH değerini <5,0 pH'ya ulaştırabildiğini; izolatların %71'inin 24 saat sonunda pH değişiminin <1 olduğunu belirtmişlerdir. Oladipo et al. (2015) tarafından *E. gallinarum* W211 izolatının yağsız süt ortamının fermantasyonun 6. saatinde 5,8 olan pH değerini 24. saatinde 4,8 pH'ya; *E. gallinarum* T71 izolatının 6. saatte 5,8 olan pH değerini 24. saatte 4,7 pH'ya düşürdüğü belirlenmiştir. Marino et al. (2003) tarafından peynirden izole edilen *E. gallinarum* izolatının yağsız süt ortamında 6 saatlik inkübasyonda pH değişiminin 0,55 pH olduğu bildirilmiştir. Morales et al. (2011) tarafından da peynirden izole edilen *L. pentosus* izolatının ortamın pH'sını 24 saatte 6,2 pH'dan 4,4 pH'ya düşürdüğü saptanmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar Kırmacı et al. (2016), Oladipo et al. (2015) ve Morales et al. (2011) tarafından belirtilen literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir.

Asit geliştirme kapasitesi ve hızının birçok fermente gıdanın üretiminde olduğu gibi peynir üretiminde de son derece önemli bir parametre olması nedeni ile LAB izolatlarının teknolojik özelliklerinin belirlenmesi çalışmalarında asit üretim yeteneklerinin saptanması ilk sıralarda yer almaktadır. Çalışmada da bu nedenle Samsun ili beyaz peynir izolatu LAB'nin 3, 6, 12, 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sonunda asit üretim kapasiteleri belirlenerek sonuçlar % laktik asit olarak Tablo 3.12'de verilmiştir. Tür içindeki değişimlerin kolay değerlendirilmesi için Şekil 3.2'de gruplandırılarak görsel olarak sunulan sonuçlar aşağıda tartışılmıştır.

Peynir LAB izolatlarının % asit üretim miktarı açısından aralarında önemli bir fark bulunmuş ($p < 0,05$) ve 72 saat fermantasyon sonunda ortam asitliğini laktik asit cinsinden %1,27-2,37 arasına, ortalama %1,85 değerine yükseltmişlerdir. LAB izolatları ile aşılınmış besiyeri ortamlarının başlangıçtaki % asitlik değerleri %0,53-0,64 arasında değişen 5 gruba ayrılırken; fermantasyonun 3. saatinde farklılık azalmış ve 2 gruba ayrılmıştır. Fermantasyonun ilerleyen saatlerinde % asit üretim miktarları birbirinden farklılaşmış ve 6. saatinde 9 grup, 12. saatinde 7 grup, 24. saatinde 8 grup, 48. saatinde 10 grup ve 72. saatinde de 11 grup oluşmuştur ($p > 0,05$). Fermantasyonun 24. saatinde en yüksek % asit üretim miktarına sahip izolat *E. durans* S104 iken bunu birbirinden istatistiki olarak farksız olan ($p > 0,05$) *L. pentosus* S056 ile *L. pentosus* S058 izolatları ve *E. durans* S092 izolatu izlemiştir. Bu sonuçlar pH düşüş sonuçları ile de uyum içerisindedir. Fermantasyonun 48. saatinde en yüksek % asit üretim değeri *E. durans* S104 izolatında belirlenmiş ve bu izolatu *L. pentosus* S058 ile birbirinden istatistiki olarak farksız olan ($p > 0,05$) *L. pentosus* S056 ve *E. durans* S092 izolatları izlemiştir. Fermantasyonun 72. saatinde de en yüksek % asit üretim değeri *E. durans* S104 izolatında (%2,37) belirlenmiş ve bu izolatu *L. pentosus* S058, *E. durans* S092 ile birbirinden istatistiki olarak farksız olan ($p > 0,05$) *L. pentosus* S056 ve *E. faecium* S013 izolatları izlemiştir. Fermantasyonun 72. saatinde en fazla artışın %1,77 ile *E. durans* S104 izolatu tarafından oluşturulduğu bunu %1,67 artış ile *L. pentosus* S058 izolatının takip ettiği ve en az artışın ise %0,67 ile *E. faecium* S1113 izolatu tarafından gerçekleştirildiği belirlenmiştir.

Tablo 3.12. LAB izolatlarının % asit üretim kapasiteleri

| İzolat | Başlangıç (0. Saat) | Fermantasyon Süresi (Saat) | | | | | | | | | | | |
|---|----------------------------|----------------------------|------|--------------------------|------|-------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|------|-------------------------|------|
| | | 3 | | 6 | | 12 | | 24 | | 48 | | 72 | |
| | | %A* | Δ*** | %A | Δ | %A | Δ | %A | Δ | %A | Δ | %A | Δ |
| <i>L. pentosus</i> S056 | 0,60±0,01 ^{bcC**} | 0,56±0,13 ^{bc} | 0,03 | 1,95±0,01 ^{ab} | 1,35 | 2,08±0,01 ^{aA} | 1,49 | 2,15±0,01 ^{bcA} | 1,55 | 2,15±0,01 ^{cA} | 1,55 | 2,15±0,01 ^{dA} | 1,55 |
| <i>L. pentosus</i> S058 | 0,64±0,01 ^{ad} | 0,79±0,16 ^{ad} | 0,15 | 1,52±0,01 ^{bc} | 0,88 | 1,90±0,01 ^{bb} | 1,26 | 2,19±0,02 ^{ba} | 1,55 | 2,24±0,01 ^{ba} | 1,60 | 2,31±0,01 ^{ba} | 1,67 |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | 0,57±0,02 ^{cdF} | 0,64±0,01 ^{be} | 0,07 | 1,02±0,02 ^{ed} | 0,45 | 1,70±0,01 ^{cc} | 1,13 | 1,79±0,01 ^{eb} | 1,22 | 1,83±0,02 ^{ea} | 1,26 | 1,86±0,01 ^{fa} | 1,28 |
| <i>E. faecium</i> S013 | 0,59±0,00 ^{bcF} | 0,57±0,02 ^{bf} | 0,01 | 1,18±0,01 ^{de} | 0,60 | 1,29±0,02 ^{dd} | 0,71 | 1,99±0,01 ^{dc} | 1,41 | 2,08±0,01 ^{db} | 1,50 | 2,15±0,01 ^{da} | 1,56 |
| <i>E. faecium</i> S017 | 0,64±0,01 ^{ag} | 0,69±0,01 ^{abF} | 0,05 | 0,96±0,01 ^{fgE} | 0,32 | 1,11±0,02 ^{fd} | 0,47 | 1,29±0,02 ^{gc} | 0,65 | 1,38±0,02 ^{hb} | 0,74 | 1,47±0,02 ^{ha} | 0,83 |
| <i>E. faecium</i> S1113 | 0,60±0,01 ^{bcF} | 0,66±0,01 ^{abE} | 0,06 | 0,93±0,02 ^{gd} | 0,33 | 1,10±0,04 ^{fc} | 0,50 | 1,09±0,01 ^{hc} | 0,49 | 1,18±0,01 ^{jb} | 0,58 | 1,27±0,01 ^{ka} | 0,67 |
| <i>E. faecalis</i> S135 | 0,55±0,01 ^{deG} | 0,69±0,01 ^{abF} | 0,14 | 0,73±0,01 ^{ie} | 0,18 | 0,93±0,02 ^{gd} | 0,38 | 1,43±0,01 ^{fc} | 0,88 | 1,77±0,01 ^{fb} | 1,22 | 2,00±0,04 ^{ea} | 1,45 |
| <i>E. durans</i> S092 | 0,62±0,01 ^{abF} | 0,60±0,01 ^{bf} | 0,02 | 0,69±0,01 ^{ie} | 0,07 | 1,18±0,01 ^{ed} | 0,56 | 2,08±0,01 ^{cdC} | 1,46 | 2,15±0,01 ^{cb} | 1,53 | 2,19±0,02 ^{ca} | 1,58 |
| <i>E. durans</i> S104 | 0,60±0,01 ^{bcE} | 0,60±0,01 ^{be} | 0,00 | 1,27±0,01 ^{cd} | 0,68 | 1,88±0,01 ^{bc} | 1,28 | 2,33±0,01 ^{ab} | 1,73 | 2,35±0,01 ^{aAB} | 1,76 | 2,37±0,02 ^{aA} | 1,77 |
| <i>E. durans</i> S1121 | 0,57±0,02 ^{cdG} | 0,64±0,01 ^{bf} | 0,07 | 0,82±0,01 ^{he} | 0,25 | 0,96±0,01 ^{gd} | 0,38 | 1,50±0,01 ^{fc} | 0,92 | 1,54±0,01 ^{gb} | 0,97 | 1,61±0,01 ^{ga} | 1,04 |
| <i>E. durans</i> S202 | 0,60±0,01 ^{bcD} | 0,64±0,01 ^{bd} | 0,04 | 1,00±0,01 ^{efC} | 0,41 | 1,27±0,01 ^{db} | 0,68 | 1,46±0,01 ^{fa} | 0,87 | 1,38±0,02 ^{hab} | 0,79 | 1,43±0,01 ^{ia} | 0,83 |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | 0,53±0,01 ^{ef} | 0,62±0,01 ^{be} | 0,09 | 0,73±0,08 ^{id} | 0,20 | 1,18±0,01 ^{ec} | 0,65 | 1,29±0,02 ^{gb} | 0,77 | 1,32±0,01 ^{iAB} | 0,79 | 1,39±0,02 ^{ia} | 0,86 |
| En düşük | 0,53±0,01 | 0,56±0,13 | 0,00 | 0,69±0,01 | 0,07 | 0,93±0,02 | 0,38 | 1,09±0,01 | 0,49 | 1,18±0,01 | 0,58 | 1,27±0,01 | 0,67 |
| En yüksek | 0,64±0,01 | 0,79±0,16 | 0,15 | 1,95±0,01 | 1,35 | 2,08±0,01 | 1,49 | 2,33±0,01 | 1,73 | 2,35±0,01 | 1,76 | 2,37±0,02 | 1,77 |
| Ortalama | 0,59±0,03 | 0,64±0,07 | 0,06 | 1,07±0,36 | 0,48 | 1,38±0,40 | 0,79 | 1,72±0,41 | 1,13 | 1,78±0,40 | 1,19 | 1,85±0,39 | 1,26 |

*: % Asitlik (laktik asit cinsinden);

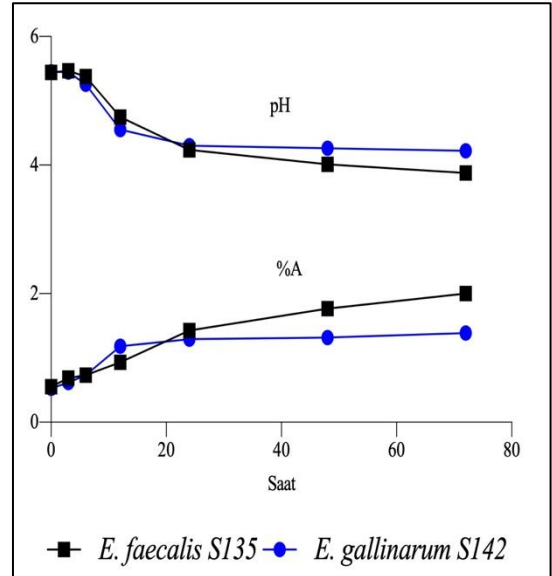
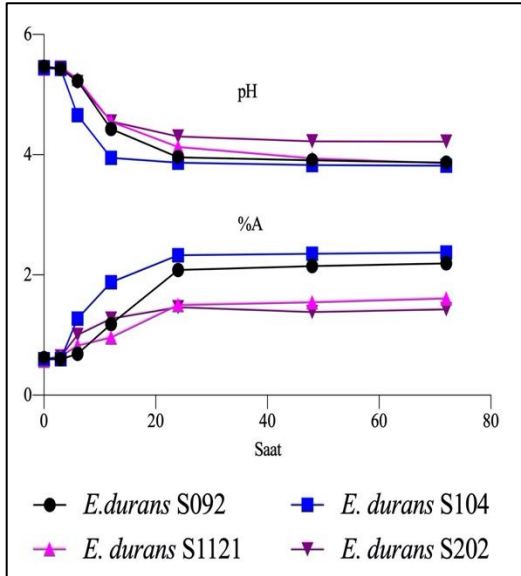
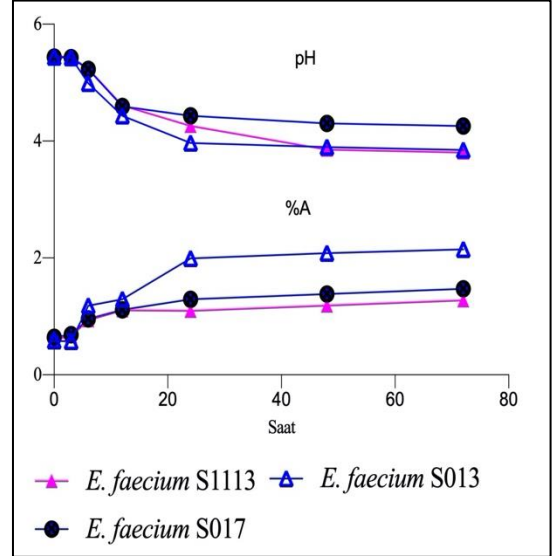
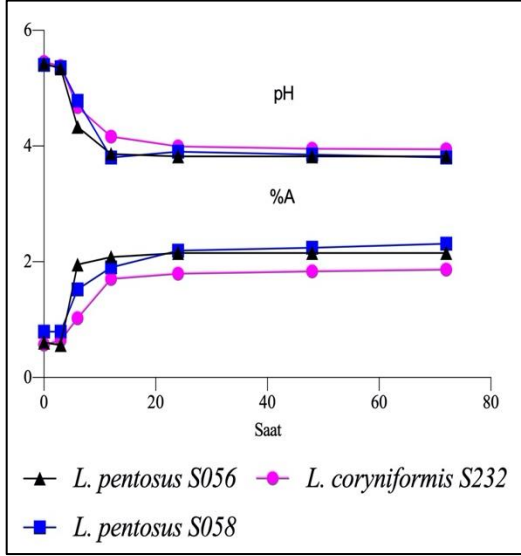
**: Aynı sütunda farklı küçük harfle (a,b,c,d,e,f,g,h,i,j), aynı satırda da farklı büyük harfle (A,B,C,D,E,F,G) işaretlenen örnekler arasındaki fark önemlidir (p<0,05)

***: % Asitlik değerinde değişim miktarı (% laktik asit olarak)

Kırmacı et al. (2016) Urfa peynirinden izole ettikleri *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* şuşlarının yağsız süt ortamında % asit üretim miktarlarını belirledikleri çalışmalarında; başlangıçta %0,14 olan asit miktarının 24 saat sonunda sırasıyla %0,70, %0,68 ve %0,68 değerlerine ulaştığını bulmuşlardır. Akepaer (2015) 35°C’de 24 saat inkübasyon sonrası yağsız süt ortamında toplam asit miktarının *E. durans* 51 tarafından %1,16, ve *E. faecalis* 79 tarafından %1,13 oranına ulaştırdıkları belirlenmiştir. Ertekin (2007) tarafından ekşi hamurdan izole edilen *L. pentosus* izolatının ortam asitliğini 1. gün sonunda, %1,85; 7. gün sonunda ise %1,93’e ulaştırdığı belirtilmiştir. Çon ve Karasu (2009) tarafından da turşu ve zeytinden izole edilen *L. pentosus* şuşlarının fermantasyonunda birinci ve yedinci gün ortam asitliğinin sırasıyla %1,95 ve %2,15 olduğu bildirilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB izolatlarının çalışmada elde edilen asit üretim miktarları Kırmacı et al. (2016), Akepaer (2015) ve Ertekin (2007) tarafından bildirilenlerden daha yüksek; Çon ve Karasu (2009) tarafından bildirilenlere ise oldukça yakın olarak belirlenmiştir.

Besiyeri % asitlik değerlerinde fermantasyon süresine bağlı olarak meydana gelen değişimin istatistiki olarak önemli farklılığa sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$; Tablo 3.12). Fermantasyonun 3. saatinde *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. faecium* S017, *E. faecium* S1113, *E. faecalis* S135, *E. durans* S1121 ve *E. gallinarum* S142 izolatları ile aşılınmış besiyerlerinde üretilen % asitlik değerleri başlangıç değerinden farklı bulunurken ($p<0,05$); fermantasyonun 6. saatinde 3. saat değerine göre, 12. saatinde de 6. saat değerine göre tüm LAB izolatlarının aşılandıkları besiyerlerinde % asitlik değerlerini önemli düzeyde ($p<0,05$) artırdıkları belirlenmiştir. Besiyeri % asitlik değerini 24. saatte *L. pentosus* S056 ve *E. faecium* S1113 dışındaki izolatların 12. saate göre; 48. saatte *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. faecium* S013, *E. faecium* S017, *E. faecium* S1113, *E. faecalis* S135, *E. durans* S092 ve *E. durans* S1121’in 24. saate göre; 72. saatte de *E. faecium* S013, *E. faecium* S017, *E. faecium* S1113, *E. faecalis* S135, *E. durans* S092 ve *E. durans* S1121’in 48. saate göre önemli düzeyde ($p<0,05$) artırdığı saptanmıştır.

Çalışmada beyaz peynirlerden elde edilen LAB izolatlarının asit üretim hızları ve miktarları, peynir üretimi için starter kültür olarak seçimleri için yeterli görülmektedir.



Şekil 3. 2. LAB izolatlarının % asit üretme ve pH düşürme yetenekleri

3.4.6. Proteolitik Aktivite

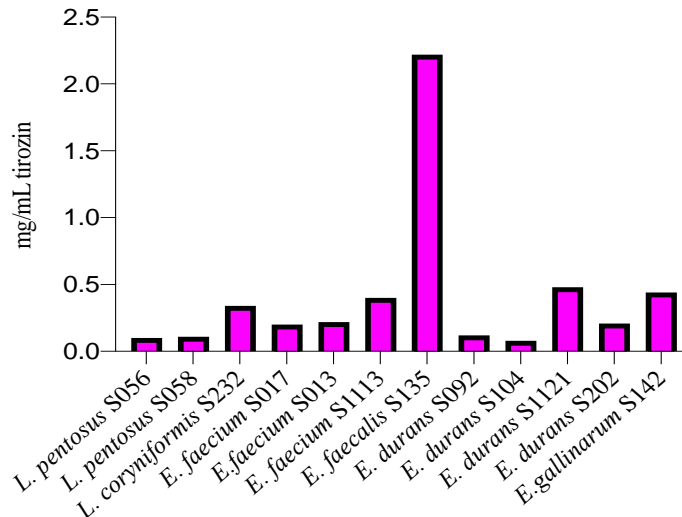
LAB izolatlarının proteolitik aktivite düzeyleri Spencer ve Ragout de Spencer (2001) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiş, Tablo 3.13’de verilmiş ve kıyaslama için Şekil 3.3’de grafik halinde sunulmuştur.

Tablo 3.13. LAB izolatlarının proteolitik aktivite kapasiteleri

| İzolat | Proteolitik Aktivite (mg/mL tirozin) * |
|--|--|
| <i>L. pentosus</i> S056 | 0,10±0,04 ^f |
| <i>L. pentosus</i> S058 | 0,11±0,02 ^f |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | 0,34±0,20 ^d |
| <i>E. faecium</i> S013 | 0,20±0,03 ^e |
| <i>E. faecium</i> S017 | 0,22±0,02 ^e |
| <i>E. faecium</i> S1113 | 0,40±0,11 ^c |
| <i>E. faecalis</i> S135 | 2,22±0,71 ^a |
| <i>E. durans</i> S092 | 0,12±0,02 ^f |
| <i>E. durans</i> S104 | 0,08±0,06 ^f |
| <i>E. durans</i> S1121 | 0,48±0,11 ^b |
| <i>E. durans</i> S202 | 0,21±0,03 ^e |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | 0,44±0,47 ^{bc} |

*Aynı sütunda farklı küçük harfle (a,b,c,d,e,f) işaretlenen örnekler arasındaki fark önemlidir (p<0,05)

Peynir izolatlarının proteolitik aktivite değerleri arasında önemli bir fark (p<0,05) olduğu belirlenmiştir. En yüksek proteolitik aktiviteye sahip izolat 2,22 mg/mL tirozin miktarı ile *E. faecalis* S135 iken en düşük aktiviteye sahip izolatta 0,08 mg/mL tirozin miktarı ile *E. durans* S104 olmuştur. *L. pentosus* S056, *L. pentosus* S058 ve *E. durans* S092 izolatlarının proteolitik aktivite değerleri istatistiksel olarak *E. durans* S104 izolatu ile benzer bulunmuştur (p>0,05).



Şekil 3.3. LAB izolatlarının proteolitik aktivite yetenekleri

Şekil 3.3’den görülebileceği gibi *E. faecalis* S135 izolatu diğerlerinden çok farklı şekilde yüksek aktiviteye sahiptir. Bu izolatu takip eden *E. durans* S1121, *E.*

gallinarum S142, *E. faecium* S1113 ve *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232 izolatları da diğerlerinden belirgin şekilde yüksek aktivitelidir.

Ertürkmen ve Öner (2015) tarafından beyaz peynirden izole edilen *Enterococcus* spp. izolatlarının proteolitik aktivite değerleri 0,01-0,20 mg/mL tirozin arasında çok büyük bir değişkenlik göstermiştir. Dagdemir ve Ozdemir (2008) tarafından salamura beyaz peynirden izole edilen *Enterococcus* cinsi laktik asit bakterilerinin sahip olduğu proteolitik aktivite değerleri 14,20 -117 µg/mL tirozin arasında bulunmuştur. Durlu-Özkaya et al. (2001) tarafından beyaz peynir izole edilen *E. faecium* FC10 ve *E. faecium* FC11 proteolitik aktiviteleri 0,03 ve 0,12 mg/mL tirozin olarak belirlenmiştir. Tuncer (2009) tarafından tulum peynirinden izole edilen 5 *E. faecalis* (EYT7, EYT9, EYT18, EYT29 ve EYT37), 5 *E. faecium* (EYT4, EYT14, EYT26, EYT27 ve EYT39) ve 2 *E. durans* (EYT10 ve EYT25) izolatının tümünde proteolitik aktivitenin 50 µg/mL tirozin değerinden yüksek olduğu; en yüksek değere *E. faecalis* EYT18 izolatının sahip olduğu (100,5 µg/mL) belirtilmiştir.

3.5. Antimikrobiyal Aktiviteli LAB İzolatlarının Probiyotik Özellikleri

3.5.1. β-Galaktosidaz Testi

Beta galaktosidaz ortamda bulunan basit galoktozid'leri parçalayan bir enzimdir. Özellikle süt ürünlerindeki laktozun parçalanmasında ve fonksiyonel özelliği bulunan ürünlerin işlenmesinde kullanılan endüstriyel bir üründür. Bu enzime sahip kültürler de probiyotik olarak yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Çalışmada, O-nitrophenyl-β-D-galactoside'in parçalanmasını katalize etme esasından hareketle belirlenen ve peynirden elde edilen izolatların probiyotik değerinin ortaya konması için gerçekleştirilen β-galaktosidaz aktivite testi sonuçları Tablo 3.14'de verilmiştir.

Tablo 3.14. LAB izolatlarının β-galaktosidaz aktiviteleri

| İzolat | β- Galaktosidaz Aktivitesi |
|--|----------------------------|
| <i>L. pentosus</i> S056 | - |
| <i>L. pentosus</i> S058 | - |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | + |
| <i>E. faecium</i> S013 | + |
| <i>E. faecium</i> S017 | + |
| <i>E. faecium</i> S1113 | + |
| <i>E. faecalis</i> S135 | - |
| <i>E. durans</i> S092 | - |
| <i>E. durans</i> S104 | - |
| <i>E. durans</i> S1121 | + |
| <i>E. durans</i> S202 | + |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | + |

+: Aktivite var; -: Aktivite yok

Peynir izolatlarından *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. faecium* S013, *E. faecium* S017, *E. faecium* S1113, *E. durans* S1121, *E. durans* S202 ve *E. gallinarum* S142 β -galaktosidaz pozitif olarak bulunmuştur. *L. pentosus* S056, *L. pentosus* S058, *E. faecalis* S135, *E. durans* S092 ve *E. durans* S104 izolatlarının ise β -galaktosidaz aktivitesi bulunmamaktadır. Literatürde Serio et al. (2010) tarafından peynirden elde edilen *E. durans* izolatlarının β -galaktosidaz aktivitelerinin negatif olarak tespit edildiği, *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatlarının ise sırasıyla %81 ve %50 oranında pozitif olarak saptandığı; Karasu (2006) tarafından izole edilen *L. plantarum* 3 ve *L. pentosus* 6 izolatlarının β -galaktosidaz aktivitesinin bulunmadığı, Papamanoli et al. (2003) tarafından peynirden izole edilen *L. coryniformis* CECT 5711'un güçlü bir β -galaktosidaz aktivitesine sahip olduğu belirtilmektedir. Çalışmada elde edilen sonuçlar Serio et al. (2010) tarafından *E. durans* için verilen bilgi dışındaki sonuçlarla paralellik göstermektedir.

3.5.2. Antibiyotiklere Duyarlılık

Laktik asit bakteri izolatlarının yaygın kullanılan 8 farklı antibiyotiğe (Amoksisilin, Ampisilin, Klindamisin, Eritromisin, Gentamisin, Metronidazol, Tetrasiklin ve Vankomisin) karşı duyarlılıkları test edilmiştir. Test sonucu elde edilen inhibisyon bölgesi çapları ve Clinical and Laboratory Standards Institute (2018) tarafından belirtilen sınır değerlere göre belirlenen hassasiyet düzeyleri Tablo 3.15'de sunulmuştur.

Tablo 3.15. LAB izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları

| İzolat | İnhibisyon bölgesinin çapı (mm) ve dayanıklılık düzeyi* | | | | | | | |
|--|---|---------|---------|---------|-----|---------|--------|------|
| | AM | GN | CL | E | MT | TE | VA | AMC |
| <i>L. pentosus</i> S056 | 38,8 S | 27,4 S | 19,6 S | 39,7 S | 0 R | 27,5 S | 0 R | 45 S |
| <i>L. pentosus</i> S058 | 35,1 S | 27,6 S | 17,8 MS | 39,6 S | 0 R | 24,4 S | 0 R | 44 S |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | 38,9 S | 29,7 S | 37,4 S | 40,0 S | 0 R | 28,3 S | 0 R | 40 S |
| <i>E. faecium</i> S013 | 30,2 S | 16,0 S | 24,5 S | 21,9 MS | 0 R | 34,5 S | 23,3 S | 35 S |
| <i>E. faecium</i> S017 | 32,8 S | 17,8 S | 25,6 S | 24,8 S | 0 R | 37,0 S | 25,0 S | 37 S |
| <i>E. faecium</i> S1113 | 30,4 S | 11,9 R | 22,4 S | 24,3 S | 0 R | 30,7 S | 21,9 S | 33 S |
| <i>E. faecalis</i> S135 | 30,1 S | 8,5 R | 10,0 R | 23,8 S | 0 R | 32,6 S | 18,9 S | 30 S |
| <i>E. durans</i> S092 | 32,8 S | 17,3 S | 29,4 S | 31,3 S | 0 R | 33,1 S | 23,6 S | 35 S |
| <i>E. durans</i> S104 | 31,6 S | 15,6 S | 26,4 S | 27,2 S | 0 R | 31,4 S | 22,2 S | 32 S |
| <i>E. durans</i> S1121 | 31,0 S | 16,0 S | 27,2 S | 27,5 S | 0 R | 33,0 S | 23,9 S | 32 S |
| <i>E. durans</i> S202 | 30,6 S | 13,8 MS | 27,2 S | 28,5 S | 0 R | 30,7 S | 22,5 S | 35 S |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | 32,4 S | 14,7 MS | 27,3 S | 27,6 S | 0 R | 13,9 MS | 23,6 S | 36 S |

*R: Dirençli; MS: Yarı Hassas; S: Hassas;

** : AM: Ampicillin (10 mcg); GN: Gentamicin (10 mcg); CL: Clindamycin (2 mcg); E: Erythromycin (15 mcg); MT: Metronidazole (5 mcg); TE: Tetracycline (30 mcg); VA: Vancomycin (30 mcg); AMC: Amoxicillin (30 mcg).

Peynirden elde edilen izolatların hepsinin metronidazole karşı dirençli; ampicillin ve amoxicillin karşı ise hassas olduğu belirlenmiştir. Yine erythromycin ve tetracycline karşı da sadece birer izolat yarı hassas diğerlerinin tamamı hassastır. Bunlar dışındaki antibiyotiklerden gentamicine karşı *E. faecium* S1113 ve *E. faecalis* S135 dirençli, *E. gallinarum* S142 ve *E. durans* S202 izolatları yarı hassas; clindamycine karşı *E. faecalis* S135 dirençli, *L. pentosus* S058 yarı hassas ve vancomycine karşı da *L. pentosus* S056, *L. pentosus* S058 ve *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232 dirençli olarak tespit edilmiştir. Bu son üç antibiyotiğe karşı diğerleri ise hassastır.

En fazla antibiyotiğe dayanıklı izolatın *E. faecalis* S135 olduğu (Gentamicin, Clindamycin ve Metronidazole dayanıklı); vancomycine karşı laktobasillerin tamamının dayanıklı, enterokokların ise tamamının hassas olduğu dikkat çekmektedir.

Ghahremani et al. (2015) tarafından peynirden izole edilen *E. faecium* DC67 şusunun ampisilin, eritromisin ve vankomisine hassas, tetrasikline yarı hassas olarak saptanmıştır. Cui et al. (2018) tarafından peynirden izole edilen *E. faecium* 27179 şusunun gentamisine dirençli olduğu belirtilmiştir. Casado Muñoz et al. (2014) yaptıkları çalışmada *L. pentosus* izolatların amoksisilin, ampisilin, gentamisin, eritromisin ve tetrasikline hassas, vankomisine fenotipik olarak dirençli olarak belirtmişlerdir. Çalışma sonuçları bu literatürler ile tam uyumludur. Monteagudo-Mera et al. (2012) tarafından verilen *E. faecalis*189 şusunun ampisilin, eritromisin ve vankomisine hassas tetrasiklin, gentamisine dirençli olduğu sonucu da tetrasiklin dışında çalışma sonuçları ile uyumludur.

3.5.3. Safra Tuzuna Dayanıklılık

Mikroorganizmaların sindirim sisteminden geçişi sırasında canlı kalmasını etkileyen önemli faktörlerden birisi olan safra tuzlarına karşı dayanıklılık, probiyotik bakterilerin seçiminde önemli bir kriteridir. Bu nedenle çalışmada LAB izolatlarının %1 (w/v) safra tuzu içeren ortama dayanıklılıkları in vitro olarak test edilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.16'da verilmiştir.

Tablo 3.16. LAB izolatlarının %1 (w/v) safra tuzuna dayanıklılıkları

| İzolat | Canlı Hücre Sayısı ve Değişimi (log kob/mL) | | | | | | | |
|--|---|---------------------------|---------------|---------------------------|----------|--------------------------|----------|--|
| | 0. Saat | | 1. Saat | | 2. Saat | | 4. Saat | |
| | Sayı | Sayı | Δ^{**} | Sayı | Δ | Sayı | Δ | |
| <i>L. pentosus</i> S056 | 6,94±0,01 ^{ea*} | 5,64±0,05 ^{efB} | 1,30 | 5,54±0,00 ^{fc} | 1,40 | 4,30±0,00 ^{fd} | 2,64 | |
| <i>L. pentosus</i> S058 | 7,89±0,36 ^{cdA} | 7,69±0,43 ^{bcdA} | 0,20 | 7,46±0,02 ^{ca} | 0,42 | 6,02±0,04 ^{dB} | 1,86 | |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | 8,59±0,09 ^{abA} | 8,32±0,11 ^{aB} | 0,27 | 7,06±0,08 ^{cC} | 1,53 | 6,19±0,05 ^{dD} | 2,40 | |
| <i>E. faecium</i> S013 | 6,73±0,01 ^{efA} | 5,92±0,11 ^{eB} | 0,80 | 5,60±0,15 ^{fbC} | 1,13 | 5,00±0,42 ^{eC} | 1,72 | |
| <i>E. faecium</i> S017 | 8,92±0,10 ^{aA} | 7,81±0,06 ^{bcB} | 1,11 | 7,60±0,01 ^{bcC} | 1,33 | 6,88±0,04 ^{cd} | 2,05 | |
| <i>E. faecium</i> S1113 | 8,52±0,01 ^{abA} | 8,06±0,28 ^{abAB} | 0,46 | 7,80±0,04 ^{ab} | 0,72 | 7,83±0,23 ^{ab} | 0,69 | |
| <i>E. faecalis</i> S135 | 6,39±0,01 ^{fA} | 5,48±0,00 ^{fb} | 0,91 | 4,60±0,00 ^{sc} | 1,78 | 4,30±0,00 ^{fd} | 2,08 | |
| <i>E. durans</i> S092 | 7,97±0,02 ^{cdA} | 7,56±0,13 ^{cdB} | 0,41 | 7,55±0,06 ^{cb} | 0,42 | 7,33±0,23 ^{bb} | 0,64 | |
| <i>E. durans</i> S104 | 7,67±0,13 ^{da} | 7,31±0,05 ^{dB} | 0,37 | 7,27±0,01 ^{db} | 0,40 | 7,15±0,04 ^{bcB} | 0,52 | |
| <i>E. durans</i> S1121 | 8,22±0,58 ^{bcA} | 7,56±0,14 ^{cdA} | 0,66 | 7,62±0,11 ^{abcA} | 0,60 | 7,73±0,01 ^{aA} | 0,49 | |
| <i>E. durans</i> S202 | 7,83±0,10 ^{cdA} | 7,71±0,15 ^{bcdA} | 0,13 | 7,76±0,18 ^{abA} | 0,07 | 7,71±0,21 ^{aA} | 0,13 | |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | 7,88±0,16 ^{cdA} | 7,80±0,18 ^{bcA} | 0,08 | 7,16±0,02 ^{deB} | 0,72 | 6,99±0,01 ^{bcB} | 0,89 | |

*: Aynı sütunda farklı küçük harfle (a,b,c,d,e,f,g), aynı satırda da farklı büyük harfle (A,B,C,D) işaretlenen örnekler arasındaki fark önemlidir (p<0,05)

** : Canlı hücre sayısındaki değişim

LAB izolatlarının safra tuzuna dayanıklılıkları açısından aralarında önemli bir fark bulunduğu (p<0,05); %1 safra konsantrasyonunda muamele süresine bağlı olarak canlı hücre sayısında azalış meydana geldiği ve 4 saat muamele sonunda 0,13-2,64 log kob/mL arasında düşüş olduğu tespit edilmiştir. LAB izolatları arasında safraya karşı en dirençli izolatın *E. durans* S202 (Δ 0,13 log kob/mL) olduğu ve dayanıklılık açısından bu izolatı *E. durans* S1121 (Δ 0,49 log kob/mL) ve *E. durans* S104 (Δ 0,52 log kob/mL) izolatlarının takip ettiği tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar; LAB izolatlarının safra tuzuna toleranslı olmakla birlikte, artan uygulama süresine bağlı olarak canlı kalan hücre sayısında azalma olduğunu göstermiştir.

Abanoz (2014) tarafından yapılan çalışmada *E. faecalis* KT11'in %0,3, %0,5 ve %1 safra tuzu içeren MRS ortamında 6 saat muamele sonrasında tüm konsantrasyonlarda canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Yerlikaya ve Akbulut (2020) tarafından çiğ süt ve çeşitli süt ürünlerinden izole edilen *E. faecium* ve *E. durans* suşlarının %1 safra tuzu içeren M17 broth'da muamele sonrasında canlılığını koruduğu belirlenmiştir. Rahman et al. (2018) Nile tilapia'dan izole ettiği *L. coryniformis* subsp. *torquens* MTi1 and *L. coryniformis* MTi2 suşlarının %0,5 ve %2,0 safra tuzu içeren MRS broth'da 37°C'de 48 saat inkübasyon sonrasında optik dansite okuması ile belirlenen test sonucunda canlılığını koruduğu bildirilmiştir. Oladipo et al.

(2015) tarafından yapılan araştırmada %1 safra tuzunda; 5 farklı *E. gallinarum* izolatının canlı kalma oranlarının %24,6-41,2 arasında değiştiği gösterilmiştir. Zoumpoulou et al. (2020) tarafından yapılan çalışmada %1 safra tuzunda 3 saat muamele sonrasında *E. faecium* 1625 ve *E. durans* 1634 izolatlarının sırasıyla 0,14 ve 0,11 log kob/mL artış; *E. faecalis* 1727 izolatının da 0,04 log kob/mL düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Argyri et al. (2013) da *L. pentosus* E97 izolatının %0,5 safra tuzu içeren ortamda 4 saat muamele sonrasında %96,79'unun canlı kaldığını bildirmiştir.

LAB izolatlarının safra tuzuna dayanıklılıklarında muamele süresine bağlı olarak meydana gelen değişimin istatistiki olarak önemli farklılığa sahip olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$; Tablo 3.16). Safra tuzuna (%1) 1 saat maruz kalmanın *L. pentosus* S058, *E. durans* S1121, *E. durans* S202 ve *E. gallinarum* S142 izolatlarının; 2 saat maruz kalmanın *L. pentosus* S058, *E. durans* S1121 ve *E. durans* S202 izolatlarının, 4 saat maruz kalmanın da *E. durans* S1121 ve *E. durans* S202 izolatlarının canlı hücre sayısında önemli bir değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır ($p > 0,05$). Diğer LAB izolatları ise aynı sürelerde etkilenmişler ve canlı hücre sayıları genel olarak safra tuzuna maruz kalma süresi uzadıka düşmüştür. Canlı hücre sayısı 2. saat muamelede *L. pentosus* S058, *E. faecium* S013, *E. durans* S092, *E. durans* S104, *E. durans* S1121 ve *E. durans* S202 dışındaki izolatlarda 1. saate göre; 4 saat muamelede de *E. faecium* S013, *E. faecium* S1113, *E. durans* S092, *E. durans* S104, *E. durans* S1121, *E. durans* S202 ve *E. gallinarum* S142 dışındaki izolatlarda 2. saate göre azalmıştır ($p < 0,05$).

Bu bilgiler ışığında; beyaz peynirden elde edilen izolatların tümünün safra tuzuna karşı literatür verilerinde olduğu gibi oldukça dayanıklı olduğu ve safraya dayanıklılık açısından probiyotik olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu söylenilmektedir.

3.5.4. Mide Suyuna Dayanıklılık

Mide suyuna dayanıklılık (pH 2,0-2,5), probiyotikler için gastrointestinal sistemden geçiş sırasında canlı kalmalarını sağlayan temel bir fonksiyonel gereklilik olarak kabul edilmekte ve potansiyel probiyotik suşların gastrointestinal koşullarda canlı kalma ve gelişme oranını tahmin etmede büyük önem taşımaktadır. Bu bilgiden hareketle elde edilen izolatların mide suyuna dayanıklılıkları 2,0 pH ve 3,0 pH değerlerinde belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.17'de verilmiştir.

Tablo 3.17. LAB izolatlarının mide suyu ortamında 3 saat muameleye dayanıklılıkları

| İzolat | pH 2 Canlı Kalan Hücre ve Değişimi (log kob/mL) | | | pH 3 Canlı Kalan Hücre ve Değişimi (log kob/mL) | | |
|--|---|------------------------|---------------|---|-------------------------|----------|
| | 0. Saat | 3. Saat | | 0. Saat | 3. Saat | |
| | Sayı | Sayı | Δ^{**} | Sayı | Sayı | Δ |
| <i>L. pentosus</i> S056 | 8,45±0,02 ^{c*} | 2,94±0,05 ^b | 5,51 | 8,52±0,04 ^{bcd} | 9,00±0,68 ^a | 0,48 |
| <i>L. pentosus</i> S058 | 8,53±0,02 ^c | 1,64±0,57 ^c | 6,89 | 8,57±0,01 ^{bcd} | 8,02±0,74 ^b | 0,56 |
| <i>L. coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i> S232 | 8,49±0,05 ^c | 3,17±0,37 ^b | 5,33 | 8,83±0,12 ^{bc} | 7,29±0,07 ^c | 1,54 |
| <i>E. faecium</i> S013 | 8,72±0,04 ^b | 3,12±0,25 ^b | 5,60 | 9,76±0,00 ^a | 8,63±0,03 ^{ab} | 1,12 |
| <i>E. faecium</i> S017 | 7,89±0,05 ^e | 3,17±0,08 ^b | 4,72 | 8,80±0,68 ^{bc} | 6,48±0,00 ^d | 2,32 |
| <i>E. faecium</i> S1113 | 8,27±0,0 ^d | 3,47±0,01 ^b | 4,80 | 8,45±0,02 ^{cde} | 8,04±0,06 ^b | 0,41 |
| <i>E. faecalis</i> S135 | 8,10±00 | <1 | >8,10 | 8,24±0,06 ^{de} | 3,21±0,04 ^e | 5,03 |
| <i>E. durans</i> S092 | 8,80±0,04 ^a | 4,94±0,22 ^a | 3,86 | 9,04±0,24 ^b | 8,57±0,04 ^{ab} | 0,47 |
| <i>E. durans</i> S104 | 8,23±0,04 ^d | 1,45±0,05 ^c | 6,79 | 7,99±0,00 ^e | 8,13±0,07 ^b | 0,14 |
| <i>E. durans</i> S1121 | 8,82±0,05 ^a | 2,96±0,01 ^b | 5,87 | 9,05±0,08 ^b | 8,89±0,05 ^a | 0,16 |
| <i>E. durans</i> S202 | 8,88±0,02 ^a | 2,98±0,04 ^b | 5,89 | 9,86±0,57 ^a | 8,97±0,02 ^a | 0,89 |
| <i>E. gallinarum</i> S142 | 8,72±00 | <1 | >8,72 | 8,92±0,08 ^{bc} | 8,54±0,01 ^{ab} | 0,38 |

*: Aynı sütunda farklı küçük harfle (a,b,c,d,e) işaretlenen örnekler arasındaki fark önemlidir (p<0,05)

** : Canlı hücre sayısındaki değişim

LAB izolatlarının hem 2,0 pH hem de 3,0 pH değerine sahip mide suyuna dayanıklılıkları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar (p<0,05) bulunduğu tespit edilmiştir. Araştırmada 2,0 pH'ya sahip mide suyu solüsyonu ile 3 saat muameleden sonra yapılan ekimde izolatların canlı hücre sayılarında 3,86 ile >8,72 log kob/mL arasında düşüş olduğu ve LAB izolatları arasında 2,0 pH'ya sahip mide suyu solüsyonuna en dayanıklı suşun *E. durans* S092 (Δ 3,86 log kob/mL) olduğu belirlenmiştir. 3,0 pH'ya sahip gastrik solüsyonda 3 saat inkübasyondan sonra ise izolatların canlı hücre sayısında 0,14-5,03 log kob/mL düşüş olduğu ve en dirençli izolatın *E. durans* S104 (Δ 0,14 log kob/mL) olduğu saptanmıştır.

Abanoz (2014) tarafından yapılan çalışmada *E. faecalis* KT11 izolatının 4 saat muamele sonrasında 2,0 pH değerine sahip mide sıvısında canlılığını tamamen kaybederken, 3,0 ve 4,0 pH değerine sahip mide sıvısında canlı kaldığı gösterilmiştir. Hijazi et al. (2019) 2,5 pH'ya ayarlanmış gastrik solüsyon ile 3 saat muamele sonrasında *E. durans* ABRIINW.F, *E. faecium* ABRIINW.M ve *E. faecalis* ABRIINW.E izolatlarının canlı kalma oranlarını sırasıyla %103,54, %96,55 ve %59,36 olarak belirlemişlerdir. Pieniz et al. (2014) tarafından da *E. durans* LAB18s izolatının 2,0 pH'ya ayarlanmış gastrik solüsyonda 1 saat inkübasyondan sonra sayım sonucunun saptama sınırının altında olduğu gösterilmiştir.

Argyri et al. (2013) tarafından yapılan çalışmada 2,5 pH'ya PBS solüsyonunda 3 saat muameleden sonra 37 *L. pentosus* izolatının canlı kalma sayılarının 4 izolatta

>8 log kob/mL, 7 izolatta 6-8 log kob/mL, 15 izolatta 3-6 log kob/mL, 8 izolatta 1-3 log kob/mL ve 3 izolatta da <1 log kob/mL olduğu saptanmıştır. Klingberg et al. (2005) *L. pentosus* MF1300 izolatının 2,5 pH'da MRS besiyerinde 4 saat muamele sonrasında canlı kaldığını belirtmişlerdir. Strompfová ve Lauková (2007) izole edilen *E. faecium* izolatının 3,0 pH'ya sahip MRS broth'da 3 saat canlılığını koruyabildiğini bildirmişlerdir. Abanoz (2014) tarafından yapılan çalışmada izole edilen *E. faecalis* KT11'in MRS Broth'da pH 1'de 2. saate, pH 2'de 4. saate ve pH 3'de 6. saate kadar canlılığını koruyabildikleri bildirilmiştir. Akepaer (2015) Tripton Glikoz Maya Ekstraktı ortamında 2,0 ve 3,0 pH'da 35°C'de 24 saat inkübasyon sonunda optik dansite okuması ile hesaplanan canlı kalan hücre sayılarından hesaplanan canlılıklarını koruma oranlarını *E. durans* 51, *E. faecalis* 79 ve *E. faecium* suşları için 2,0 pH'da sırasıyla %3,81, %0,89 ve %1,41; 3,0 pH'da sırasıyla %4,53, %11,29 ve %9,77 olarak belirlemişlerdir.

Zoumpoulou et al. (2020) tarafından yapılan çalışmada 2,5 pH'ya sahip PBS solüsyonunda 2 saat muameleden sonra *E. faecium* 1625, *E. durans* 1634 ve *E. faecalis* 1727 izolatlarının sayılarında ortalama 3,70, 3,25 ve 2,45 Δ log kob/mL düşüş olduğu belirlenmiştir. Oladipo et al. (2015) tarafından da PBS ortamında 5 farklı *E. gallinarum* izolatının 1,0 ve 3,0 pH'da 2 saat muamele sonrasında canlı kalma oranlarını belirlediği çalışmada, canlı hücre sayısındaki değişimin 1,0 pH'da 4,8-6,4 log kob/mL arasında; 3,0 pH'da da 2,5-3,8 log kob/mL arasında olduğu saptanmıştır.

İzolatların mide suyunda pH 3,0'de canlılığı tatmin edici iken, pH 2'de canlı hücre sayısında önemli düşüşler gözlemlenmiştir. Bununla birlikte mide sıvısının pH değerinin genel olarak 2,5-3,5 pH arasında değişmesi, yemekten sonra daha yüksek olabilmesi (4,5 pH) (Huang ve Adams, 2004) bu izolatların probiyotik olma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Uzun süreli açlık sırasında daha düşük mide sıvısının pH değeri 1,5 pH'ya düşebilmekle birlikte, probiyotik izolatın yemekle birlikte eşzamanlı olarak alınmasının planlanması nedeni ile pH 2,0'de kısa bir süre canlı kalabilmeleri probiyotik potansiyelini kısıtlamayacaktır. Çünkü yemekle birlikte alındığında mide sıvısının pH değeri muhtemelen 2,0 pH'dan daha yüksek olacaktır. Bu değerlendirmeler ışığında, çalışmada elde edilen izolatların simüle edilmiş mide suyuna ve safra tuzuna karşı göstermiş oldukları bu tolerans, bu suşların gelecekte probiyotik olarak kullanımı için alternatif bir kaynak olarak kabul edilebileceğini göstermektedir. Bu anlamda; çalışmada pepsin içeren simüle edilmiş mide suyu (pH

3,0) ve safra tuzu (%1,0) varlıklarında yüksek oranda canlı kalabilen *E. faecium* S1113, *E. durans* S104, *E. durans* S202 ve *E. durans* S1121 izolatları öne çıkmıştır.

4. SONUÇ

Araştırmada; Samsun ilinin 6 farklı bölgesinde ev ölçeğinde geleneksel olarak üretilen ve ilçe/sem t pazarlarında satışa sunulan beyaz peynir örneklerinin temel mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri belirlenmiş ve antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterileri izole edilerek probiyotik özellikleri saptanmıştır. Çalışmada, 25 üreticiden toplanan peynir örneklerinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikler açısından önemli farklılıklara sahip oldukları ($p<0,05$) belirlenmiştir. pH değerlerinin 4,39-6,70 pH arasında ve ortalama 5,82; toplam asitlik değerlerinin %0,09-1,59 arasında ve ortalama %0,56; tuz içeriklerinin %3,86-15,8 arasında ve ortalama %8,66; kuru maddede tuz oranlarının %5,76-24,04 arasında ve ortalama %13,76; kurumadde miktarlarının da %45,23-83,69 arasında ve ortalama %63,96 olduğu belirlenmiştir. Peynir örneklerinin <2,00-8,16 log kob/g arasında ve ortalama 6,14 log kob/g laktobasil; <2,00-8,01 log kob/g arasında ve ortalama 6,08 log kob/g laktokok/streptokok; <2,00-7,01 log kob/g arasında ve ortalama 4,98 log kob/g maya küf; <2,00-5,97 log kob/g arasında ve ortalama 4,39 log kob/g *S. aureus*; <1,00-4,35 log kob/g arasında ve ortalama 2,81 log kob/g koliform grubu bakteri içerdiği; örneklerden sadece birisinde ve 1,00 log kob/g düzeyinde *E. coli* varlığına rastlandığı saptanmıştır. Beyaz peynir örneklerinin birbirinden çok farklı pH, toplam asit, tuz, kurumadde ve mikrobiyolojik içeriğe sahip olmalarının nedenleri; küçük aile işletmelerinde geleneksel yöntemlerle üretilmesine ve yine farklı koşullar altında olgunlaştırılıp korunmalarına bağlanmıştır. Bu durum piyasada satılan ürünlerin standardizasyon açısından yetersizliğine işaret etmekle birlikte ev ölçeğinde üretilen ürünler için bu durum büyük bir eksiklik olarak da algılanmamıştır. Çok küçük işletmelerde veya evlerde üretilen bu ürünlerin farklılıkları zenginliğimizi de ortaya koymakta ve starter kültür izolasyonu için sansımızı artırmaktadır.

Çalışmada; 25 peynir örneğinden izole edilen yaklaşık 2500 muhtemel LAB kolonisinin antimikrobiyal aktivitesi *E. coli* ATCC25922 ve *B. cereus* NRRL B-3711 indikatör suşlarına karşı agar spot testi kullanılarak belirlenmiştir. Etrafında inhibisyon zonu bulunan toplam 162 adet koloni antimikrobiyal aktiviteye sahip muhtemel LAB kolonisi olarak seçilmiş, izole edilmiş ve Gram boyama, mikroskopik görünüm, katalaz testleri ile saflığı ve LAB olması doğrulanmıştır. Bu izolatlar saf kültür olarak

çoğaltılmış, agar spot testi ile antimikrobiyal aktivitesi tekrar teyid edilmiş ve pozitif olanların kuyu difüzyon testi ile de *E. coli* ATCC25922 ve *B. cereus* NRRL B-371'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. İlk seçimde antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB izolatlarının tekrarlanan agar spot testinde *E. coli* ATCC25922'ye karşı %98,15'inin, *B. cereus* NRRL B-371'e karşı %97,53'ünün; yeni yapılan kuyu difüzyon testinde de *E. coli* ATCC25922'ye karşı %32,72'inin, *B. cereus* NRRL B-371'e karşı %31,48'inin inhibitör etkili olduğu saptanmış ve yüksek aktiviteye sahip 12 adet LAB izolatu çalışmanın devamında kullanılmak için seçilerek tanımlanmıştır.

Yüksek antimikrobiyal aktivite olarak seçilen 12 LAB izolatının 16S rDNA dizi analizi sonucunda; *L. pentosus* S056, *L. pentosus* S058, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. faecium* S013, *E. faecium* S017, *E. faecium* S1113, *E. faecalis* S135, *E. durans* S092, *E. durans* S104, *E. durans* S142, *E. durans* S1121 ve *E. gallinarum* S202 türleri olduğu belirlenmiştir.

Seçilen 12 LAB izolatının agar spot testinde gıdalarda önemli indikatör bakterilerden olan *E. coli* ATCC25922'ye karşı 4 adedi orta, 8 adedi yüksek, *B. cereus* NRRL B-3711 indikatör suşuna karşı da 1 adedi orta, 11 adedi yüksek düzeyde inhibitör aktivite göstermiştir. *B. cereus* NRRL B-3711 indikatör suşuna karşı *E. durans* S092, *E. durans* S202, *E. faecium* S1113 ve *E. faecalis* S135 izolatları kuyu difüzyon testinde de yüksek inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Hem *E. coli* ATCC25922, hem de *B. cereus* NRRL B-3711'e karşı agar spot ve kuyu difüzyon testlerinin her ikisinde de *E. faecium* S1113, *E. gallinarum* S142, *E. durans* S092, *E. durans* S104, *E. durans* S1121 izolatları orta veya yüksek inhibitör aktivite olarak saptanmıştır.

Peynir starter kültürü olarak kullanılacak starter kültürün peynir üretimi ve muhafazasında kullanılan düşük pH, düşük sıcaklık (10-15°C) ve yüksek tuz (%6-9) değerlerinde gelişebilmesi istenilen bir özelliktir. Çalışmada elde edilen izolatlardan *L. pentosus* S056, *L. pentosus* S058, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. faecium* S1113, *E. durans* S104 ve *E. durans* S1121 2,5 pH'da, *L. pentosus* S056 ve S058, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. durans* S092 ve *E. durans* S104 10°C'de; *L. pentosus* S056 ve S058, *L. coryniformis* subsp. *torquens* S232, *E. faecium* S017, *E. durans* S092 ve S104 de %12 tuz içeriğinde gelişebilmektedir. 3,0 pH, %9 tuz içeriğinde tamamı 15°C'de ise *E. faecalis* S135 hariç diğerlerinin gelişebildiği

saptanmıştır. Bu sonuçlar, *E. faecalis* S135 hariç tüm izolatların peynir olgunlaştırma şartlarında gelişebileceğine işaret etmektedir.

Peynir üretiminde kullanılan starter kültürlerin ortamı hızlı bir şekilde asitlendirmesi muhafaza açısından bir avantaj sağlamaktadır. Antimikrobiyal aktiviteye sahip LAB izolatları, 72. saat sonunda ortam pH değerini 5,40-5,46 pH'dan 3,80-4,26 pH arasına (ort. 3,95 pH) indirmiş; ortam asitliğini laktik asit cinsinden % 1,27-2,37 arasına (ort. % 1,85) yükseltmişlerdir. Beyaz peynirden elde edilen izolatların asit üretim hızları ve miktarlarının, peynir üretiminde starter kültür olarak kullanımları için yeterli olduğu sonucuna varılmıştır. LAB izolatlarından 72 saat sonunda ortam pH değerini en çok düşüren izolatın *E. faecium* S1113 ve en az düşüren izolatın da *E. faecium* S017 olduğu; % asitlikte en yüksek artış oluşturan izolatın *E. durans* S104 (Δ % 1,78 artış) ve en düşük artış oluşturan izolatın da *E. faecium* S1113 (Δ % 0,67 artış) olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerinin tespiti için safra tuzuna, gastrik suya, antibiyotiğe, dayanıklılıkları ile proteolitik aktiviteleri ve β -galaktozidaz üretimi içeren probiyotik özelliklerinin tümünün dikkate alındığı değerlendirme sonucunda *E. faecium* S1113, *E. durans* S104, *E. durans* S1121 ve *E. durans* S202'ün en önde gelen izolatlar olduğu ortaya konulmuştur. Bu izolatlardan *E. faecium* S1113, *E. durans* S104 ve *E. durans* S112'in antimikrobiyal aktivite ve düşük pH değerinde gelişme açısından da en önde gelen izolatlar olduğu, peynir olgunlaştırma şartlarında faaliyet gösterebilecekleri ve probiyotik starter kültür olarak kullanılması için patojenite testlerinin yapılmasının uygun olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abanoz, H. S. (2014). *Enterococcus faecalis* KT11 "in Probiyotik Potansiyelinin Belirlenmesi ve Bakteriyosin Üretimi Üzerine Çalışmalar [Yüksek Lisans Tezi]. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.
- Adam, P. (1974). *Cheese*. Ege University Press.
- Akepaer, M. (2015). *Bazı Enterococcus Lactococcus ve Pediococcus Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması [Yüksek Lisans Tezi]*. Ankara Üniversitesi
- Alizadeh, A. M., Mashayekh, M., Banikhademi, S., Mohammadi, M., Heidary, R. H., Mousavi, M., and Pilevar, Z. (2018). Microbial and Chemical Parameters of Traditional Siahmazgi Cheese Produced in Zanjan Province, Iran. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 7(1). <https://doi.org/10.17582/journal-.aavs/2019/7.1.38.44>
- Anonim, (2014). *Yılık rapor*. www.tuik.gov.tr (Erişim: 26.05.2020)
- Anonim, (2018). *Süt rapor*. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr> (Erişim: 25.05.2020)
- Anonymous, (2018). *Yılık rapor*. www.tuik.gov.tr (Erişim: 26.05.2020)
- Anonymous, (2020). *Yılık rapor*. www.tuik.gov.tr (Erişim: 26.05.2020)
- Anonymous, (2014). *World Trade Report 2014*. <https://www.wto.org> (Erişim: 25.05.2020)
- Anonymous, (2015). *Süt ve Süt Ürünleri Sektör Raporu*. <http://www.konyadayatirim.gov.tr/> (Erişim: 07.07.2020)
- Anonymous, (2005). *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Ed: A. K. Halkman. Başak Matbaacılık Ltd.Şti., 358, Ankara.
- Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K.-A. G., Tsakalidou, E., Nychas, G.-J. E., Panagou, E. Z., and Tassou, C. C. (2013). Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Food Microbiology*, 33(2), 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.10.005>
- Aslım, B. (1994). *L. bulgaricus ve S. thermophilus Bakterilerinin Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bazı Fiziksel ve Kimyasal Mutajenlerin Etkisi [Doktora Tezi]*. Gazi Üniversitesi.
- Aureli, P., Capurso, L., Castellazzi, A. M., Clerici, M., Giovannini, M., Morelli, L., Poli, A., Pregliasco, F., Salvini, F., and Zuccotti, G. V. (2011). Probiotics and health: An evidence-based review. *Pharmacological Research*, 63(5), 366–376. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.02.006>
- Baran, A. (2015). *Beyaz Peynirde Salamura Konsantrasyonu ve Olgunlaşma Sıcaklığının Staphylococcus aureus'un Gelişimi ve Toksin Üretimine Etkisi [Doktora Tezi]*. Atatürk Üniversitesi.
- Bergamini, C. V., Hynes, E. R., Quiberoni, A., Suárez, V. B., and Zalazar, C. A. (2005). Probiotic bacteria as adjunct starters: Influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. *Food Research International*, 38(5), 597–604. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.11.013>
- Bergamini, C. V., Hynes, E. R., and Zalazar, C. A. (2006). Influence of probiotic bacteria on the proteolysis profile of a semi-hard cheese. *International Dairy Journal*, 16(8), 856–866. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.09.004>
- Bettache, G., Fatma, A., Miloud, H., and Mebrouk, K. (2012). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Dhan, a Traditional Butter and Their Major Technological Traits. *World Applied Sciences Journal*, 17(4), 480–488. <http://s-o-i.org/1.15/ijarbs-2016-3-8-8>

- Biedermann, L., and Rogler, G. (2015). The intestinal microbiota: Its role in health and disease. *European Journal of Pediatrics*, 174(2), 151–167. <https://doi.org/10.1007/s00431-014-2476-2>
- Blanchette, L., Roy, D., Bélanger, G., and Gauthier, S. F. (1996). Production of Cottage Cheese Using Dressing Fermented by Bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 79(1), 8–15. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76327-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76327-0)
- Cai, Y., Pang, H., Kitahara, M., and Ohkuma, M. (2012). *Lactobacillus nasuensis* sp. Nov., a lactic acid bacterium isolated from silage, and emended description of the genus *Lactobacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(Pt_5), 1140–1144. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.031781-0>
- Carr, F. J., Chill, D., and Maida, N. (2002). The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281–370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>
- Casado Muñoz, M. del C., Benomar, N., Lerma, L. L., Gálvez, A., and Abriouel, H. (2014). Antibiotic resistance of *Lactobacillus pentosus* and *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolated from naturally-fermented Aloreña table olives throughout fermentation process. *International Journal of Food Microbiology*, 172, 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.025>
- Ceylan, H. G., Demir, T., ve Kurt, Ş. (2019). *Geleneksel olarak üretilen Adıyaman peynirinin bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi*. Adıyaman Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi (Adyütayam). 7(1), 1-13. <http://hdl.handle.net/20.500.12414/1612>
- Chun, J., and Goodfellow, M. (1995). A Phylogenetic Analysis of the Genus *Nocardia* with 16S rRNA Gene Sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(2), 240–245. <https://doi.org/10.1099/00207713-45-2-240>
- Çitak, S., Yucel, N., and Orhan, S. (2004). Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish white cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(1), 27–31. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00122.x>
- Çon, A. H., and Karasu, N. (2009). Determination of antagonistic starter cultures for pickle and olive fermentation processes. *Czech Journal of Food Sciences*, 27(No. 3), 185–193. <https://doi.org/10.17221/86/2008-CJFS>
- Cui, X., Shi, Y., Gu, S., Yan, X., Chen, H., and Ge, J. (2018). Antibacterial and Antibiofilm Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Artisanal Milk Cheese from Northeast China Against Enteropathogenic Bacteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(4), 601–610. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9364-9>
- Dağdemir, E. (2006). *Salamura beyaz peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve seçilen bazı izolatların kültür olarak kullanılabilme imkanları—Tez Arşivi [Doktora Tezi] Atatürk Üniversitesi .*
- Dagdemir, E., and Ozdemir, S. (2008). Technological characterization of the natural lactic acid bacteria of artisanal Turkish White Pickled cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 61(2), 133–140. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00394.x>
- Dairy Market Review (2020)*. Rome. Food and Agriculture Organization (FAO).
- Darsanaki, R., Aliabadi, M., and Chakoosari, M. (2013). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria: A Review. *Scientific Journal of Microbiology*, 11, 201–206. <https://doi.org/10.14196/sjm.v2i11.1051>
- Demirci, M., ve Gündüz, H.H., (1991). *Süt Teknoloğünün El Kitabı*. Hasad Yayıncılık. Gıda Serisi 1.

- Deveci, F. (2016). *Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Farklı Baharat Türlerinin Olgunlaşmaya Etkilerinin Araştırılması* [Yüksek Lisans Tezi]. Ordu Üniversitesi
- Devlieghere, F., Vermeiren, L., and Debevere, J. (2004). New preservation technologies: Possibilities and limitations. *International Dairy Journal*, 14(4), 273–285. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.07.002>
- Dinkçi, N., Ünal, G., Akalin, A. S., Varol, S., ve Gönç, S. (2015). Kargı Tulum Peynirinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 49(3), 287–287. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.69700>
- Duan, Y., Tan, Z., Wang, Y., Li, Z., Li, Z., Qin, G., Huo, Y., and Cai, Y. (2008). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from Tibetan Qula cheese. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 54(1), 51–60. <https://doi.org/10.2323/jgam.54.51>
- Durlu-Ozkaya, F., Xanthopoulos, V., Tunail, N., and Litopoulou-Tzanetaki, E. (2001). Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. *Journal of Applied Microbiology*, 91(5), 861–870. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01448.x>
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., and Stackebrandt, E. (Eds.). (2006). *Prokaryotes: Vol. The Genera Lactobacillus and Carnobacterium*. Springer. <https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3>
- Ercan, D. (2009). *Quality Characteristics of Traditional Sepet Cheese*. [Master of Science]. The Graduate School of Engineering and Sciences of İzmir Institute of Technology.
- Erginkaya, Z., Yalanca, İ., and Ünal, E. (2019). Antibiotic resistance profile of lactic acid bacteria from traditional meat products. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 25, 834–838. <https://doi.org/10.5505/pajes.2018.34466>
- Ertürkmen, P., ve Öner, Z. (2015). Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Başlatıcı (Starter) Kültür Özelliklerinin Biyokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi. *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19(3). <https://doi.org/10.19113/sdufbed.25545>
- Fortina, M. G., Ricci, G., Foschino, R., Picozzi, C., Dolci, P., Zeppa, G., Cocolin, L., and Manachini, P. L. (2007). Phenotypic typing, technological properties and safety aspects of *Lactococcus garvieae* strains from dairy environments. *Journal of Applied Microbiology*, 103(2), 445–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03265.x>
- Fuller, R. (Ed.). (1992). *Probiotics: The scientific basis*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-2364-8>
- Gaëlle, Q. (2001). *Probiotics*. Flair flow publishing house.
- G-Alegría, E., López, I., Ruiz, J. I., Sáenz, J., Fernández, E., Zarazaga, M., Dizy, M., Torres, C., and Ruiz-Larrea, F. (2004). High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol. *FEMS Microbiology Letters*, 230(1), 53–61. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00854-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00854-1)
- Gardiner, G., Stanton, C., Lynch, P. B., Collins, J. K., Fitzgerald, G., and Ross, R. P. (1999). Evaluation of Cheddar Cheese as a Food Carrier for Delivery of a Probiotic Strain to the Gastrointestinal Tract. *Journal of Dairy Science*, 82(7), 1379–1387. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75363-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75363-4)
- Garrity, G. M., and Holt, J. G. (2001). The Road Map to the Manual. In D. R. Boone, R. W. Castenholz, and G. M. Garrity (Eds.), *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume One: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria* (pp. 119–166). Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6_15

- Gerasi, E., Litopoulou-Tzanetaki, E., and Tzanetakis, N. (2003). Microbiological study of Manura, a hard cheese made from raw ovine milk in the Greek island Sifnos. *International Journal of Dairy Technology*, 56(2), 117–122. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2003.00085.x>
- Ghahremani, E., Mardani, M., and Rezapour, S. (2015). Phenotypic and Genotypic Characterization of Lactic Acid Bacteria from Traditional Cheese in Khorramabad City of Iran with Probiotic Potential. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175(5), 2516–2527. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1434-9>
- Gim, M. (2015). *Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Swedish Foods* [Independent thesis Basic level, Örebro University]. <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:oru:diva-45774>
- Gölge, Ö., ve Şahan, N. (2008). *Geleneksel Yöntemle Üretilen Kelle Peynirlerinin Bazı Kalite Özellikleri*. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Gomes, A. M. P., Malcata, F. X., Klaver, F. a. M., and Grande, H. J. (1995). Incorporation and survival of *Bifidobacterium sp. Strain Bo* and *Lactobacillus acidophilus strain Ki* in a cheese product. <https://repositorio.ucp.pt/handle/10400.14/6641>
- Gomes, A. M. P., Vieira, M. M., and Malcata, F. X. (1998). Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: Simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. *Journal of Food Engineering*, 36(3), 281–301. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(98\)00062-4](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(98)00062-4)
- Gürsoy, O., ve Kinik, Ö. (2006). Peynir Teknolojisinde Enterokoklar –II: Koruyucu ve Probiyotik Kültür Olarak Kullanımları. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 43(3), 91–100. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/zfdergi/69507>
- Güven, M., and Karaca, O. B. (2001). Proteolysis levels of white cheeses salted and ripened in brines prepared from various salts. *International Journal of Dairy Technology*, 54(1), 29–33. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2001.00003.x>
- Hajikhani, R., Beyatli, Y., and Aslim, B. (2007). Antimicrobial activity of enterococci strains isolated from white cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 60(2), 105–108. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2007.00304.x>
- Hammes, W. P., and Vogel, R. F. (1995). The genus *Lactobacillus*. In B. J. B. Wood & W. H. Holzapfel (Eds.), *The Genera of Lactic Acid Bacteria* (pp. 19–54). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0_3
- Hayaloglu, A., and Karabulut, I. (2013). Primary and Secondary Proteolysis in Eleven Turkish Cheese Varieties. *International Journal of Food Properties*, 16. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.604890>
- Hejazi, M. A., Ghafouri-Fard, S., Eslami, S., Afshar, D., Barzegari, A., and Khorshidian, N. (2019). Polyphasic characterization of Enterococcus strains isolated from traditional Moghan cheese in Iran. *Journal of Food Safety*, 39(3), e12631. <https://doi.org/10.1111/jfs.12631>
- Heller, K. J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: Product characteristics and starter organisms. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 374s–379s. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.374s>
- Holzapfel, W., and Wood, B. (Eds.). (2014). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. Wiley-Blackwell.
- Huang, Y., and Adams, M. C. (2004). In vitro assessment of the upper gastrointestinal tolerance of potential probiotic dairy propionibacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 91(3), 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.07.001>

- İspirli, H., Demirbaş, F., and Dertli, E. (2017). Characterization of functional properties of *Enterococcus* spp. Isolated from Turkish white cheese. *LWT*, 75, 358–365. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.010>
- Kailasapathy, K., and Chin, J. (2000). Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunology & Cell Biology*, 78(1), 80–88. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2000.00886.x>
- Kamada, M., Seo, S., Chen, G., and Núñez, G. (2013). Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, 13(5), 321–335. <https://doi.org/10.1038/nri3430>
- Kamber, U. (2007). The Traditional Cheeses of Turkey: Cheeses Common to All Regions. *Food Reviews International*, 24(1), 1–38. <https://doi.org/10.1080/87559120701-761833>
- Kamber, U. (2015). Traditional Turkey Cheeses and Their Classification. *Van Veterinary Journal*, 26(3), 161–171. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/vanvetj/251045>
- Kanak, E. K., and Yilmaz, S. Ö. (2019). Maldi-tof mass spectrometry for the identification and detection of antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from local cheeses. *Food Science and Technology*, 39(suppl 2), 462–469. <https://doi.org/10.1590/fst.19418>
- Karagöl, M. A. (2017). *Koyun ve İnek Sütlerinden Üretilen Karın Kaymağı Peynirinin Olgunlaştırılmasıyla Meydana Gelen Değişikliklerin Araştırılması* [Yüksek Lisans Tezi]. Ordu Üniversitesi.
- Karasu, N. (2006). *Turşu ve Zeytinden Antagonistik ve Probiyotik Özellikte Laktik Starter Kültür Eldesi* [Yüksek Lisans Tezi]. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kasımoğlu, A., Göncüoğlu, M., and Akgün, S. (2004). Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. *International Dairy Journal*, 14(12), 1067–1073. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.04.006>
- Kavas, G., Oysun, G., Kinik, O., and Uysal, H. (2004). Effect of some fat replacers on chemical, physical and sensory attributes of low-fat white pickled cheese. *Food Chemistry*, 88(3), 381–388. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.054>
- Kim, O.-S., Cho, Y.-J., Lee, K., Yoon, S.-H., Kim, M., Na, H., Park, S.-C., Jeon, Y. S., Lee, J.-H., Yi, H., Won, S., and Chun, J. (2012). Introducing EzTaxon-e: A prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(Pt_3), 716–721. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.038075-0>
- Kim, W. S., Perl, L., Park, J. H., Tandianus, J. E., and Dunn, N. W. (2001). Assessment of Stress Response of the Probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Current Microbiology*, 43(5), 346–350. <https://doi.org/10.1007/s002840010314>
- Kılıç, G. B., Kuleaşan, H., Eralp, İ., and Karahan, A. G. (2009). Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. *LWT - Food Science and Technology*, 42(5), 1003–1008. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.12.015>
- Kırmacı, H. A., Özer, B. H., Akçelik, M., and Akçelîk, N. (2016). Identification and characterisation of lactic acid bacteria isolated from traditional Urfa cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 69(2), 301–307. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12260>
- Klingberg, T. D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D., and Budde, B. B. (2005). Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented

- sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 419–431. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.020>
- Kołożyn-Krajewska, D., and Dolatowski, Z. J. (2012). Probiotic meat products and human nutrition. *Process Biochemistry*, 47(12), 1761–1772. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.09.017>
- Küttik, A. (2015). *Probiyotik Olarak Kullanilabilecek Bifidobakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması* [Yüksek Lisans Tezi]. Firat Üniversitesi.
- Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, 115–175. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10004891521/>
- Li, J., Zhang, W., Wang, C., Yu, Q., Dai, R., and Pei, X. (2012). Lactococcus lactis expressing food-grade β -galactosidase alleviates lactose intolerance symptoms in post-weaning Balb/c mice. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(6), 1499–1506. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-3977-4>
- Lönnér, C., Welander, T., Molin, N., Dostálek, M., and Blickstad, E. (1986). The microflora in a sour dough started spontaneously on typical Swedish rye meal. *Food Microbiology*, 3(1), 3–12. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(86\)80019-3](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(86)80019-3)
- Macfarlane, G. T., and Cummings, J. H. (2002). Probiotics, infection and immunity. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 15(5), 501–506.
- Marino, M., Maifreni, M., and Rondinini, G. (2003). Microbiological characterization of artisanal Montasio cheese: Analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 229(1), 133–140. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00816-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00816-4)
- Masui, k, and Yamada, T. (2000). *French Cheeses*. Dorling Kindersley Book.
- Mathur, S., and Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 281–295. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008>
- Monteagudo-Mera, A., Rodríguez-Aparicio, L., Rúa, J., Martínez-Blanco, H., Navasa, N., García-Armesto, M. R., and Ferrero, M. Á. (2012). In vitro evaluation of physiological probiotic properties of different lactic acid bacteria strains of dairy and human origin. *Journal of Functional Foods*, 4(2), 531–541. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.02.014>
- Morales, F., Morales, J. I., Hernández, C. H., and Hernández-Sánchez, H. (2011). Isolation and Partial Characterization of Halotolerant Lactic Acid Bacteria from Two Mexican Cheeses. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(6), 889–905. <https://doi.org/10.1007/s12010-011-9182-6>
- Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto, C., Lombardi, A., and Lodi, R. (2006). Technological and molecular characterisation of enterococci isolated from north–west Italian dairy products. *International Dairy Journal*, 16(8), 867–875. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.09.005>
- Oladipo, I. C., Sanni, A., Chakraborty W., Chakravorty W., Jana S., Rudra D. S., Gacchui R., and Swarnakar S. (2015). Technological properties of strains of Enterococcus gallinarum isolated from selected Nigerian traditional fermented foods. *Malaysian Journal of Microbiology*. 1(1):1-13. <https://doi.org/10.21161/mjm.64014>
- Oliveira, M. N., Sodini, I., Remeuf, R., Tissier, J. P., and Corrieu, G. (2002). Manufacture of Fermented Lactic Beverages Containing Probiotic Cultures. *Journal of Food Science*, 67(6), 2336–2341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09550.x>
- Öner, Z., and Sarıdağ, A. M. (2019). Keçi Sütünden Üretilmiş Beyaz Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Meydana Gelen Değişimler. *The Journal of Food*, 44(3), 523–533. <https://doi.org/10.15237/gida.GD19048>

- Özdemir, R., and Tuncer, Y. (2020). Detection of antibiotic resistance profiles and aminoglycoside-modifying enzyme (AME) genes in high-level aminoglycoside-resistant (HLAR) enterococci isolated from raw milk and traditional cheeses in Turkey. *Molecular Biology Reports*, 47(3), 1703–1712. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05262-4>
- Özel, S. (2012). *Tarhana Hamuru Fermentasyonunun Mikrobiyal Taksonomik Yapısı ve Populasyon Dinamiğinin Belirlenmesi* [Yüksek Lisans Tezi]. Pamukkale Üniversitesi.
- Özlu, H. (2015). *Beyaz Peynirin Uçucu Flavor Bileşikleri Üzerine, Starter Kültür ve Olgunlaştırmanın Etkisi* [Doktora Tezi]. Atatürk Üniversitesi.
- Özlu, H., and Atasever, M. (2019). Bacteriocinogenic bacteria isolated from Civil, Kashar and White cheeses in Erzurum, Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 66(2), 147–153. <https://doi.org/10.33988/auvfd.547483>
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00292-9](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00292-9)
- Phillips, M., Kailasapathy, K., and Tran, L. (2006). Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 108(2), 276–280. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.12.009>
- Piumatti, G., Rubino, R., and Sardo, P. (Eds.). (2006). *Italian cheese*. Slow food Internat.
- Plessas, S., Nouska, C., Karapetsas, A., Kazakos, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Chondrou, P., Fournomiti, M., Galanis, A., and Bezirtzoglou, E. (2017). Isolation, characterization and evaluation of the probiotic potential of a novel *Lactobacillus* strain isolated from Feta-type cheese. *Food Chemistry*, 226, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.052>
- Prodromou, K., Thasitou, P., Haritonidou, E., Tzanetakis, N., and Litopoulou-Tzanetaki, E. (2001). Microbiology of “Orinotyri”, a ewe’s milk cheese from the Greek mountains. *Food Microbiology*, 18(3), 319–328. <https://doi.org/10.1006/fmic.2001-.0403>
- Quinto, E., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., and Girbés, T. (2014). Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food and Nutrition Sciences*, 5(8), 1765–1775. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.518190>
- Rahman, Md. M., Aktar, S., Faruk, M. O., Uddin, M. S., Ferdouse, J., and Anwar, Md. N. (2018). Probiotic Potentiality of *Lactobacillus coryniformis* subsp. *Torquens* MTi1 and *Lactobacillus coryniformis* MTi2 Isolated from Intestine of Nile Tilapia: An In vitro Evaluation. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(3), 1037–1045. <https://doi.org/10.22207/JPAM.12.3.01>
- Rivera-Espinoza, Y., and Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Romero-Gil, V., Bautista-Gallego, J., Rodríguez-Gómez, F., García-García, P., Jiménez-Díaz, R., Garrido-Fernández, A., and Arroyo-López, F. N. (2013). Evaluating the individual effects of temperature and salt on table olive related microorganisms. *Food Microbiology*, 33(2), 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.015>
- Sancak, H., İşleyici, Ö., Tuncay, R., ve Sancak, Y. (2018). Geleneksel Olarak Üretilen Bitlis Tulum Peyniri ve Kimyasal Kalite Nitelikleri. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 380–389. <https://doi.org/10.17798/bitlisfen.430442>
- Sánchez, I., Palop, L., and Ballesteros, C. (2000). Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of ‘Almagro’ eggplants.

International Journal of Food Microbiology, 59(1), 9–17.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00256-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00256-7)

- Saxami, G., Ypsilantis, P., Sidira, M., Simopoulos, C., Kourkoutas, Y., and Galanis, A. (2012). Distinct adhesion of probiotic strain *Lactobacillus casei* ATCC 393 to rat intestinal mucosa. *Anaerobe*, 18(4), 417–420. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.04.002>
- Schillinger, U., and Lücke, F.-K. (1987). Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiology*, 4(3), 199–208. [https://doi.org/10.1016/0740-0020\(87\)90002-5](https://doi.org/10.1016/0740-0020(87)90002-5)
- Şengül, M. (2006). Microbiological characterization of Civil cheese, a traditional Turkish cheese: Microbiological quality, isolation and identification of its indigenous Lactobacilli. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(6), 613–618. <https://doi.org/10.1007/s11274-005-9079-z>
- Serio, A., Chaves-López, C., Paparella, A., and Suzzi, G. (2010). Evaluation of metabolic activities of enterococci isolated from Pecorino Abruzzese cheese. *International Dairy Journal*, 20(7), 459–464. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.02.005>
- Şimşek, B. (1995). *Ankara Piyasasında Satılan Beyaz Peynirlerin Proteoliz Düzeyi Üzerinde Bir Araştırma* [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara Üniversitesi.
- Şimşek, Ö. (2003). *Usak ve Yöresi Ekşi Hamurlarından İzole Edilen Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi* [Yüksek Lisans Tezi]. Pamukkale Üniversitesi.
- Şimşek, Ö., Çon, A. H., and Tulumoğlu, Ş. (2006). Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control*, 17(4), 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.011>
- Smith, B. A., and Baird-Parker, A. C. (1964). The Use of Sulphamezathine for Inhibiting *Proteus* Spp. On Baird-Parker's Isolation Medium for *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Bacteriology*, 27(1), 78–82. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1964.tb04814.x>
- Spencer, J. F. T., & Ragout de Spencer, A. L. (Eds.). (2001). *Food Microbiology Protocols*. Hu-mana Press. <https://doi.org/10.1385/1592590292>
- Stadhouders, J., Hassing, F., and Van Aalst Van Maren, N. (1976). A pour-plate Method for the Detection and Enumeration of Coagulase-positive *Staphylococcus Aureus* in the Baird-Parker Medium Without Egg Yolk. *Milk Dairy Journal*, 30, 222–229. <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCA-L7750428966>
- Strompfová, V., and Lauková, A. (2007). In vitro study on bacteriocin production of Enterococci associated with chickens. *Anaerobe*, 13(5), 228–237. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.07.002>
- Tagg, J. R., and McGiven, A. R. (1971). Assay System for Bacteriocins. *Applied Microbiology*, 21(5), 943. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC377313/>
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., and Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10), 2731–2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- Tan, K., and Ertekin, Ö. (2017). Yerli İneklerden Elde Edilen Sütlerden Üretilen Kefirin pH ve Laktik Asit Bakteri Değerleri. *Bilim ve Gençlik Dergisi*, 5(2), 5.

- Tassou, C. C., Panagou, E. Z., and Katsaboxakis, K. Z. (2002). Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. *Food Microbiology*, 19(6), 605–615.
- TGK. (2015). *Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği 2015/6*. Resmî Gazete. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/02/20150208-16.htm>
- Thapa, N., Pal, J., and Tamang, J. P. (2004). Microbial Diversity in Ngari, Hentak and Tungtap, Fermented Fish Products of North-East India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(6), 599–607. <https://doi.org/10.1023/B:WIBI.0000043171.91027.7e>
- Tohno, M., Kobayashi, H., Nomura, M., Uegaki, R., and Cai, Y. (2012). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from mixed pasture of timothy and orchardgrass, and its badly preserved silage. *Animal Science Journal*, 83(4), 318–330. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2011.00955.x>
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., and Özçelik, F. (2015). In Vitro Properties of Potential Probiotic Indigenous Lactic Acid Bacteria Originating from Traditional Pickles. *BioMed Research International*, 2015(8), 1-8. <https://doi.org/10.1155/2015/315819>
- Tosun, İ. (2009). *Beyaz Peynirin Uçucu Flavor Bileşikleri Üzerine, Starter Kültür ve Olgunlaştırmanın Etkisi* [Yüksek Lisans Tezi]. Uludağ Üniversitesi.
- Tuncer, Y. (2009). Some technological properties of phenotypically identified enterococci strains isolated from Turkish tulum cheese. *African Journal of Biotechnology*, 8(24), Article 24. <https://doi.org/10.4314/ajb.v8i24.68788>
- Työppönen, S., Petäjä, E., and Mattila-Sandholm, T. (2003). Bioprotectives and probiotics for dry sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 83(3), 233–244. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00379-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00379-3)
- Ünsal, A. Ç. (1997). *When Milk Slept “Turkish Cheeses.”* Bank of Yapı Kredi Publications.
- Uraz, T., ve Şimşek, B. (1998). Ankara Piyasasında Satılan Beyaz Peynirlerin Proteoliz Düzeylerinin Belirlenmesi. *Gıda*, 23(5), 1-5. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/91-948>
- Urhan, G. (2012). *Ankara’da Çeşitli Kaynaklardan Satın Alınan Beyaz Peynirlerin Mikrobiyolojik Kalite Kontrolü Üzerinde Araştırmalar* [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara Üniversitesi.
- Vancanneyt, M., Naser, S. M., Engelbeen, K., De Wachter, M., Van der Meulen, R., Cleenwerck, I., Hoste, B., De Vuyst, L., and Swings, J. (2006). Reclassification of *Lactobacillus brevis* strains LMG 11949 and LMG 11984 as *Lactobacillus parabrevis* sp. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(7), 1553–1557. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64215-0>
- Vernile, A., Giammanco, G., Spano, G., Beresford, T. P., Fox, P. F., and Massa, S. (2008). Genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional Pecorino Siciliano cheese. *Dairy Science and Technology*, 88(6), 619–629. <https://doi.org/10.1051/dst:2008009>
- Vinderola, C. G., Mocchiutti, P., and Reinheimer, J. A. (2002). Interactions Among Lactic Acid Starter and Probiotic Bacteria Used for Fermented Dairy Products. *Journal of Dairy Science*, 85(4), 721–729. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74129-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74129-5)
- Vinderola, C. G., and Reinheimer, J. A. (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: A comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36(9), 895–904. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00098-X)

- Vuyst, L. D., Schrijvers, V., Paramithiotis, S., Hoste, B., Vancanneyt, M., Swings, J., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., and Messens, W. (2002). The Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Greek Traditional Wheat Sourdoughs Is Reflected in Both Composition and Metabolite Formation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12), 6059–6069. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6059-6069.2002>
- Wang, H. K., Dong, C., Chen, Y. F., Cui, L. M., and Zhang, H. P. (2010). A New Probiotic Cheddar Cheese with High ACE-Inhibitory Activity and γ -Aminobutyric Acid Content Produced with Koumiss-Derived *Lactobacillus casei* Zhang. *Food Technology and Biotechnology*, 48(1), 62–70. DOI: 10.1128/AEM.68.12.6059-6069.2002
- Wood, B. J. B., & Holzapfel, W. H. (Eds.). (1995). *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Springer.
- Yaygın, H., ve Kılıç, S. (1993). *Süt endüstrisinde saf kültür*. Altındağ Matbaacılık.
- Yerlikaya, O. (2018). Ege Bölgesi'nde Üretilen ve Tüketime Sunulan Beyaz Peynirlerin Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 73(1), 141–150. <https://doi.org/10.20289/-zfergi.412173>
- Yerlikaya, O., and Akbulut, N. (2020). 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. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12645>
- Yıldız, F. (2003). *Ankara Piyasasında Satılan Urfa Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kimyasal ve Duyusal Niteliklerinin Saptanması* [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara ÜniversiteDeveci,.
- Yoon, K. Y., Woodams, E. E., and Hang, Y. D. (2006). Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 97(12), 1427–1430. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.06.018>
- Yüksekdağ, Z. N., ve Beyatlı, Y. (2003). *Kefir Mikroflorası ile Laktik Asit Bakterilerinin Metabolik, Antimikrobiyal ve Genetik Özellikleri*. 49–69, 21. <https://docplayer.biz.tr/1449980-Kefir-mikroflorasi-ile-laktik-asit-bakterilerinin-metabolik-antimikrobiyal-ve-genetik-ozellikleri-1.html>
- Zoumpopoulou, G., Papadimitriou, K., Alexandraki, V., Mavrogonatou, E., Alexopoulou, K., Anastasiou, R., Georgalaki, M., Kletsas, D., Tsakalidou, E., and Giaouris, E. (2020). The microbiota of Kalathaki and Melichloro Greek artisanal cheeses comprises functional lactic acid bacteria. *LWT*, 130(2020), 2-8. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109570>

EKLER

EK.1. Peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin agar spot ile antimikrobiyal aktivite test sonuçları

| İzolat No | İnhibisyon zonu (mm) | | İzolat No | İnhibisyon zonu (mm) | |
|-----------|----------------------|------------------|-----------|----------------------|------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>B. cereus</i> | | <i>E. coli</i> | <i>B. cereus</i> |
| S011 | 19,80 | 0,00 | S107 | 12,70 | 24,90 |
| S0112 | 7,80 | 0,00 | S108 | 17,50 | 31,00 |
| S012 | 14,30 | 0,00 | S1082 | 14,90 | 33,60 |
| S0122 | 16,60 | 0,00 | S111 | 21,30 | 21,30 |
| S013 | 14,00 | 17,30 | S112 | 23,80 | 23,80 |
| S0132 | 22,90 | 27,60 | S113 | 17,40 | 17,40 |
| S014 | 17,60 | 26,30 | S114 | 19,30 | 19,30 |
| S0142 | 13,00 | 30,90 | S115 | 24,80 | 24,80 |
| S015 | 11,80 | 25,10 | S116 | 22,20 | 22,20 |
| S016 | 17,30 | 33,30 | S117 | 20,30 | 20,30 |
| S017 | 11,40 | 25,60 | S118 | 25,80 | 25,80 |
| S018 | 18,50 | 31,10 | S119 | 25,00 | 25,00 |
| S031 | 0,00 | 43,40 | S1110 | 19,60 | 19,60 |
| S0312 | 28,00 | 31,20 | S1111 | 23,00 | 23,00 |
| S032 | 0,00 | 38,30 | S1112 | 22,30 | 22,30 |
| S0322 | 20,10 | 42,50 | S1113 | 23,10 | 23,10 |
| S033 | 24,70 | 27,50 | S1114 | 24,70 | 24,70 |
| S0332 | 33,20 | 36,10 | S1115 | 21,80 | 21,80 |
| S0333 | 32,50 | 34,80 | S1116 | 22,20 | 22,20 |
| S034 | 30,00 | 18,80 | S1117 | 20,60 | 20,60 |
| S0342 | 40,50 | 35,40 | S1118 | 14,20 | 14,20 |
| S035 | 36,50 | 35,00 | S1119 | 26,20 | 26,20 |
| S0352 | 28,50 | 29,50 | S1120 | 29,30 | 29,30 |
| S051 | 23,80 | 14,90 | S1121 | 23,10 | 23,10 |
| S052 | 27,00 | 33,70 | S1122 | 27,30 | 27,30 |
| S053 | 30,40 | 32,40 | S131 | 21,70 | 21,70 |
| S054 | 30,60 | 27,30 | S132 | 26,00 | 26,00 |
| S055 | 25,50 | 20,90 | S133 | 23,10 | 23,10 |
| S056 | 43,90 | 27,60 | S134 | 21,50 | 21,50 |
| S057 | 41,90 | 29,00 | S135 | 23,80 | 23,80 |
| S0572 | 43,90 | 29,50 | S136 | 21,10 | 21,10 |
| S058 | 37,30 | 40,00 | S137 | 20,30 | 20,30 |
| S0582 | 31,10 | 28,30 | S138 | 25,00 | 25,00 |
| S059 | 21,70 | 27,60 | S139 | 26,50 | 26,50 |
| S0592 | 18,60 | 30,50 | S141 | 23,10 | 23,10 |
| S0510 | 23,80 | 30,50 | S142 | 22,90 | 22,90 |
| S0511 | 31,00 | 29,00 | S143 | 23,90 | 23,90 |
| S05112 | 31,10 | 17,80 | S144 | 22,70 | 22,70 |
| S061 | 16,00 | 27,10 | S145 | 17,60 | 17,60 |
| S062 | 27,20 | 32,20 | S146 | 20,40 | 20,40 |
| S063 | 16,70 | 35,40 | S147 | 18,30 | 18,30 |
| S064 | 21,00 | 30,40 | S148 | 27,20 | 27,20 |
| S065 | 29,40 | 41,40 | S149 | 26,00 | 26,00 |
| S066 | 20,50 | 40,50 | S151 | 18,90 | 18,90 |
| S067 | 14,40 | 24,60 | S152 | 17,60 | 17,60 |
| S068 | 14,30 | 24,50 | S161 | 36,30 | 36,30 |
| S069 | 14,90 | 34,60 | S162 | 36,90 | 36,90 |
| S0610 | 16,90 | 30,70 | S163 | 34,80 | 34,80 |
| S0611 | 14,80 | 23,80 | S164 | 37,90 | 37,90 |
| S0612 | 10,20 | 21,30 | S165 | 42,40 | 42,50 |
| S0613 | 27,90 | 26,60 | S166 | 35,10 | 35,10 |
| S06132 | 32,50 | 39,50 | S167 | 35,50 | 35,50 |
| S0614 | 28,20 | 22,10 | S168 | 40,70 | 40,70 |
| S06142 | 25,60 | 27,80 | S169 | 34,90 | 34,90 |

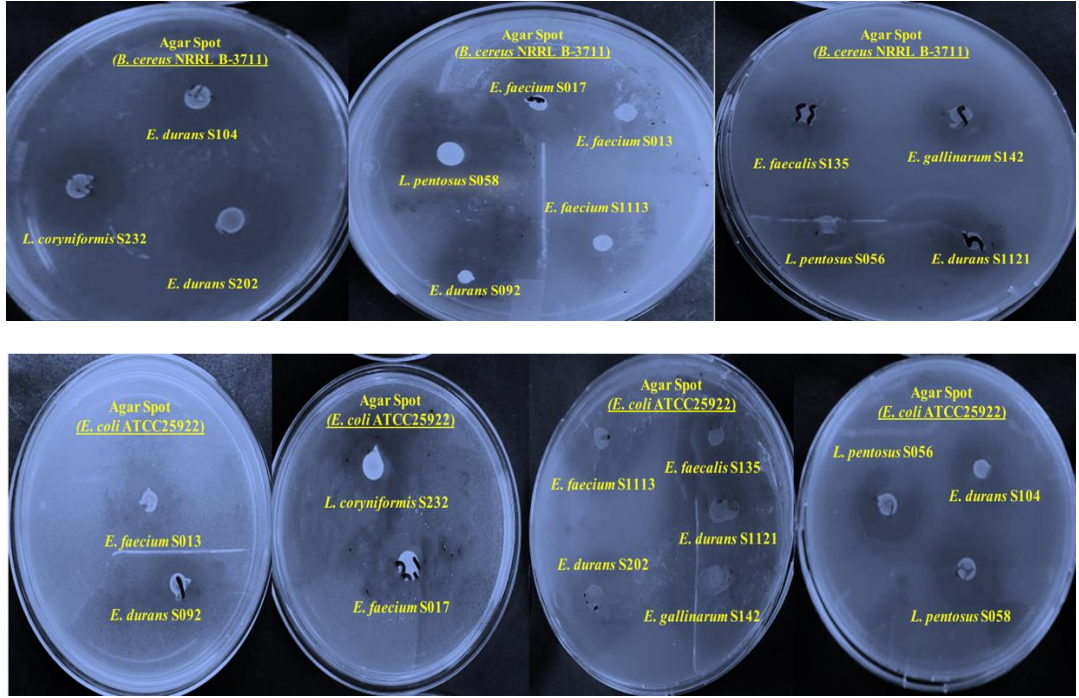
| | | | | | |
|--------|-------|-------|------|-------|-------|
| S0615 | 28,30 | 41,50 | S171 | 33,40 | 33,40 |
| S06152 | 31,20 | 44,10 | S172 | 26,40 | 26,40 |
| S071 | 30,30 | 37,70 | S173 | 27,70 | 27,70 |
| S072 | 18,30 | 25,40 | S174 | 15,80 | 15,80 |
| S081 | 20,10 | 17,90 | S181 | 41,40 | 41,40 |
| S0812 | 18,70 | 16,80 | S182 | 44,40 | 44,40 |
| S082 | 12,30 | 25,60 | S183 | 45,20 | 45,20 |
| S0822 | 20,30 | 28,50 | S184 | 36,40 | 36,40 |
| S083 | 27,90 | 25,20 | S185 | 44,00 | 44,00 |
| S0832 | 30,00 | 24,60 | S191 | 43,30 | 43,30 |
| S091 | 8,90 | 21,20 | S192 | 46,60 | 46,60 |
| S0912 | 16,30 | 19,80 | S193 | 35,30 | 35,30 |
| S092 | 12,90 | 25,30 | S194 | 41,10 | 41,10 |
| S093 | 0,00 | 26,70 | S195 | 42,50 | 42,50 |
| S094 | 15,90 | 31,20 | S196 | 40,10 | 40,10 |
| S095 | 14,70 | 28,50 | S197 | 40,50 | 40,50 |
| S0952 | 18,60 | 36,70 | S198 | 40,30 | 40,30 |
| S096 | 17,60 | 29,80 | S199 | 43,30 | 43,30 |
| S0962 | 13,30 | 24,20 | S201 | 15,00 | 30,00 |
| S101 | 14,80 | 31,10 | S202 | 20,00 | 38,00 |
| S1012 | 12,60 | 28,90 | S203 | 6,00 | 36,00 |
| S102 | 13,80 | 33,20 | S204 | 2,00 | 37,00 |
| S103 | 18,30 | 27,80 | S221 | 26,00 | 38,00 |
| S104 | 12,90 | 27,50 | S222 | 19,00 | 24,00 |
| S105 | 21,20 | 35,70 | S231 | 17,00 | 23,00 |
| S1052 | 13,90 | 33,80 | S232 | 26,00 | 30,00 |
| S106 | 11,80 | 19,30 | S251 | 22,00 | 16,00 |

EK.2. Peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin kuyu difüzyon ile antimikrobiyal aktivite test sonuçları

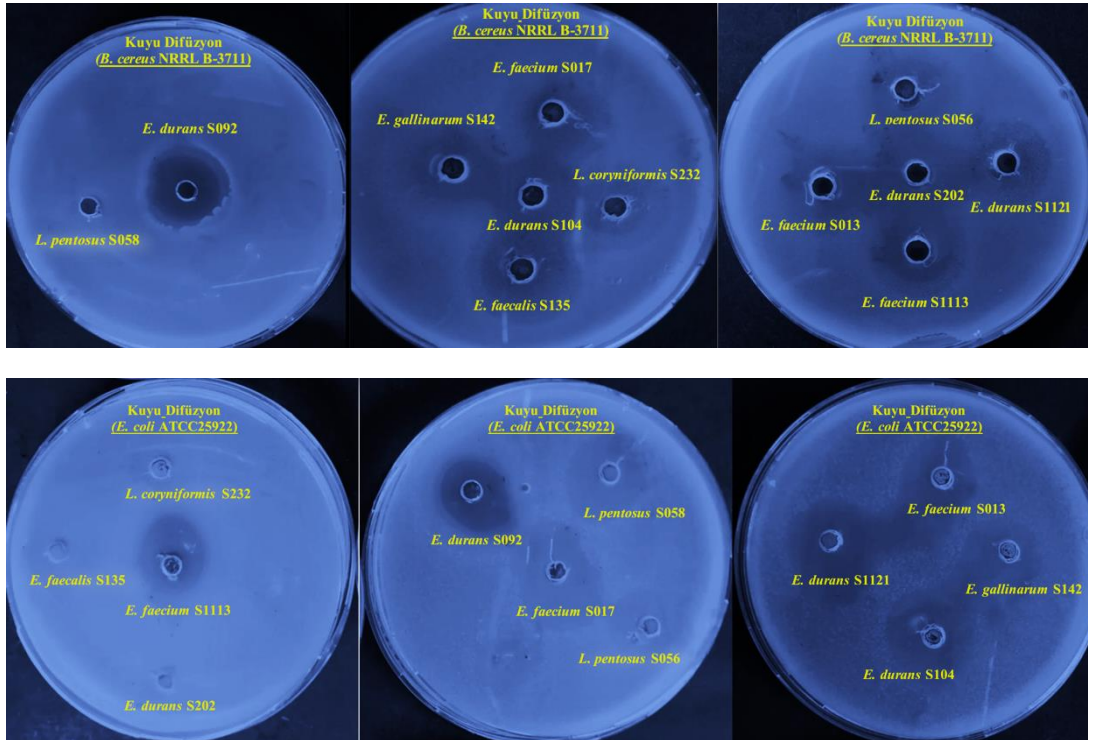
| İzolat No | İnhibisyon zonu (mm) | | İzolat No | İnhibisyon zonu (mm) | |
|-----------|----------------------|------------------|-----------|----------------------|------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>B. cerues</i> | | <i>E. coli</i> | <i>B. cerues</i> |
| S011 | 5,00 | 0,00 | S107 | 18,00 | 0,00 |
| S0112 | 4,00 | 0,00 | S108 | 12,00 | 0,00 |
| S012 | 5,00 | 0,00 | S1082 | 0,00 | 0,00 |
| S0122 | 4,00 | 0,00 | S111 | 0,00 | 18,00 |
| S013 | 10,00 | 5,00 | S112 | 0,00 | 14,00 |
| S0132 | 4,00 | 0,00 | S113 | 0,00 | 15,00 |
| S014 | 5,00 | 5,00 | S114 | 0,00 | 18,00 |
| S0142 | 2,00 | 0,00 | S115 | 0,00 | 20,00 |
| S015 | 10,00 | 5,00 | S116 | 0,00 | 20,00 |
| S016 | 4,00 | 0,00 | S117 | 0,00 | 18,00 |
| S017 | 15,00 | 10,00 | S118 | 0,00 | 20,00 |
| S018 | 5,00 | 0,00 | S119 | 0,00 | 15,00 |
| S031 | 0,00 | 0,00 | S1110 | 0,00 | 20,00 |
| S0312 | 0,00 | 0,00 | S1111 | 18,00 | 16,00 |
| S032 | 0,00 | 0,00 | S1112 | 11,00 | 14,00 |
| S0322 | 0,00 | 0,00 | S1113 | 18,00 | 22,00 |
| S033 | 0,00 | 0,00 | S1114 | 15,00 | 15,00 |
| S0332 | 15,00 | 0,00 | S1115 | 19,00 | 15,00 |
| S0333 | 10,00 | 0,00 | S1116 | 15,00 | 15,00 |
| S034 | 9,00 | 0,00 | S1117 | 16,00 | 15,00 |
| S0342 | 15,00 | 0,00 | S1118 | 15,00 | 14,00 |
| S035 | 0,00 | 0,00 | S1119 | 15,00 | 14,00 |
| S0352 | 0,00 | 0,00 | S1120 | 16,00 | 20,00 |
| S051 | 0,00 | 0,00 | S1121 | 21,00 | 15,00 |
| S052 | 0,00 | 0,00 | S1122 | 19,00 | 12,00 |
| S053 | 0,00 | 0,00 | S131 | 0,00 | 22,00 |

| | | | | | |
|--------|-------|-------|------|-------|-------|
| S054 | 0,00 | 0,00 | S132 | 0,00 | 20,00 |
| S055 | 0,00 | 0,00 | S133 | 0,00 | 20,00 |
| S056 | 9,00 | 9,00 | S134 | 0,00 | 20,00 |
| S057 | 3,00 | 0,00 | S135 | 0,00 | 25,00 |
| S0572 | 4,00 | 0,00 | S136 | 0,00 | 17,00 |
| S058 | 10,00 | 0,00 | S137 | 0,00 | 19,00 |
| S0582 | 0,00 | 0,00 | S138 | 0,00 | 18,00 |
| S059 | 2,00 | 0,00 | S139 | 0,00 | 18,00 |
| S0592 | 3,00 | 0,00 | S141 | 0,00 | 17,00 |
| S0510 | 0,00 | 0,00 | S142 | 12,00 | 13,00 |
| S0511 | 0,00 | 0,00 | S143 | 0,00 | 16,00 |
| S05112 | 0,00 | 0,00 | S144 | 0,00 | 20,00 |
| S061 | 0,00 | 0,00 | S145 | 0,00 | 21,00 |
| S062 | 0,00 | 0,00 | S146 | 0,00 | 20,00 |
| S063 | 0,00 | 0,00 | S147 | 0,00 | 20,00 |
| S064 | 0,00 | 0,00 | S148 | 0,00 | 25,00 |
| S065 | 0,00 | 0,00 | S149 | 0,00 | 20,00 |
| S066 | 0,00 | 0,00 | S151 | 0,00 | 0,00 |
| S067 | 0,00 | 0,00 | S152 | 0,00 | 0,00 |
| S068 | 0,00 | 0,00 | S161 | 0,00 | 0,00 |
| S069 | 0,00 | 0,00 | S162 | 0,00 | 0,00 |
| S0610 | 0,00 | 0,00 | S163 | 0,00 | 0,00 |
| S0611 | 0,00 | 0,00 | S164 | 0,00 | 0,00 |
| S0612 | 0,00 | 0,00 | S165 | 0,00 | 0,00 |
| S0613 | 0,00 | 0,00 | S166 | 0,00 | 0,00 |
| S06132 | 0,00 | 0,00 | S167 | 0,00 | 0,00 |
| S0614 | 0,00 | 0,00 | S168 | 0,00 | 0,00 |
| S06142 | 0,00 | 0,00 | S169 | 0,00 | 0,00 |
| S0615 | 0,00 | 0,00 | S171 | 0,00 | 0,00 |
| S06152 | 0,00 | 0,00 | S172 | 0,00 | 0,00 |
| S071 | 0,00 | 0,00 | S173 | 0,00 | 0,00 |
| S072 | 0,00 | 0,00 | S174 | 0,00 | 0,00 |
| S081 | 17,00 | 0,00 | S181 | 0,00 | 0,00 |
| S0812 | 17,00 | 0,00 | S182 | 0,00 | 0,00 |
| S082 | 19,00 | 0,00 | S183 | 0,00 | 0,00 |
| S0822 | 22,00 | 0,00 | S184 | 0,00 | 0,00 |
| S083 | 21,00 | 0,00 | S185 | 0,00 | 0,00 |
| S0832 | 24,00 | 0,00 | S191 | 0,00 | 0,00 |
| S091 | 0,00 | 0,00 | S192 | 0,00 | 0,00 |
| S0912 | 0,00 | 0,00 | S193 | 0,00 | 0,00 |
| S092 | 19,00 | 22,00 | S194 | 0,00 | 0,00 |
| S093 | 0,00 | 0,00 | S195 | 0,00 | 0,00 |
| S094 | 0,00 | 0,00 | S196 | 0,00 | 0,00 |
| S095 | 0,00 | 0,00 | S197 | 0,00 | 0,00 |
| S0952 | 0,00 | 0,00 | S198 | 0,00 | 0,00 |
| S096 | 9,00 | 0,00 | S199 | 0,00 | 0,00 |
| S0962 | 0,00 | 0,00 | S201 | 0,00 | 16,00 |
| S101 | 22,00 | 0,00 | S202 | 0,00 | 21,00 |
| S1012 | 20,00 | 0,00 | S203 | 0,00 | 19,00 |
| S102 | 16,00 | 0,00 | S204 | 0,00 | 0,00 |
| S103 | 20,00 | 0,00 | S221 | 0,00 | 0,00 |
| S104 | 16,00 | 17,00 | S222 | 0,00 | 0,00 |
| S105 | 11,00 | 0,00 | S231 | 0,00 | 0,00 |
| S1052 | 12,00 | 0,00 | S232 | 0,00 | 6,00 |
| S106 | 15,00 | 0,00 | S251 | 0,00 | 0,00 |

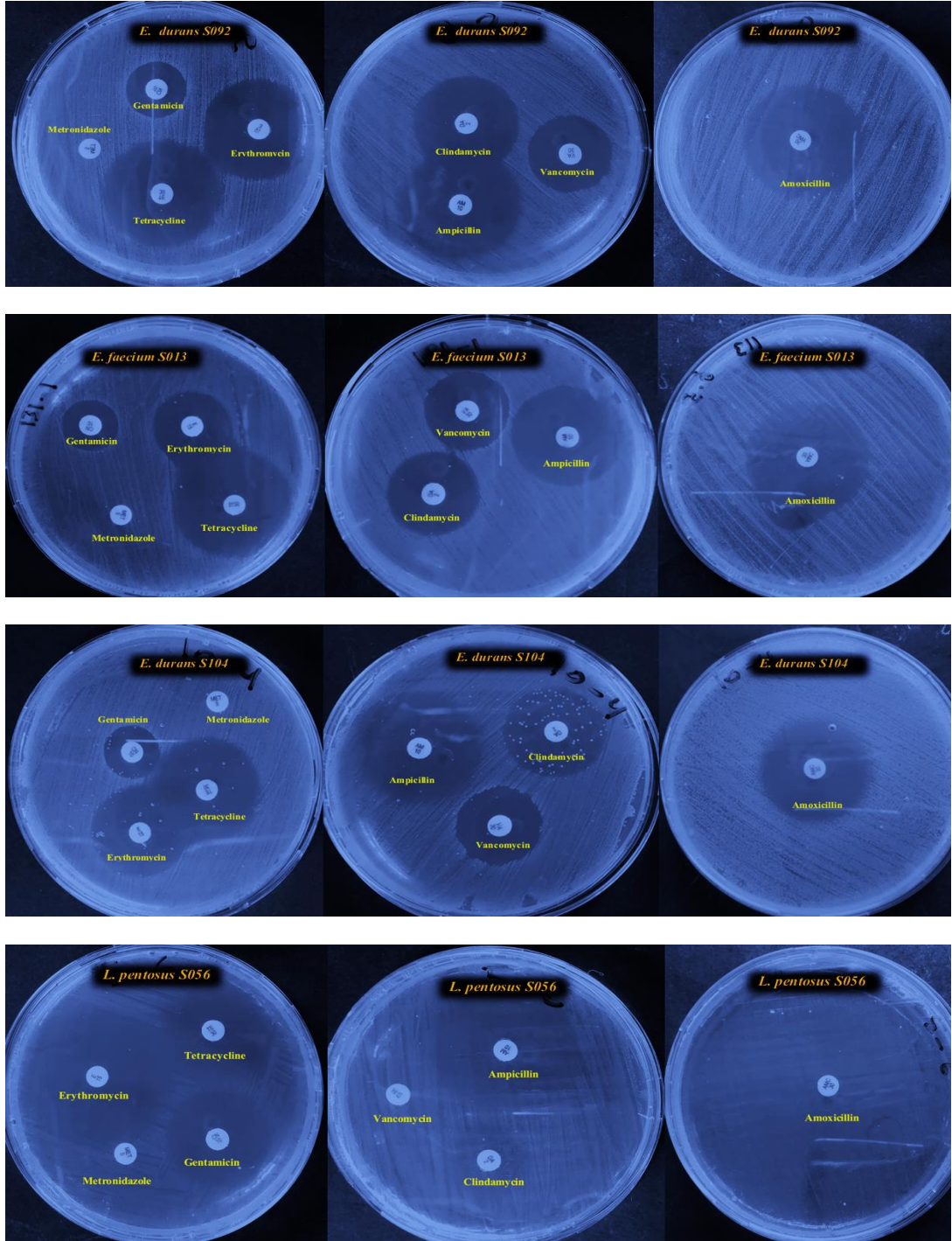
EK.3. Peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin agar spot testi ile antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesine ait örnek fotoğraflar

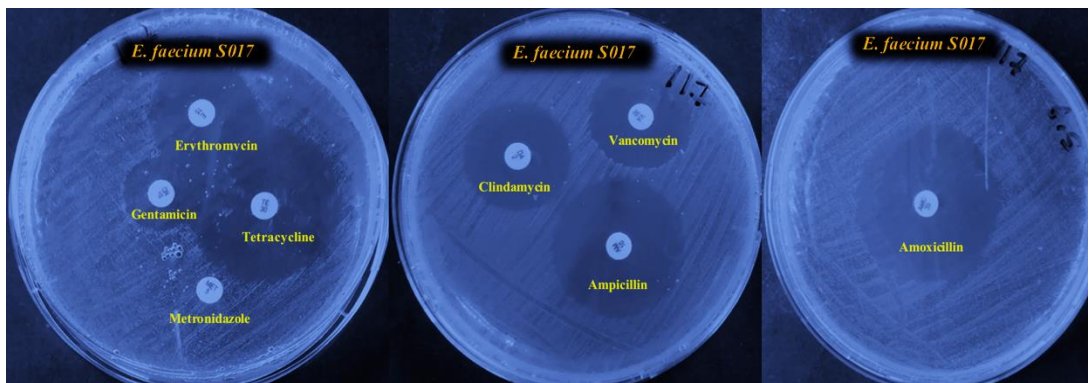
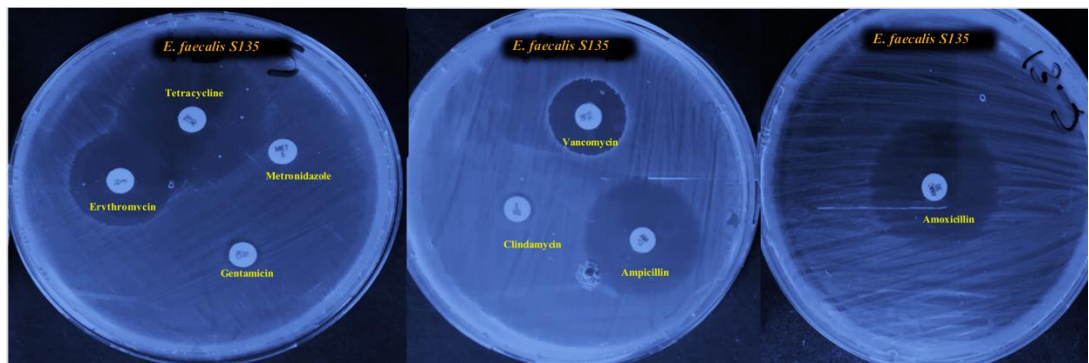
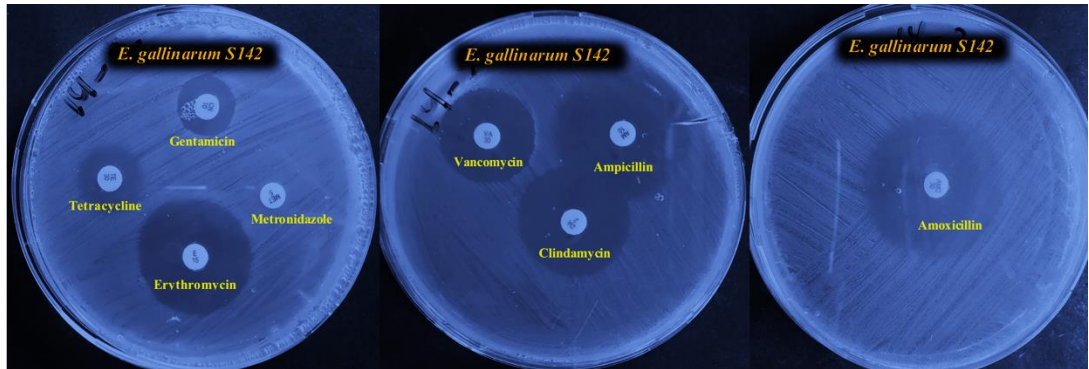
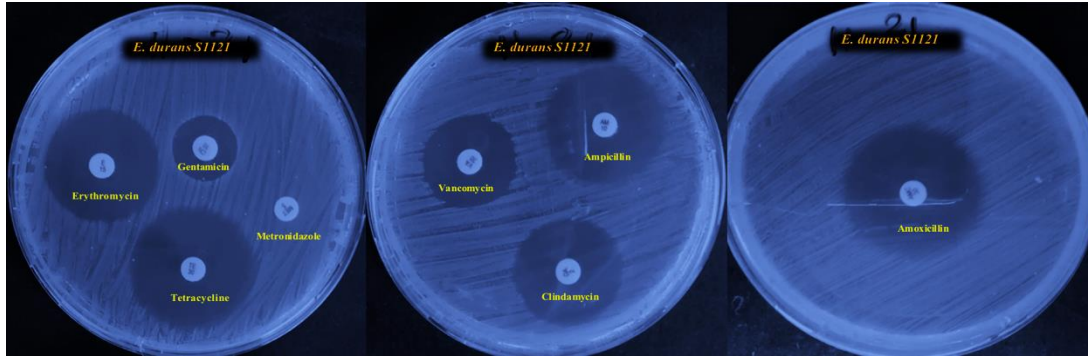


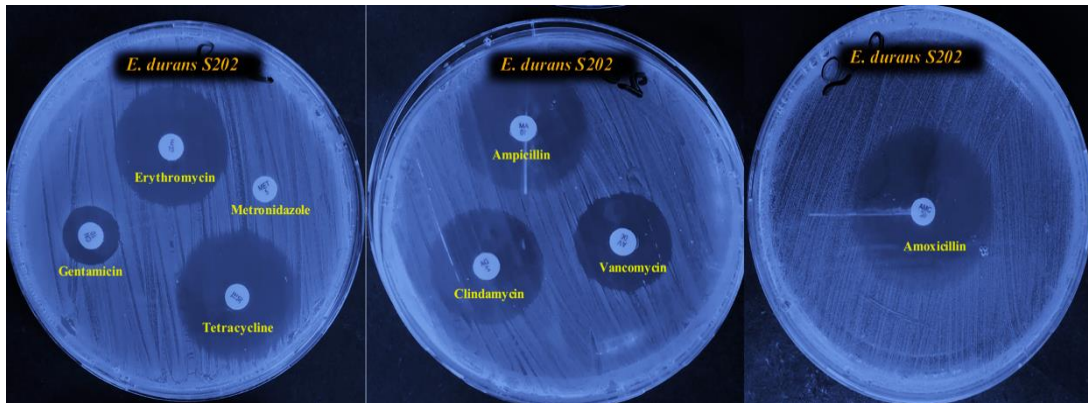
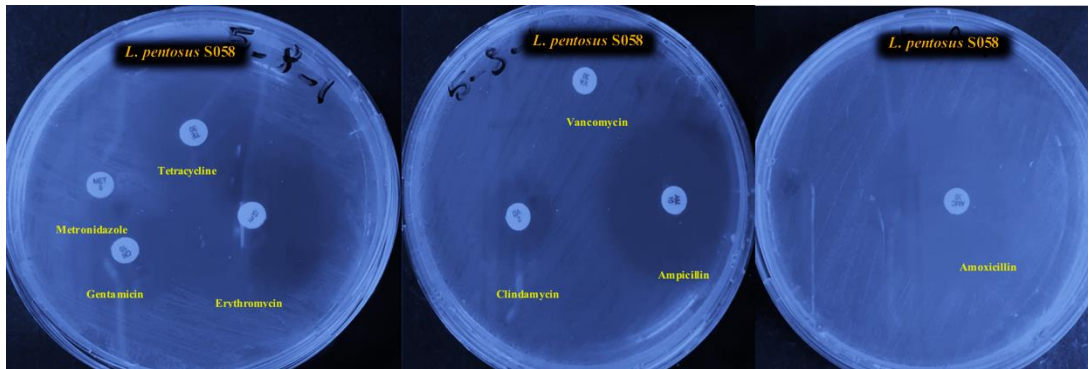
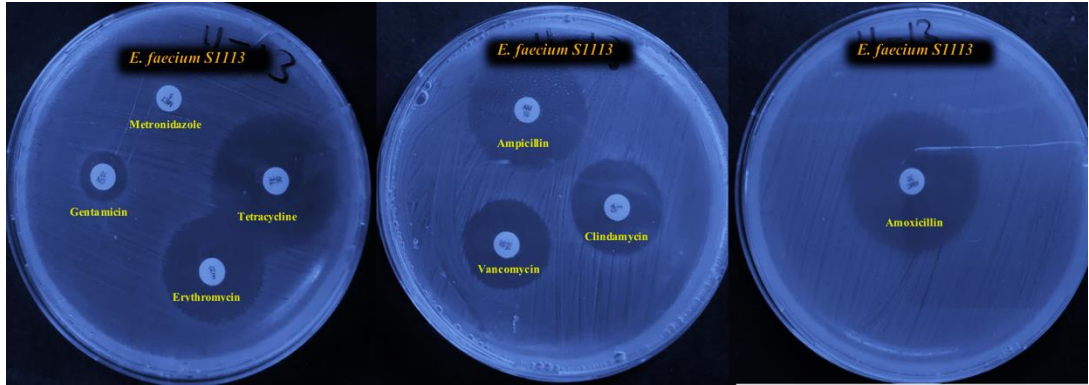
EK.4. Peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin kuyu difüzyon ile antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesine ait örnek fotoğraflar



EK.5. Peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik hassasiyet test sonuçlarına ait örnek fotoğraflar







ÖZ GEÇMİŞ

Sarhan MOHAMMED, 12.12.1990 tarihinde Yemende doğdu. Yemen AL-nasr Lisesi'ni bitirdikten sonra JUST Üniversitesi Ziraat Fakültesinden 2016 yılında mezun oldu. 2017 yılında OMÜ Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans programını girdi. İyi derecede İngilizce bilmektedir.

İletişim Bilgileri

E mail : 17211155@stu.omu.edu.tr

Telefon :05374086642

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2450-7191>.

Yayınlanmış Çalışmalar:

1. **Mohammed, S.**, Çon A.H. Marine-derived Poly-oligosaccharides as Prebiotics. ICELIS 2019 - 2nd International Congress on Engineering and Life Science, 11-14 April 2019, Kastamonu/Turkey, p. 99-104, (2019).
2. **Mohammed, S.**, Çon A.H. Efficacy and Safety Considerations of Pre-probiotics. ICELIS 2019 - 2nd International Congress on Engineering and Life Science, 11-14 April 2019, Kastamonu/Turkey, p. 99-104, (2019).
3. **Mohammed S.**, Özdemir N., Çon A.H. Possible Effect of Nutrition on Covid-19 or Other Viral Infections. The International Agriculture, Biology and Life Sciences Conference, 1-3 September 2020, Edirne/Turkey, p. 433 (E-AGBIOL 2020)
4. Özdemir, N., Enkhtur, B., Aydın, A., **Mohammed, S.**, Çon, A.H. Technological and Functional Features of Some Lactobacillus sp. and Lactococcus sp. Strains. The International Agriculture, Biology and Life Sciences Conference, 1-3 September 2020, Edirne/Turkey, p. 432 (E-AGBIOL 2020)

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar:

1. Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı, Türkiye Bursları
2. Yüksek Öğretim Bakanlığı Bursu, Yemen Bursları
3. Başarı sertifikası, Ürdün Bilim ve Teknoloji Üniversitesi
4. Deneyim sertifikası, Yemen Bilim ve Teknoloji Üniversitesi