



**T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**MUŞ TULUM PEYNİRİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE PEYNİRİN
BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

FATİH RENÇBER

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

**Şanlıurfa
2025**



**T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**MUŞ TULUM PEYNİRİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE PEYNİRİN
BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

FATİH RENÇBER

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. AHMET FERİT ATASOY
Tez 2./Eş Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi HARUN ÖNLÜ**

**Şanlıurfa
2025**

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca akademik bilgi ve tecrübesiyle bana rehberlik eden, doktora tezimin her aşamasında büyük katkısı ve özverili emeği olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet Ferit ATASOY'a çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında bana her türlü maddi ve manevi destek sağlayan, analizlerde bilgi ve emeğini esirgemeyen ikinci danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Harun ÖNLÜ'ye çok teşekkür ederim.

Serbest yağ asitleri ve uçucu bileşen analizlerinin yapılmasında emeği geçen Sayın Doç. Dr. Filiz YILDIZ AKGÜL'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmama maddi destek sağlayan Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü Birimi'ne (Proje No: 23067) teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde her türlü desteği sunan aileme ve özellikle en büyük destekçim olan sevgili babam Fesih RENÇBER'e minnettarım. Bu zorlu süreçte yeteri kadar zaman ayıramadığım, büyük fedakarlık ve sabır göstererek bana destek olan kıymetli eşim Bahar'a ve canım oğlum Bahadır'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

Fatih RENÇBER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER.....	v
KISALTMALAR.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
2.1. Laktik Asit Bakterileri.....	6
2.1.1. Genel özellikler.....	6
2.1.2. <i>Lactobacillus</i> cinsi bakteriler.....	7
2.1.3. <i>Lactococcus</i> cinsi bakteriler.....	9
2.1.4. <i>Enterococcus</i> cinsi bakteriler.....	10
2.1.5. <i>Streptococcus</i> cinsi bakteriler.....	11
2.1.6. <i>Leuconostoc</i> cinsi bakteriler.....	12
2.1.7. <i>Pediococcus</i> cinsi bakteriler.....	13
2.1.8. <i>Weissella</i> cinsi bakteriler.....	14
2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Teknolojik Özellikleri.....	15
2.2.1. Asit oluşturma kapasitesi (glikoliz).....	15
2.2.2. Antimikrobiyal madde üretimi.....	15
2.2.2.1. Organik asitler.....	16
2.2.2.2. Bakteriyosinler.....	16
2.2.2.3. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂).....	18
2.2.2.4. Diasetil.....	18
2.2.2.5. Reuterin.....	19
2.2.2.6. Etanol.....	19
2.2.2.7. Karbondioksit (CO ₂).....	19
2.2.2.8. Antibiyotik.....	20
2.2.3. Ekzopolisakkarit (EPS) üretimi.....	20
2.2.4. Proteolitik aktivite.....	21
2.2.5. Lipolitik aktivite.....	22
2.2.6. Tat-aroma bileşikleri üretimi.....	23
2.3. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve Tanımlama Yöntemleri.....	24
2.3.1. Fenotipik yöntemler.....	24
2.3.2. Genotipik yöntemler.....	25
2.3.2.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR).....	26
2.3.2.2. Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA-polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PCR)...	27
2.3.2.3. DNA sekans analizi.....	28
2.4. Peynirde Moleküler Karakterizasyonla İlgili Yapılan Çalışmalar.....	29
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	44
3.1. Gereç.....	44
3.1.1. Kullanılan besiyerleri, kimyasallar ve standartlar.....	44
3.2. Yöntem.....	46
3.2.1. Peynirlerin depolanması ve örnek alımı.....	46
3.2.2. Laktik asit bakterilerinin izolasyonu.....	46
3.2.3. Laktik asit bakteri suşlarının identifikasyonu.....	47
3.2.3.1. Gram reaksiyonu.....	47

3.2.3.2. Morfolojik İnceleme.....	47
3.2.3.3. Katalaz reaksiyonu	47
3.2.3.4. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişebilme	47
3.2.3.5. Farklı sıcaklıklarda gelişebilme	47
3.2.3.6. Glikozdan CO ₂ üretme	48
3.2.4. Suşların 16S rDNA sekans analizi ile moleküler olarak sınıflandırılması	48
3.2.4.1. Genomik DNA izolasyonu	48
3.2.4.2. RAPD-PCR ile genotipik karakterizasyon	49
3.2.4.3. 16S rDNA dizi analizi	49
3.2.4.4. PCR örneklerinin agaroz jelde yürütülmesi	50
3.2.5. İzolatların teknolojik karakterizasyonu	51
3.2.5.1. İzolatların asidifikasyon kapasitesi	51
3.2.5.2. İzolatların proteolitik aktivitesi	52
3.2.5.3. İzolatların bakteriyosin aktivitesi	52
3.2.6. Muş Tulum peynirinde yapılan fizikokimyasal analizler	53
3.2.6.1. Kurumadde tayini.....	53
3.2.6.2. Yağ ve kurumaddede yağ tayini.....	54
3.2.6.3. Tuz ve kurumaddede tuz tayini	54
3.2.6.4. Titrasyon asitliği tayini	55
3.2.6.5. pH tayini.....	55
3.2.7. Muş Tulum peynir örneklerinin serbest yağ asidi içeriğinin belirlenmesi	56
3.2.8. Muş Tulum peyniri örneklerinin uçucu bileşen analizi	57
3.2.9. İstatistiksel analiz	58
4. BULGULAR	59
4.1. Muş Tulum Peynirlerinde Olgunlaşma Sürecinde LAB Sayısındaki Değişiklikler	59
4.1.1. MRS agarda gelişen LAB sayıları.....	60
4.1.2. M17 agarda gelişen LAB sayıları	61
4.1.3. SB agarda gelişen LAB sayıları	62
4.2. Muş Tulum Peynirinden İzole Edilen LAB'nin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri	63
4.2.1. Gram reaksiyonu, katalaz testi ve morfolojik özellikler	63
4.3. LAB Suşlarının Moleküler Karakterizasyonu.....	66
4.4. Tanımlanan LAB Suşlarının Teknolojik Özellikleri	73
4.4.1. Suşların farklı sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında gelişebilme durumu	73
4.4.2. Suşların glikozdan CO ₂ üretebilme durumu	74
4.4.3. Suşların asitlendirme kapasitesi	74
4.4.4. Suşların proteolitik aktivite düzeyleri	78
4.4.5. Suşların bakteriyosin aktivitesi	80
4.5. Muş Tulum Peyniri Örneklerine Ait Bazı Fizikokimyasal Özellikler.....	83
4.5.1. Kurumadde oranı	84
4.5.2. Yağ oranı.....	85
4.5.3. Kurumaddede yağ oranı	86
4.5.4. Tuz oranı	87
4.5.5. Kurumaddede tuz oranı	88
4.5.6. Titrasyon asitliği değeri	90
4.5.7. pH değeri.....	91
4.6. Muş Tulum Peyniri Örneklerine Ait Serbest Yağ Asidi Dağılımı	92
4.7. Muş Tulum Peyniri Örneklerinde Belirlenen Uçucu Bileşikler	101
4.7.1. Asitler.....	103
4.7.2. Esterler	106
4.7.3. Alkoller	110
4.7.4. Hidrokarbonlar	112

4.7.5. Aldehitler	115
4.7.6. Ketonlar	116
4.7.7. Terpenler	117
4.7.8. Laktonlar	119
4.7.9. Diğer bileşenler	120
5. TARTIŞMA	124
5.1. Mikrobiyolojik Analizler	124
5.2 Moleküler Karakterizasyon	126
5.3 Teknolojik Özellikler	130
5.4 Fizikokimyasal Özellikler	135
5.5 Serbest Yağ Asidi Dağılımı	141
5.6 Uçucu Bileşikler	145
6. SONUÇLAR	151
7. ÖNERİLER	155
KAYNAKLAR	156



ÖZET

DOKTORA TEZİ

MUŞ TULUM PEYNİRİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU VE PEYNİRİN BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

FATİH RENÇBER

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışman: Prof. Dr. AHMET FERİT ATASOY

Tez 2./Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi HARUN ÖNLÜ

Yıl:2025, Sayfa: 178

Bu çalışmada, çiğ koyun sütünden üretilen geleneksel Muş Tulum peynirinde depolama döneminde (1., 45. ve 90. günler) biyokimyasal, fenotipik ve genotipik yöntemler aracılığı ile hakim laktik asit bakterilerinin (LAB) suş düzeyinde karakterizasyonu yapılmış ve tanımlanan suşların bazı teknolojik özellikleri ve peynirinin fizikokimyasal, serbest yağ asidi (SYA) ve uçucu bileşen profili araştırılmıştır. Bu gerekçe ile Muş ilinin farklı coğrafi bölgelerinde geleneksel Muş Tulum peynirinin üretildiği 5 farklı süt işletmesinden (A, B, C, D ve E) peynir örneği alınmıştır. Alınan peynir örnekleri işletme şartlarında peynir ustaları tarafından plastik bidonlara (0.5 kg) basılmış ve $2\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de kontrollü bir şekilde olgunlaştırılmıştır. 16S rDNA gen dizi analizi sonucunda sekanslanan 65 izolatın 50'sinin *Enterococcus* spp., 10'unun *Lactiplantibacillus* spp., 4'ünün *Lactococcus* spp. ve 1'inin *Pediococcus* spp. olduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince *Enterococcus* spp.'nin peynirde baskın flora olduğu ardından *Lactiplantibacillus* spp.'nin geldiği belirlenmiştir. Genetik karakterizasyon sonucunda *Enterococcus* spp. izolatlarının 43'ü *Enterococcus faecium*, 4'ü *Enterococcus faecalis* ve 3'ü *Enterococcus durans*; *Lactiplantibacillus* spp. izolatlarının 9'u *Lactiplantibacillus plantarum*, 1'i *Lactiplantibacillus pentosus*; *Lactococcus* spp. izolatlarının 2'si *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, 1'i *Lactococcus lactis*, 1'i *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* ve 1 *Pediococcus* spp. izolatı ise *Pediococcus pentosaceus* olarak tanımlanmıştır. Asidifikasyon testleri sonucunda, *Lactococcus* suşlarının tamamı ile *E. faecium* FFH2 ve *Lb. plantarum* FFH59 suşlarının yüksek asitleştirme kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, *E. faecalis* (FFH46 ve FFH14), *L. lactis* subsp. *lactis* FFH51 ve *E. faecium* FFH16 suşları yüksek (2,0593-2,2452 FFA mmol/L) proteolitik aktivite sergilemiştir. Antimikrobiyal aktivite gösteren ve potansiyel bakteriyosin üreticisi olarak tanımlanan 2 *Enterococcus* suşu (*E. faecium* FFH12 ve *E. faecium* FFH77) tespit edilmiştir. İşletme tipi ve depolama süresinin peynirdeki LAB sayısı, fizikokimyasal özellikler, serbest yağ asidi içeriği ve uçucu bileşik profili üzerinde önemli etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. İncelenen Muş Tulum peynirlerinde en fazla bulunan kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitleri bütirik asit (C4), miristik asit (C14) ve oleik asit (C18:1) olarak saptanmıştır. Depolama sonunda peynir örneklerinde 20 asit, 20 ester, 7 hidrokarbon, 6 alkol, 2 aldehit, 1 keton, 2 terpen, 1 lakton ve 17 diğer bileşik olmak üzere toplam 76 uçucu bileşik tanımlanmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: Muş Tulum peyniri, Laktik asit bakterileri, 16S rDNA, Teknolojik özellikler, Starter kültür

ABSTRACT

DOCTORATE THESIS

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM MUŞ TULUM CHEESE AND DETERMINATION OF SOME QUALITY CHARACTERISTICS OF CHEESE

FATİH RENÇBER

HARRAN UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
FOOD ENGINEERING

Thesis Supervisor: Prof. Dr. AHMET FERİT ATASOY
Thesis 2nd. Supervisor: Assist. Prof. Dr. Harun ÖNLÜ
Year: 2025, Page:178

In this study, the dominant lactic acid bacteria (LAB) were characterised at strain level by biochemical, phenotypic and genotypic methods in traditional Muş tulum cheese produced from raw sheep milk during storage (days 1, 45 and 90) and some technological properties of the identified strains and physicochemical, free fatty acid (FFA) and volatile component profile of the cheese were investigated. For this purpose, were taken from 5 different dairies (A, B, C, D and E) where traditional Mus Tulum cheese is produced in different geographical regions of Mus province. The cheese samples were pressed into plastic drums (0.5 kg) by cheesemakers and left to ripened under controlled conditions at $2\pm1^{\circ}\text{C}$. 16S rDNA gene sequence analysis revealed that 50 of the 65 isolates sequenced were *Enterococcus* spp., 10 were *Lactiplantibacillus* spp., 4 were *Lactococcus* spp. and 1 was *Pediococcus* spp. It was determined that *Enterococcus* spp. was the dominant flora in the cheese during ripening, followed by *Lactiplantibacillus* spp. As a result of genetic characterization, 40 *Enterococcus* spp. isolates were *Enterococcus faecium*, 4 of *Enterococcus faecalis* and 3 of *Enterococcus durans*; 9 of *Lactiplantibacillus* spp. isolates were *Lactiplantibacillus plantarum* and 1 of *Lactiplantibacillus pentosus*; 2 of *Lactococcus* spp. 2 isolates were identified as *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, 1 as *Lactococcus lactis*, 1 as *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* and 1 isolate of *Pediococcus* spp. was identified as *Pediococcus pentosaceus*. As a result of acidification tests, it was observed that all *Lactococcus* strains, *E. faecium* FFH2 and *Lb. plantarum* FFH59 strains had high acidification capacity. Furthermore, *E. faecalis* (FFH46 and FFH14), *L. lactis* subsp. *lactis* FFH51 and *E. faecium* FFH16 strains exhibited high proteolytic activity (2.0593-2.2452 FFA mmol/L). Two *Enterococcus* strains (*E. faecium* FFH12 and *E. faecium* FFH77) showing antimicrobial activity and identified as potential bacteriocin producers were identified. It was determined that establishment type and storage time had significant effects on LAB count, physicochemical properties, free fatty acid content and volatile compound profile. The most abundant short, medium and long chain fatty acids in Mus Tulum cheeses were butyric acid (C4), myristic acid (C14) and oleic acid (C18:1). At the end of storage, a total of 76 volatile compounds including 20 acids, 20 esters, 7 hydrocarbons, 6 alcohols, 2 aldehydes, 1 ketones, 2 terpenes, 1 lactone and 17 other compounds were identified.

KEY WORDS: Muş Tulum cheese, Lactic acid bacteria, 16S rDNA, technological characterization, starter culture

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3. 1. Muş Tulum peyniri üretimi akım şeması	45
Şekil 3. 2. GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder.....	51
Şekil 4. 1. Muş Tulum peyniri örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayılarının depolama süresince değişimi.....	60
Şekil 4. 2. Muş Tulum peyniri örneklerinin M17 agarda gelişen LAB sayılarının depolama süresince değişimi.....	61
Şekil 4. 3. Muş Tulum peyniri örneklerinin SB agarda gelişen LAB sayılarının depolama süresince değişimi.....	62
Şekil 4. 4. Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilen LAB'nin morfolojik görüntüsü	64
Şekil 4. 5. Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilen 65 izolatın PCR bant profili	69
Şekil 4. 6. <i>E. faecium</i> türlerinin <i>L. lactis</i> 'e karşı antimikrobiyal aktivitesi	82
Şekil 4. 7. Muş Tulum peynirlerinde kurumadde oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi ..	85
Şekil 4. 8. Muş Tulum peynirlerinde yağ oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi	86
Şekil 4. 9. Muş Tulum peynirlerinde kurumaddede yağ oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi.....	87
Şekil 4. 10. Muş Tulum peynirlerinde tuz oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi.....	88
Şekil 4. 11. Muş Tulum peynirlerinde kurumaddede tuz oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi.....	89
Şekil 4. 12. Muş Tulum peynirlerinde titrasyon asitliği değerlerinin depolama periyodu boyunca değişimi.....	90
Şekil 4. 13. Muş Tulum peynirlerinde pH değerlerinin depolama periyodu boyunca değişimi	92
Şekil 4. 14. Depolama periyodunca örneklere ait toplam FFA değerlerinin değişimi.....	98
Şekil 4. 15. Depolama periyodunca örneklere ait SFA değerlerinin değişimi.....	99
Şekil 4. 16. Depolama periyodunca örneklere ait PUFA değerlerinin değişimi.....	100
Şekil 4. 17. Depolama periyodunca örneklere ait UNSFA değerlerinin değişimi.....	101
Şekil 4. 18. Depolama boyunca toplam asit miktarlarında gözlenen değişimler.....	106
Şekil 4. 19. Depolama boyunca toplam ester miktarlarında gözlenen değişimler.....	110
Şekil 4. 20. Depolama boyunca toplam alkol miktarlarında gözlenen değişimler	112
Şekil 4. 21. Depolama boyunca toplam hidrokarbon miktarlarında gözlenen değişimler	113
Şekil 4. 22. Depolama boyunca toplam aldehit miktarlarında gözlenen değişimler	116
Şekil 4. 23. Depolama boyunca toplam keton miktarlarında gözlenen değişimler	117
Şekil 4. 24. Depolama boyunca toplam terpen miktarlarında gözlenen değişimler	118
Şekil 4. 25. Depolama boyunca toplam lakton miktarlarında gözlenen değişimler	120
Şekil 4. 26. Depolama boyunca toplam diğer bileşen miktarlarında gözlenen değişimler.	123

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2. 1. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bazı bakteriyosinler, antimikrobiyal etki spektrumları ve gıda uygulamaları	17
Çizelge 4. 1. Muş Tulum peynirinde depolama periyodu boyunca kok ve basil LAB (<i>Lacobacillus</i> sp., <i>Lactococcus</i> sp. ve <i>Enterococcus</i> sp.) sayıları değişimi (log kob/g)	59
Çizelge 4. 2. Muş Tulum peynirinin LAB değerlerine ait varyans analiz sonuçları	59
Çizelge 4. 3. Muş Tulum peynirinden izole edilen LAB'nin morfoloji, gram boyama ve katalaz test sonuçları	65
Çizelge 4. 4. 16S r DNA dizi analizi sonucunda bakteri gruplarının alt türlere göre sınıflandırılması ve benzerlik dereceleri	71
Çizelge 4. 5. Muş Tulum peynirinden izole edilen LAB'nin bazı fenotipik ve biyokimyasal özellikleri	73
Çizelge 4. 6. İzole edilen LAB'nin yağsız UHT sütte 3, 6, 9 ve 24 saatlik inkübasyon süresince ölçülen pH değerleri	75
Çizelge 4. 7. İzole edilen LAB'nin yağsız UHT sütte 3, 6, 9 ve 24 saatlik inkübasyon süresince hesaplanan laktik asit miktarları (% L.A.)	77
Çizelge 4. 8. Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilen LAB'nin proteolitik aktivite düzeyleri (mmol/L)	79
Çizelge 4. 9. Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilip tanımlanan LAB'nin <i>Lactococcus lactis</i> SIK1403'e karşı gösterdikleri inhibisyon aktiviteleri (zon çapı)	81
Çizelge 4. 10. Muş Tulum peynirlerinin depolama süresince fizikokimyasal özellikleri	83
Çizelge 4. 11. Muş Tulum peynirlerinin fizikokimyasal özelliklerine ait varyans analiz sonuçları	84
Çizelge 4. 13. Muş Tulum peyniri örneklerinin toplam yağ asitlerine ait varyans analiz sonuçları	92
Çizelge 4. 12. Muş Tulum peyniri örneklerine ait serbest yağ asidi içeriği (mg/kg)	93
Çizelge 4. 14. Muş Tulum peyniri örneklerinin toplam uçucu bileşenlerine ait varyans analiz sonuçlar	102
Çizelge 4. 15. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen asitler (mg/kg)	104
Çizelge 4. 16. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen esterler (mg/kg)	108
Çizelge 4. 17. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen alkoller (mg/kg)	111
Çizelge 4. 18. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen hidrokarbonlar (mg/kg)	114
Çizelge 4. 19. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen aldehitler (mg/kg)	115
Çizelge 4. 20. Muş Tulum peynirleri örneklerinde depolama süresince belirlenen ketonlar (mg/kg)	116
Çizelge 4. 21. Muş Tulum peynirleri örneklerinde depolama süresince belirlenen terpenler (mg/kg)	117
Çizelge 4. 22. Muş Tulum peynirleri örneklerinde depolama süresince belirlenen laktonlar (mg/kg)	119
Çizelge 4. 23. Muş Tulum peynirleri örneklerinde depolama süresince belirlenen diğer bileşenler (mg/kg)	121

SİMGELER

%	:	Yüzde
g	:	Gram
L	:	Litre
M	:	Molar
N	:	Normal
°C	:	Santigrat derece



KISALTMALAR

BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
Bp	: Baz çifti
Cit ⁺	: Sitrat pozitif
dk.	: Dakika
FFA	: Serbest yağ asidi
SFA	: Doymuş yağ asidi
UNSF	: Doymamış yağ asidi
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asidi
kb	: Kilobaz çifti
kg	: Kilogram
kob	: Koloni oluşturan birim
<i>L.</i>	: <i>Lactococcus</i>
<i>Lb.</i>	: <i>Lactobacillus</i>
<i>Leuc.</i>	: <i>Leuconostoc</i>
log	: Logaritma
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimol
mm	: Milimetre
µL	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
nm	: Nanometre
<i>P.</i>	: <i>Pediococcus</i>
ppm	: Milyonda bir birim
psi	: Pounds per square inch
rpm	: Revolutions per minute
<i>Str.</i>	: <i>Streptococcus</i>
UV	: Ultraviyole

1. GİRİŞ

Peynir, tüm değerli süt bileşenlerini (süt yağı, proteinler, mineraller ve yağda çözünen vitaminler) içeren yüksek biyolojik değere sahip ve dünya genelinde 2000’den fazla farklı çeşidinin olduğu bilinen süt ürünüdür (Montel ve ark., 2014). Türkiye’de ise farklı süt türü, üretim teknikleri, olgunlaşma süre ve koşullarına bağlı olarak çeşitli bölgelerde üretilen ve kendilerine özgü tat, aroma ve dokuya sahip 200’ e yakın peynir çeşidinin olduğu bildirilmektedir (Hacıoğlu ve Kunduhoğlu, 2021). Bu peynirlerin büyük bir kısmı küçük ölçekli yerel işletmelerde çiğ süt kullanılarak üretilmektedir. Bununla birlikte son yıllarda geleneksel peynirlerin birçoğunun geleneksel özellikleri, bilgi ve kültürel değerleri korunarak ürün kalitesi artırılmış ve endüstriyel düzeyde üretimi yaygınlaşmaya başlamıştır.

Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliğine (No: 2015/6) göre Tulum peyniri; peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılan sütün teleme haline getirilmesi, ardından telemenin fermentasyonu sonrasında ufalanarak tuzlanması ve gıda ile temas edebilecek uygun bir ambalaj malzemesine ya da deri tulumlara sıkıca yerleştirilmesiyle üretilen ve olgunlaştırıldıktan sonra satışa sunulan kendine özgü karakteristik özellik gösteren peynir olarak ifade edilmektedir (TGK, 2015). Tulum peyniri, karakteristik olarak beyaz veya krem renkte olan kurumadde ve yağ oranı yüksek, ağızda dağılan kendine has aromaya sahip, homojen tekstürde ve belirgin asidik tada sahiptir (Oluk ve ark., 2014).

Tulum peyniri; Beyaz ve Kaşar peynirden sonra en çok tüketilen peynir türü olup, Türkiye’nin birçok bölgesinde üretilen ve farklı isimler verilen geleneksel peynirlerimizden birisidir. Muş Tulum peyniri, Muş ilinin bitki çeşitliliği bakımından zengin olan yüksek rakımlı yaylalarında otlayan küçükbaş hayvanların sütünden üretilmektedir. Bu peynir, Mayıs-ağustos ayları arasında özellikle çiğ koyun sütünden veya koyun ve keçi sütleri karışımından geleneksel olarak starter kullanılmadan üretilen yarı sert bir peynir çeşididir.

Muş Tulum peyniri üretiminde, süt sağım işleminin ardından 28-34 °C sıcaklıkta ve peynir mayası eklenerek pıhtılaştırılır. Elde edilen pıhtı parçalandıktan sonra, bez torbalara konulup 2-3 gün boyunca süzölmeye bırakılır. Süzme işlemi tamamlandıktan sonra peynirler tuz ile harmanlanır ve hava almayacak şekilde deri tulum ya da plastik bidonlara sıkıca doldurulur. Bu şekilde hazırlanan peynirler mahzen veya soğuk hava depolarında ($2\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de en az 3 ay) olgunlaşmaya bırakılır.

Peynirde olgunlaşma, laktoz metabolizması, lipoliz ve proteoliz olmak üzere üç temel süreci içeren karmaşık biyokimyasal işlemler sonucu gerçekleşir (Sert ve ark., 2014). Peynirin olgunlaşması sürecinde yerli laktik flora, laktozun metabolizması yoluyla laktik asit başta olmak üzere diasetil, asetoin, asetaldehit gibi lezzet bileşikleri üretirler (Sözeri Atik ve ark., 2021). Olgunlaşma ilerledikçe bu mikroorganizmalar peynir matriksine proteolitik ve lipolitik enzimler salgılar. Bu süreçte salınan proteinaz ve peptidaz enzimleri, kazeini küçük peptid ve serbest aminoasitlere (SAA) hidrolize ederek peynirin lezzet ve dokusuna katkıda bulunurlar (Gezginç ve ark., 2022). Ayrıca süt yağları, doğal süt lipoprotein lipazı (LPL), pregastrik esteraz (PGE) içeren peynir mayası preparatları, starter olmayan laktik asit bakterileri (NSLAB) ve ikincil mikroorganizmalar tarafından sentezlenen lipaz ve esterazlar ile lipolize uğrayarak peynir aromasına doğrudan katkıda bulunan kısa ve orta zincirli (sırasıyla C_4 - C_8 ve C_{10} - C_{14}) serbest yağ asitlerine (SYA) ayrışır (Castada ve ark., 2015;Bhandari ve ark., 2016;Guarrasi ve ark., 2017;Bergamaschi ve Bittante, 2018). Proteoliz ve lipoliz sonucu ortaya çıkan serbest yağ asitleri ve serbest aminoasitler, peynirin duyuşal niteliklerini belirleyen asitler, esterler, aldehitler, ketonlar, alkoller, alkanlar ve laktonlar gibi birçok uçucu organik bileşiklerin (VOC'ler) üretimi için substrat görevi görür (Fox ve ark., 2017;Tekin ve Güler, 2019).

Tulum peynirleri gibi peynir mayası ile pıhtılaştırılmış peynir türlerinin karakteristik lezzeti, olgunlaştırma sırasında mikroorganizmaların, başlangıç süt enzimlerinin, pıhtılaştırıcının ve ikincil mikrofloranın aktivitesine bağlı olarak gelişmektedir. Muş ili bitki çeşitliliği ve hayvanların yayıldığı döneme ait iklim koşulları Muş Tulum peynirinin laktik asit bakteri florasının zenginleşmesinde önemli

olduğu ve bu durumun çiğ süttten üretilen Muş Tulum peynirinin özgün tat ve aromasının oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir. Peynir yapımında kullanılan süttün türü, süt bileşenleri, üretim teknikleri, olgunlaşma materyali, olgunlaşma süre ve koşulları lezzet gelişimini etkilemektedir (Tekin ve Güler, 2019;Sözeri Atik ve ark., 2021).

Çiğ süttten yapılan peynirler sütte bulunan patojen mikroorganizmaların varlığı nedeniyle birçok enfeksiyon ve intoksikasyon riski taşımaktadır. Buna rağmen çiğ süttten üretilen peynirler, güçlü ve kendine özgü tatları ile dünyanın birçok yerinde büyük talep görmektedir. Pastörize süttten yapılan peynirler ise daha güvenli ve yeknesak olmakla birlikte, pastörizasyon işlemi peynirlerin bireysel tat ve aromasının oluşumunda önemli bir rol oynayan sütteki proteaz ve lipazlar gibi çeşitli enzimler ile özellikle otokton laktik mikroflorayı inaktive ettiği için lezzet kalitesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Kırmacı ve ark., 2016;Tomasino ve ark., 2018; Jo ve ark., 2018). Süttün pastörize edilmesi ve ticari starter kültür kullanılması, tüketici sağlığı açısından güvenlik risklerini ortadan kaldırırsa da peynirde starter olmayan laktik asit bakterileri (NSLAB) tarafından oluşturulan eşsiz lezzet profilini tam olarak yansıtamamaktadır (Psomas ve ark., 2023).

Peynirde laktik mikroflora, süte kontrollü olarak direkt katılan ve üretim sırasında asit üretiminden sorumlu olan starter laktik asit bakterileri (SLAB) ile çiğ sütte doğal olarak bulunan ya da süt çiftliklerinden, sağım ekipmanlarından veya havadan kontamine olarak peynirin lezzet gelişimi üzerinde çok önemli rolü olan NSLAB'den oluşmaktadır (Vandera ve ark., 2019;Psomas ve ark., 2023). Çiğ süttten üretilen geleneksel peynirlerde karakteristik tat ve aromanın oluşmasında rol alan yerli laktik asit bakterilerinin (LAB) çoğunlukla *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. caesi*, *Lb. paracasei*, *Lb. fermentum*, *Lb. brevis*, *Lb. pentosus*, *Lb. rhamnosus*) *Lactococcus* (*Lc. lactis subsp. lactis*, *L. lactis subsp. cremoris*) *Enterococcus* (*E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*) *Streptococcus* (*Str. thermophilus*) *Leuconostoc* (*Leu. mesenteroides* ve *Leu. pseudomesenteroides*) *Pediococcus* ve *Weissella* türlerinden oluştuğu bildirilmektedir. (Gobetti ve ark., 2015; Milani ve ark., 2017;Bluma ve ark., 2017;Vandera ve ark., 2019).

Sütte bulunan bu otokton LAB, mikrobiyolojik ve biyokimyasal değişiklikler sonucu çeşitli bileşikler üretmesiyle peynirin kalitesinin artmasına ve yoğun tat-aroma profilinin oluşmasında önemli rol oynamaktadırlar (Silva ve ark., 2015). Aynı zamanda bu mikroorganizmalar bakteriyosin, hidrojen peroksit, karbondioksit, diasetil, etanol ve organik asitler gibi çeşitli antimikrobiyal bileşikler sentezleyerek istenmeyen mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon etki gösterip peynirin raf ömrünün uzamasına yardımcı olurlar (Montel ve ark., 2014; Agriopoulou ve ark., 2020).

Çiğ süt peynirlerinden izole edilen otokton LAB suşları, ticari starter kültürlerle kıyasla daha zengin tat ve aroma profili oluşumuna katkı sağlamaktadır (Baruzzi ve ark., 2016; Picon ve ark., 2019). Bu nedenle, starter kültür kullanılmadan üretilen peynirlerde doğal mikrofloranın belirlenmesine yönelik araştırmalar her geçen gün artan bir ilgi ile karşılanmaktadır. Aynı zamanda, süt endüstrisinde starter kültür çeşitliliğinin yetersizliği ve tüketicilerin daha lezzetli ürün talepleri, yerli LAB suşlarının starter kültür olarak kullanılmasına olan ilgiyi artırmaktadır (Bozoudi ve ark., 2016; Uymaz ve ark., 2019). Dolayısıyla, yüksek standartlarda ve güvenli peynir üretimi için, kullanılan sütün doğal mikroflorasının iyi bilinip karakterize edilmesi ve starter kültür olarak kullanılabilirliğinin test edilmesi oldukça önemlidir.

LAB'nin karakterizasyonunda kullanılan klasik fenotipik ve biyokimyasal yöntemler, bu bakterilerin suş düzeyinde tanımlanmasında yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, son yıllarda bakterilerin tür ve suş düzeyinde kesin ayrımını sağlayan DNA temelli yeni nesil moleküler tekniklerin kullanımı giderek yaygınlaşmıştır. Bu tekniklerden biri olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), özellikle mikroorganizmalara özgü ve evrimsel olarak korunan 16S rRNA geni gibi belirli DNA bölgelerini hedef alarak, bakterilerin doğru bir şekilde tanımlanmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Sharma ve ark., 2020).

Peynirin kalite özellikleri açısından yerli laktik floranın önemli rolünün yanı sıra, yeni potansiyel starter kültür arayışları göz önüne alındığında ve Muş Tulum

peynirinde şimdiye kadar LAB florasının tanımlanmasına ve starter kültür geliştirilmesine yönelik herhangi bir çalışmanın yapılmaması nedeniyle bu çalışmada;

- i) Biyokimyasal, fenotipik ve genotipik analizler kullanılarak, çiğ koyun sütüyle üretilen Muş Tulum peynirinde olgunlaşma döneminde hakim laktik floranın suş düzeyinde karakterizasyonu,
- ii) Tanımlanan suşların bazı teknolojik özellikleri tespit edilerek endüstriyel üretim için uygun, özgün starter kültür türünün belirlenmesine yönelik bilgi elde edilmesi ve
- iii) Muş Tulum peynirinin fizikokimyasal, serbest yağ asidi (SYA) ve uçucu bileşen profilinde depolama sürecinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Laktik Asit Bakterileri

2.1.1. Genel özellikler

Laktik asit bakterileri (LAB) terimi, 20. yüzyılın başlarında tanımlanmıştır. İlk saf kültür, 1873 yılında Joseph Lister tarafından bir süt örneğinden *Bacterium lactis* (şimdiki adı *Lactococcus lactis*) adıyla izole edilmiştir (Liu ve ark., 2014; Freire ve ark., 2021). Günümüzde LAB, *Firmicutes* şubesine, *Bacilli* sınıfına ve *Lactobacillales* takımına ait bir bakteri grubu olarak sınıflandırılmaktadır (Mokoena, 2017).

LAB; morfolojik, metabolik ve fizyolojik açıdan benzer özellikleri taşıyan ve filogenetik olarak birbirine yakın bir bakteri grubunu oluşturur. Bu grup, karbonhidratların fermentasyonu sırasında temel ürün olarak laktik asit üreten, gram-pozitif, fakültatif anaerob, katalaz ve oksidaz negatif, spor oluşturmeyen, genellikle hareketsiz ve homofermentatif basil ya da kok şeklindeki bakterilerden oluşur. LAB'i süt ve süt ürünleri, fermente et ürünleri, çiğ veya fermente edilmiş bitkiler, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemleri gibi pek çok farklı ortamda doğal olarak bulunurlar (König ve Fröhlich, 2017; Devi ve ark., 2015; Liu ve ark., 2014).

Güvenli olarak kabul edilen (GRAS) bir grup olan LAB, fermente ürünlerin muhafazasında kritik bir rol oynamaktadır (Crowley ve ark., 2013). pH'ı düşürerek veya diğer bakterilere karşı antagonistik peptitler üreterek gıdaların raf ömrünün uzamasını sağlarlar. Koruyucu özelliklerinin yanı sıra, bazı LAB türleri gıdalara eklendiğinde probiyotik olarak işlev görerek tüketicilere sağlık açısından faydalar sağlayabilirler (Freire ve ark., 2021).

LAB'nin sınıflandırılması, morfolojik yapı (kok, çubuk, zincir ya da tetrat), glikoz fermentasyon şekli (homo- veya heterofermentasyon), farklı sıcaklık ve yüksek

tuz dayanımı, üretilen laktik asit türü (D, L ya da her ikisi), asidik ve alkali ortamlara tolerans gibi özelliklere dayanmaktadır. Bunun yanı sıra, tanımlanan bazı cinsler için, yağ asidi bileşimi ve hareketlilik gibi ek özellikler de sınıflandırmada dikkate alınmaktadır (Pilar ve ark., 2008;Kenji ve ark., 2009;Sangoyomi ve ark., 2010;Khalid, 2011). Bu organizmalar, homolaktik ve heterolaktik olmak üzere iki ana şeker fermentasyon yolu ile ayırt edilebilir. Homolaktik fermentasyonda, Embden Meyerhof Parnas (EMP) yolu kullanılarak ağırlıklı olarak laktik asit üretilir. Heterolaktik fermentasyonda ise 6-fosfoglukonat/fosfoketolaz yolu aracılığıyla laktik asit dışında etanol, asetik asit, formik asit ve CO₂ gibi önemli miktarlarda diğer son ürünler de üretilir (Derek ve ark., 2009). LAB'nin tanımlanmasında klasik biyokimyasal testlerin yanı sıra moleküler yöntemler de sıkça kullanılmaktadır (Freire ve ark., 2021).

Önceki taksonomik sınıflandırmada LAB, gıda fermentasyonunda etkili olan dört temel cinsten oluşuyordu: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* (Wessels ve ark., 2004). Ancak son yapılan taksonomik düzenlemeler sonucunda bu gruba yeni cinsler eklenmiş ve LAB artık *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Dolasigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Mlissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella* olmak üzere toplam 17 cinsten oluşan bir grup haline gelmiştir (Ruas Madiedo ve ark., 2012;Crowley ve ark., 2013).

2.1.2. *Lactobacillus* cinsi bakteriler

Lactobacillaceae ailesinin bir üyesi olan *Lactobacillus* cinsi bakteriler, *Paralactobacillus* ve *Pediococcus* cinsleriyle yakın akraba olup aynı aileye dahildirler (Garrity ve ark., 2005;Liu ve ark., 2014; Zheng ve ark., 2020). *Lactobacillus* türleri, gram-pozitif, sporsuz, katalaz negatif ve fakültatif anaerobik, genellikle genomunda düşük oranda Guanin + Sitozin (G+C) (%50'nin üstünde) içeren, homo- ve heterofermentatif özellik gösteren, zorunlu sakkarolitik çubuklar veya kokobasiller olarak karakterize edilirler (Cai ve ark., 2012;Salveti ve ark., 2012). Bu bakteriler, 2-53 °C arası geniş bir sıcaklık aralığında ve 3.00-8.00 pH arasında gelişebilirler. En iyi

gelişme sıcaklıkları ve pH aralığı sırasıyla 30-40 °C ve 5.50-6.20 arasındadır (Salveti ve ark., 2012). *Lactobacillus* cinsi bakteriler özellikle süt ürünleri, tahıl bazlı ürünler, et ve balık ürünleri, bira, şarap, meyve ve suları, salamura sebzeler, silajlar ve ekşi maya gibi karbonhidrat içeren ortamlardan izole edilirler (Hammes ve Hertel, 2009).

Bu tür bakteriler, peynirin olgunlaşması ve aroma gelişimine katkıda bulunarak starter kültür, destek kültür (adjunct culture) veya starter olmayan laktik asit bakterileri (NSLAB) olarak işlev görürler. *Lactobacillus* türleri, sitratı metabolize ederek peynirin tat ve aroma gelişimine önemli katkıları olan asetat, etanol, asetaldehit ve diasetil gibi karbonil bileşikleri oluştururlar (Mama ve ark., 2002; Rea ve Cogan, 2003).

Bu cins bakteriler, fermente şekerlerin ve fermantasyon ürünlerinin türüne bağlı olarak üç gruba ayrılır; zorunlu homofermentatif, fakültatif heterofermentatif ve zorunlu heterofermentatif. Birinci gruptaki türler (*Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*), heksozları Embden Meyerhof Parnas yolu (EMP) veya glikoliz yoluyla laktik aside (%85'ten fazla laktik asit) fermente ederler. Ancak pentozlar ve glukonatı fermente edemezler. İkinci gruptaki türler (*Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum* ve *Lb. rhamnosus*), EMP yoluyla heksozları laktik aside fermente eder ve pentoz fosfat (PP) yolunun bir enzimi olan indüklenabilir bir fosfoketolaz yoluyla pentozları ve glukonatı parçalayarak asetik asit, etanol ve formik asit meydana getirirler. Üçüncü grup olarak zorunlu heterofermentatif laktobasiller (*Lb. brevis*, *Lb. fermentum*) ise pentozları ve heksozları yalnızca fosfoglukonat yoluyla metabolize ederek laktik asit, etanol ve CO₂ üretirler (Hammes ve Hertel, 2009).

Peynir üretiminde starter veya yardımcı starter kültür olarak; *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* gibi bakteriyel suşlar kullanılmaktadır (Giraffa ve Rosetti, 2004).

2.1.3. *Lactococcus* cinsi bakteriler

Lactococcus türleri, *Streptococcaceae* ailesine mensup olup gram-pozitif, homofermentatif, mikroaerofilik, katalaz negatif, sporsuz ve hareketsiz, kok şeklinde ya da ovoid yapıda olan bakterilerdir. Glukozu metabolize ederek L (+) laktik asit üreten bu cinsin bazı üyeleri, 10 °C'nin altında gelişim gösterse de genellikle 10-45 °C aralığında optimum 30 °C'de gelişim gösterirler (Kim, 2014;Lorenzo ve ark., 2018).

Lactococcus cinsi bakteriler, *L. lactis*, *L. garvieae*, *L. raffinolactis*, *L. chungangensis*, *L. fujiensis*, *L. plantarum* ve *L. piscium* olmak üzere yedi farklı türden oluşmaktadır (Kim, 2014). Bu türler arasında, çiğ süt ve peynirlerde baskın olan tür *L. lactis*'tir (Issa ve Tahergorabi, 2019). *L. lactis*, süt teknolojisinde kullanılan tek starter kültür türü olup *L. lactis* subsp. *cremoris* ve *L. lactis* subsp. *lactis* alt türleri ile *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* olarak bilinen bir biovaryeteden oluşmaktadır. Özellikle *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, sitratı fermente ederek diasetil ve asetoin gibi bileşenler üretmesi nedeniyle diğer alt türlerden farklılık gösterir (Fusieger ve ark., 2020).

Lactococcus cinsi bakteriler, süt ve süt ürünleri, bitkiler, balıklar ve hayvanlarda yaygın olarak bulunurlar. Genel olarak çoğu *Lactococcus* türü, insanlar için güvenli kabul edilse de *L. garvieae* türü balıklar, hayvanlar ve insanlar için patojenik etkiler gösterebilir (Kim, 2014).

L. lactis türleri, üretmiş oldukları organik asitler, bakteriyosinler ve ekzopolisakkarit (EPS) gibi bileşikler ile süt ürünlerinin tekstürel gelişimine ve aromasına katkıda bulunurlar (Nikitina ve ark., 2023). Ayrıca antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikler, flavonoidler ve karotenoidler gibi diğer antioksidan bileşiklerini üreterek ürünlerin raf ömrünü artırırlar (Wang ve ark., 2016;Chen ve ark., 2023). *Lactococcus* türleri, süt endüstrisinde genellikle laktozdan laktik asit üretimi, kazein

hidrolizi, yağ lipolizindeki düşük esteraz aktiviteleri ve sitrat fermantasyonu gibi işlemlerde starter kültür olarak kullanılmaktadır (Kim, 2014).

2.1.4. *Enterococcus* cinsi bakteriler

Enterococcaceae familyasına ait olan *Enterococcus* türleri, gram-pozitif, katalaz ve oksidaz negatif, homofermentatif ve fakültatif anaerobik özelliklere sahip bakterilerdir. DNA'larında düşük miktarda Guanin + Sitozin (G+C) bulunan (%50'nin altında), sporsuz, oval ve uzun zincir formunda olan bu bakteriler çoğunlukla hareketsizdirler (Araújo ve Ferreira, 2013). *Enterococcus* türleri genellikle optimum 35 °C sıcaklıkta gelişirken, bazı türleri 10 ila 45 °C arasında da gelişebilir. Bu bakteriler, yüksek NaCl konsantrasyonlarında (%6.5) ve pH 9.60'ta gelişme yeteneğine sahiptirler. Ayrıca, 60 °C'de 30 dakika boyunca hayatta kalabildikleri için termodürik özellik gösterirler (Ogier ve Serror, 2008; Araújo ve Ferreira, 2013).

Enterococcus türleri, hayvanların ve insanların gastrointestinal sisteminde, peynir, süt, et ve sebzelerde doğal olarak bulunurlar. Bu bakterilerin yaygın dağılımı, sıcaklığa karşı gösterdikleri dayanıklılık ve farklı substratlar ile büyüme koşullarına uyum sağlama yetenekleri ile açıklanabilir (Jamet ve ark., 2012). *Enterococcus* türleri, çiğ süt ve özellikle Akdeniz bölgesinde üretilen geleneksel peynir türlerinde yaygın olarak bulunur (Giraffa, 2003; Domingos Lopes ve ark., 2017). *Enterococcus* grubu bakteriler, yaklaşık 58 farklı türden oluşan geniş bir gruptur (García Solache ve Rice, 2019). Bu türler arasında süt ve süt ürünlerinde en sık rastlananlar *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans*'tır. Bunun yanı sıra, *E. hirae* ve *E. casseliflavus* gibi türler de zaman zaman süt ve peynir gibi ürünlerde görülebilir (Ogier ve Serror, 2008).

Süt endüstrisinde önemli bir rol oynayan enterokoklar, proteolitik ve lipolitik aktiviteleri ile sitrat metabolizması sonucunda diasetil üretmeleri sayesinde Cheddar, Feta, Mozerella, Cebreiro, Venaco ve Hispanico gibi birçok peynirin olgunlaşmasına ve aroma gelişimine katkıda bulunurlar. Peynirlerde olgunlaşma, lezzet gelişimi ve bakteriyosin üretimindeki rolleri nedeniyle, teknolojik ve metabolik olarak istenen

özelliklere sahip enterokokların çeşitli peynirler için başlatıcı kültürlerle dahil edilebileceği öne sürülmektedir (Foulquié Moreno ve ark., 2006; Ogier ve Serror, 2008; Hanchi ve ark., 2018). Ancak enterokoklar, fekal kontaminasyon göstergesi olmaları ve halk sağlığını tehdit edebilecek biyojen amin üretme potansiyelleri nedeniyle, diğer laktik asit bakterilerinin aksine GRAS statüsüne dahil edilmemektedirler (Ogier ve Serror, 2008; Riboldi ve ark., 2009).

2.1.5. *Streptococcus* cinsi bakteriler

Micrococcaceae ailesine ait *Streptococcus* türleri, gram-pozitif, katalaz negatif, fakültatif aerobik, sporsuz ve hareketsiz, hücresel olarak kok ya da kokoid (0.5–2 µm çapında) şekilli bakterilerdir (Chhatwal ve Graham, 2008; du Toit ve ark., 2014; Kabelitz ve ark., 2021). Optimum gelişme sıcaklıkları 37 °C olan bu türler homofermentatif olup glukoz fermantasyonu sonucunda son ürün olarak L(+) laktik asit üretirler (du Toit ve ark., 2014).

Streptococcus cinsine ait 100'den fazla tür bulunmaktadır. Bunlardan *Str. pyogenes*, *Str. agalactiae* ve *Str. dysagalactiae* gibi bazı türler, insanlar ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara neden olabilen patojenik özelliklere sahiptirler. Diğer türler ise hastalık yapıcı olmayan saprofit karakterde olup, insan sağlığına olumsuz etkileri yoktur ve çevrede doğal olarak bulunurlar (Samanta ve Bandyopadhyay, 2020). *Streptococcus* türleri arasında *Str. thermophilus*, starter kültür olarak kullanılan tek türdür ve dünya çapında yaygın olarak kullanılan başlıca starter kültürlerden biridir. *Str. thermophilus*, yalnız başına ya da *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. lactis* veya *Lb. helveticus* ile kombinasyon halinde yoğurt, kaşar ve diğer süt ürünlerinin yanı sıra İsviçre ve İtalyan tipi peynirlerde starter kültür olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Smit ve ark., 2005).

Str. thermophilus, laktik asit üretimi yoluyla pH seviyesini düşürerek fermentasyon sürecine katkı sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, ekzopolisakkarit ve

çeşitli aroma bileşenleri üreterek fermente süt ürünlerinin kıvamını, dokusunu ve lezzet profilini geliştirir (Awad ve ark., 2005).

2.1.6. *Leuconostoc* cinsi bakteriler

Leuconostocaceae ailesine ait *Leuconostoc* cinsi bakteriler, günümüzde tanımlanmış 17 farklı türden oluşmaktadır (Parte ve ark., 2020). *Leuconostoc* türleri, gram-pozitif, morfolojik olarak zincir ya da grup kok şeklinde, katalaz negatif, fakültatif anaerob, sporsuz, hareketsiz, hemolitik ve proteolitik olmayan laktik asit bakterileri olarak tanımlanırlar (Ruppitsch ve ark., 2021). Hemolitik ve proteolitik aktivitelerinin olmaması, bu bakterilerin patojenik özellik taşımadığını göstermektedir.

Leuconostoc türleri, heterolaktik fermantasyon yoluyla glukozu metabolize ederek D (+) laktik asit üretmeleri ile tanınan sakkarolitik bakterilerdir. Genellikle taze bitkilerde doğal olarak bulunup buradan çiğ süt ve fermente ürünlere yayılan ve bu ürünlerin fermantasyon süreçlerinde önemli rol oynayan bakterilerdir (Ogier ve Serror, 2008; Raimondi ve ark., 2022). Optimum gelişme sıcaklıkları 20-30 °C arasında olan bu bakteriler, gıda fermantasyonunda önemli işlevlere sahip *Leuc. mesenteroides*, *Leuc. pseudomesenteroides* ve *Leuc. lactis* gibi cinsleri içermektedirler (Ruppitsch ve ark., 2021).

Leuconostoc türleri, asidifikasyon hızı yüksek *Lactococcus* türleriyle birlikte süt ürünlerinde yardımcı kültür şeklinde kullanılarak sitratı metabolize ederler. Bu süreçte diasetil, asetoin ve karbondioksit gibi peynir aromasına katkıda bulunan aromatik bileşikler üretirler. Ayrıca, *Leuconostoc* türleri bazı özel peynirlerde göz oluşumundan sorumludurlar (Van Mastrigt ve ark., 2017; Özcan ve ark., 2019).

2.1.7. *Pediococcus* cinsi bakteriler

Pediococcus türleri, *Lactobacillaceae* ailesine ait gram-pozitif, hareketsiz, spor üretmeyen, katalaz ve oksidaz negatif, fakültatif anaerobik özellik gösteren tetrakok morfolojisine sahip bakterilerdir (Cho ve ark., 2017; Porto ve ark., 2017; Singla ve ark., 2018a). Bu bakterilerin halofilik karaktere sahip ve tümünün homofermentatif olduğu tespit edilmiştir. Çoğu *Pediococcus* türünün enerji üretimi için laktozu fermente edemediği bilinmektedir. Ancak, son yıllarda yapılan araştırmalar, bazı *Pediococcus* suşlarının laktozu fermente edebildiğini ortaya koymuştur (Cavicchioli ve ark., 2019).

Toplam 11 türünün olduğu belirtilen bu bakterilerden; *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *P. damnosus* ve *P. parvulus* türlerinin pediosin adlı bakteriyosin ürettiği bildirilmiştir (Cho ve ark., 2017). Pediosinler, genellikle ısıya dayanıklı ve çoğu geniş bir pH (pH 2.00 ile 10.00) aralığında aktivite gösterebilen antimikrobiyal bileşiklerdir. Bu peptidler, gram pozitif bakterilere karşı geniş bir etki spektrumuna sahip olup, özellikle *Listeria monocytogenes* gibi patojenler üzerinde bakterisidal etki gösterirler (Papagianni ve Anastasiadou, 2009; Porto ve ark., 2017).

P. acidilactici ve *P. pentosaceus* gıda ve süt ürünlerinde en yaygın bulunan *Pediococcus* türleridir. Bu türler, pediosin üretiminin yanı sıra, istenmeyen kontaminantları önlemek için eş kültür olarak, aynı zamanda fermentasyon sürecinde insanlar ve hayvanlar için probiyotik takviyelerinde kullanılan ana türlerdir. Ayrıca süt ürünlerinin, etlerin ve silajın fermantasyonunda sıkça kullanılan starter kültürlerdir (Garsa ve ark., 2014; Cho ve ark., 2017). Bu türlerin sahip olduğu antimikrobiyal aktivite, fitaz aktivitesi, galaktozu fermente etme yeteneği, ekzopolisakkarit üretimi ve aroma oluşturma gibi çeşitli teknolojik özellikler, onları gıda endüstrisi için önemli mikroorganizmalar haline getirmektedir. Bu özellikler, *Pediococcus* türlerinin süt ve süt ürünleri, sebzeler, etler, silajlar gibi çeşitli fermente ürünlerde starter, NSLAB veya destekleyici probiyotik kültürler olarak kullanılmalarını sağlar (Papagianni ve Anastasiadou, 2009; Singla ve ark., 2018b). Ayrıca bu bakterilerin, çiğ süt

peynirlerinde olgunlaşma periyodunun sonunda doğal olarak bulunabileceği ve birçok geleneksel peynirden izole edilebileceği bildirilmiştir (Eugster ve ark., 2019).

2.1.8. *Weissella* cinsi bakteriler

Weissella cinsine ait bakteriler, morfolojik olarak kokoid veya çubuk şeklinde, gram-pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmayan ve çoğunlukla hareketsiz mikroorganizmalardır (Björkroth ve ark., 2014; Baugh ve ark., 2021).

Bugüne kadar tanımlanmış 28 *Weissella* türü bulunmakta ve bu türlerin çoğu heterofermentatif ve fakültatif anaerobik özellik göstermektedir (Fusco ve ark., 2015; Ahmed ve ark., 2022). Glukoz heterofermentasyonu sonucu laktik asit, asetik asit, etanol ve CO₂ üretirler. Laktik asit üretimi türlere göre değişkenlik göstermekte olup bazı türler sadece D (-) laktik asit üretirken, diğerleri hem D (-) hem de L (+) laktik asit üretirler (Björkroth ve ark., 2014).

Optimum gelişme sıcaklıkları 15-37 °C arasında olan *Weissella* türleri çok karmaşık bir beslenme gereksinimine (peptit, amino asit, şeker, nükleik asit, yağ asitleri ve vitamin) sahip olmasına rağmen, farklı ekosistemlerde doğal olarak bulunabilirler (Teixeira ve ark., 2021). Farklı suşları bitki ve toprak, çiğ süt ve peynirleri, çeşitli fermente ürünler, tatlı su gölleri, anne sütü, insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminden izole edilebilmektedir (Fusco ve ark., 2015; Kang ve ark., 2017; Öz ve ark., 2017; Sturino, 2018; Spiegelhauer ve ark., 2020).

Bazı *Weissella* suşları, bakteriyosin ve hidrojen peroksit gibi antimikrobiyal bileşikler ile ekzopolisakkarit (EPS) ve diasetil üretme yetenekleri açısından detaylı bir şekilde incelenmiştir. Özellikle, EPS'lerin yoğurt gibi süt ürünlerinde tekstür, stabilite ve duyu özelliklerinin geliştirilmesi açısından önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Benhoua ve ark., 2019; Dey ve ark., 2019a; Dey ve ark., 2019b).

Weissella cinsi bakteriler, fenotipik özellikleri açısından *Leuconostoc* ve heterofermentatif *Lactobacillus*'lardan genellikle ayırt edilememektedir. Bu nedenle bu bakterilerin doğru bir şekilde tanımlanmasının yalnızca moleküler analizlerle mümkün olabileceği ifade edilmiştir (Fusco ve ark., 2015; Fessard ve Remize, 2017).

2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Teknolojik Özellikleri

2.2.1. Asit oluşturma kapasitesi (glikoliz)

LAB gelişebilmeleri için ana enerji kaynağı olan karbonhidratlara ihtiyaç duyarlar. LAB türleri, karbonhidrat metabolizması sonucunda homofermentatif ve heterofermentatif olarak iki gruba ayrılırlar (Mokoena ve ark., 2017). *Lactococcus* ve *Lactobacillus* gibi homofermentatif LAB'i, karbonhidratları fruktoz di fosfat (FDP) yoluyla metabolize ederek son ana ürün olarak %90'dan fazla laktik asit üretirler. Öte yandan *Leuconostoc*, *Weissella* ve *Oenococcus* gibi heterofermentatif LAB'i ise karbonhidratları pentoz fosfat (PP) yolu ile parçalayıp son ürün olarak laktik asitle beraber eşit oranda etil alkol, asetik asit ve karbondioksit (CO₂) üretirler (Eiteman ve Ramalingam, 2015; Bintsis, 2018). Fermentasyon sonucu oluşan bu maddeler fermente gıdaların karakteristik tat, aroma ve doku gibi organoleptik özelliklerini geliştirir (Ayivi ve ark., 2020).

Süt endüstrisinde LAB'nin başlıca görevi laktoz fermentasyonu sonucu laktik asit üreterek pH'yı düşürmektir. Oluşan laktik asit kazeinin pıhtılaşmasında ve peynirin tat, aroma ve tekstürel özelliklerin gelişiminde oldukça önemli rol oynamaktadır. Ayrıca ortamın asitliğindeki artış antimikrobiyal etki yaratarak birçok patojen ve saprofit karakterli mikroorganizma faaliyetini önlemektedir (Kılıç, 2021).

2.2.2. Antimikrobiyal madde üretimi

Günümüzde kimyasal gıda koruyucularının tüketiciler tarafından tercih edilmemesi nedeniyle, gıda güvenliğini ve kalitesini arttırmak için laktik asit

bakterileri gibi doğal mikrofloraların kullanıldığı biyolojik koruma yöntemlerine olan ilgi artmaktadır (İbrahim ve ark., 2021).

LAB’i, birçok gıda kaynaklı patojenlerin ve bozulma yapan mikroorganizmaların büyümesini engeller. LAB’nin bu etkisi başta laktik asit olmak üzere asetik asit, formik asit ve propiyonik asit gibi organik asitler, bakteriyosin ve antibiyotikler, düşük molekül ağırlıklı H_2O_2 , CO_2 , etanol, diasetil, asetoin, yağ asitleri ve reuterin gibi üretmiş oldukları çeşitli antimikrobiyal bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Chikindas ve ark., 2018; Sieuwerts ve ark., 2018). Ayrıca LAB’i, ekzopolisakkarit ve biyoaktif peptitler (siklik dipeptitler) gibi endüstriyel öneme sahip bileşiklerin üretimi ile biyojenik aminler gibi tehlikeli moleküllerin birikmesinden de sorumlu olabilirler (Reis ve ark., 2012; Fidan ve ark., 2022).

2.2.2.1. Organik asitler

LAB tarafından üretilen laktik asit ve diğer organik asitler antimikrobiyal etkinin en önemli nedenlerinden biridir. Organik asitler, hem ayrılmış iyonların hem de ayrışmamış moleküllerin birlikte etkisi ile hücresel hasara yol açarak çeşitli gıda ürünlerinde gram pozitif ve gram negatif bakterilerin yanı sıra maya ve küflerin büyümesini engellerler (İbrahim ve ark., 2021).

2.2.2.2. Bakteriyosinler

Bakteriyosinler, LAB’i tarafından ribozomal olarak sentezlenen ve genellikle yakından ilişkili suşlara karşı daha aktif olan antimikrobiyal peptitlerdir (Awaishah ve ark., 2013; İbrahim ve ark., 2021). Etki mekanizmaları, mikrobiyal suşun hücre zarını, DNA’sını veya protein metabolizmasını hedef alıp hücrenin ölümüne yol açmasına dayanmaktadır (İbrahim ve ark., 2021). Böylece gıda kaynaklı patojen ve bozulma yapan bakterilere karşı inhibitör etki gösterirler (Suganthi ve Mohanasrinivasan, 2015; Walsh ve ark., 2015).

Bakteriyosinler; esas olarak Nisin ile temsil edilen Lantibiyotikler, *Listeria monocytogenes*'i inhibe etme yeteneğine sahip Pediocin, Lactococcin, Sakacin, Curvacin, Enterococin gibi düşük sıcaklığa dayanıklı bakteriyosinler, ısıya duyarlı bakteriyosinler ve lipid veya karbonhidrat kısımları nedeniyle kompleks bakteriyosinler olarak dört sınıfa ayrılmaktadır (Mokoena, 2017; El Issaoui ve ark., 2020).

Birçok çalışmada çeşitli LAB'nin ürettiği bakteriyosinlerin, farklı gıda patojenlerine karşı inhibe edici etkileri bildirilmektedir (Sharma ve ark., 2018). LAB'i tarafından üretilen Nisin (*L. lactis*), Gasserin (*Lb. gasseri*) ve Sakacin (*Lb. sakei*) bakteriyosinlerinin *L. monocytogenes* veya *B. cereus*'a karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği bildirilmiştir (Pandey ve ark., 2013; Azhar ve ark., 2017).

Çizelge 2. 1. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen bazı bakteriyosinler, antimikrobiyal etki spektrumları ve gıda uygulamaları

Bakteriyosin	Ana LAB üreticisi	Hedef mikroorganizma	Gıda uygulaması
Nisin A	<i>L. lactis</i>	<i>Listeria spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> ve	Süt ürünleri,
Nisin Z	<i>L. lactis</i>	<i>Bacillus spp.</i>	unlu mamuller
Lacticin	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	Yoğurt ve peynir
Lactococcin	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	Yağsız, yarım ve tam yağlı sütler
Sakacin A	<i>Lb. curvatus</i>	<i>L. monocytogenes</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Enterococcus sp.</i>	Fermente etler
Sakacin	<i>Lb. sakei</i>	<i>Listeria spp.</i>	Et ürünleri
Leucococin	<i>Leu. Mesenteroides</i> , <i>Leu. karnozum</i>	<i>L. monocytogenes</i>	Et ürünleri, UHT süt
Gassericin A ve T	<i>Lb. gasseri</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Krema
Pediosin PA-1	<i>P. asitilactici</i>	<i>L. monocytogenes</i> , Psikrotrofilik bakteriler, mayalar ve küfler	Fermente etler, süzme peynir
Pediosin	<i>P. pentosaceus</i>	<i>C. perfringens</i> , <i>L. monocytogenes</i>	Et ürünleri
Plantarisin	<i>Lb. plantarum</i>	<i>L. monocytogenes</i>	fermente et ürünleri
Enterocin	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i>	Yağsız süt, taze peynir

Son yıllarda, bakteriyosin üreten LAB türlerinin, gıda kaynaklı patojenlerin kontrolünde ticari ürünlerde kullanımı önemli bir gelişme göstermiştir. Çizelge 2.1’de, LAB tarafından üretilen bakteriyosinler, etki spektrumları ve gıda uygulamalarındaki kullanımlarıyla ilgili çalışmalar listelenmiştir (Silva ve ark., 2018;Fidan ve ark., 2022).

Food and Drug Administration (FDA) tarafından gıdalarda kullanıma izin verilen tek LAB bakteriyosini Nisin’dir (Ng ve ark., 2020). *L. lactis* suşları tarafından üretilen Nisin, genellikle süt ve ürünlerine, konserve gıdalara, mayonez ve bebek mamalarına bir bileşen olarak eklendiği için önemli bir ticari değere sahiptir (Quinto ve ark., 2019). Ayrıca, bakteriyosin üretebilen LAB türleri, süt sanayide starter ya da ek kültür seçiminde potansiyel adaylar olarak değerlendirilirler (Perez ve ark., 2014).

2.2.2.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Birçok LAB tarafından aerobik koşullar altında üretilen hidrojen peroksit’in (H_2O_2) uygulanan konsantrasyon, pH ve sıcaklık gibi çevresel faktörlere bağlı olarak psikrofilik ve patojen mikroorganizmalar karşı bakterisidal olduğu bilinmektedir (Reis ve ark., 2012). H_2O_2 , çiğ sütte doğal olarak bulunan laktoperoksidaz-tiyosiyanat sisteminde de önemli bir rol oynamaktadır. Bu sistemde H_2O_2 , laktoperoksidaz enzimlerinin varlığında tiyosiyanattan antimikrobiyal etkili hipotiyosiyanit bileşiği üretmektedir. Bu bileşik, sülfidril (SH) grubunun oksidasyonu nedeniyle hücresel bileşenleri yok ederek süt içerisindeki zararlı mikroorganizmaların büyümesini engellemektedir (Hertzberger ve ark., 2014;İbrahim ve ark., 2021).

2.2.2.4. Dasetil

Lactococcus, *Leuconostoc* ve *Weissella* cinsi bakterilerin bazı tür ve suşları tarafından üretilen dasetil, arginin bağlayıcı protein ile reaksiyona girerek gram negatiflerin büyümesini engeller (Şanlıbaba ve Güçer, 2015). Gram negatif bakteriler, gram pozitif bakterilere kıyasla dasetile daha duyarlıdır. Araştırmalar, 344 µg/ml

konsantrasyonda diasetilin *Listeria*, *Salmonella*, *Yersinia*, *E. coli* ve *Aeromonas* gibi patojen bakteri suşlarını etkili bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir (Yang, 2000; Amor ve ark., 2006).

2.2.2.5. Reuterin

Reuterin, gliserolün anaerobik metabolizması sırasında belirli *Limosilactobacillus reuteri* suşları tarafından sentezlenen antimikrobiyal bir maddedir. Geniş bir etki spektrumuna sahip olan reuterin *Lim. reuteri* tarafından salınan diğer maddelerle birlikte (reuterisin ve reuterisiklin); birçok gram pozitif ve negatif bakteri, maya-küf, protozoa ve virüslere karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Akrolein, antimikrobiyal aktivitesinden sorumlu ana bileşendir. Reuterin, lipolitik ve proteolitik enzimlere karşı dirençli olup geniş bir çalışma pH aralığına sahiptir (İbrahim ve ark., 2021; Fidan ve ark., 2022).

2.2.2.6. Etanol

Etanol, laktik asitle birlikte karbonhidratların heterofermentasyonu sonucu oluşan değerli bir son üründür. Etanolün plazma membran akışkanlığı ve bütünlüğü üzerindeki aktivitesi nedeniyle çoğu patojen bakteri hücresinin ölümüne yol açtığı ve bu sebeple gıdalarda antimikrobiyal etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (Kampf ve Hollingsworth, 2008). Ayrıca etanolün iyi bir antifungal ajan olduğu bildirilmiştir (Salomskiene ve ark., 2019).

2.2.2.7. Karbondioksit (CO₂)

Karbondioksit (CO₂), heterofermentatif metabolizma sırasında birçok LAB tarafından oluşturulan düşük molekül ağırlıklı bir bileşiktir. CO₂'in inhibe edici etkisi, anaerobik bir ortam oluşturmaya ve hücre zarı özelliklerini etkilemeye dayanır (Singh, 2018). Mikroorganizmaların karbondioksit'e karşı farklı hassasiyet dereceleri vardır. Mayalar ve küfler karbondioksit'e oldukça dirençlidir ve bunları inhibe etmek için

yüksek konsantrasyonlar ($\geq \%20$) gerekmektedir. Öte yandan, gram negatif psikrofilik bakteri türleri bu gaza karşı çok hassastır. Karbondioksitin mikroorganizmaların metabolizması üzerindeki etki mekanizması ise hala tam olarak anlaşılamamıştır (Singh, 2018).

2.2.2.8. Antibiyotik

LAB' i aynı zamanda bazı antibiyotikler de üretebilirler. Örneğin, bazı *Str. cremoris* (*L. lactis* subsp. *cremoris*) suşlarının diplococcin adı verilen bir antibiyotik oluşturduğu ve bu antibiyotiğin *S. aureus* üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir (Üçüncü, 2012).

2.2.3. Ekzopolisakkarit (EPS) üretimi

Son yıllarda, birçok alanda doğal polimerlerin kullanılması eğilimi, bakterilerden ekzopolisakkarit (EPS) üretme üzerine araştırmaların gelişmesine yol açmıştır. EPS'ler, zorlu çevre koşullarıyla başa çıkmak için LAB tarafından salgılanan biyolojik polimerlerdir (Nguyen ve ark., 2020). LAB'i güvenli mikroorganizmalar (GRAS) olarak kabul edildiğinden herhangi bir sağlık riski olmaksızın birçok farklı yapıya sahip EPS üretebilir (Surayot ve ark., 2014). Genellikle *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Weissella* gibi LAB suşları EPS üretmek için kullanılmaktadır (Patel ve Prajapati, 2013).

EPS'ler LAB hücre duvarının önemli yapısal bileşeni olup hücreyi çevreleyen bir tabaka oluşturarak dehidratasyon, aşırı sıcaklık, pH, ozmotik stres, fagositoz, makrofajlar ve antibiyotikler gibi olumsuz çevresel koşullara karşı korumaktadır (Kleerebezem ve ark., 2010; Nguyen ve ark., 2020).

Gıda endüstrisinde benzersiz fiziksel özelliklere katkıda bulunan bu polimerler özellikle yoğurt, peynir gibi süt ürünlerinde jelleştirici, stabilizatör, koyulaştırıcı ve emülsifiye edici maddeler olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Singh ve Saini,

2017). Bazı EPS üreticisi suşların gıda fermantasyonunda kullanıldığı bilinmektedir. *Str. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus* gibi starter bakterilerin yoğurdun EPS içeriğini arttırdığı, sinerezini önlediği, dokusunu ve duyuşsal özelliklerini iyileştirdiği bildirilmiştir (Han ve ark., 2016).

Teknolojik özelliklere ek olarak EPS'ler antioksidan, antibakteriyel, antikoagülan ve antiviral aktivite ile kolesterol düşürücü, bağışıklık sistemini düzenleyici etkiler göstermektedir (Bintsis, 2018;Zhou ve ark., 2019;Nguyen ve ark., 2020).

2.2.4. Proteolitik aktivite

Proteoliz, birçok peynir türünün aroma ve doku gelişimine katkıda bulunan temel biyokimyasal reaksiyondur. LAB'nin proteolitik sistemi, kazeinin hidrolizi ve kullanımıyla doğrudan ilişkili olup, bu mikroorganizmaların sütte gelişmesi sırasında hücrelere temel amino asitlerin sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır (Kieliszek ve ark., 2021). LAB'i türe, alt türe ve hatta suşa bağlı olarak çok çeşitli proteolitik aktivite göstermektedir (Toe ve ark., 2019;Linares Morales ve ark., 2020).

Peynirde proteoliz; pıhtılaştırıcı enzim ve ekzojen proteinazlar, starter ve starter olmayan kültürler ile sekonder kültürler tarafından üretilen enzimler aracılığıyla gerçekleştirilir. (McSweeney ve Sousa, 2000).

Süt proteinlerinin peptitlere parçalanması, laktik asit bakterilerinde bulunan proteolitik enzimler tarafından gerçekleştirilir (Bintsis, 2018). Öncelikle proteinazlar kazeini peptitlere ayırır, ardından bu peptitler ekzopeptidazlar ve endopeptidazlar tarafından küçük peptitlere ve amino asitlere hidrolize edilir. Bu amino asitler LAB tarafından azot kaynağı olarak kullanılmakta ve peynirin karakteristik lezzetinden sorumlu olan uçucu organik bileşiklere parçalanmaktadır (Harper ve ark., 2022).

LAB'nin amino asitleri sentezleme yeteneğinin sınırlı olması ve sütte bulunan serbest amino asitler ile kullanılabilir peptitlerin yetersiz miktarda bulunması nedeniyle, bu bakterilerin gelişimi için etkili bir proteolitik sisteme ihtiyaçları vardır (Teusink ve Molenaar, 2017). Bu ihtiyaç, kazeinin serbest amino asitler ve peptitlere hidrolizasyonu ile karşılanır. Bu süreçte peynir yapımında kullanılan pıhtılaştırıcı enzim ve NSLAB türlerinin aktivitesi önemli rol oynamaktadır (Kılıç, 2021). Sonuç olarak bu proteolitik süreç, LAB'nin gelişimini desteklemenin yanı sıra fermente süt ürünlerinin organoleptik özelliklerini artırarak, ürün kalitesini belirleyen önemli bir faktör haline gelmektedir.

2.2.5. Lipolitik aktivite

Peynirin olgunlaşması sırasında gerçekleşen lipoliz, peynirin tat ve aromasına katkıda bulunan önemli bir biyokimyasal işlemdir. Lipoliz, trigliseritlerin serbest yağ asitleri, gliserol, mono- ve digliseridler gibi ara maddelere enzimatik (lipaz ve esterazlarla) hidrolizidir (Esteban Torres ve ark., 2014). Peynirdeki başlıca lipolitik ajanlar doğal süt lipoprotein lipazı, rennet kullanılarak üretilen peynirlerdeki pregastrik esteraz ve starter ve starter olmayan mikrobiyotadan gelen enzimlerdir. Özellikle oluşan kısa ve orta zincirli serbest yağ asitleri peynirin lezzetine aromasına doğrudan katkı sağlar. Ayrıca serbest yağ asitleri; ester, lakton, metilketon, sekonder alkol ve aldehit gibi çeşitli lezzet bileşiklerinin oluşumunda öncül rol oynar (Thierry ve ark., 2017).

Süte uygulanan ısıtma işlemi sırasında doğal süt lipazı inaktive olduğundan peynirdeki lipolize katkısı azalmaktadır. Bu enzim yalnızca çiğ sütle üretilen peynirlerde önemlidir. Ekzojen lipazlar süt endüstrisinde bazen lezzet geliştirmek için kullanılmaktadır (Esteban Torres ve ark., 2014).

LAB zayıf lipolitik aktiviteye ve esas olarak hücre içinde bulunan lipolitik olmayan esterazlara sahiptir (Esteban Torres ve ark., 2014). Buna rağmen birçok olgunlaştırılmış peynirde bulunan starter kültürler ve NSLAB bakteriler tarafından

üretilen hücre içi esterolitik ve lipolitik enzimlerin, önemli miktarda yağ asitlerinin oluşumuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Collins ve ark., 2004).

LAB tarafından gerçekleştirilen lipoliz derecesi, starter kültür olarak kullanılan suşların seçiminde belirleyicidir. Bu özellik, fermente süt ürünlerinde lezzet gelişimi için son derece önemlidir (Tanasupawat ve ark., 2015; García Cano ve ark., 2019).

2.2.6. Tat-aroma bileşikleri üretimi

LAB'nin önemli bir diğer işlevi, süt ürünlerinde farklı tat ve aroma bileşiklerini oluşturmalarıdır. Süt ürünlerinin tat ve aroması starter LAB'nin çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar sonucu sentezlediği laktik asit, asetik asit, formik asit, propiyonik asit, bütirik, piruvik, oksalik ve süksinik asit gibi organik asitler ile asetaldehit, diasetil, asetoin ve bütandiol gibi karbonil bileşiklerinden oluşmaktadır (Tamime ve Robinson, 2007). Buna ek olarak, *L. lactis* subsp. *lactic*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *Lb. lactis*, *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lb. casei* gibi birçok LAB'i metiyoninden metanetiyol, dimetilsülfid ve dimetiltrisülfid gibi aroma bileşenlerini sentezleme kabiliyetine sahiptir.

Sitrat metabolizması fermente süt ürünleri teknolojisinde tat-aroma oluşumu açısından oldukça önemli olup, sadece sitrat permeaz enzimine sahip *Leuconostoc* ve Cit+ *Lactococcus* suşları tarafından gerçekleştirilir (Bintsis, 2018). Metabolizma sonucu oluşan asetaldehit, diasetil, asetoin ve bütandiol peynir ve diğer fermente süt ürünlerinde tipik aroma bileşikleri olarak bilinmektedir (Bancalari ve ark., 2017).

Hem *L. lactis* subsp. *lactic* hem de *Leuconostoc spp*'nin sitrat permeaz enzimi aktivitesinin büyük ölçüde pH'la ilişkilendirildiği ve optimum çalışma pH'sının 5.00 ile 6.00 arasında olduğu bildirilmiştir (Bintsis, 2018).

2.3. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve Tanımlama Yöntemleri

LAB'nin heterojen yapıları ve yaygın dağılımlarıyla birlikte bilimsel alandaki ilerlemeler, gıda endüstrisi açısından önemli olan bu mikroorganizmaların tüm taksonomik seviyelerde tanımlanmasına olan ilgiyi her geçen gün arttırmaktadır (Nacef ve ark., 2017;Tabssum ve ark., 2018).

Çiğ süt peynirleri ve diğer fermente gıdalardaki karakteristik tat, aroma ve duyuşsal özellikler, üretim ve olgunlaşma süreçlerinde farklı LAB tür ve/veya suşlarının faaliyetleri sonucu oluşmaktadır (Randazzo ve ark., 2009). Bu durum, söz konusu gıdaların genetik çeşitliliğe sahip pek çok LAB türünün izolasyonu ve tanımlanması için zengin bir kaynak oluşturmaya yol açmaktadır (Terzic Vidojevic ve ark., 2014). Tanımlanan bu türler, özellikle pastörize sütle üretilen endüstriyel peynirlerde, arzu edilen lezzet profillerini ve diğer metabolik aktiviteleri sağlamak amacıyla tek başına ya da starter kültür karışımlarıyla kullanılmaktadır (Broome ve ark., 2011). Bu bağlamda, LAB türlerin peynirdeki davranışları ve peynirin organoleptik özelliklerine etkileri üzerine yapılan çalışmalar, günümüzdeki araştırma alanlarının önemli bir konusunu oluşturmaktadır (Fox ve ark., 2017).

Genel olarak LAB'nin tanımlanması ve karakterizasyonu gıda fermentasyonu, probiyotik ürünlerin geliştirilmesi ve sağlık alanındaki potansiyel faydaları nedeniyle sanayi ve bilimsel araştırmalar açısından giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu nedenle, her bir suşun doğru ve kesin bir şekilde tanımlanmasını sağlayan güvenilir yöntemlerin uygulanması büyük bir gereklilik haline gelmiştir (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011). LAB tanımlama yöntemleri fenotipik ve genotipik olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır.

2.3.1. Fenotipik yöntemler

LAB popülasyonlarının fenotipik karakterizasyonu, genel ve/veya spesifik besiyeri ortamında gelişmeleri sonucu morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlere

dayanmaktadır (Popović ve ark., 2017). LAB'nin cins veya tür düzeyinde tanımlanmasında, hücresel morfoloji ve gram reaksiyonunun yanı sıra sıcaklık, pH ve tuz gibi farklı çevresel koşullarda gelişme yetenekleri, karbonhidrat fermentasyonu, glukoz fermentasyon şekli, laktik asit konfigürasyonu, oksijen toleransı, besin gereksinimleri ve antibiyotik duyarlılığı gibi bir dizi fenotipik ve biyokimyasal testlerden faydalanılmaktadır (Mohania ve ark., 2008). Ancak, bu fenotipik testlerin tekrarlanabilirliğinin az olduğu ve cins içindeki tür/alt türleri doğru bir şekilde ayırt etmede yetersiz kaldığı, bu sebeple kesin ve güvenilir sonuç vermediği bilinmektedir (Singh ve ark., 2009; Sharma ve ark., 2020).

Ayrıca, analytical profile index (API 50 CHL) (BioMerieux, France) ve BBL Crystal (Becton, Dickinson and Company, Cockeysville, USA) enzimatik kitler ile biyokimyasal karakterizasyon, hücre proteinlerinin molekül ağırlıklarının SDS-PAGE tekniği ile analizi ve laktat dehidrogenaz gibi (LDH) enzimlerin elektroforez teknikleriyle tespiti gibi fenotipik testler daha güvenli sonuçlar verdiği için LAB'nin tanımlanmasında yaygın olarak uygulanmaktadır (Markiewicz ve ark., 2010; Bağder Elmacı ve ark., 2015).

LAB'nin çoğu benzer besin gereksinimi ve biyokimyasal aktivitelere sahip olduğundan geleneksel fenotipik testlerle bu mikroorganizmaların tanımlanması birçok belirsizliğe neden olmaktadır. Bu belirsizlikler geleneksel testlere ek olarak DNA tabanlı moleküler tekniklerin kullanılması ile giderilmiştir (Van Hoorde ve ark., 2008). Ancak LAB'nin güvenilir bir şekilde karakterize edilmesinde en doğru sonuçlar, fenotipik ve moleküler yöntemlerin birlikte kullanılmasıyla elde edilmektedir (Ostlie ve ark., 2005).

2.3.2. Genotipik yöntemler

LAB'nin fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere dayanan fenotipik tanımlanması hem zaman alıcı hem de sınıflandırma açısından yetersiz kalabilmektedir (Singh ve ark., 2009). Bu sebeple, son yıllarda hızlı, güvenilir ve

hassas sonuçlar elde edilmesini sağlayan DNA tabanlı moleküler yöntemlerin kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Ayivi ve ark., 2020; Sharma ve ark., 2020).

Bakteri türlerinin suş düzeyinde tanımlanmasında, çeşitli modern moleküler teknikler kullanılmaktadır. Bunlar arasında; Tam Hücre Protein Profili analizi (SDS-PAGE), spesifik problemler ile yapılan DNA hibritasyonu, Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RAPD-PCR), Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), Denatüre Edici Gradyan Jel Elektroforezi (DGGE), Dalgalı Alan Jel Elektroforezi (PFGE), Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi (AFLP) ve 16S-23S rDNA sekans dizisi analizi gibi yöntemler yer almaktadır (Okafor, 2011; Sofu, 2017).

LAB'nin moleküler karakterizasyonunda kullanılan yöntemlerin her birinin, duyarlılık, özgüllük, uygulama kolaylığı, tekrarlanabilirlik, maliyet ve doğruluk açısından avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu yöntemlerden herhangi birinin kullanılmasıyla bakteri izolatları doğru bir şekilde cins, tür, alt tür ve suş seviyesinde tanımlanabilmektedir (Sharma ve ark., 2020).

2.3.2.1. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

PCR tekniği, klasik tanımlama yöntemlerinin ötesine geçerek mikroorganizmaların moleküler düzeyde tanımlanmasında sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntem, hedef DNA'nın belirli bir bölgesini klonlama gerektirmeksizin in vitro ortamda enzim yardımıyla çoğaltır. Kısa bir sürede, yaklaşık 20.000 baz uzunluğundaki spesifik genler, amplifikasyon sayesinde milyonlarca kez kopyalanabilir (Dilsiz, 2009).

PCR yöntemi, denatürasyon (çift sarmal DNA'nın yüksek sıcaklıkta tek sarmal formuna dönüşmesi), hibridizasyon (oligonükleotid primerlerin uygun sıcaklıkta hedef DNA'ya bağlanması) ve polimerizasyon (taq DNA polimeraz enzimi ile primerlere nükleotid eklenmesi ve DNA zincirinin uzatılması) aşamalarından oluşmaktadır. İlk

olarak kalıp DNA, 93-95 °C’de 1-2 dakika ısıtılarak çift zincirli yapısı açılır ve tek zincirli bir forma dönüşür. Ardından 45-55 °C arasında oligonükleotid primerler, tek zincirli DNA’nın tamamlayıcı bölgelerine bağlanır. Primerlerin guanin ve sitozin içeriği arttıkça bağlanma sıcaklığı da yükselir. Son olarak, Taq DNA polimeraz enzimi 70-75 °C’de ortamda bulunan dNTP’leri kullanarak yeni DNA zincirini 5'→3' yönünde uzatır. Bu süreç, her döngüde hedef DNA bölgesinin katlanarak çoğalmasını sağlar (Somma ve Querci, 1998;Dilsiz, 2009).

Amplifikasyon ile çoğaltılan DNA, daha sonra restriksiyon enzimleri kullanılarak belirli parçalara ayrılır. Bu parçalar, agaroz jel elektroforezinde ayrıştırılarak ethidium bromide ile boyanır ve UV ışık altında incelenir. DNA ve ethidium bromide (EtBr) etkileşimi sonucu oluşan floresans, siyah zemin üzerinde beyaz bantlar şeklinde görünür. DNA bantları, fragmentlerin büyüklükleri ve miktarları temel alınarak değerlendirilir (Dilsiz, 2009).

2.3.2.2. Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA-polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PCR)

RAPD-PCR parmak izi analizi, LAB’nin sınıflandırılmasında sıklıkla tercih edilen PCR tabanlı bir tekniktir. Bu yöntemde, 20-25 baz çiftinden (bp) oluşan bir veya daha fazla rastgele primer kullanılarak, bakteri genomunun farklı bölgelerindeki polimorfizmleri tespit edilmektedir. Primerlerin rastgele bağlanması sayesinde, genoma ait kromozomal DNA dizilerinin birçok bölgesi çoğaltılmaktadır (Williams ve ark., 1990;Sharma ve ark., 2020). Yeni izole edilen bakteri suşların genetik dizi bilgisi bulunmadığında, suşa özgü primerler geliştirilmesi için öncelikli olarak RAPD analizi tercih edilmektedir (Plessas ve ark., 2017).

RAPD-PCR tekniği genel uygulanabilirliği, hızlı sonuç verme kapasitesi ve düşük maliyet gibi avantajlara sahiptir. Primer sayısının artırılması, yöntemle elde edilen ayırım gücünü de arttırmaktadır. (Ngoi ve ark., 2015). Ayrıca, bu teknik hedef DNA dizisi hakkında ön bilgi gerektirmemekte ve yalnızca az miktarda bakteri

DNA'sı kullanılarak uygulanabilmektedir. Bu yönüyle tür, alt tür ve suşlar arasındaki genetik çeşitliliklerin tespitinde etkili bir araçtır (Ranjbar ve ark., 2014; Kaur ve ark., 2017). Ancak tekrarlanabilirliğinin zayıf olması, RAPD-PCR'ın en belirgin dezavantajları arasında yer alır. Bu durum, DNA miktarı ve kalitesi, primer konsantrasyonu, PCR tamponu ve tavlama sıcaklığı gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Sorunun çözümü için PCR protokolünün dikkatlice optimize edilmesi önerilmektedir (Manan ve ark., 2009).

2.3.2.3. DNA sekans analizi

Sekans analizi, DNA molekülündeki nükleotid diziliminin belirlenmesi amacıyla uygulanan bir yöntemdir. Özellikle 16S rRNA geninin yüksek derecede korunmuş bölgeleri, farklı bakteriler arasında kapsamlı analiz mümkün kılmaktadır. Binlerce bakteriye ait 16S rRNA dizi verilerinin karşılaştırılması sonucunda, bu genin filogenetik sınıflandırmada temel bir araç haline geldiği görülmüştür. Ayrıca 16S rRNA analizleri, mikroorganizmalar arasındaki bilinmeyen evrimsel ve akrabalıklar ilişkilerini aydınlatarak mevcut sınıflandırma sistemlerinin güncellenmesine ve farklı filogenetik yapıların ortaya çıkmasına olanak tanımaktadır.

Karşılaştırmalı DNA dizi analizi, mikrobiyal tanımlamada kullanılan en güçlü genotipik yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu analiz yöntemi, genellikle 16S rRNA geninin belirli bir kısmının veya tamamının PCR ile amplifikasyonu ve ardından sekanslama işlemiyle gerçekleştirilir. Böylelikle bakterilerin tür seviyesinde doğru bir şekilde tanımlanması ve filogenetik bağların incelenmesi sağlanmaktadır.

Sekanslama sonucunda elde edilen diziler, BLAST gibi biyoinformatik araçlarla analiz edilerek, NCBI GenBank veri tabanındaki kayıtlı dizilerle karşılaştırılmaktadır (Tunail, 2009; Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011).

2.4. Peynirde Moleküler Karakterizasyonla İlgili Yapılan Çalışmalar

Bu bölümde, geleneksel süt ürünlerinden izole edilen ve farklı moleküler yöntemlerle identifikasyonu yapılan laktik asit bakterileri (LAB), bu bakterilerin teknolojik özellikleri ve süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılma potansiyelleri ile ilgili yapılan çalışmalar yer almaktadır.

Geleneksel çiğ süt peynirlerinde yer alan starter olmayan laktik asit bakterilerinin (NSLAB) dağılımı olgunlaşma süresince değişiklik göstermektedir. Bu durumun üretim metodundaki farklılıklar, kullanılan hammaddenin (inek, koyun, keçi ya da bunların karışımları) çeşitliliği ile coğrafi orijine özgü mikrofloranın etkisinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Gobbetti ve ark., 2002). Pastörize süt kullanılarak üretilen peynirlerle kıyaslandığında, bu tür peynirlerin daha zengin ve özgün tat profillerine sahip olması, NSLAB'ın yapısal ve işlevsel çeşitliliği üzerine olan ilgiyi arttırmıştır. Bu sebeple geleneksel çiğ süt peynirlerinde biyokimyasal, fenotipik ve genotipik yöntemler kullanılarak laktik floranın suş düzeyinde karakterizasyonu belirlemek için çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Kültüre bağlı yöntemler en sık kullanılan yöntemlerdir, ancak bunlar iş yükünün fazla olması ve zaman alması nedeniyle tercih edilmemektedir (Alegria ve ark., 2012). Bu nedenle, kültürden bağımsız tekniklerin yanı sıra en son dizileme tekniklerinin kullanımı, bu tür peynirlerdeki mikrobiyal popülasyonların incelenmesinde büyük önem taşımaktadır (Ercolini ve ark., 2012).

Tulum peynirlerinden izole edilen LAB'nin tür tanımlamaları, 16S rRNA gen bölgeleri hedef alınarak PCR yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. PCR ile çoğaltılan ürünlerinin sekans analizi sonucunda 45 LAB türü tespit edilmiştir. bu analizler sonucunda *Lb. plantarum* (18), *E. faecium* (14), *Lb. curvatus* (3), *Lb. brevis* (2), *L. lactis* subsp. *diacetylactis* (1), *Leuc. mesenteroides* (1), *P. pentosaceus* (2), *P. acidilactici* (1), *E. durans* (1), *Str. thermophilus* (1), ve *E. italicus* (1) türleri belirlenmiştir (Karabekmez Erdem, 2020).

Uymaz ve ark. (2019), 16S rRNA gen dizi analizi kullanarak Ezine peynirinden izole ettikleri 190 LAB izolatını; 114 *Enterococcus spp.* (73 *E. faecium*, 36 *E. faecalis* ve 5 *E. lactis*), 48 *Lactobacillus spp.* (24 *Lb. paracasei*, 21 *Lb. plantarum* ve 1 *Lb. helveticus*), 13 *L. lactis ssp. lactis*, 3 *Leuc. mesenteroides*, 3 *Streptococcus spp.* (1 *Str. lutetiensis*, 1 *Str. infantarius* ve 1 *Str. macedonicus*), 3 *Weissella cibaria* ve 1 *Pediococcus pentosaceus* olarak tanımlamışlardır.

Gürses ve Erdoğan (2006), Tulum peyniri örneklerinden olgunlaşmanın farklı evrelerinde toplam 253 LAB türü izole etmiştir. İzolatların morfolojik özellikler, API 50CHL ve API 20STREP kitleri ile tanımlanması sonucunda 133'ünün *Lactobacillus spp.*, 44'ünün *Pediococcus spp.*, 29'unun *Enterococcus spp.*, 27'sinin *Leuconostoc spp.* ve 8'inin *Lactococcus spp.* türlerinden oluştuğunu ayrıca olgunlaşma periyodu boyunca *Lactobacillus* türlerinin sürekli arttığını bildirmişlerdir.

Doğu Anadolu bölgesinden toplanan Şavak Tulum peyniri örneklerinden izole edilen 240 LAB'nin mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIS) ile yapılan analizlerinde, izolatların %92'sinin *Lactobacillus spp.* türlerine ait olduğu ve 221 *Lactobacillus* türünün *Lb. parabuchneri* (94), *Lb. bifementas* (50), *Lb. buchneri* (14), *Lb. paracasei* (14), *Lb. fermentum* (12), *Lb. suebicus* (8), *Lb. casei* (6), *Lb. malefermentas* (5), *Lb. collinoides* (4), *Lb. cellobiosus* (3), *Lb. coryniformis* (3), *Lb. confusus* (2), *Lb. kefir* (2), *Lb. vaccinostercus* (2), *Lb. brevis* (1) ve *Lb. helveticus* (1)'tan oluştuğu bildirilmiştir (Şengül ve Çakmakçı, 2003).

RAPD-PCR tekniği, son yıllarda LAB'nin karakterizasyonunda birçok araştırmacı tarafından etkili bir şekilde kullanılmıştır (Galanis ve ark., 2015; Mohkam ve ark., 2016; Sharma ve ark., 2016; Plessas ve ark., 2017; Kakelar ve ark., 2019; Sharma ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2020).

Silva ve ark. (2022), Brezilya Mozzarella peynirinden izole ettikleri 152 LAB'nin biyoçeşitliliğini 16S rRNA gen dizilimi, RAPD-PCR ve RFLP-PCR

tekniklerini kullanarak değerlendirmeleri sonucunda tür dağılımını, %32.55 *Leuc. mesenteroides*, %19.092 *Lb. casei*, %11.29 *Lb. fermentum*, %11.29 *Enterococcus sp.*, %8.06 *Lb. delburueckii* subsp. *bulgaricus*, %8.06 *Leuc. citreum*, %4.83 *Str. thermophilus*, %1.61 *E. faecalis*, %1.61 *L. garvieae* ve %1.61 *Lb. helveticus* olarak tespit etmişlerdir.

İspirli (2016), geleneksel yöntemlerle üretilen Tulum peyniri örneklerini inceleyerek LAB türlerini RAPD-PCR ve 16S rRNA gibi moleküler yöntemler kullanarak tanımlamış ve EPS üretim kapasitelerini araştırarak bu türlerin starter veya yardımcı kültür olarak kullanılabilirliğini değerlendirmiştir. Çalışma kapsamında Tulum peynirlerinden toplam 101 LAB suşu izole etmiş ve moleküler yöntemlerle tanımlamıştır. Bu suşların 50'sinin *Lb. plantarum*, 6'sının *Lb. paracasei*, 5'inin *Lb. crustorum*, 4'er adedinin *Lb. brevis* ve *W. paramesenteroides*, 21'inin *L. lactis* subsp. *lactis*, 10'unun *L. garvieae*, ve 1'inin *Str. thermophilus*'tan oluştuğunu bildirmiştir. Ayrıca LAB suşlarına ilave olarak Tulum peynirlerinden 69 *E. faecium*, 22 *E. faecalis*, 9 *E. italicus*, 6 *E. thailandicus*, 5 *E. cloacae*, 4 *E. hirae*, 2 *E. mundtii*, 16 *Shigella flexneri*, 14 *Shigella sonnei*, 4 *Burkholderia gladioli*, 3 *Raoultella ornithinolytica*, 2 *Staphylococcus saprophyticus*, 2 *Str. porcorum*, 2 *Macrococcus caseolyticus*, 11 *Pluralibacter gergoviae* olmak üzere toplam 171 adet NSLAB olabilecek ve aynı zamanda belirli türlerin patojen olabileceği suşları izole edip tanımlamıştır. Starter olarak kullanılabilecek türlerin yanı sıra peynir üretiminde ilave kültür olarak kullanılabilecek *E. mundtii*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. thailandicus*, *E. faecalis*, *E. italicus*, *Enterobacter cloacae* suşlarını da tespit etmiştir.

Mut yöresinde çiğ süttten yapılan ve keçi derisinde 180 gün olgunlaştırılan geleneksel Tulum peynirinde laktik asit bakteri çeşitliliğini olgunlaşma periyodu boyunca belirlemeyi amaçlayan bir çalışmada, olgunlaşmanın ilk döneminde, *E. faecium* ve *Lb. plantarum* suşlarının baskın olduğu ve bunları *E. hirae* ve *Str. gallolyticus*'un takip ettiği saptanmıştır. *E. faecium* suşlarının olgunlaşmanın 60. günden itibaren hakim tür haline geldiği, olgunlaşma sonunda ise floranın *E. faecium*,

E. hirae ve *Str. gallolyticus* türlerinden oluştuğu rapor edilmiştir (Demirci ve ark., 2021).

Diyarbakır ve Şanlıurfa illerindeki çeşitli süt işletmelerinden temin edilen çiğ süt ve telemesi haşlanmış peynir örnekleri üzerinde yapılan çalışmada, LAB florasının belirlenmesi amacıyla izole edilen 141 izolat rep-PCR ve API test kiti ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, 62 izolat *Lactococcus* spp. (50 *L. lactis* spp. *lactis*, 11 *L. lactis* spp. *cremoris* ve 1 *L. raffinolactis*), 29 izolat *Lactobacillus* spp. (19 *Lb. plantarum*, 4 *Lb. rhamnosus*, 3 *Lb. brevis*, 2 *Lb. pentosus* ve 1 *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*), 25 izolat *Enterococcus* spp. (12 *E. faecium*, 7 *E. avium* ve 6 *E. faecalis*), 17 izolat *Leuconostoc* spp. (8 *Leuc. mesenteroides* ssp. *mesenteroides*, 5 *Leuc. mesenteroides* ssp. *dextranicum* ve 4 *Leuc. lactis*), ve 8 izolat *Pediococcus pentosaceus* olarak tanımlanmıştır. Sonuç olarak, geleneksel starter kültürlerde en fazla bulunan türlerin *Lactococcus* sp. (1. sırada), *Lactobacillus* sp. (2. sırada) ve *Enterococcus* sp. (3. sırada) olduğu tespit edilmiştir. Telemesi haşlanmış peynirlerde ise en baskın flora sırasıyla *Lactococcus* sp., *Pediococcus* sp. ve *Lactobacillus* sp. olarak belirlenmiştir. Tanımlanan *Lactococcus* türleri arasında %80.64 oranında *L. lactis* spp. *lactis* türü öne çıkmış ve bu türün geleneksel peynirlerde *L. lactis* spp. *cremoris* ile birlikte doğal florada yer aldığı, peynirin aroma gelişimi ve diğer belirli etkileri üzerinde rol oynadığı vurgulanmıştır (Şenocak Soran, 2018).

Başka bir çalışmada, İran'ın Horasan eyaletinde yerel bir peynir çeşidi olarak üretilen Kürt peynirinde olgunlaşmanın belirli aşamalarında çeşitli biyokimyasal testler ve moleküler analizler ile laktik floranın belirlenmesi amaçlanmıştır. Belirlenen 105 LAB izolatının; *Enterococcus faecium* (%29.5), *Lactobacillus plantarum* (%16.2), *Enterococcus faecalis* (%13.3), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (%11.4), *Enterococcus durans* (%8.6), *Lactobacillus pentosus* (%8.6), *Lactobacillus casei* (%3.8), *Enterococcus hirae* (%2.9), *Lactobacillus paracasei* (%2.9), *Lactobacillus helveticus* (%1.9) ve *Lactobacillus brevis* türlerinden oluştuğu bildirilmiştir. Kürt peynirinde olgunlaşmanın ilk aşamalarında, *L. lactis* subsp. *lactis*, daha sonraki

aşamalarda ise *E. faecium* ve *Lb. plantarum*'un baskın LAB olduğu belirlenmiştir (Milani ve ark., 2017).

Afyon Tulum peynirinde laktik floranın % 53,01'i *Lactobacillus spp.*, %12,04'ü *Lactococcus spp.*, %8,43'ü *Leuconostoc spp.*, %1,20'si *Pediococcus spp.* ve %25,30'u *Enterococcus spp.*'den oluştuğu belirtilmiştir. API 50 CHL ve API 20 STREP test kitleriyle yapılan identifikasyonda en yüksek oranda *Lb. paracasei ssp. paracasei* (%15,66) suşu tespit edilmiştir (Kara ve Akkaya, 2015).

Slovakya'da koyun sütünden üretilen peynirlerde Fourier transform kızılötesi (FTIR) spektroskopisi kullanılarak izole edilen 404 izolatların çoğunda baskın türün *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* olduğu ardından *Lb. curvatus*, *Lb. casei* ve diğer *Lactobacillus*, *Lactococcus* ve *Leuconostoc* türlerinin de ortama hakim olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, FTIR'ın yakından ilişkili türler de dahil peynirden izole edilen LAB'nin karakterizasyonunda ve peynirdeki biyoçeşitliliğin kültüre dayalı analizinde izolatların hızlı gruplandırılması için etkili bir şekilde kullanılabileceği beyan edilmiştir (Ženišová ve Kuchta, 2015).

Çiğ inek sütünden yapılan geleneksel Kars Kaşar peynirlerinin olgunlaşması sırasında NSLAB mikrobiyotasının araştırıldığı bir çalışmada, peynirler 180 güne kadar olgunlaştırılmış, olgunlaşma sırasında izolatların PCR parmak izi ve ardından 16S rRNA ile sayısal analiz tanımlaması yapılmıştır. Elde edilen LAB izolatlarının büyük bir çoğunluğunun; *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus acidilactici* türlerinden oluştuğu ve bu türlerin olgunlaşma boyunca tüm Kars Kaşar peyniri örneklerinde hakim florayı oluşturduğu saptanmıştır (Aydemir ve ark., 2015).

Matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) tekniği, parçacıkların iyonize edilip, kütle/yük oranlarına göre ayrıldığı ve bir uçuş süresi tüpü boyunca iyonların dedektöre ulaşma

süresinin ölçüldüğü bir analitik tekniktir. Bu teknik bakteri identifikasyonunda son yıllarda büyük ilgi görmüş ve uygulanmaya başlanmıştır.

Oğuz ve Andıç (2024), Kars Kaşar peynirinin peynir altı suyundan 170 izolatu MALDI-TOF MS yöntemi kullanarak tanımlamışlardır. Bu izolatlardan 89'unu *Enterococcus spp.*, 57'sini *Lactobacillus spp.*, 23'ünü *Streptococcus spp.* ve 1'ini ise *Lactococcus spp.* olarak belirlemişlerdir.

Gantzias ve ark. (2020), Yunan adası Naxos'taki geleneksel peynirlerden elde edilen NSLAB'nin büyük bir çoğunluğunu (%95.5) MALDI-TOF MS ile tanımlamışlardır. MALDI-TOF MS tekniğiyle gerçekleştirilen ve pheS dizi analizi ile doğrulanan 88 izolatin 35'i *Lactobacillus brevis*, 23'ü *Lactobacillus plantarum*, 9'u *Lactococcus lactis*, 9'u *Leuconostoc mesenteroides*, 5'i *Lactobacillus paracasei*, 3'ü *Lactobacillus rhamnosus*, 3'ü *Pediococcus pentosaceus* ve 1'inin *Enterococcus faecium*'dan oluştuğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, *Lb. brevis* ve *Lb. plantarum*'un baskın türler olduğunu ve tüm peynir tiplerinde bulunduğunu, buna karşın *L. lactis*, *Leuc. mesenteroides*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *P. pentosaceus* ve *E. faecium*'un daha az sıklıkla izole edildiğini bildirmişlerdir.

MALDI-TOF MS tekniğinin kullanıldığı başka bir çalışmada, geleneksel yöntemle üretilmiş köy peynirlerinden izole edilen 71 LAB'i; (24) *E. faecium*, (18) *E. faecalis*, (6) *E. durans*, (2) *E. italicus*, (2) *Lb. paracasei*, (1) *Lb. brevis*, (1) *Lb. plantarum*, (3) *L. lactis*, (11) *Leuc. mesenteroides*, (1) *Leuc. lactis* ve (2) *Str. parauberis* olarak tanımlanmıştır (Kanak, 2017).

Beyaz peynirden izole edilen LAB'nin 16S rRNA gen dizisi analizi ile tanımlanması ve teknolojik özelliklerinin karakterizasyonu test edilmiştir. Dizileme sonucu; *E. faecium* (%30.6), *Str. lutetiensis* (%13.2), *E. faecalis* (%12.5), *L. lactis* (%7.6), *Lb. paracasei* (%7.6), *Lb. plantarum* (%6.3), *Str. macedonicus* (%4.9), *Lb. curvatus* (%4.9), *Lb. paracasei spp. tolerans* (%3.5), *E. durans* (%2.7), *Lb. delbrueckii*

spp. *lactis* (% 2.1), *E. italicus* (%1.4), *Leuc. pseudomesenteroides* (%1.4), *Lb. paraplantarum* (%0.7) ve *P. parvulus* (%0.7) olmak üzere toplam 15 farklı LAB türü tanımlanmıştır. İzole edilen LAB'nin birçoğunun önemli teknolojik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Özellikle *L. lactis* L52 ve *Str. macedonicus* L36 suşları yüksek asit üretme kapasiteleri nedeniyle en umut verici starter kültür adayları olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca antimikrobiyal ve bakteriyosinogenik aktivite sonuçlarına dayanarak, *L. lactis* L54 suşunun biyoprotektif bir kültür olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Aktaş ve Erdoğan, 2022).

Beyaz peynirin üretim sürecinde ve olgunlaşma aşamalarının çeşitli dönemlerinde (çiğ ve pastörize süt, teleme, ön olgunlaştırma ve 30., 60., 90. ve 120. günler) izole edilen 319 izolatın, MALDI-TOF MS yöntemi ile identifikasyonu ve teknolojik özelliklerinin belirlendiği bir çalışmada, izolatların 107'si *Streptococcus* spp. (41 *Str. gallolyticus*, 27 *Str. lutetiensis*, 14 *Str. equinus*, 12 *Str. thermophilus*, 10 *Str. infantarius*, 2 *Str. macedonicus* ve 1 *Str. suis*), 73'ü *Enterococcus* spp. (37 *E. faecalis*, 27 *E. faecium*, 7 *E. gallinarum*, 1 *E. casseliflavus* ve 1 *E. durans*), 56'sı *Lactobacillus* spp. (27 *Lb. plantarum*, 14 *Lb. curvatus*, 6 *Lb. paracasei*, 2 *Lb. gasseri*, 2 *Lb. coryniformis*, 1 *Lb. brevis*, 1 *Lb. vini*, 1 *Lb. agilis*, 1 *Lb. graminis* ve 1 *Lb. rhamnosus*), 38'i *Lactococcus* spp. (38 *L. lactis*), 36'sı *Pediococcus* spp. (36 *P. acidilactici*), 2'si *Weissella* spp. (2 *W. paramesenteroides*), 1'i *Leuconostoc* spp. (*Leuc. pseudomesenteroides*) ve 2'si *Staphylococcus* spp. (1 *S. sciuri*, 1 *S. cohnii*) olarak sınıflandırılmıştır. Teknolojik karakterizasyon sonucu, en iyi asidifikasyon kapasitesine sahip izolatların *P. acidilactici*, *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri olduğu, en yüksek proteolitik aktiviteyi gösteren izolatların ise *Lb. rhamnosus*, *Lb. paracasei* ve *Lb. plantarum* türleri olduğu tespit edilmiştir (Ektik, 2022).

Belarbi ve ark. (2022), Cezayir süt ürünleri ve çiftlik kaynaklarından izole edilen 38 LAB'nin genomik değişkenliği, biyoteknolojik potansiyeli ve güvenliğini araştırmışlardır. Araştırmada, izolatlar 16S rRNA geni ve parmak izi tabanlı yöntemlerle tanımlamış ve *E. faecium* (15), *E. durans* (2), *E. hirae* (2), *E. lactis* (1), *Lb. plantarum* (6), *L. lactis* (4), *Lb. brevis* (3), *Lb. paracasei* (3), *Lb. rhamnosus* (1) ve

P. acidilactici (1) suşlarını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, *L. lactis* LGMY8, *Lb. plantarum* LGMY30 ve *Lb. paracasei* LGMY31 suşlarının güvenli olduğunu ve yüksek asitleştirme, proteolitik aktivite, EPS üretimi ve istenmeyen bakterilerin inhibisyonu gibi bazı değerli biyoteknolojik özellikler gösterdiğini ve bu nedenle starter kültür olarak güçlü adaylar olduğunu bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada Nijerya'nın Güneydoğusundaki geleneksel fermente süt ürünlerinden izole edilen 100 LAB türü, rep-PCR ve 16S rRNA, pheS ve rpoA gen dizilimi dahil olmak üzere fenotipik ve genotipik tekniklerle tanımlanmıştır. Ayrıca izolatlar, gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite, ekzopolisakkarit üretimi ve düşük pH'da ve safra tuzlarının varlığında hayatta kalma açısından da karakterize edilmiştir. Tanımlama sonucu izolatlar *Lb. fermentum* (%40), *Lb. delbrueckii* subsp. *indicus* (%23), *Str. thermophilus* (%22), *Str. infantarius* (%10), *Lb. senioris* (%2), *Leuc. pseudomesenteriodes* (%2) ve *E. thailandicus* (%1) olarak sınıflandırılmıştır. *Lb. fermentum*'un düşük pH'da geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite ve hayatta kalma yeteneği gösterdiği, *Lb. delbrueckii* subsp. *indicus*'un ise düşük pH'ı tolere edebildiği ve EPS ürettiği rapor edilmiştir. Araştırmada *Lb. fermentum*, *Lb. delbrueckii* subsp. *indicus* ve *Str. thermophilus* suşlarının Afrika'da güvenli fermente süt ürünleri üretiminde starter kültür olarak kullanılabilme potansiyeli taşıdığı belirlenmiştir (Obioha ve ark., 2021).

Akoğlu ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada, 50 adet Mengen peynirinden toplam 117 LAB'i izole etmişlerdir. Peynirde laktik floranın %44.5'inin *Enterococcus spp.*, %29.9'unun *Lactobacillus spp.* ve %25.6'sının *Lactococcus spp.*'den oluştuğunu belirlemişlerdir. Elde edilen izolatların asidifikasyon kapasiteleri ve proteolitik aktiviteleri değerlendirilmiş ve en yüksek asidifikasyon ve proteolitik aktiviteye sahip 22 suş, 16S rDNA dizi analiziyle tanımlanmıştır. Bu suşlardan 15'i (%63) *Enterococcus spp.*, 5'i (%21) *Lactococcus spp.*, 1'i (%4) *Lactobacillus spp.* ve 1'i (%4) *Weissella spp.* olarak bildirilmiştir.

Medeiros ve ark. (2016), yaptıkları bir çalışmada, Brezilya'nın Kuzeydoğu bölgesinde üretilen geleneksel Coalho peynirinden izole ettikleri LAB kolonisinin (%40.1) *Lactococcus*, (%35.3) *Enterococcus*, (%18.6) *Streptococcus*, (%5.5) *Lactobacillus*, (%0.4) *Leuconostoc* ve (%0.2) *Weissella* türlerinden oluştuğu tespit edilmiştir.

İran'a özgü geleneksel bir peynir olan Siahmazgi peynirinde LAB karakterizasyonu biyokimyasal testler ve 16s rDNA dizilemesi ile yapılmıştır. Çalışmada izole edilen suşlar *Lb. plantarum* (%41.6), *Lb. brevis* (%39.2), *Lb. parabuchneri* (%0.8), *E. faecium* (%13.6), *E. durans* (%3.2) ve *P. parvulus* (%1.6) olarak belirlenmiştir (Partovi ve ark., 2015).

Laboratuvar ortamında çiğ inek sütü kullanılarak üretilen 7 beyaz peynirden toplam 145 koloni izole edilmiş ve bunlardan 77'si biyokimyasal identifikasyon yöntemleri ve Gram-pozitif ID test kiti ile incelenmiştir. Yapılan tanımlamalara göre bu izolatlardan 25'nin *Lactococcus spp.*, 22' nin *Enterococcus spp.* ve 30'nin ise *Lactobacillus spp.* olduğu tespit edilmiştir. Tanımlanan 77 bakterinin laktik asit üretimi, proteolitik ve dekarboksilaz aktivitesi, antibiyotik duyarlılığı, organik asit üretimi ve aroma bileşenleri incelenmiş olup analiz sonuçlarına dayanarak *L. lactis* (PeLc2, PeLc6 ve PeLc15), *Lb. jensenii* PeLb73, *Lb. plantarum* PeLb75, *E. durans* PeE26, *E. faecium* PeE32 ve *E. faecalis* İE25 suşlarının peynir endüstrisinde uygun starter kültür olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Ertürkmen ve Öner, 2015).

Koyun sütü kullanılarak üretilen geleneksel Urfa peynirinde hakim LAB florasının biyokimyasal, fenotipik ve genotipik yöntemlerle karakterize edildiği bir çalışmada elde edilen izolatların; *Enterococcus spp.* (%48.95), *Lactococcus spp.* (%40.55), *Lactobacillus spp.* (%9.10), *Streptococcus spp.* (%0.69) ve *Leuconostoc spp.* (%0.69) türlerinden oluştuğu bildirilmiştir. En fazla tespit edilen tür olan *Enterococcus*'ların %40.0'ı *E. faecium*, %32.8'i *E. durans*, %18.5'i *E. faecalis* olarak sınıflandırılmıştır. *Lactococcus* türlerinin ise %62.71'i *L. lactis spp. lactis* ve %30.50'si *L. garvieae* olarak belirlenmiştir. Urfa peynirindeki yüksek tuz oranının,

tuza dayanıklı bakterilerin baskın olarak var olmasına neden olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, laktokok türlerinden %74.57'sinin %6.5 NaCl ortamında gelişim gösterdiği ve bu bağlamda 3 laktokok izolatının (*L. lactis* spp. *lactis* 62, *L. garvieae* 44, *L. lactis* spp. *cremoris* 63) starter kültür olarak Urfa peyniri üretiminde kullanıldığı belirtilmiştir (Kırmacı ve ark., 2016).

Kunduhoglu ve ark. (2012), Kargı tulum peynirde bulunan LAB'nin genotipik karakterizasyonun sonucu peynirde baskın suşların *Lb. paracasei* (%43.3), *Lb. plantarum* (%23.7), *E. durans* (%6.2), *Str. thermophilus* (%6.2), *Lb. brevis* (%5.2), *E. faecium* (%5.2), *Lb. fermentum* (%4.1) ve *Lb. pentosus*'tan (%1) oluştuğunu saptamışlardır. Teknolojik karakterizasyon sonucu *Lb. paracasei*-19 ve 111, *Lb. plantarum*-10, 45 ve 71, *Str. thermophilus*-59, *E. durans*-9 ve 106 ile *E. faecium*-24 ve 37 gibi homofermentatif suşların yüksek tuz konsantrasyonuna tolerans, asitleştirme yeteneği, düşük proteinaz ve yüksek peptidaz, esteraz, esteraz-lipaz, β -galaktozidaz ve β -glukozidaz aktiviteleri sebebiyle potansiyel starter kültürler olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Elçioğlu (2010), Kargı Tulum peynirinden izole edilen LAB'nin starter ve probiyotik özelliklerini inceleyen çalışmasında, izolatları tanımlamak için API CH50 ve API 20 (Strep) test kitlerini kullanmıştır. Tanımladığı izolatları; *Lb. plantarum* (22), *Lb. brevis* (11), *Lb. paracasei* subsp *paracasei* (9), *Lb. pentosus* (3), *Lb. fermentum* (3), *Lb. curvatus* subsp *curvatus* (1), *Lb. rhamnosus* (1), *E. durans* (9), *E. faecium* (5), *Str. thermophilus* (13), *Str. mitis* (1), *Str. equinus* (1) olarak belirlemiştir. Çalışmada, *Lb. brevis*, *Lb. paracasei* subsp *paracasei* ve *E. faecium* türlerine ait bazı suşların belirli antibiyotiklere karşı direnç gösterdiğini ve laktaz, H₂O₂, diasetil ya da bakteriyosin benzeri maddeler üreterek probiyotik potansiyel taşıdığını bildirmiştir. Ayrıca, izole edilen suşların çoğunun peptidaz üretebilme kapasitesine sahip olduğunu, esteraz-lipaz ve peptidaz aktivitesi yüksek olan fakat proteinaz aktivitesi düşük suşların homofermentatif özellikleri sayesinde Kargı Tulum peyniri üretiminde starter kültür olarak kullanılabileceğini ifade etmiştir.

Çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden alınan 170 izolata BOXAIR primeri kullanılarak yapılan Rep-PCR analizi sonucunda; *Lb. plantarum* (50), *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* (30), *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* (16), *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (15), *Lb. fermentum* (12), *E. faecium* (35) ve *L. lactis* subsp. *lactis* (12) olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan suşların bazı teknolojik özellikleri incelenmiş ve *Lactococcus spp.*'nin %2'si, *Lactobacillus spp.*'nin %10'u ve *Enterococcus spp.*'nin %1'i yüksek asidifikasyon kapasitesi sergilediği bildirilmiştir. *Lactobacillus spp.*'nin aminopeptidaz ve otolitik özelliklerinin diğer türlerden daha yüksek olduğu, bu özelliklerin en yüksek olduğu suşun ise *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Lactococcus* (%40), *Lactobacillus* (%70) ve *Enterococcus* (%50) izolatlarının antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Mohammed ve ark., 2009).

Portekiz'de üretilen geleneksel çiğ keçi sütü peynirlerinden izole edilen ve antimikrobiyal kapasite, asitleştirici ve proteolitik özellikler açısından en iyi teknolojik karakter gösteren 40 LAB suşu 16S rRNA dizilimi ile tanımlanmıştır. Çalışmada, 11 *Leuconostoc mesenteroides* suşlarının %98'i ile 7 *Lacticaseibacillus paracasei*, 1 *Loigolactobacillus coryniformis* ve 1 *Lactobacillus plantarum* suşlarının tamamı *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *S. enterica* ser. *typhimurium*'a karşı antagonizma gösterdiği, buna karşın *Lactococcus* (10 *L. lactis* ve 4 *L. cremoris*) suşlarının %13.3'ü ile 6 *E. faecalis* suşunun %28.1'i *L. monocytogenes* ve *S. enterica* ser. *typhimurium*'a karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. *S. aureus*'a karşı ise antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmada, *L. lactis* 121 ve *L. cremoris* 125 suşlarının yüksek asitleştirme kapasitesi gösterdiği, sadece *Lb. plantarum* 16 ve *Lb. coryniformis* 24'ün kazeini hidrolize edebildiği saptanmıştır. Sonuç olarak peynir üretim sürecinde sütün uygun şekilde asitleştirilmesi ve patojen gelişiminin önlenmesi amacıyla istenilen teknolojik karakterdeki yerli LAB'nin starter kültür olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır (Silva ve ark., 2023).

Hadeif ve ark. (2023), geleneksel Cezayir peynirlerinden tanımladıkları *Lb. plantarum* B15, *Lb. casei* BM10 ve *E. durans* C30 suşlarının hızlı asitleşme, proteinleri

ve lipitleri hidrolize etme, aromatik bileşikler ve EPS üretme yeteneği gibi önemli teknolojik niteliklere sahip olduğunu ve *Listeria innocua*'ya karşı etkili antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Ye ve ark. (2021), *Lactocaseibacillus paracasei* ZFM54 tarafından üretilen yeni bir bakteriyosinin, hücre zarındaki gözenek oluşumu yoluyla *L. monocytogenes*, *M. luteus* ve *S. typhimurium* gibi hedeflenen gıda kaynaklı patojenlere karşı geniş spektrumlu bir inhibe edici etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Araújo Rodrigues ve ark. (2021), geleneksel Portekiz Serpa peynirinden izole edilen ve genel olarak güvenli kabul edildiği (GRAS) bildirilen 11 *Lactobacillus* suşunun teknolojik ve koruyucu performansının araştırmışlardır. Araştırmada, *Lb. plantarum* PL1 ve PL4'ün yüksek asitleştirme yeteneğine sahip olduğu, düşük D - laktik asit ürettiği, kullanılan tuz ve sıcaklıklara dayanma ile lipolitik ve hücre dışı proteolitik aktiviteler sergilediği tespit edilmiştir. Ayrıca *Lb. plantarum* PL1, *L. monocytogenes* CECT911, *L. monocytogenes* CECT934, *L. innocua* CECT910, *B. cereus* CECT131 ve *S. choleraesuis* CECT4395'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu sebeple araştırmacılar, *Lb. plantarum* PL1, ve PL4 bakteri suşlarının starter kültür için en iyi adaylar olabileceğini bildirmişlerdir.

Çiğ koyun sütünde üretilen Piacentinu Ennese peynirinden moleküler yöntemler (Rep-PCR genomik parmak izi, (GTG)₅ primeri ve MALDI-TOF MS) kullanılarak tanımlanan bazı LAB suşları, *E. coli* ATCC25922, *S. aureus* ATCC6538, *L. monocytogenes* DSM12464 ve *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* ATCC14028'e karşı antagonistik aktivite açısından test edilmiştir. Genel olarak, *Lb. rhamnosus*, *Lb. pentosus* ve *Lb. paracasei* suşları test edilen patojenlere karşı antagonistik aktivite gösterirken, *P. pentosaceus* suşlarının hiçbir patojenlerin gelişimini engellememiştir. Araştırmacılar, *Lb. rhamnosus* PE44, PE61, PE25 ve PE13 suşları ile *Lb. paracasei* PE24, PE85 ve PE86 suşlarının tüm patojenleri inhibe ederek 10 mm'den daha büyük inhibisyon zonları oluşturduğunu bildirmiştir (Pino ve ark., 2019).

Geleneksel Sokobanja peynirinde tanımlanan *Enterococcus* (1 *E. faecium* ve 1 *E. faecalis*), *Lactococcus* (10 *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*) ve *Lactobacillus* (1 *Lb. fermentum*, 1 *Lb. plantarum* ve 1 *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*) suşlarının; *Escherichia coli* ATCC25922, *Proteus mirabilis* ATCC12453, *Klebsiella ornithinolytica* KPMF8 ve *Aeromonas hydrophila*'a karşı antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, test edilen tüm izolatların, 10 ile 21 mm'lik inhibisyon bölgesi oluşturarak en az bir gösterge suşunun büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Muruzović ve ark., 2018).

Çiğ keçi sütünden üretilen peynirlerde potansiyel NSLAB olarak *Lactobacillus*'un teknolojik karakterizasyonunu amaçlayan bir çalışmada, toplam 25 *Lactobacillus* (16 *Lb. paracasei* ve 9 *Lb. rhamnosus*) izolatu tanımlanmıştır. Tanımlanan suşlar tuz toleransı, ekzopolisakkarit ve diasetil üretimi, proteolitik ve lipolitik aktivite, peptidaz aktivitesi, asitleştirme ve otoliz kapasiteleri bakımından incelenmiş ve dört suşun (3 *Lb. paracasei* ve 1 *Lb. rhamnosus*) endüstriyel üretim için gerekli tüm teknolojik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Meng ve ark., 2018).

Campagnollo ve ark. (2018), Minas peynirinden izole ettikleri LAB suşlarından 4 *Enterococcus faecalis*, 1 *Lactobacillus brevis* ve 1 *Lactobacillus plantarum*'un anti-listerial aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Hazır Dalca (2015), GTG₅ parmak izi ve 16S rDNA dizi analizi kullanarak çiğ süt ve peynirlerden yüksek otoliz oranına sahip 27 izolatu; *E. faecium* (8), *Lb. casei* (6), *Lb. plantarum* (2), *L. lactis* subsp. *lactis* (2), *L. lactis* subsp. *cremoris* (1), *Lb. pentosus* (1), *Lb. rhamnosus* (1), *Lb. helveticus* (1), *E. durans* (1), *E. faecalis* (1), *Str. macedonicus* (1), *Leuc. mesenteroides* (1) ve *P. acidilactici* (1) olarak tanımlamıştır.

Tulum peynirlerinden izole edilen LAB'nin anti-listerial etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, API 50 CHL testi kullanılarak 75 LAB türü tanımlanmıştır. Bu

izolatların %39.7'si *Lb. brevis* 1, %27.4'ü *Lb. brevis* 3, %20.6'sı *Lb. plantarum* 1, %5.5'i *Lb. paracasei* spp. *paracasei* 1, %4.1'i *Lb. pentosus*, %1.4'ü *Lb. brevis* 2, %1.4'ü *L. lactis* spp. *lactis* 1 olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, süt ürünlerinde ilk kez *Lb. pentosus* türünün tespit edildiği belirtilmiştir. Yapılan antimikrobiyal analizlerde, izolatların anti-listerial etkilerinin, süpernatantlardaki organik asitlerden kaynaklandığı saptanmış ve yalnızca *Lb. paracasei* spp. *paracasei* türüne ait iki izolatın H₂O₂ üreterek anti-listerial etki gösterdiği bulunmuştur (Hızarcı, 2011).

Bakteriyosin üreten *L. lactis* subsp. *lactis* suşunun fermente sütte *L. monocytogenes* kontaminasyonunu tespit edilemeyen seviyelere düşürdüğü (Benkerroum ve ark., 2002), çeşitli peynirlerde kullanılması sonucu ise *L. monocytogenes*'in gelişimini azalttığı rapor edilmiştir (Coelho ve ark., 2014;Riberio ve ark., 2016). Benzer şekilde bakteriyosin üreten *L. plantarum* , *Streptococcus* spp. ve *Enterococcus* spp. türlerinin çeşitli süt ürünlerindeki *L. monocytogenes* ve *S. aureus* kontaminasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Galvez ve ark., 2008;Mills ve ark., 2011;Pingitore ve ark., 2012;Coelho ve ark., 2014;Ribeiro ve ark., 2017;Vandera ve ark., 2017).

Bulgar beyaz peynirinden izole edilen dört *E. faecium* suşunun, *L. monocytogenes* ve *Enterococcus* spp.'ye karşı çok güçlü antimikrobiyal aktivite sergilediği ve bu nedenle fermente gıda ürünlerinde biyokoruyucu kültürler olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Favaro ve ark., 2014).

Bosna Hersek çiğ süt peynirinden izole edilen *E. faecium* BGPAS1-3 suşunun, *Listeria monocytogenes* ATCC19111, *Acinetobacter baumannii* 6077/12, *Chromobacterium violaceum* CV026, *Enterococcus faecalis* BG221, *Bacillus subtilis* 168 ve *Erwinia carotovora* üzerinde inhibitör etki gösterdiği bazı yazarlar tarafından rapor edilmiştir (Terzić-Vidojević ve ark., 2015;Popović ve ark., 2019a;Popović ve ark.,2019b). Benzer şekilde Sırbistan Zlatar bölgesinde çiğ süttten izole edilen *E. faecium* BGZLM1-5 suşunun, *L. monocytogenes* ATCC 19111 ve *E. faecalis*

BG221'in gelişimini engellediği bildirilmiştir (Popović, 2019b; Terzić-Vidojević ve ark., 2007; Velijovic ve ark., 2007).

Heredia Castro ve ark. (2015), Meksika'nın Cocido peynirinden izole ettikleri *Lb. fermentum* suşunun disk difüzyon yöntemiyle *S. aureus*, *L. innocua*, *E. coli* ve *Salmonella cholerae*'ye karşı güçlü bir inhibitör aktivite sergilediğini rapor etmişlerdir.

Ortolani ve ark. (2010), çiğ süt ve yumuşak peynirlerden izole ettikleri LAB suşlarının %14.9'unun *L. monocytogenes*'e karşı inhibitör etki gösterdiğini ayrıca, genetik analiz yapılan 20 LAB suşunun *Lb. plantarum* (2) ve *L. lactis* subsp. *lactis* (18) türlerine ait olduğunu ve *L. lactis* subsp. *lactis* suşlarından 7'sinin nisin genini taşıdığını belirtmişlerdir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmanın materyalini, Muş ilinin farklı coğrafi bölgelerinde Mayıs-Ağustos aylarında Şekil 3.1’de gösterildiği gibi üretilen ve tüm popülasyonu temsil edebilmesi için 5 farklı işletmeden (A, B, C, D ve E) temin edilen, plastik ambalajlarda yarım kilogram (0,5 kg) paketlerden oluşan peynir örnekleri oluşturmaktadır.

3.1.1. Kullanılan besiyerleri, kimyasallar ve standartlar

Laktik asit bakterilerinin (LAB) sayım ve izolasyonunda kullanılan Man-Rogosa-Sharp (MRS) agar ve broth, M17 agar ve broth, Slanetz Bartley (SB) agar ile pepton water ve anaerocult Merck’ten (Darmstadt, Almanya), sodyum sitrat Tekkim’den (Bursa, Türkiye) satın alınmıştır.

Suşların identifikasyonunda kullanılan hidrojen peroksit (H_2O_2) Merck’ten; sukroz ve etanol Isolab Chemical’dan, Tris Thermo Fischer Scientific’ten; Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) Isochem’den; RNaz A, lizozim, asetik asit, potasyum asetat, sodyum dodesil sülfat (SDS), sodyum klorür (NaCl) ve izopropanol Sigma Aldrich’ten tedarik edilmiştir. PCR uygulamalarında kullanılan OPA-7 (5’GAAACGGGTG 3’) ve OPA-14 (5’TGCTGCAGGT 3’) evrensel primerler ile 20-F 5’-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3’ ve 1390-R 5’-GACGGGCGGTGTGTACAA-3’ spesifik primerleri BiOligo’dan; dNTP, $MgCl_2$, taq buffer tamponu, taq DNA polimeraz enzimi ABM’den (Kanada) sağlanmıştır. PCR örneklerinin jelde yürütülmesi için kullanılan agaroz, Vivantis’ten; loading dyne Sigma Aldrich’ten; DNA ladder ise Thermo Fischer Scientific’ten temin edilmiştir.

İzolatların teknolojik karakterizasyonu amacıyla kullanılan Orto-phthaldialdehide (OPA) Sigma Aldrich’ten, trikloroasetik asit (TCA) Biochem

Chemopharma'dan (Loire, France), Borik asit, β -merkaptotanol Merck'ten tedarik edilmiştir. İzolatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde daha önce antibakteriyel etkisi olduğu bilinen *Lactococcus lactis* SIK 1403 indikatör ve *Pediococcus pentasaceus* OZF kontrol suşları kullanılmıştır (Osmanağaoğlu ve ark., 2010).

Peynirde fizikokimyasal, serbest yağ asitleri ve uçucu bileşen analizleri için kullanılan sülfürik asit (H_2SO_4), amil alkol, potasyum kromat (K_2CrO_4), gümüş nitrat ($AgNO_3$), fenolftalein, sodyum hidroksit ($NaOH$), sodyum sülfat (Na_2SO_4), hekzan, dietil eter, formik asit ve dahili standart olarak 2 metil 3-heptanon ve 2 metil pentanoik asit Sigma Aldrich'ten, Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) ise Agilent'ten (ABD) sağlanmıştır.



Şekil 3. 1. Muş Tulum peyniri üretimi akım şeması

3.2. Yöntem

3.2.1. Peynirlerin depolanması ve örnek alımı

Peynir örnekleri yarım kilogram (0.5 kg) olarak plastik ambalajlar halinde alınmış ve $2\pm1^{\circ}\text{C}$, %80-85 bağıl nem de 90 gün depolanmıştır. Olgunlaşmanın 1., 45. ve 90. günlerinde peynir örnekleri blenderden geçirilerek homojen hale getirilmiş ve aşağıda belirtilen analizler yapılmıştır.

3.2.2. Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

25 g peynir örneği steril koşullarda alınarak 225 mL (%2 w/v) sodyum sitrat çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenize edilen peynir örnekleri, dilüsyon tüplerinde (%0.1'lik (w/v) peptonlu su) seyreltildikten sonra uygun besiyerlerine ekilmiştir.

Lactobacillus spp. ve *Lactococcus spp.* izolasyonları için MRS ve M17 agar ortamları kullanılarak ekim yapılmış ve sırasıyla 37°C ve 30°C 'de, 48-72 saat süreyle anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. *Enterococcus spp.* izolasyonu için ise SB agar kullanılarak 45°C 'de 48 saat anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir. Anaerobik koşullar, anaerobik jar ve anaerocult kullanılarak sağlanmıştır. Her bir örnekten farklı morfolojik görüntüye sahip 4 koloni seçilmiş ve çizme yöntemi ile saflaştırılmıştır. İzolatlar 1:1 oranında gliserol ile MRS ve M17 broth karışımına eklenip -20°C 'de dondurularak muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Laktik asit bakteri suşlarının identifikasyonu

3.2.3.1. Gram reaksiyonu

Norris ve ark. (1981) tarafından geliştirilen yöntemle göre yapılmıştır. Bir gece boyunca kültürlenmiş bakteri süspansiyonlarının gram boyamasıyla, menekşe moru renkli koloniler Gram-pozitif olarak sınıflandırılmıştır.

3.2.3.2. Morfolojik İnceleme

Gram boyama işlemi uygulanan suşlar, ışık mikroskobu altında morfolojik özelliklerine (kok, basil) göre sınıflandırılmıştır (Temiz, 2000).

3.2.3.3. Katalaz reaksiyonu

Petri kutusunda bulunan agarlı yüzeye 1 mL %3'lük H₂O₂ eklenerek gaz çıkışı gözlemlenmiştir. Gaz çıkışı meydana gelmeyen koloniler katalaz-negatif olarak kabul edilmiştir (Temiz, 2000).

3.2.3.4. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişebilme

Aktif kültürler, %4, %6.5 ve %10 tuz içeren sıvı besiyerlerine inoküle edilmiş ve inkübasyon (*Lactococcus spp.* için 30 °C'de 24-48 saat, *Enterococcus spp.* ve *Lactobacillus spp.* için ise 37 °C'de 24-48 saat) sonrası bulanıklaşan tüpler pozitif olarak kabul edilmiştir (Yüce, 2017).

3.2.3.5. Farklı sıcaklıklarda gelişebilme

Bir gece kültürlenmiş suşlardan 50 µL alınıp 5 mL sıvı besiyerine ekilmiş ve inkübasyona (*Lactococcus* ve *Enterococcus* türleri için sırasıyla 10 °C ve 45 °C'de 48-72 saat, *Lactobacillus* türleri için ise 15 °C ve 45 °C'de 48-72 saat) bırakılmıştır.

İnkübasyonun ardından bulanıklık görülen tüplerde gelişme olduğu kabul edilmiştir (Yüce, 2017).

3.2.3.6. Glikozdan CO₂ üretme

Glikoz eklenmiş M17 broth ve MRS broth içeren Durham tüpleri sterilize edildikten sonra aktif kültürlerle inoküle edilmiş ve inkübasyona (*Lactococcus spp.* için 30 °C’de 48 saat, *Enterococcus spp.* ve *Lactobacillus spp.* için ise 37 °C’de 48 saat) bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gaz oluşumu gözlemlenen tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fortina ve ark., 2003).

3.2.4. Suşların 16S rDNA sekans analizi ile moleküler olarak sınıflandırılması

3.2.4.1. Genomik DNA izolasyonu

Bir gece boyunca geliştirilen kültürlerden 2 mL alınarak ependorf tüplerine yerleştirilmiş ve 14000 rpm hızda, oda sıcaklığında (25 °C) 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Sonrasında süpernatant dikkatlice uzaklaştırılmış ve pelet, içinde %10 sukroz, 25 mM Tris (pH: 8.40), 25 mM EDTA (pH:8.00), 2 mg/mL lizozim ve 0.4 mg/mL RNaz A bulunan 200 µL sferoplast tamponunda yeniden çözündürülmüştür. Hücrelerin tamamen parçalanması amacıyla tüpler vorteks edilip 37 °C’de 25 dakika inkübe edilmiştir. Ardından, tüplere 50 µL %5 SDS içeren lizis tampon 1 ve 50 µL 5 M NaCl içeren lizis tampon 2 eklenmiş, karıştırıldıktan sonra 65 °C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun bitiminde tüplere 100 µL nötralizasyon tamponu (N₃) (60 mL 5M potasyum asetat, 11.5 mL glasiyal asetik asit ve 28.5 mL dH₂O) eklenerek 15 dakika buzda bekletilmiştir. Ardından, örnekler 16000 rpm ve 4 °C’de 15 dakika santrifüjlenip, 400 µL süpernatant yeni tüplere aktarılmış ve eşit miktarda izopropanol ilave edilmiştir. Örnekler 5 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletildikten sonra 20000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilerek DNA çökeltilmiştir. Üstte kalan süpernatant atılıp, pelet önce %96’lık ardından %70’lik etanol ile 5 dakika süreyle 20000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Son adımda, üstteki süpernatant dökülüp peletler oda sıcaklığında

kurutulmuş ve son olarak 10 µL steril su ile çözündürülerek PCR için genomik DNA hazır hale getirilmiştir (Osmanağaoğlu ve ark., 2010).

3.2.4.2. RAPD-PCR ile genotipik karakterizasyon

LAB izolatlarının tür içi biyoçeşitliliği, RAPD-PCR (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA-Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Bu işlemde, her petri kabından rastgele 4 koloni seçilmiştir. Seçilen kolonilerin aynı türden olma olasılığı göz önünde bulundurularak moleküler analiz yapılmış ve benzer bant profiline sahip kolonilerden biri tercih edilerek dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, OPA-7 (5'GAAACGGGTG 3') ve OPA-14 (5'TGCTGCAGGT 3') olmak üzere iki evrensel oligonükleotid primeri kullanılmıştır. PCR işlemi, Nyx Teknik marka termal siklör cihazında (Nyx Teknik, ABD) 25 µL hacminde hazırlanan bir reaksiyon karışımı ile yapılmıştır. Bu karışıma 16 µL saf su, 3 µL DNA, 1 µL primer, 1 µL dNTP, 1 µL MgCl₂, ve 2.5 µL 1× Taq buffer tampon ve 0.5 µL taq DNA polimeraz eklenmiştir. PCR koşulları, 40 döngüyle uygulanmış olup (94 °C'de 1 dakika denatürasyon, 36 °C'de 1 dakika tavlama ve 72 °C'de 1 dakika uzama) ve son olarak 72 °C'de 10 dakika süren bir ek döngü ile zincir uzaması sağlanmıştır.

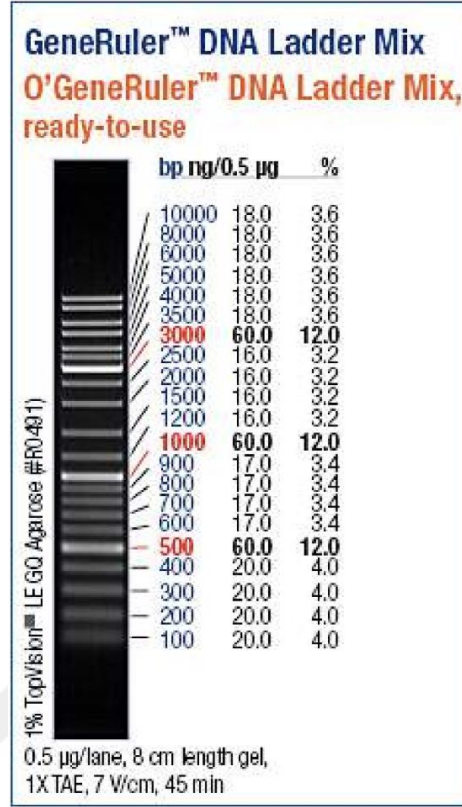
3.2.4.3. 16S rDNA dizi analizi

Suşların moleküler tanımlamaları, 16S rDNA gen bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle çoğaltılmasıyla yapılmıştır. Bu işlemde, 20-F 5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3' ve 1390-R 5'-GACGGGCGGTGTGTACAA-3' primerleri kullanılmıştır. Her bir örnek için 25 µL PCR karışımı hazırlanmıştır; karışıma, 14.5 µL steril su, 2.5 µL Taq buffer tampon, 1 µL dNTP, 1 µL her iki primer (primer I ve primer II), 0.5 µL Taq DNA polimeraz, 1.5 µL MgCl₂ ve 3 µL DNA eklenmiştir. PCR tüplerine konulan her örnek, 16S rDNA bölgesinin 900 bp'lik kısmının amplifiye edilmesi için kullanılmıştır. PCR işlemi, aşağıdaki termal döngüye tabi tutulmuştur: 94 °C'de 1 dakika süreyle 30 döngü, 54 °C'de 15 saniye, 72 °C'de 1 dakika; son olarak 72 °C'de 10 dakika süren zincir uzama adımı uygulanmıştır (Osmanağaoğlu ve ark., 2010). PCR sonuçlarının dizi analizleri, Genolysis Life

Sciences And Technologies Joint Stock Company’de (Tarım, Hayvancılık ve Gıda Teknokenti, Ankara, Türkiye) yapılmış ve sekanslama sonuçları BLAST programı ile NCBI GenBank veri tabanındaki dizilerle karşılaştırılmıştır (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

3.2.4.4. PCR örneklerinin agaroz jelde yürütülmesi

RAPD-PCR ve 16S rDNA reaksiyonları sonucu elde edilen DNA örnekleri, %1’lik agaroz jel elektroforezinde incelenmiştir. Bu işlemde, 0.5 g agaroz 50 mL 1X Tris-Borik asit-EDTA (TBE) tamponu içine eklenmiş ve yaklaşık 100 °C’de 2 dakika süreyle mikrodalga fırında çözünebilecek şekilde ısıtılmıştır. Sıcaklık 40 °C’ye düşürüldükten sonra, karışıma 2 µL Ethidium bromide eklenip homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Elektroforez küvetine 16 yuvalı bir tek tarak yerleştirildikten sonra hazırlanmış olan jel küvete dökülmüş ve kuyucukların oluşması için 30 dakika beklenmiştir. Oluşan kuyucukların 15’i örnekler için, 1’i ise marker için ayrılmıştır. PCR ürünlerinden 5 µL ve 6× yükleme boyasından (loading dyne) 2 µL alınıp, bir parafilm üzerinde karıştırıldıktan sonra kuyucuklara yüklenmiştir. Marker olarak 2 µL 10000-100 kb’lik DNA ladder kullanılmıştır. Örnekler yüklendikten sonra, 100 V akımda 30 dakika boyunca elektroforez işlemi yapılmıştır. İşlem bitiminde jel, Canon G11 Jel Görüntüleme cihazına yerleştirilip 360 nm dalga boyundaki UV ışığı altında görüntülenip kaydedilmiştir.



Şekil 3. 2. GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder

3.2.5. İzolatların teknolojik karakterizasyonu

3.2.5.1. İzolatların asidifikasyon kapasitesi

İzolatların asit üretme kapasitesini belirlemek için pH ölçümü ve titrimetrik metot (%L.A.) kullanılmıştır (Sarantinopoulos ve ark., 2001). Bu doğrultuda, dondurulmuş stoklardan alınan izolatlar MRS ve M17 besiyerlerinde laktokoklar için 30 °C’de, enterokok ve laktobasiller için ise 37 °C’de 24 saat kültüre edilmiştir. Hazırlanan kültürler, %1 oranında 10 mL steril UHT yağsız süte eklenmiş ve ardından 37 °C’de inkübasyona alınmıştır. İnkübasyon süresince 0., 3., 6., 9. ve 24. saatlerde aseptik olarak alınan 2 mL’lik örneklerin pH değerleri bir pH-metre (Orion model 250 A, Orion Research Inc., Boston, MA) ile ölçülmüş ve titre edilebilir asitlik analizi yapılmıştır.

3.2.5.2. İzolatların proteolitik aktivitesi

İzolatların proteolitik aktivitesi, serbest amino asit (SAA) konsantrasyonunun ölçümüne dayanan Orto-Phthalaldehyde (OPA) yöntemiyle analiz edilmiştir (Sáez ve ark., 2018). Bu analiz için, suşlar M17 ve MRS sıvı besiyerlerinde 37 °C’de 24 saat süreyle geliştirilmiştir. Daha sonra %1 oranında yağsız süte inoküle edilmiş suşlar 37 °C’de 20 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, 2.5 mL örnek alınarak 5 mL %0.75’lik trikloroasetik asit (TCA) ile deproteinize edilmiş ve elde edilen süpernatant Advantec 231 filtre kağıdından süzülmüştür. Elde edilen 150 µL filtrata 3 mL OPA reaktifi eklenmiş ve 25 °C’de 20 dakika bekletilmiştir. Bu işlemten sonra absorbans, Cary 60 UV-Vis spektrofotometre (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) ile 340 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

OPA reaktifi hazırlığında şu bileşenler kullanılmıştır; 40 mg opa 1 mL metanol içinde çözülmüş ve 25 mL 0.1M sodyum borat tamponu (0.155 g borik asit, 0.025 g NaOH, 25 mL saf su), 2.5 mL %0’lik (m/v) SDS ve 100 µL β-merkaptoetanol ile karıştırılmıştır. Son hacim saf su ile 50 mL’ye tamamlanmıştır. Sonuçlar sütteki serbest amino asit miktarı (mmol/L) olarak ifade edilmiştir. Proteolitik aktivite düzeyleri ise düşük (0-1 mmol/L), orta (1-2 mmol/L) ve yüksek (2-3 mmol/L) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5.3. İzolatların bakteriyosin aktivitesi

Bakteriyosin aktivitesini belirlemek için *Lactococcus* ve *Enterococcus* suşları M17, *Lactobacillus* suşları ise MRS sıvı besiyerinde 37 °C’de 24 saat boyunca kültüre edilmiştir. Bu kültürler daha sonra M17 ve MRS agar besiyerlerine aktarılmış ve 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından, gelişen koloniler steril bir kürdan aracılığıyla M17 ve MRS agar plakalarına nokta ekim yöntemi kullanılarak ekilmiş ve 37 °C’de 24 saat boyunca tekrardan inkübe edilmiştir. Suşların antibakteriyel aktivitesi, *Lactococcus lactis* SIK 1403 indikatör bakterisi ile test edilmiştir. İndikatör suş, M17 sıvı besiyerinde 37 °C’de 18 saat boyunca geliştirilmiştir. Bu kültür, %1 oranında 5 mL M17 yarı katı agar (%0.75 agar) ortamına

inoküle edilmiştir. Hazırlanan karışım, nokta ekimi yapılan M17 ve MRS plakalarının üzerine bir üst tabaka olarak dökülmüş düzgün bir şekilde yayılmıştır. Plakalar, indikatör bakterinin gelişimi amacıyla 37 °C’de 24 saat inkübayosyona bırakılmıştır. İnkübasyon tamamlandığında, izolatların indikatör bakteriyi inhibe ederek zon oluşturup oluşturmadığı gözlemlenmiştir.

Zonların, asit üretimi ya da bakteriyosin etkisinden oluştuğunu belirlemek için kuyu difüzyon testi yapılmıştır. Bu işlemde, 37 °C’de bir gece boyunca geliştirilen kültürlerden 2000 µL alınarak steril mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler, 12.000 rpm’de 10 dakika süreyle santrifüj edilip, süpernatanttan 1000 µL bir başka steril tüpe alınarak pH değeri 6 M NaOH ile pH 7.00’ye ayarlanmıştır. Ardından, süpernatant katalaz ile muamele edilmiş, 0.22 µm çaplı filtrelerden süzölmüş ve ardından 100 °C’de 5 dakika kaynatılmıştır. İndikatör olarak kullanılan *Lactococcus lactis* SIK 1403, 37 °C’de bir gece boyunca geliştirilmiş ve yarı katı besiyeri (%0.75 agar içeren) ortamına %1 oranında inoküle edilmiştir. Hazırlanan karışım, M17 agar plakalarının üzerine dökülmüş ve katılaşması için 10 dakika beklenmiştir. Steril cam borular kullanılarak yaklaşık 0.6 cm çapında kuyular açılmıştır. Kontrol grubu olarak pediyosin üreten *Pediococcus pentasaceus* OZF suşu kullanılmıştır. Her bir kuyuya 20 µL süpernatant eklenmiş, sıvının besiyerine difüze olması için 30-60 dakika beklenmiş ve plakalar 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Zon oluşumu gözlemlenen suşlar bakteriyosin pozitif olarak kabul edilmiştir (Osmanağaoğlu ve ark., 2010).

3.2.6. Muş Tulum peynirinde yapılan fizikokimyasal analizler

3.2.6.1. Kurumadde tayini

Muş Tulum peyniri örneklerinde kurumadde oranı, gravimetrik yöntemle tespit edilmiştir. Bunun için, önceden darası alınmış kurutma kaplarına 5 g peynir örneği tartılmış ve 105 °C’de sabit sıcaklıkta ayarlanmış etüvde 4 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra kaplar desikatöre alınarak

soğutulmuş ve hassas terazide tekrar tartılmıştır. Elde edilen sonuçlar, kurumadde yüzdesi (%) olarak aşağıdaki eşitliğe (3.1) göre hesaplanmıştır:

$$\text{Kurumadde (\%)} = \frac{a-b}{m} \times 100 \quad (3.1)$$

a= son tartım (kap + örnek) (g)

b= kap ağırlığı (dara) (g)

m= başlangıçtaki örnek miktarı (g)

3.2.6.2. Yağ ve kurumaddede yağ tayini

Peynir örneklerinde yağ miktarı, Van Gulik bütirometresi ile Gerber yöntemi kullanılarak % olarak analiz edilmiştir. İlk olarak, 3 g homojenize edilmiş peynir örneği bütirometrenin alt kısmına yerleştirilmek üzere tartılmış ve eklenmiştir. Üst tıpa çıkarıldıktan sonra içerisine 10 mL sülfirik asit (H₂SO₄) eklenmiştir. Örneklerinin tamamen çözünmesi için bütirometre, 70 °C sıcaklıkta bir su banyosunda bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra, 1 mL amil alkol eklenmiş ve bütirometrenin taksimatlı kısmı dolana kadar sülfirik asit ilave edilmiştir. Karışım iyice çalkalanarak homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan örnekler Gerber santrifüj cihazında 1200 devirde 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, yağ tabakasının berrak hale gelmesi için bütirometreler 65 °C’de su banyosuna bekletilmiştir. Yağ yüzdesi, bütirometrenin sıkalasından okunmuştur. Peynirdeki yağ oranının, kurumadde oranına bölünmesiyle % kurumaddede yağ miktarı tespit edilmiştir.

3.2.6.3. Tuz ve kurumaddede tuz tayini

Analiz için 5 g peynir örneği tartılmış, havanda iyice ezildikten sonra yaklaşık 45 °C sıcaklıktaki distile su ile homojenize edilmiştir. Elde edilen karışımdan yalnızca sıvı faz 500 mL’lik balon jojeye aktarılmıştır. Tuzun tamamen çözünmesini sağlamak amacıyla bu işlem birkaç kez tekrarlanmıştır. Karışım oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra saf su kullanılarak 500 mL’ye tamamlanmış ve süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen süzüntüden 25 mL alınarak üzerine 1-2 damla

potasyum kromat (K_2CrO_4) indikatörü eklenmiştir. Hazırlanan numune, tuğla kırmızısı bir renk oluşuncaya kadar 0.1 N gümüş nitrat ($AgNO_3$) çözeltisi ile titre edilmiştir. Tuz miktarı aşağıdaki formül (3.2) kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Tuz (\%)} = (A \times 0.0585)/B \quad (3.2)$$

A= Kullanılan 0.1 N $AgNO_3$ çözeltisinin hacmi (mL)

B= Kullanılan peynir miktarı (g) (bu değer 5 g peynir için 0.25 g olarak alınır).

Elde edilen tuz miktarı, kurumadde oranına bölünerek % kurumaddede tuz miktarı hesaplanmıştır.

3.2.6.4. Titrasyon asitliği tayini

Peynir örneğinden 10 g alınıp havanda iyice ezilmiş ve üzerine 100 mL saf su ilave edilerek homojen bir karışım oluşturulmuştur. Hazırlanan karışım, filtre kağıdı ile süzölmüş ve elde edilen süzöntüden 25 mL'lik bir örnek erlene aktarılmıştır. Bu örneğe 2-3 damla fenolftalein eklenmiştir. Titrasyon, bürete doldurulan 0.1 N NaOH çözeltisi kullanılarak kalıcı bir pembe renk oluşana kadar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuç aşağıdaki formül (3.3) yardımıyla asitlik değeri (%L.A.) olarak hesaplanmıştır:

$$\%L.A. = (V \times 0.009 \times 100)/m \quad (3.3)$$

V= Harcanan 0.1 N NaOH çözeltisinin hacmi (mL)

M= Titrasyon analizi için tartılan peynir miktarı (g)

3.2.6.5. pH tayini

Peynirden 10 g alınıp 15 mL saf su ile karıştırıldıktan sonra, standart tampon çözeltiyle kalibre edilen dijital bir pH-metre (Orion model 250 A, Orion Research Inc., Boston, MA) kullanılarak pH değeri belirlenmiştir.

3.2.7. Muş Tulum peynir örneklerinin serbest yağ asidi içeriğinin belirlenmesi

Serbest yağ asitlerinin (SYA) ekstraksiyonu ve miktar tayini, kapiler kolon (J&W 19091F - 433, Agilent Technologies, ABD; 30 m X 0.25 mm i.d; 0.25 µm film kalınlığı) ile donatılmış bir Agilent Gaz Kromatografisi (GC) (Agilent 7697A, Agilent Technologies, ABD) kullanılarak, Deeth ve ark. (1983) tarafından önerilen yöntemle Güler (2008) tarafından yapılan modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir.

Serbest yağ asitlerini elde etmek için 1 g peynir örneği, 3 g Na₂SO₄ ile karıştırılmış ve üzerine 5 mL iç standart çözeltisi (Heptanoik asit C7) ve 0.3 mL 4 N H₂SO₄ eklenmiştir. Karışım 1 dakika boyunca karıştırıldıktan sonra 5 mL hekzan ilave edilmiştir. Bu karışımdan elde edilen sıvı faz, Biorad kolonundan (0.8x4 cm, 2 mL besleme hacmi, Poly-prep, chromatography column) deaktive edilmiş alümina ile ekstrakte edilmeden önce 1 saat süreyle dinlendirilmiştir. Her numune her bir kolonda iki kez çözündürülmüştür. Sonrasında her kolon 5 mL hekzan/dietil eter (1:1 v/v) karışımı ile iki defa yıkanmış ve 5 psi hava basıncı ile kurutulup hekzan uzaklaştırılmıştır. Serbest yağ asitlerini içeren alümina, bir test tüpüne aktarılmış ve üzerine 2 mL %6 formik asit/eter karışımı eklenmiştir. Bu karışım, 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serbest yağ asitleri alüminyum oksitten ayrılmıştır. Elde edilen berrak sıvı, bir cam pasteur pipeti ile GC viallerine aktarılmış ve -18 °C'de saklanarak enjekte edilene kadar muhafaza edilmiştir.

GC koşulları şu şekilde belirlenmiştir: Enjeksiyon hacmi 2 µL olup, GC fırını 10 °C/dakika hızında 120 °C'den 230 °C'ye kadar ısıtılmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 230 °C olarak ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak azot kullanılmış ve akış hızı 1 mL/dakika olarak belirlenmiştir. Bölünme oranı ise 1:10 olarak ayarlanmıştır. Yağ asidi tanımlaması için örnek olarak kullanılan C4, C6, C8, C10, C12, C14, C16, C18, C18:1ve C18:2 yağ asidi standartları (Sigma-Aldrich, Almanya) 50, 100, 150, 200 ve 250 ppm konsantrasyonlarda eter içinde hazırlanmış ve GC'ye enjekte edilmiştir. Daha sonra standardın kurvesi çizilerek eğimi R²: 0.99128 olarak

bulunmuştur. Peynir örneklerinin serbest yağ asitleri sonuçları kurve kullanılarak ppm olarak hesaplanmıştır.

3.2.8. Muş Tulum peyniri örneklerinin uçucu bileşen analizi

Peynir örneklerinde uçucu bileşenlerin karakterizasyonu ve miktar tayini, Whetstine ve ark. (2003)'nın önerdiği yönteme göre gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS) kullanılarak, alıkonma zamanları dikkate alınarak yapılmıştır. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu için Stashenko ve Martinez (2007) aracılığıyla geliştirilen Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (SPME) yöntemi tercih edilmiştir. Analiz için 10 g peynir örneği 40 mL hacimdeki viallere alınmış, örnek miktarının % 10'u oranında NaCl ile birlikte iç standart olarak 81 ppm 10 µL 2 metil 3-heptanon + 2 metil pentanoik asit eklenmiş ve vialler kapatılarak -25 °C'de muhafaza edilmiştir. SPME düzeneğinde, 40 °C'de 30 dakika süresince uçucu bileşenlerin dengeye ulaşması sağlanmış ve ardından 50/30 µm Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) fiber ile aynı sıcaklıkta 30 dakika süreyle adsorpsiyon işlemi yapılmıştır.

Uçucu bileşenlerin ayrıştırılması ve tanımlanmasında Agilent marka GC 7890A gaz kromatografisi cihazı kullanılmıştır. SPME fiberinde tutulan uçucu bileşenler, fiber enjeksiyon bloğunda 250 °C'de 10 dakika süreyle manuel olarak yapılmıştır. Bileşenlerin ayrıştırılması, DB Wax kolonu (122-7032, Agilent Technologies, ABD; 30 m×0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve GC5975 C MSD kütle spektrometresinde 30-300 m/z aralığında tarama yapılmıştır. Kolon sıcaklık programı şu şekilde ayarlanmıştır: ilk olarak, 40 °C'de 5 dakika sabit tutulmuş, ardından sıcaklık dakikada 10 °C artışla 100 °C'ye çıkarılmıştır. Daha sonra dakikada 20 °C'lik bir hızla 200 °C'ye ulaşılmış ve bu sıcaklıkta 10 dakika bekletilmiştir.

Uçucu bileşenlerin tanımlanması, NIST ve Flavournet spektral kütüphanelerindeki verilerle karşılaştırılarak yapılmıştır. Miktar tayini ise, iç

standartların alanları ve gaz kromatografisinde elde edilen uçucu bileşenlerin alanlarının oranına dayalı olarak yapılmıştır. Her örnek için analiz iki kez tekrarlanmıştır. Bağlı miktar ($\mu\text{g/kg}$) aşağıdaki formüle (3.4) göre hesaplanmıştır:

$$R (\mu\text{g/kg}) = \frac{U}{I} \times DF \quad (3.4)$$

R= Relatif miktarı

U= Uçucu maddenin alanı

I= İç standart alanı

DF= Düzeltme faktörü (0.81)

3.2.9. İstatistiksel analiz

Bu çalışma, 5 farklı işletmeden alınan peynir örnekleri (A, B, C, D ve E) üzerinde gerçekleştirilmiş olup, her bir örnek 3 farklı depolama süresi (1., 45. ve 90. günler) ve 2 tekrarla analiz edilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi, SPSS 26.0 yazılımı (IBM, New York, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Peynirler arasındaki farkları incelemek için, depolama süresi boyunca tek/çift yönlü varyans analizi (one/two-way ANOVA) kullanılmıştır. İstatistiksel açıdan anlamlı sonuç veren ortalamalar arasındaki farklar ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile tespit edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Muş Tulum Peynirlerinde Olgunlaşma Sürecinde LAB Sayısındaki Değişiklikler

Farklı işletmelerden alınan Muş Tulum peyniri örneklerinin olgunlaşma periyodu boyunca olası laktik asit bakterilerinin ortalama değerleri ve bu değerlere ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4. 1. Muş Tulum peynirinde depolama periyodu boyunca kok ve basil LAB (*Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp. ve *Enterococcus* sp.) sayıları değişimi (log kob/g)

Laktik asit bakterileri	Depolama süresi	İşletmeler				
		A	B	C	D	E
MRS agar	1	7.35±0.03 ^{cC}	7.47±0.03 ^{bcB}	7.57±0.04 ^{abB}	7.21±0.02 ^{dC}	7.66±0.06 ^{aB}
	45	8.11±0.09 ^{aB}	8.22±0.11 ^{aA}	8.43±0.22 ^{aA}	8.01±0.01 ^{aB}	8.26±0.14 ^{aA}
	90	8.46±0.05 ^{bcA}	8.38±0.06 ^{cA}	8.69±0.05 ^{aA}	8.42±0.03 ^{bcA}	8.57±0.03 ^{abA}
M17 agar	1	7.77±0.02 ^{bb}	7.73±0.05 ^{bc}	8.09±0.05 ^{aA}	8.00±0.07 ^{aA}	7.95±0.03 ^{aB}
	45	8.60±0.06 ^{aA}	7.97±0.03 ^{bb}	8.06±0.06 ^{bA}	8.06±0.06 ^{bA}	8.09±0.07 ^{bb}
	90	8.71±0.01 ^{aA}	8.36±0.03 ^{bA}	8.23±0.08 ^{bA}	8.21±0.09 ^{bA}	8.33±0.07 ^{bA}
SB agar	1	7.29±0.02 ^{cB}	7.40±0.02 ^{bA}	7.76±0.03 ^{aA}	7.23±0.04 ^{cA}	7.01±0.01 ^{dB}
	45	7.00±0.00 ^{aC}	7.10±0.10 ^{aB}	7.36±0.18 ^{aB}	7.26±0.14 ^{aA}	7.26±0.14 ^{aB}
	90	7.75±0.03 ^{aA}	7.28±0.02 ^{bAB}	7.28±0.04 ^{bB}	7.39±0.05 ^{bA}	7.65±0.05 ^{aA}

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$).

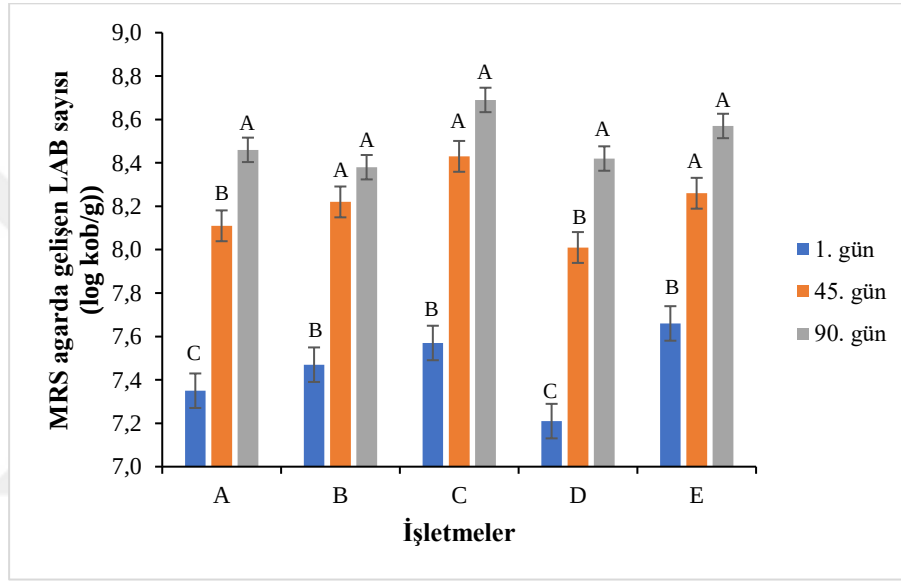
Çizelge 4. 2. Muş Tulum peynirinin LAB değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Düzeltilmiş Kareler Ortalaması				
Varyasyon kaynağı	SD	Laktik asit bakterileri		
		MRS Agar	M-17 Agar	SB Agar
İşletme (A)	4	0.177**	0.149**	0.056*
Depolama (B)	2	4.294**	0.764**	0.268**
A*B	8	0.018	0.115**	0.180**
Hata	30	0.022	0.009	0.0190
Toplam	45			

SD: Serbestlik derecesi; *: $p<0.05$; **: $p<0.01$; düzeyinde önemli

4.1.1. MRS agarda gelişen LAB sayıları

Muş Tulum peyniri örneklerinde MRS agarda gelişen bakteri sayılarının depolama periyodu boyunca değişimi Şekil 4.1’de gösterilmiştir. MRS agarda gelişen en yüksek bakteri sayısının depolamanın 90. gününde C işletmesinde 8.69 log kob/g, en düşük sayının ise depolamanın 1. gününde D işletmesinde 7.21 log kob/g olduğu belirlenmiştir.



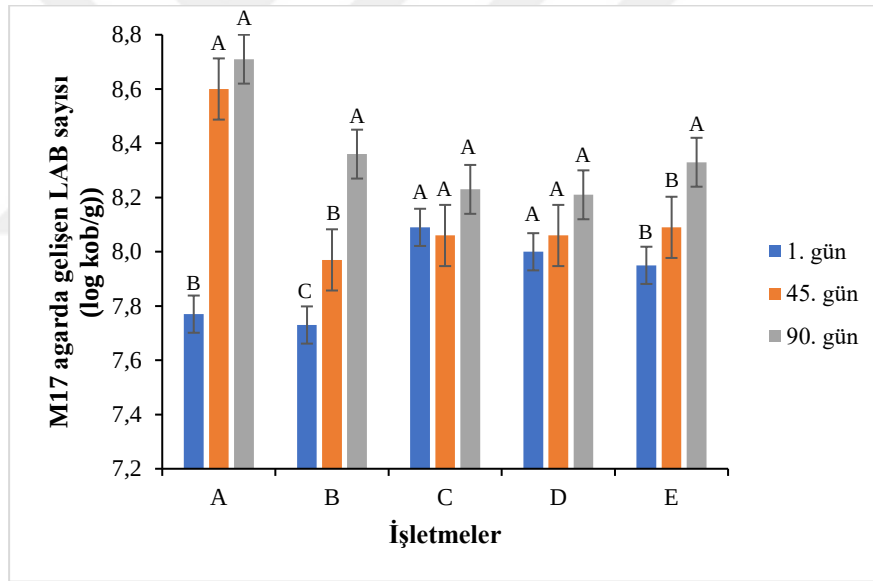
Şekil 4. 1. Muş Tulum peyniri örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayılarının depolama süresince değişimi
Büyük harflerle gösterilen simgeler işletmelerin kendi içindeki farklılığını göstermektedir ($p < 0.05$).

MRS petrilindeki bakteri sayıları, tüm işletmelerde depolama periyodu boyunca sürekli olarak artış göstermiştir. Bu artış A ve D işletmelerinde depolama süresi boyunca B, C ve E işletmelerinde ise depolamanın 45. gününde $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Depolamanın aynı günlerinde MRS agarda gelişen bakteri sayıları işletmeler açısından karşılaştırıldığında, depolamanın 1. gününde tüm işletmeler arasında 90. gününde ise B, C ve E işletmeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) farklılıklar gözlenmiştir.

Varyans testi sonuçlarına göre, işletme tipi ve depolama süresi bakımından MRS agarda gelişen bakteri sayıları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde çok önemli olduğu, ancak işletme*depolama süresi interaksiyonunun önemli olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir.

4.1.2. M17 agarda gelişen LAB sayıları

Örneklere ait M17 petrilerinde gelişen bakteri sayılarının depolama periyodu boyunca 7.73-8.71 log kob/g aralığında değiştiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.2). En düşük ve en yüksek bakteri sayıları, sırasıyla depolamanın 1. gününde B işletmesi ile depolamanın 90. gününde A işletmesinde bulunmuştur.



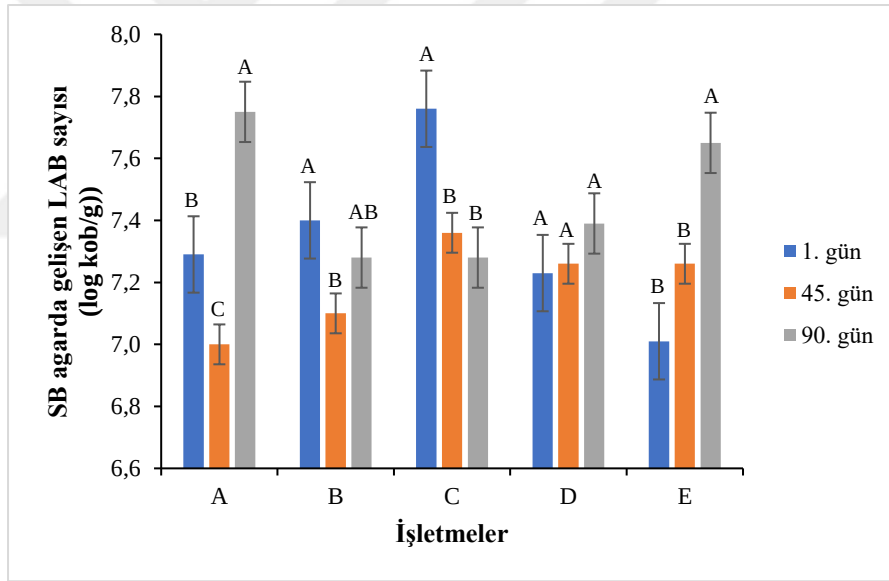
Şekil 4. 2. Muş Tulum peyniri örneklerinin M17 agarda gelişen LAB sayılarının depolama süresince değişimi
Büyük harflerle gösterilen simgeler işletmelerin kendi içindeki farklılığını göstermektedir ($p<0.05$).

M17 agarda gelişen bakteri sayıları tüm depolama aşamalarında C işletmesi hariç diğer işletmelerde tutarlı bir şekilde artmış ve bu artış B işletmesinde $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Varyans analizi sonucunda, işletme tipi, depolama süresi ve işletme*depolama süresi interaksiyonu bakımından M17 petrilerinde gelişen bakteri sayıları arasındaki farklılık $p<0.01$ düzeyinde çok önemli bulunmuştur.

4.1.3. SB agarda gelişen LAB sayıları

Farklı işletmelerden alınan peynir örneklerinde, SB agarda gelişen bakteri sayısının depolama süresince 7.0-7.76 log kob/g aralığında değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.3). SB agarda gelişen bakterilerin depolamanın 45. gününde A işletmesinde en düşük sayıya ulaştığı, en yüksek sayının ise depolamanın 1. gününde C işletmesinde görüldüğü saptanmıştır.



Şekil 4. 3. Muş Tulum peyniri örneklerinin SB agarda gelişen LAB sayılarının depolama süresince değişimi
Büyük harflerle gösterilen simgeler işletmelerin kendi içindeki farklılığını göstermektedir ($p<0.05$).

SB petrilerindeki bakteri sayılarının depolama sonunda A ($p<0.05$), D ve E işletmelerinde arttığı, B ($p<0.05$) ve C işletmelerinde ise azaldığı görülmüştür. Aynı depolama günlerinde işletmeler arası karşılaştırmada, depolamanın 1. gününde B, C ve E işletmelerinde SB agarda gelişen bakteri sayıları arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür.

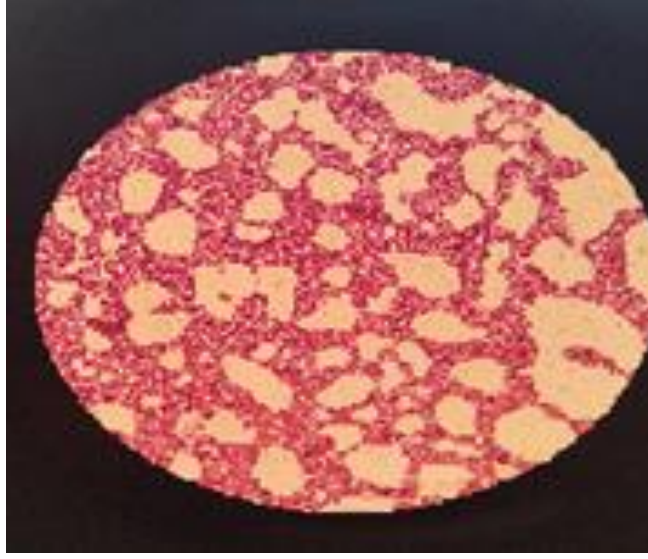
Varyans analiz testine göre, SB petrilerindeki bakteri sayıları arasındaki farklılık depolama süresi ve işletme*depolama süresi etkileşimi bakımından $p<0.01$ düzeyinde çok önemli, işletme tipi bakımından ise $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

4.2. Muş Tulum Peynirinden İzole Edilen LAB'nin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

4.2.1. Gram reaksiyonu, katalaz testi ve morfolojik özellikler

Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilen ve saflaştırılan suşların morfolojik özellikleri Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Olgunlaşma döneminde her besiyeri ortamından (MRS, M17 ve SB agar) 20'şer adet olmak üzere toplam 180 suş izole edilmiştir. Mikroskop altında morfolojik inceleme, gram boyama ve katalaz testleri sonucunda MRS agardan 59, M17 agardan 53 ve SB agardan 59 olmak üzere toplamda 171 izolatın gram pozitif ve katalaz negatif özellik gösterdiği belirlenmiştir. M17 agarın laktokokların izolasyonunda uygun ortam olduğu bilinmektedir (Fox, 1999). Çalışmamızda M17 agardan izole edilen suşların sadece %15.38'i *Lactococcus spp.* geriye kalan suşlar çoğunlukla *Enterococcus spp.* ve bir tane *Pediococcus spp.* olarak tanımlanmıştır. Bu durumun enterokokların olgunlaşma periyodu boyunca baskın mikroflora olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. SB ve MRS agardan izole edilen suşların tamamı sırasıyla *Enterococcus spp.* ve *Lactiplantibacillus spp.* olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 4. Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilen LAB'nin morfolojik görüntüsü

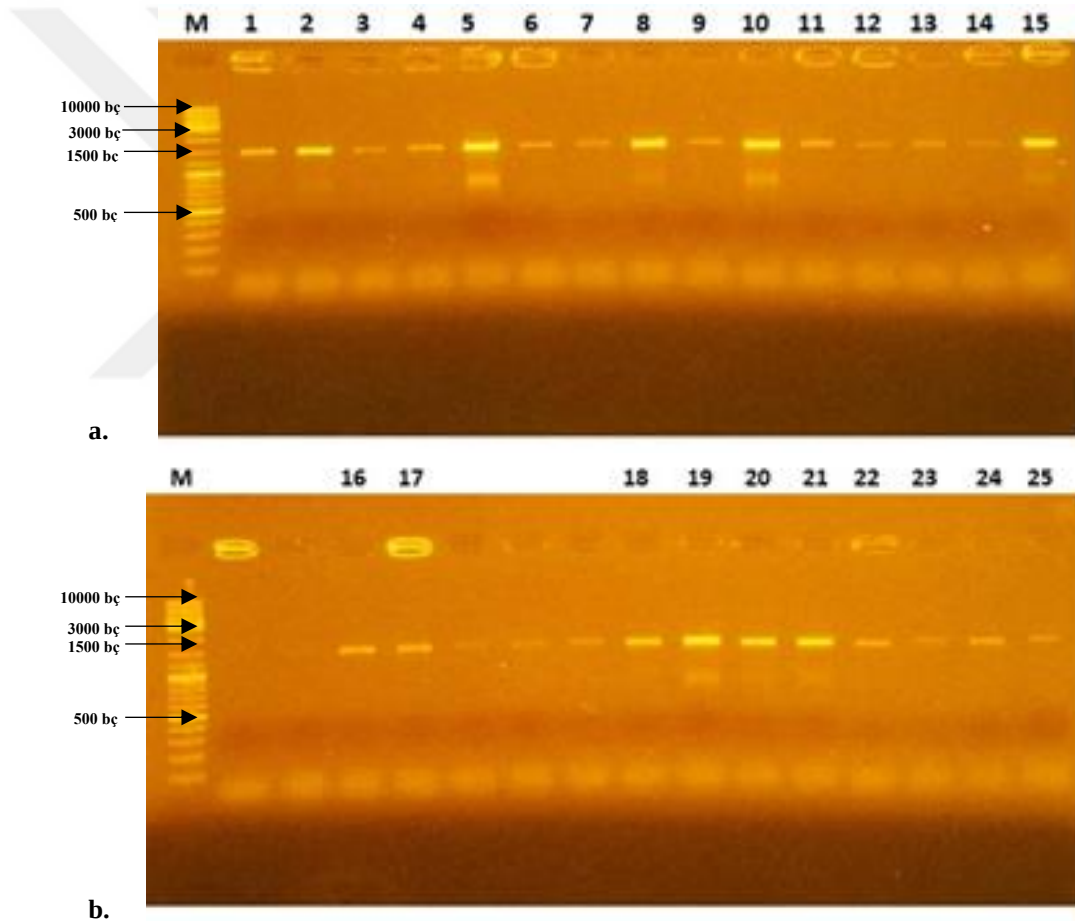
Çizelge 4. 3. Muş Tulum peynirinden izole edilen LAB'nin morfoloji, gram boyama ve katalaz test sonuçları

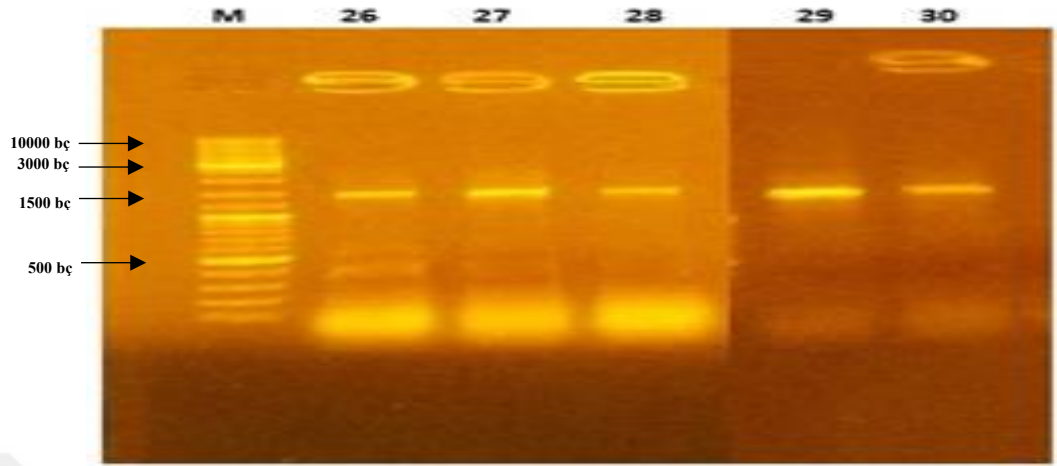
İzolat	Morfoloji	Gram boyama	Katalaz testi	İzolat	Morfoloji	Gram boyama	Katalaz testi
1	K	+	-	34	K	+	-
2	K	+	-	35	K	+	-
3	K	+	-	36	K	+	-
4	K	+	-	37	K	+	-
5	K	+	-	38	K	+	-
6	K	+	-	39	K	+	-
7	K	+	-	40	K	+	-
8	K	+	-	41	K	+	-
9	K	+	-	42	K	+	-
10	K	+	-	43	K	+	-
11	K	+	-	44	K	+	-
12	K	+	-	45	K	+	-
13	K	+	-	46	K	+	-
14	K	+	-	47	K	+	-
15	K	+	-	48	B	+	-
16	K	+	-	49	K	+	-
17	K	+	-	50	K	+	-
18	K	+	-	51	K	+	-
19	K	+	-	52	K	+	-
20	K	+	-	53	K	+	-
21	B	+	-	54	K	+	-
22	B	+	-	55	K	+	-
23	B	+	-	56	K	+	-
24	B	+	-	57	K	+	-
25	B	+	-	58	B	+	-
26	B	+	-	59	B	+	-
27	B	+	-	60	K	+	-
28	K	+	-	61	K	+	-
29	K	+	-	62	K	+	-
30	K	+	-	63	K	+	-
31	K	+	-	64	K	+	-
32	K	+	-	65	K	+	-
33	K	+	-				

K: Kok; B: Basil

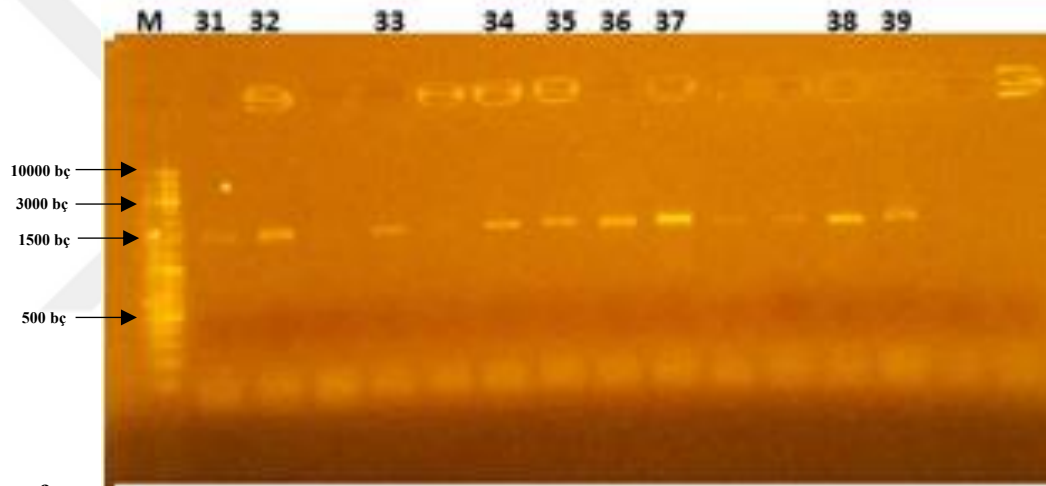
4.3. LAB Suşlarının Moleküler Karakterizasyonu

RAPD-PCR profili sonucunda %85 ve üzeri benzerlik gösteren suşlar aynı biyotipte kabul edilmiş ve 69'u kok 17'si basil olmak üzere toplam 86 suş seçilmiştir. İzolatların genotipik olarak tanımlanması 16S rDNA gen dizi analizi ile gerçekleştirilmiştir. DNA örnekleri agaroz jel elektroforezi ile analiz edilmiş ve elde edilen PCR jel görüntüleri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Şekilde M ile belirtilen jelin ilk kuyucuğunda 10000-100 kb'lık DNA marker yer almakta diğer 15 kuyucukta ise PCR protokolü ile hazırlanmış DNA örnekleri bulunmaktadır.

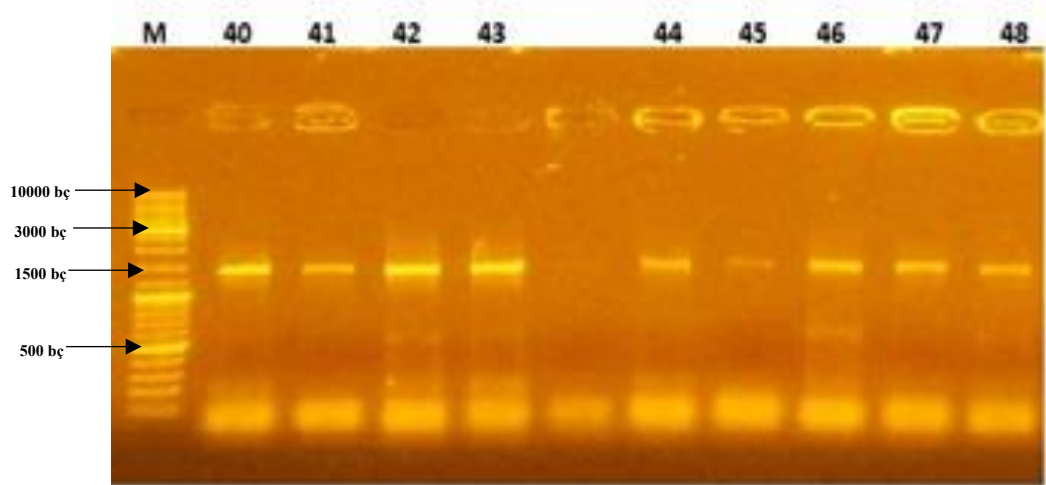




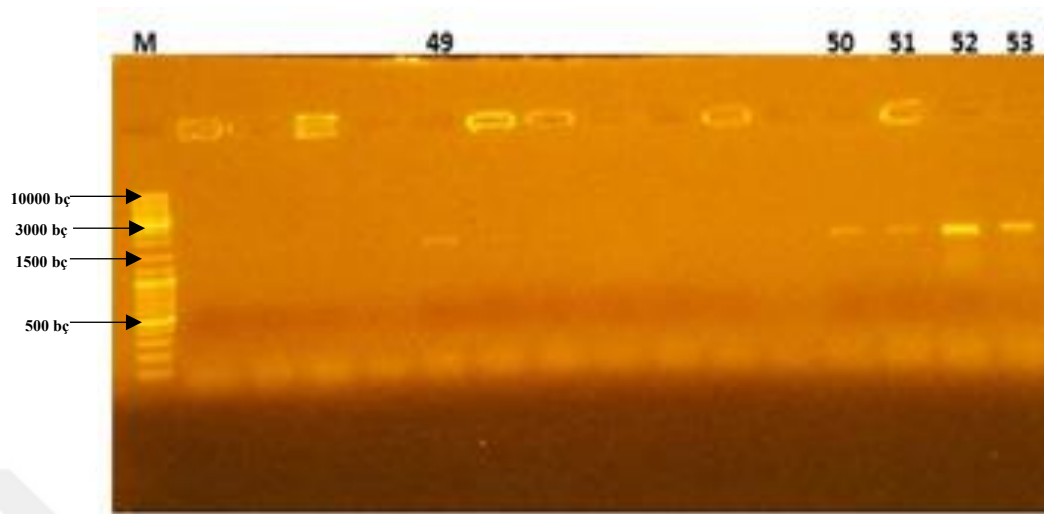
c.



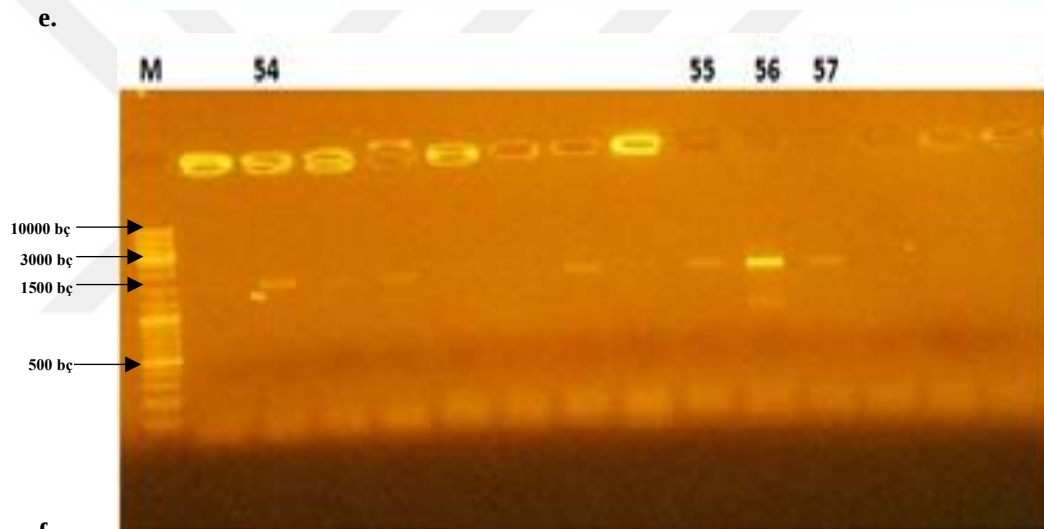
ç.



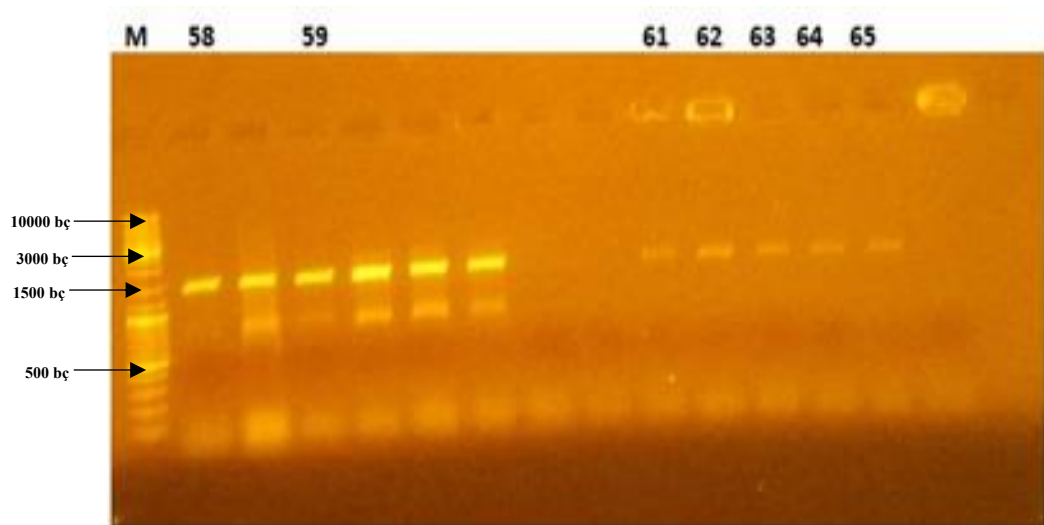
d.



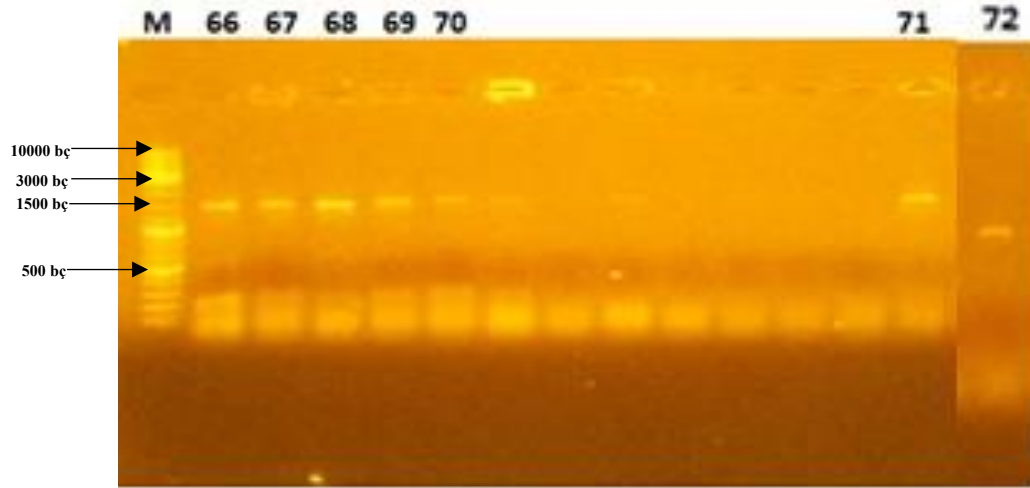
e.



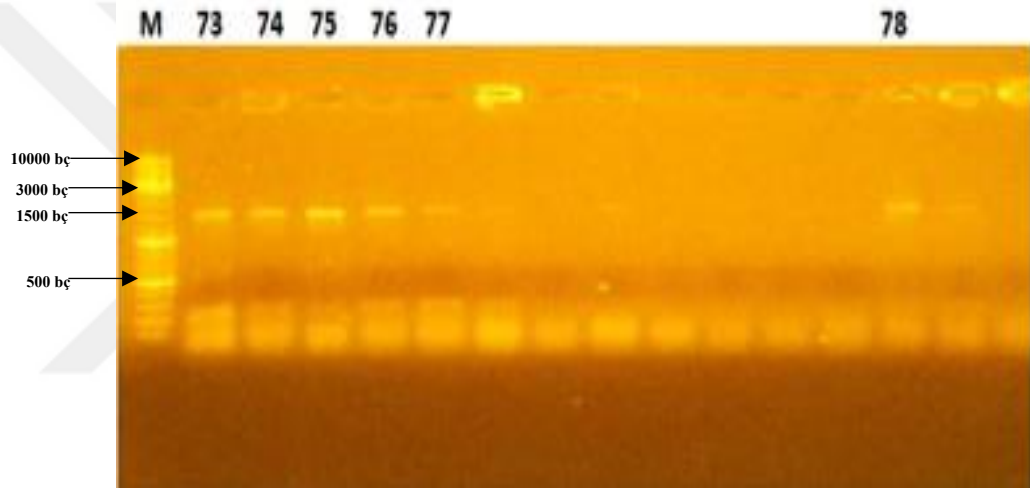
f.



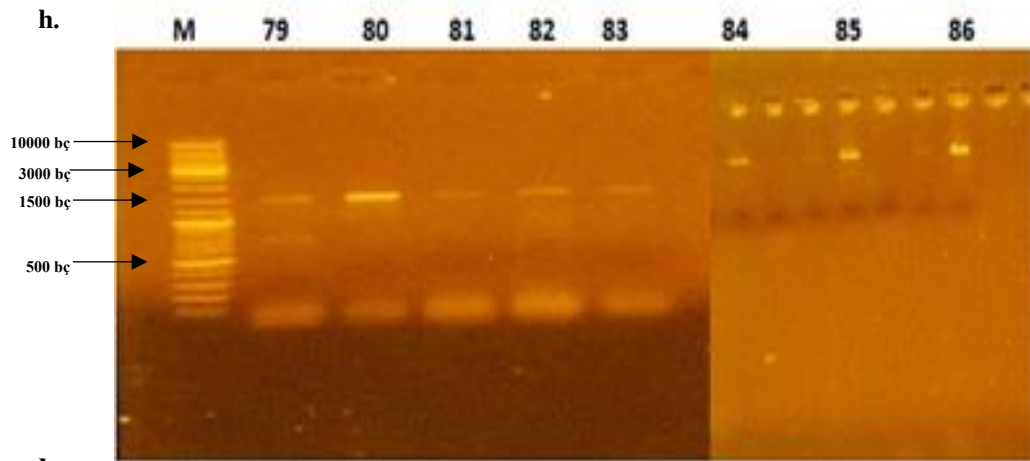
g.



ğ.



h.



ı.

Şekil 4. 5. Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilen 65 izolatın PCR bant profili

M: Marker

Sekanslama sonrası elde edilen diziler BLAST programı kullanılarak NCBI GenBank veri tabanındaki dizilerle karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonrasında, tanımlanan suşların %87-100 arasında değişen tür düzeyinde benzerlikler sergilediği görülmüştür (Çizelge 4.4).

Dizi analizi sonucunda otokton LAB popülasyonu *Enterococcus spp.* (%76.92), *Lactiplantibacillus spp.* (%15.38), *Lactococcus spp.* (%6.15) ve *Pediococcus spp.* (%1.54) olarak tanımlanmıştır. Genetik karakterizasyon sonucu 50 *Enterococcus spp.*'nin 43'ü *Enterococcus faecium* (%86), 4'ü *Enterococcus faecalis* (%8) ve 3'ü *Enterococcus durans* (%6); 10 *Lactiplantibacillus spp.*'nin 9'u *Lactiplantibacillus plantarum* (%90), 1'i *Lactiplantibacillus pentosus* (%10); 4 *Lactococcus spp.*'nin 2'si *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (%50), 1'i *Lactococcus lactis* (%25), 1'i *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* (%25) ve bir suşun ise *Pediococcus pentosaceus* olduğu tespit edilmiştir. Geriye kalan 21 suşun ise tanımlanması yapılamamıştır.

Sekanslaması yapılan LAB suşlarının 27'si (%70.37 *Enterococcus spp.*, %25.92 *Lactiplantibacillus spp.* ve %3.70 *Pediococcus spp.*) olgunlaşmanın 1. gününde, 23'ü (%78.26 *Enterococcus spp.*, %17.39 *Lactococcus spp.* ve %4.34 *Lactiplantibacillus spp.*) olgunlaşmanın 45. gününde, 15'i (%86.66 *Enterococcus spp.* ve %13.33 *Lactiplantibacillus spp.*) ise olgunlaşmanın 90. gününde izole edilmiştir.

5 farklı işletmeden alınan geleneksel Muş Tulum peyniri örneklerinde olgunlaşmanın her aşamasında baskın türün *Enterococcus spp.*'den oluştuğu, bir işletme (D işletmesinde olgunlaşmanın 45. gününde ikinci baksın türü *Lactococcus spp.* oluşturmuştur) hariç bunu *Lactiplantibacillus spp.*'nin takip ettiği belirlenmiştir.

Çizelge 4. 4. 16S r DNA dizi analizi sonucunda bakteri gruplarının alt türlere göre sınıflandırılması ve benzerlik dereceleri

Suş No	16S rDNA'ya bağlı benzerlik (Similarity based on 16S rDNA)	% Nükleotid Benzerliği (Similarity)	NCBI Erişim Numarası (NCBI Accession Number)
1	<i>Enterococcus faecium</i> FFH1	98	OR367482
2	<i>Enterococcus faecium</i> FFH2	98	OR367483
3	<i>Enterococcus faecium</i> FFH3	97	OR367484
4	<i>Enterococcus faecium</i> FFH4	98	OR367485
5	<i>Enterococcus faecium</i> FFH5	98	OR367486
6	<i>Enterococcus faecium</i> FFH6	96	OR367487
7	<i>Enterococcus faecium</i> FFH7	98	OR367488
8	<i>Enterococcus faecium</i> FFH8	99	OR367489
9	<i>Enterococcus faecium</i> FFH9	99	OR367490
10	<i>Enterococcus faecium</i> FFH10	99	OR367491
11	<i>Enterococcus faecium</i> FFH11	99	OR367492
12	<i>Enterococcus faecium</i> FFH12	87	OR367493
13	<i>Enterococcus faecium</i> FFH13	96	OR367494
14	<i>Enterococcus faecalis</i> FFH14	98	OR367495
15	<i>Enterococcus faecium</i> FFH15	99	OR367496
16	<i>Enterococcus faecium</i> FFH16	99	OR367497
17	<i>Enterococcus durans</i> FFH17	96	OR367498
18	<i>Enterococcus faecium</i> FFH118	98	OR367499
19	<i>Enterococcus faecium</i> FFH19	97	OR367500
20	<i>Pediococcus pentosaceus</i> FFH20	97	OR367501
21	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH21	97	OR367502
22	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH23	98	OR367503
23	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH24	99	OR367504
24	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH25	99	OR367505
25	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> FFH26	99	OR367506
26	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH27	97	OR367507
27	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH30	94	OR367508
28	<i>Enterococcus faecium</i> FFH33	95	OR367509
29	<i>Enterococcus faecium</i> FFH34	98	OR367510
30	<i>Enterococcus faecium</i> FFH35	96	OR367511
31	<i>Enterococcus faecium</i> FFH36	90	OR367512

Çizelge 4.4 (devam)

Suş No	16S rDNA'ya bağlı benzerlik (Similarity based on 16S rDNA)	% Nükleotid Benzerliği (Similarity)	NCBI Erişim Numarası (NCBI Accession Number)
32	<i>Enterococcus faecium</i> FFH37	98	OR367513
33	<i>Enterococcus faecium</i> FFH38	96	OR367514
34	<i>Enterococcus faecium</i> FFH39	99	OR367515
35	<i>Enterococcus faecium</i> FFH40	98	OR367516
36	<i>Enterococcus durans</i> FFH41	99	OR367517
37	<i>Enterococcus faecium</i> FFH43	93	OR367518
38	<i>Enterococcus faecium</i> FFH45	97	OR367519
39	<i>Enterococcus faecalis</i> FFH46	95	OR367520
40	<i>Lactococcus lactis</i> FFH48	98	OR367521
41	<i>Enterococcus faecium</i> FFH50	97	OR367522
42	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH51	99	OR367523
43	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH53 biovar <i>diacetylactis</i>	98	OR367524
44	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH54	95	OR367525
45	<i>Enterococcus faecium</i> FFH55	93	OR367526
46	<i>Enterococcus faecium</i> FFH56	97	OR367527
47	<i>Enterococcus faecium</i> FFH57	95	OR367528
48	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH59	93	OR367529
49	<i>Enterococcus faecium</i> FFH60	98	OR367530
50	<i>Enterococcus faecium</i> FFH61	95	OR367531
51	<i>Enterococcus faecium</i> FFH62	98	OR367532
52	<i>Enterococcus faecium</i> FFH64	98	OR367533
53	<i>Enterococcus faecium</i> FFH65	95	OR367534
54	<i>Enterococcus durans</i> FFH66	99	OR367535
55	<i>Enterococcus faecium</i> FFH67	100	OR367536
56	<i>Enterococcus faecalis</i> FFH69	99	OR367537
57	<i>Enterococcus faecium</i> FFH70	97	OR367538
58	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH72	98	OR367539
59	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> FFH73	87	OR367540
60	<i>Enterococcus faecium</i> FFH77	94	OR367541
61	<i>Enterococcus faecium</i> FFH79	97	OR367542
62	<i>Enterococcus faecium</i> FFH82	93	OR367543
63	<i>Enterococcus faecium</i> FFH83	95	OR367544
64	<i>Enterococcus faecalis</i> FFH85	98	OR367545
65	<i>Enterococcus faecium</i> FFH86	95	OR367546

Lactiplantibacillus spp.'i (*Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus*) Muş Tulum peyniri örneklerinde olgunlaşmanın başında ve sonuna doğru ikinci baskın flora olarak

bulunmuştur. Çalışmamızda tanımlaması yapılan *Lactiplantibacillus* suşlarının %90'ı *Lb. plantarum*'dan oluşmaktadır.

Çalışmada izole edilen *Lactococcus* suşlarının (%6.15) 2'sinin *L. lactis* subsp. *lactis* (FFH51 ve FFH54 suşları), 1'inin *L. lactis* FFH48 ve diğerinin ise *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* FFH53 olduğu belirlenmiştir. Muş tulum peynirinde, *Lactococcus* izolatları sadece olgunlaşmanın 45. gününde tespit edilmiş ve olgunlaşmanın bu aşamasında ikinci baskın tür olarak değerlendirilmiştir.

Muş Tulum peyniri örneklerinde sadece 1 tane *Pediococcus pentosaceus* FFH20 suşu izole edilmiştir.

4.4. Tanımlanan LAB Suşlarının Teknolojik Özellikleri

4.4.1. Suşların farklı sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında gelişebilme durumu

Tanımlanması yapılan izolatlar, farklı sıcaklık (10 °C, 15 °C ve 45 °C) ve tuz konsantrasyonlarında (%4, %6.5 ve %10) gelişebilme kapasiteleri açısından incelenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4. 5. Muş Tulum peynirinden izole edilen LAB'nin bazı fenotipik ve biyokimyasal özellikleri

İzolat türü	İzolat sayısı	Farlı tuz konsantrasyonu ve sıcaklıklarda gelişme şartları												CO ₂ üretimi	
		10 °C		15 °C		45 °C		%4 NaCl		%6.5 NaCl		%10 NaCl			
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
<i>Enterococcus spp.</i>	50	35	15			50		50		50		50		50	
<i>Lactiplantibacillus spp.</i>	10			10		10				10		10		10	
<i>Lactococcus spp.</i>	4	2	2			4		4		4		4		4	
<i>Pediococcus spp.</i>	1	1				1		1		1		1		1	

Test edilen 50 *Enterococcus* ve 4 *Lactococcus* suşundan 35 *Enterococcus* ve 2 *Lactococcus* suşu (FFH51 ve FFH53) 10 °C, 45 °C ve %10 NaCl'de gelişebilmiştir. Fakat geriye kalan 15 *Enterococcus* ile *Lactococcus* (FFH48 ve FFH54) suşları 45 °C ve %10 NaCl'de gelişmiş, ancak 10 °C'de gelişmemiştir.

Öte yandan, tüm *Lactiplantibacillus* izolatları 15 °C, 45 °C ve %10 NaCl'de gelişme göstermiştir.

4.4.2. Suşların glikozdan CO₂ üretebilme durumu

İzole edilen suşların hiçbiri glikozdan CO₂ üretmemiş ve tüm suşların homofermentatif LAB olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

4.4.3. Suşların asitlendirme kapasitesi

Tanımlanan toplam 65 izolatın 3., 6., 9., ve 24. saatlerdeki pH ve titrasyon asitliği değişimleri Çizelge 4.6 ve 4.7'de gösterilmiştir. LAB'nin asitleştirme kapasitesi, 24 saat sonra yağsız sütün asitliğindeki artış duruma göre yüksek asitleştirme (pH'ı 2.00 birimden fazla düşürenler), orta asitleştirme (pH'ı 1.50-2.00 birim arasında düşürenler) ve düşük asitleştirme (pH'ı 1.50 birimden az düşürenler) kapasitesine sahip suşlar olarak sınıflandırılır (Anagnostopoulos ve ark., 2018). Bu sınıflandırmaya dayanarak, *Lactococcus* suşlarının (FFH48, FFH51, FFH53 ve FFH54) tamamı ile *E. faecium* FFH2 ve *Lb. plantarum* FFH59 suşları yüksek asitleştirme kapasitesi göstermiştir. Geri kalan 29 *E. faecium*, 4 *E. faecalis*, 2 *E. durans*, 1 *P. pentosaceus* ve 9 *Lactiplantibacillus* suşları orta seviyede asitleştirme kapasitesi sergilemiştir. Ayrıca, 13 *E. faecium* ve 1 *E. durans* suşu ise düşük asitleştirme kapasitesi göstermiştir. Enterokokların orta ve düşük düzeyde asitleştirme kapasitesi gösterdiği, biri hariç tüm *Lactiplantibacillus* suşlarının ise orta düzeyde asitleştirme kapasitesi gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmada sadece *L. lactis* (FFH48, FFH51 ve FFH53) suşlarının pH'ı 5.30'un altına düşürerek hızlı asit üreten suşlar olduğu diğer suşların ise orta ya da yavaş asit üreticisi olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 6. İzole edilen LAB'nin yağsız UHT sütte 3, 6, 9 ve 24 saatlik inkübasyon süresince ölçülen pH değerleri

Suş No	0. saat	3. saat	6. saat	9. saat	24. saat
<i>E. faecium</i> FFH1	6.48	6.10	5.83	5.27	4.89
<i>E. faecium</i> FFH2	6.48	6.16	5.56	4.98	4.43
<i>E. faecium</i> FFH3	6.48	6.20	5.75	5.29	4.80
<i>E. faecium</i> FFH4	6.48	6.16	5.90	5.60	5.14
<i>E. faecium</i> FFH5	6.48	6.11	5.87	5.62	5.13
<i>E. faecium</i> FFH6	6.48	6.12	5.67	5.30	4.73
<i>E. faecium</i> FFH7	6.48	6.48	5.97	5.58	4.92
<i>E. faecium</i> FFH8	6.48	6.26	5.64	5.10	4.60
<i>E. faecium</i> FFH9	6.48	6.15	5.87	5.54	4.97
<i>E. faecium</i> FFH10	6.48	6.33	5.63	5.16	4.64
<i>E. faecium</i> FFH11	6.48	6.21	5.58	5.17	4.65
<i>E. faecium</i> FFH12	6.48	6.21	5.79	5.55	5.05
<i>E. faecium</i> FFH13	6.48	6.48	5.88	5.44	4.75
<i>E. faecalis</i> FFH14	6.48	6.22	5.50	4.97	4.58
<i>E. faecium</i> FFH15	6.48	6.31	5.77	5.38	4.85
<i>E. faecium</i> FFH16	6.48	6.48	6.18	5.60	4.77
<i>E. durans</i> FFH17	6.48	6.33	5.75	5.20	4.65
<i>E. faecium</i> FFH18	6.48	6.22	5.68	5.26	4.75
<i>E. faecium</i> FFH19	6.48	6.32	5.74	5.27	4.80
<i>P. pentosaceus</i> FFH20	6.48	6.48	6.20	5.70	4.64
<i>Lb. plantarum</i> FFH21	6.48	6.23	5.90	5.44	4.70
<i>Lb. plantarum</i> FFH23	6.48	6.31	6.03	5.45	4.53
<i>Lb. plantarum</i> FFH24	6.48	6.39	5.86	5.33	4.62
<i>Lb. plantarum</i> FFH25	6.48	6.26	5.85	5.35	4.64
<i>Lb. pentosus</i> FFH26	6.48	6.27	5.87	5.37	4.73
<i>Lb. plantarum</i> FFH27	6.48	6.33	6.13	5.54	4.75
<i>Lb. plantarum</i> FFH30	6.48	6.25	5.87	5.38	4.67
<i>E. faecium</i> FFH33	6.48	6.15	5.78	5.39	4.80
<i>E. faecium</i> FFH34	6.48	6.19	5.94	5.42	4.90
<i>E. faecium</i> FFH35	6.48	6.17	5.78	5.24	4.73

Çizelge 4.6 (devam)

Suş No	0. saat	3. saat	6. saat	9. saat	24. saat
<i>E. faecium</i> FFH36	6.48	6.36	5.95	5.37	4.81
<i>E. faecium</i> FFH37	6.48	6.24	5.81	5.30	5.10
<i>E. faecium</i> FFH38	6.48	6.30	6.0	5.54	5.12
<i>E. faecium</i> FFH39	6.48	6.05	5.72	5.19	4.74
<i>E. faecium</i> FFH40	6.48	6.16	5.95	5.56	5.02
<i>E. durans</i> FFH41	6.48	6.11	5.99	5.65	5.10
<i>E. faecium</i> FFH43	6.48	6.32	6.03	5.45	4.85
<i>E. faecium</i> FFH45	6.48	6.37	6.08	5.41	4.60
<i>E. faecalis</i> FFH46	6.48	6.15	5.61	5.10	4.66
<i>L. lactis</i> FFH48	6.48	6.21	5.14	4.55	4.35
<i>E. faecium</i> FFH50	6.48	6.28	5.73	5.30	4.82
<i>L. lactis subsp. lactis</i> FFH51	6.48	5.87	4.94	4.49	4.30
<i>L. lactis subsp. lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> FFH53	6.48	5.92	5.14	4.54	4.31
<i>L. lactis subsp. lactis</i> FFH54	6.48	6.40	6.13	4.68	4.44
<i>E. faecium</i> FFH55	6.48	6.10	5.99	5.55	4.70
<i>E. faecium</i> FFH56	6.48	6.08	5.90	5.43	4.93
<i>E. faecium</i> FFH57	6.48	6.14	6.04	5.64	5.05
<i>Lb. plantarum</i> FFH59	6.48	6.10	5.88	5.17	4.38
<i>E. faecium</i> FFH60	6.48	6.30	6.19	5.68	5.25
<i>E. faecium</i> FFH61	6.48	6.30	6.18	5.73	5.30
<i>E. faecium</i> FFH62	6.48	6.24	6.06	5.58	5.09
<i>E. faecium</i> FFH64	6.48	6.32	6.16	5.70	5.12
<i>E. faecium</i> FFH65	6.48	6.27	6.10	5.64	4.81
<i>E. durans</i> FFH66	6.48	6.09	5.76	5.20	4.70
<i>E. faecium</i> FFH67	6.48	6.01	5.72	5.18	4.72
<i>E. faecalis</i> FFH69	6.48	6.20	5.90	5.33	4.83
<i>E. faecium</i> FFH70	6.48	6.16	5.93	5.30	4.86
<i>Lb. plantarum</i> FFH72	6.48	6.29	6.14	5.45	4.60
<i>Lb. plantarum</i> FFH73	6.48	6.12	5.83	5.27	4.70
<i>E. faecium</i> FFH77	6.48	6.01	5.87	5.50	5.06
<i>E. faecium</i> FFH79	6.48	6.05	5.92	5.62	5.14
<i>E. faecium</i> FFH82	6.48	6.04	5.73	5.27	4.76
<i>E. faecium</i> FFH83	6.48	6.02	5.85	5.45	4.95
<i>E. faecalis</i> FFH85	6.48	6.14	5.79	5.37	4.93
<i>E. faecium</i> FFH86	6.48	6.13	5.78	5.35	4.82

24 saatlik inkübasyon sonucu pH'yı 2 birimden fazla düşüren suşlar ile 6 saatlik inkübasyon sonucu pH'yı 5.30'un altına düşüren suşlar, koyu renk ile işaretlenmiştir

Çizelge 4. 7. İzole edilen LAB'nin yağsız UHT sütte 3, 6, 9 ve 24 saatlik inkübasyon süresince hesaplanan laktik asit miktarları (% L.A.)

Suş No	0. saat	3. saat	6. saat	9. saat	24. saat
<i>E. faecium</i> FFH1	0.180	0.225	0.360	0.450	0.562
<i>E. faecium</i> FFH2	0.180	0.247	0.360	0.382	0.630
<i>E. faecium</i> FFH3	0.180	0.270	0.315	0.427	0.450
<i>E. faecium</i> FFH4	0.180	0.292	0.260	0.405	0.483
<i>E. faecium</i> FFH5	0.180	0.270	0.337	0.360	0.562
<i>E. faecium</i> FFH6	0.180	0.225	0.315	0.405	0.585
<i>E. faecium</i> FFH7	0.180	0.225	0.270	0.393	0.483
<i>E. faecium</i> FFH8	0.180	0.247	0.382	0.450	0.551
<i>E. faecium</i> FFH9	0.180	0.270	0.405	0.460	0.540
<i>E. faecium</i> FFH10	0.180	0.258	0.348	0.405	0.562
<i>E. faecium</i> FFH11	0.180	0.292	0.337	0.405	0.551
<i>E. faecium</i> FFH12	0.180	0.270	0.315	0.371	0.483
<i>E. faecium</i> FFH13	0.180	0.225	0.270	0.427	0.540
<i>E. faecalis</i> FFH14	0.180	0.281	0.360	0.585	0.832
<i>E. faecium</i> FFH15	0.180	0.303	0.393	0.540	0.573
<i>E. faecium</i> FFH16	0.180	0.202	0.303	0.326	0.551
<i>E. durans</i> FFH17	0.180	0.213	0.337	0.495	0.517
<i>E. faecium</i> FFH18	0.180	0.270	0.360	0.450	0.495
<i>E. faecium</i> FFH19	0.180	0.315	0.360	0.450	0.630
<i>P. pentosaceus</i> FFH20	0.180	0.303	0.315	0.393	0.630
<i>Lb. plantarum</i> FFH21	0.180	0.270	0.360	0.438	0.641
<i>Lb. plantarum</i> FFH23	0.180	0.225	0.303	0.450	0.630
<i>Lb. plantarum</i> FFH24	0.180	0.236	0.382	0.450	0.720
<i>Lb. plantarum</i> FFH25	0.180	0.225	0.371	0.450	0.540
<i>Lb. pentosus</i> FFH26	0.180	0.270	0.326	0.438	0.573
<i>Lb. plantarum</i> FFH27	0.180	0.236	0.315	0.427	0.585
<i>Lb. plantarum</i> FFH30	0.180	0.258	0.270	0.450	0.607
<i>E. faecium</i> FFH33	0.180	0.281	0.315	0.405	0.517
<i>E. faecium</i> FFH34	0.180	0.326	0.360	0.405	0.640
<i>E. faecium</i> FFH35	0.180	0.270	0.337	0.416	0.450
<i>E. faecium</i> FFH36	0.180	0.191	0.315	0.427	0.540
<i>E. faecium</i> FFH37	0.180	0.292	0.315	0.450	0.540
<i>E. faecium</i> FFH38	0.180	0.236	0.360	0.405	0.450
<i>E. faecium</i> FFH39	0.180	0.315	0.427	0.461	0.540
<i>E. faecium</i> FFH40	0.180	0.270	0.382	0.396	0.495
<i>E. durans</i> FFH41	0.180	0.326	0.382	0.393	0.630
<i>E. faecium</i> FFH43	0.180	0.213	0.360	0.378	0.540
<i>E. faecium</i> FFH45	0.180	0.270	0.292	0.450	0.540
<i>E. faecalis</i> FFH46	0.180	0.292	0.360	0.630	0.855
<i>L. lactis</i> FFH48	0.180	0.281	0.450	0.652	0.765

Çizelge 4.7 (devam)

Suş No	0. saat	3. saat	6. saat	9. saat	24. saat
<i>E. faecium</i> FFH50	0.180	0.315	0.450	0.562	0.618
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH51	0.180	0.382	0.450	0.630	0.720
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> FFH53	0.180	0.303	0.450	0.641	0.697
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH54	0.180	0.247	0.303	0.517	0.675
<i>E. faecium</i> FFH55	0.180	0.337	0.360	0.427	0.585
<i>E. faecium</i> FFH56	0.180	0.225	0.360	0.450	0.652
<i>E. faecium</i> FFH57	0.180	0.315	0.292	0.382	0.450
<i>Lb. plantarum</i> FFH59	0.180	0.270	0.382	0.461	0.697
<i>E. faecium</i> FFH60	0.180	0.225	0.360	0.450	0.495
<i>E. faecium</i> FFH61	0.180	0.258	0.292	0.315	0.495
<i>E. faecium</i> FFH62	0.180	0.236	0.236	0.337	0.438
<i>E. faecium</i> FFH64	0.180	0.225	0.315	0.405	0.528
<i>E. faecium</i> FFH65	0.180	0.213	0.315	0.393	0.573
<i>E. durans</i> FFH66	0.180	0.270	0.315	0.438	0.618
<i>E. faecium</i> FFH67	0.180	0.270	0.360	0.495	0.607
<i>E. faecalis</i> FFH69	0.180	0.236	0.315	0.450	0.618
<i>E. faecium</i> FFH70	0.180	0.247	0.348	0.495	0.630
<i>Lb. plantarum</i> FFH72	0.180	0.202	0.270	0.450	0.652
<i>Lb. plantarum</i> FFH73	0.180	0.315	0.360	0.461	0.562
<i>E. faecium</i> FFH77	0.180	0.270	0.292	0.382	0.483
<i>E. faecium</i> FFH79	0.180	0.225	0.337	0.438	0.461
<i>E. faecium</i> FFH82	0.180	0.270	0.337	0.416	0.652
<i>E. faecium</i> FFH83	0.180	0.236	0.326	0.461	0.540
<i>E. faecalis</i> FFH85	0.180	0.270	0.326	0.438	0.562
<i>E. faecium</i> FFH86	0.180	0.270	0.315	0.438	0.562

6 saatlik inkübasyon sonucu % 0.25'in üzerinde laktik asit üreten suşlar koyu renk ile işaretlenmiştir

İnkübasyonun ardından titrimetrik yöntemle (Sarantinopoulos ve ark., 2001a) yapılan analizde, *L. lactis* (FFH48, FFH51 ve FFH53) suşları ile *E. faecium* FFH50 suşunun 27 mg/ml laktik asit ürettiği tespit edilmiştir.

4.4.4. Suşların proteolitik aktivite düzeyleri

Tanımlanması yapılan 65 suşun proteolitik aktivite düzeyleri Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4. 8. Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilen LAB'nin proteolitik aktivite düzeyleri (mmol/L)

Suş No	P.A.	Suş No	P.A.	Suş No	P.A.
<i>E. faecium</i> FFH1	0.0840	<i>Lb. plantarum</i> FFH24	0.0858	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH54	0.1912
<i>E. faecium</i> FFH2	0.1177	<i>Lb. plantarum</i> FFH25	0.0852	<i>E. faecium</i> FFH55	0.4428
<i>E. faecium</i> FFH3	0.1600	<i>Lb. pentosus</i> FFH26	0.1502	<i>E. faecium</i> FFH56	0.8716
<i>E. faecium</i> FFH4	0.0893	<i>Lb. plantarum</i> FFH27	0.1011	<i>E. faecium</i> FFH57	0.0656
<i>E. faecium</i> FFH5	0.1074	<i>Lb. plantarum</i> FFH30	0.1502	<i>Lb. plantarum</i> FFH59	0.1213
<i>E. faecium</i> FFH6	0.0864	<i>E. faecium</i> FFH33	0.1004	<i>E. faecium</i> FFH60	0.1291
<i>E. faecium</i> FFH7	0.1896	<i>E. faecium</i> FFH34	0.0546	<i>E. faecium</i> FFH61	0.1155
<i>E. faecium</i> FFH8	0.0904	<i>E. faecium</i> FFH35	0.0530	<i>E. faecium</i> FFH62	0.0372
<i>E. faecium</i> FFH9	0.1410	<i>E. faecium</i> FFH36	0.0518	<i>E. faecium</i> FFH64	0.1017
<i>E. faecium</i> FFH10	0.1967	<i>E. faecium</i> FFH37	0.1113	<i>E. faecium</i> FFH65	0.0347
<i>E. faecium</i> FFH11	0.3849	<i>E. faecium</i> FFH38	0.0514	<i>E. durans</i> FFH66	0.1122
<i>E. faecium</i> FFH12	0.1132	<i>E. faecium</i> FFH39	0.1496	<i>E. faecium</i> FFH67	0.1008
<i>E. faecium</i> FFH13	1.1091	<i>E. faecium</i> FFH40	0.1239	<i>E. faecalis</i> FFH69	1.5996
<i>E. faecalis</i> FFH14	2.1926	<i>E. durans</i> FFH41	0.0640	<i>E. faecium</i> FFH70	0.1103
<i>E. faecium</i> FFH15	0.4224	<i>E. faecium</i> FFH43	0.1166	<i>Lb. plantarum</i> FFH72	0.1115
<i>E. faecium</i> FFH16	2.0593	<i>E. faecium</i> FFH45	1.2147	<i>Lb. plantarum</i> FFH73	0.2088
<i>E. durans</i> FFH17	0.7542	<i>E. faecalis</i> FFH46	2.2452	<i>E. faecium</i> FFH77	0.0643
<i>E. faecium</i> FFH18	0.1864	<i>L. lactis</i> FFH48	0.2912	<i>E. faecium</i> FFH79	0.0942
<i>E. faecium</i> FFH19	0.1702	<i>E. faecium</i> FFH50	0.2097	<i>E. faecium</i> FFH82	0.2324
<i>P. pentosaceus</i> FFH20	1.0954	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH51	2.1484	<i>E. faecium</i> FFH83	0.1769
<i>Lb. plantarum</i> FFH21	0.1104	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> FFH53	0.0963	<i>E. faecalis</i> FFH85	0.1813
<i>Lb. plantarum</i> FFH23	0.0834			<i>E. faecium</i> FFH86	0.7613

P.A.: Proteolitik aktivite

Proteolitik aktivite düzeyleri, düşük (0-1 mmol/L), orta (1-2 mmol/L) ve yüksek (2-3 mmol/L) olarak sınıflandırılır (Sáez ve ark., 2018). OPA yöntemi ile yapılan analiz sonucunda, suşların proteolitik aktivitesinin 0.0347 ile 2.2452 mmol/L FAA (serbest amino asit) arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). Toplamda 65 suştan 57'si düşük düzeyde (FAA 1 mmol/L'den az) proteolitik aktivite göstermiştir. *E. faecium* (FFH13 ve FFH45) (1.1091 ve 1.2147 mmol/L), *E. faecalis* FFH69 (1.5996 mmol/L) ve *P. pentosaceus* FFH20 (1.0954 mmol/L) suşları ise orta düzeyde (FAA 1-2 mmol/L arasında) proteolitik aktivite sergilemiştir. En yüksek proteolitik aktivite (FAA 2 mmol/L'den fazla) sırasıyla *E. faecalis* (FFH46 ve FFH14) (2.2452 ve 2.1926 mmol/L), *L. lactis* subsp. *lactis* FFH51 (2.1484 mmol/L) ve *E. faecium* FFH16 (2.0593 mmol/L) suşlarında gözlenmiştir.

Lb. plantarum suşlarının 0.0834-0.2088 mmol/L arasında düşük düzeyde proteolitik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

4.4.5. Suşların bakteriyosin aktivitesi

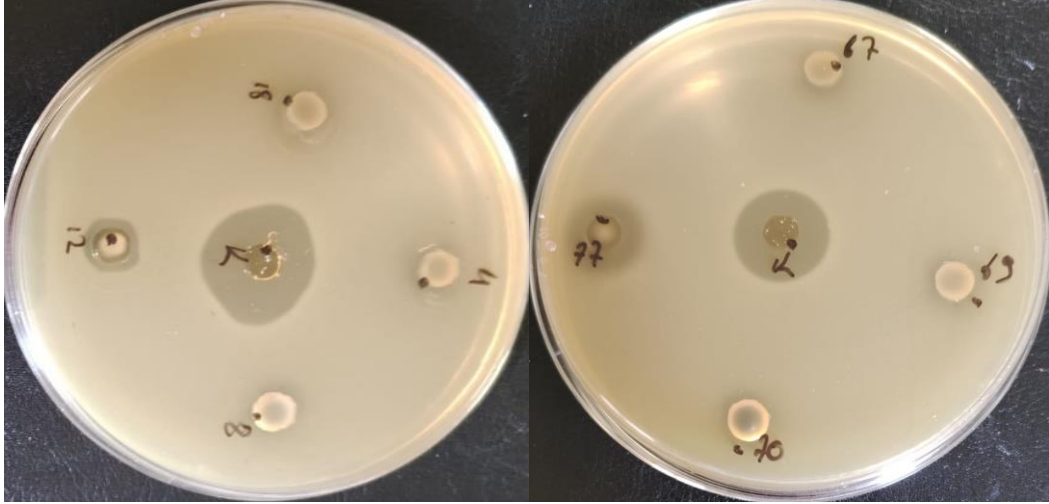
Muş Tulum peynirinden izole edilen ve tanımlanan tüm LAB'nin bakteriyosin aktivitesi incelenmiştir. Bu amaçla, tanımlanan LAB'i uygun sıvı besiyerlerine (MRS broth veya M17 broth) %1 oranında eklenmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında elde edilen kültürler M17 ve MRS agar üzerine yayılarak, indikatör suş olarak kullanılan *Lactococcus lactis* SIK 1403'e karşı oluşturdıkları inhibisyon zonları bakteriyosin aktivitesi olarak değerlendirilmiştir.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, tüm suşların indikatör *Lactococcus lactis* SIK1403'e karşı inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Bu zonların asitlik artışından ya da bakteriyosin üretiminden kaynakladığını tespit etmek amacıyla kuyu difüzyon testi uygulanmıştır. Kontrol olarak *Pediococcus pentosaceus* OZF suşu kullanılmıştır.

Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilen LAB suşlarının *Lactococcus lactis* SIK1403'e karşı oluşturdukları zon çapları Çizelge 4.9'da verilmiştir. *Lactococcus lactis* SIK1403 bakterisine karşı en iyi antagonistik aktiviteyi *Lb. plantarum* (FFH73, FFH27 ve FFH30) suşları ile *E. faecium* FFH77 suşunun gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4. 9. Muş Tulum peyniri örneklerinden izole edilip tanımlanan LAB'nin *Lactococcus lactis* SIK1403'e karşı gösterdikleri inhibisyon aktiviteleri (zon çapı)

Suş No	Zon Çapı (mm)	Suş No	Zon Çapı (mm)	Suş No	Zon Çapı (mm)
<i>E. faecium</i> FFH1	10	<i>Lb. plantarum</i> FFH24	17	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH54	3
<i>E. faecium</i> FFH2	6	<i>Lb. plantarum</i> FFH25	14	<i>E. faecium</i> FFH55	7
<i>E. faecium</i> FFH3	9	<i>Lb. pentosus</i> FFH26	15	<i>E. faecium</i> FFH56	8
<i>E. faecium</i> FFH4	16	<i>Lb. plantarum</i> FFH27	26	<i>E. faecium</i> FFH57	10
<i>E. faecium</i> FFH5	19	<i>Lb. plantarum</i> FFH30	22	<i>Lb. plantarum</i> FFH59	10
<i>E. faecium</i> FFH6	9	<i>E. faecium</i> FFH33	8	<i>E. faecium</i> FFH60	11
<i>E. faecium</i> FFH7	5	<i>E. faecium</i> FFH34	9	<i>E. faecium</i> FFH61	3
<i>E. faecium</i> FFH8	8	<i>E. faecium</i> FFH35	6	<i>E. faecium</i> FFH62	5
<i>E. faecium</i> FFH9	6	<i>E. faecium</i> FFH36	5	<i>E. faecium</i> FFH64	8
<i>E. faecium</i> FFH10	8	<i>E. faecium</i> FFH37	10	<i>E. faecium</i> FFH65	3
<i>E. faecium</i> FFH11	10	<i>E. faecium</i> FFH38	7	<i>E. durans</i> FFH66	6
<i>E. faecium</i> FFH12	5	<i>E. faecium</i> FFH39	4	<i>E. faecium</i> FFH67	9
<i>E. faecium</i> FFH13	6	<i>E. faecium</i> FFH40	9	<i>E. faecalis</i> FFH69	6
<i>E. faecalis</i> FFH14	6	<i>E. durans</i> FFH41	10	<i>E. faecium</i> FFH70	7
<i>E. faecium</i> FFH15	5	<i>E. faecium</i> FFH43	5	<i>Lb. plantarum</i> FFH72	17
<i>E. faecium</i> FFH16	5	<i>E. faecium</i> FFH45	4	<i>Lb. plantarum</i> FFH73	35
<i>E. durans</i> FFH17	7	<i>E. faecalis</i> FFH46	4	<i>E. faecium</i> FFH77	23
<i>E. faecium</i> FFH18	10	<i>L. lactis</i> FFH48	8	<i>E. faecium</i> FFH79	15
<i>E. faecium</i> FFH19	8	<i>E. faecium</i> FFH50	6	<i>E. faecium</i> FFH82	6
<i>P. pentosaceus</i> FFH20	9	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> FFH51	4	<i>E. faecium</i> FFH83	12
<i>Lb. plantarum</i> FFH21	12	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> FFH53	4	<i>E. faecalis</i> FFH85	9
<i>Lb. plantarum</i> FFH23	9			<i>E. faecium</i> FFH86	11



Şekil 4. 6. *E. faecium* türlerinin *L. lactis*'e karşı antimikrobiyal aktivitesi

Kontrol (K): *P. pentosaceus* OZF, 4: *E. faecium* FFH4, 8: *E. faecium* FFH8 12: *E. faecium* FFH12, 18: *E. faecium* FFH18, 67: *E. faecium* FFH67, 69: *E. faecalis* FFH69, 70: *E. faecium* FFH70, 77: *E. faecium* FFH77

Test sonuçlarına göre, yalnızca 2 *Enterococcus* suşunun (*E. faecium* FFH12 ve *E. faecium* FFH77) inhibitör aktivitesinin bakteriyosin üretiminden kaynaklandığı (Şekil 4.6), diğer 63 suşun inhibitör aktivitesinin ise asitlik artışından kaynaklandığı tespit edilmiştir.

4.5. Muş Tulum Peyniri Örneklerine Ait Bazı Fizikokimyasal Özellikler

Farklı işletmelerden alınan Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince incelenen fizikokimyasal parametre verileri Çizelge 4.10’da sunulmuştur. Verilere ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.11.’de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 10. Muş Tulum peynirlerinin depolama süresince fizikokimyasal özellikleri

Parametreler	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
		A	B	C	D	E
Kurumadde (%)	1	58.75±0.25 ^{abA}	58.15±0.15 ^{bcA}	58.15±0.35 ^{bcA}	59.20±0.20 ^{aA}	57.65±0.15 ^{cA}
	45	58.95±0.25 ^{abA}	58.35±0.25 ^{bcA}	58.25±0.35 ^{bcA}	59.25±0.25 ^{aA}	57.80±0.10 ^{cA}
	90	59.15±0.15 ^{aA}	58.30±0.20 ^{baA}	58.30±0.30 ^{baA}	58.80±0.20 ^{aA}	57.75±0.25 ^{bA}
Yağ (%)	1	33.50±0.50 ^{bcA}	32.75±0.25 ^{cdA}	32.00±0.00 ^{dB}	34.25±0.25 ^{abA}	35.00±0.00 ^{aA}
	45	33.75±0.25 ^{bA}	32.50±0.50 ^{cA}	32.50±0.00 ^{cAB}	34.00±0.00 ^{bA}	35.75±0.25 ^{aA}
	90	34.50±0.50 ^{aA}	33.00±0.00 ^{bA}	32.75±0.25 ^{bA}	34.50±0.00 ^{aA}	35.50±0.50 ^{aA}
Kurumadde de yağ (%)	1	57.02±0.61 ^{bcA}	56.32±0.29 ^{cdA}	55.03±0.33 ^{dA}	57.85±0.23 ^{bA}	60.71±0.16 ^{aA}
	45	57.25±0.19 ^{bA}	55.69±0.62 ^{cA}	55.80±0.34 ^{cA}	57.87±0.25 ^{bA}	61.85±0.33 ^{aA}
	90	58.32±0.70 ^{bA}	56.60±0.19 ^{cA}	56.17±0.14 ^{cA}	58.67±0.20 ^{bA}	61.46±0.60 ^{aA}
Tuz (%)	1	4.17±0.04 ^{aA}	4.37±0.02 ^{aA}	3.88±0.11 ^{bA}	4.20±0.06 ^{aA}	3.67±0.04 ^{bA}
	45	3.90±0.02 ^{aA}	3.88±0.07 ^{abB}	3.70±0.03 ^{bcA}	4.03±0.07 ^{aA}	3.60±0.05 ^{cA}
	90	3.94±0.18 ^{abB}	3.78±0.07 ^{aB}	3.40±0.16 ^{abA}	3.77±0.05 ^{aB}	3.29±0.03 ^{bB}
Kurumadde de tuz (%)	1	7.10±0.04 ^{abA}	7.51±0.05 ^{aA}	6.67±0.22 ^{bcA}	7.10±0.12 ^{abA}	6.36±0.09 ^{cA}
	45	6.62±0.06 ^{abA}	6.66±0.15 ^{abB}	6.35±0.09 ^{bA}	6.80±0.14 ^{aAB}	6.23±0.10 ^{bA}
	90	5.74±0.32 ^{abB}	6.49±0.14 ^{aB}	5.84±0.31 ^{abA}	6.41±0.11 ^{abB}	5.65±0.08 ^{bB}
Titrasyon asitliği (% laktik asit)	1	0.13±0.00 ^{bC}	0.16±0.01 ^{aB}	0.14±0.00 ^{bC}	0.14±0.00 ^{bB}	0.13±0.00 ^{bC}
	45	0.18±0.00 ^{bB}	0.20±0.00 ^{aA}	0.15±0.00 ^{cB}	0.19±0.00 ^{aA}	0.18±0.01 ^{abB}
	90	0.21±0.00 ^{abA}	0.23±0.00 ^{aA}	0.19±0.00 ^{cA}	0.20±0.00 ^{bA}	0.22±0.00 ^{aA}
pH	1	4.91±0.04 ^{aB}	4.80±0.08 ^{aA}	4.90±0.01 ^{aA}	4.82±0.02 ^{aC}	4.90±0.02 ^{aB}
	45	4.99±0.00 ^{abAB}	4.86±0.03 ^{cA}	5.02±0.00 ^{aA}	5.01±0.01 ^{aB}	4.92±0.03 ^{bcB}
	90	5.05±0.02 ^{abA}	4.98±0.03 ^{bA}	5.36±0.20 ^{aA}	5.13±0.01 ^{abA}	5.19±0.06 ^{abA}

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir (p<0.05).

Çizelge 4. 11. Muş Tulum peynirlerinin fizikokimyasal özelliklerine ait varyans analiz sonuçları

Düzeltilmiş Kareler Ortalaması								
VD	SD	Kurumadde oranı (%)	Yağ oranı (%)	KM'de yağ oranı (%)	Tuz oranı (%)	KM'de tuz oranı (%)	Titrasyon asitliği (% laktik asit)	pH
İşletme (A)	4	1.868**	8.750**	29.699**	0.276**	0.667**	0.001**	0.034*
Depolama (B)	2	0.049	0.775*	1.906*	0.706**	2.140**	0.013**	0.195**
A*B	8	0.049	0.150	0.322	0.023	0.073	0.000**	0.011
Hata	15	0.113	0.175	0.303	0.013	0.050	3.953E-5	0.008
Toplam	30							

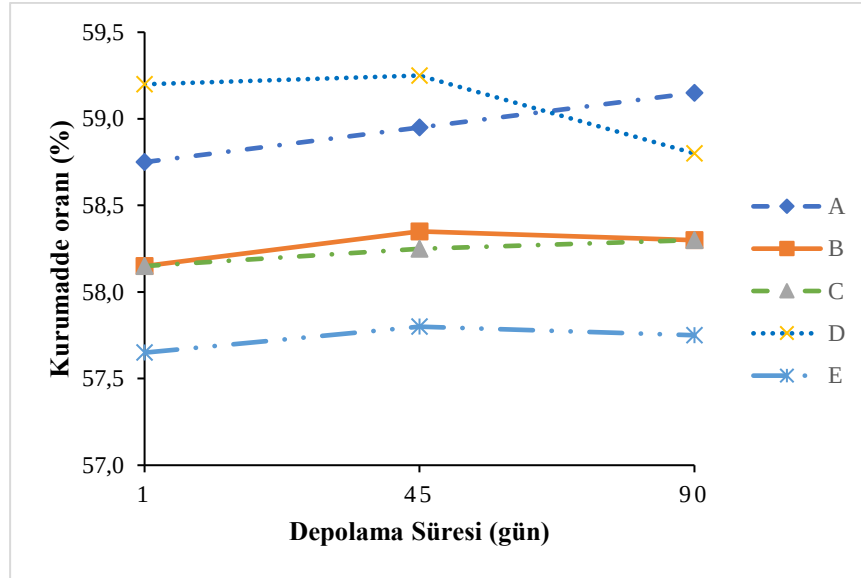
VK: Varyasyon kaynağı; SD: Serbestlik derecesi; *:p<0.05; **:p<0.01; düzeyinde önemli

4.5.1. Kurumadde oranı

Muş Tulum peynirlerine ait ortalama kurumadde miktarları Çizelge 4.10'da verildiği gibi %57.65-59.25 arasında bulunmuştur. En yüksek kurumadde miktarı depolamanın 45. gününde D işletmesinde, en düşük kurumadde miktarı ise depolamanın 1. gününde E işletmesinden alınan örneklerde tespit edilmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre işletme tipinin peynirin kurumaddesi üzerindeki etkisi $p<0.01$ düzeyinde çok önemli bulunmuştur. Ancak depolama süresi ve depolama süresi*işletme tipi interaksiyonun kurumadde üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 4.11).

Depolama süresi boyunca kurumadde miktarının A, B, C ve E işletmelerinden alınan örneklerde ilk güne göre arttığı, D işletmesinden alınan örnekte ise azaldığı görülmüştür (Şekil 4.7).



Şekil 4. 7. Muş Tulum peynirlerinde kurumadde oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi

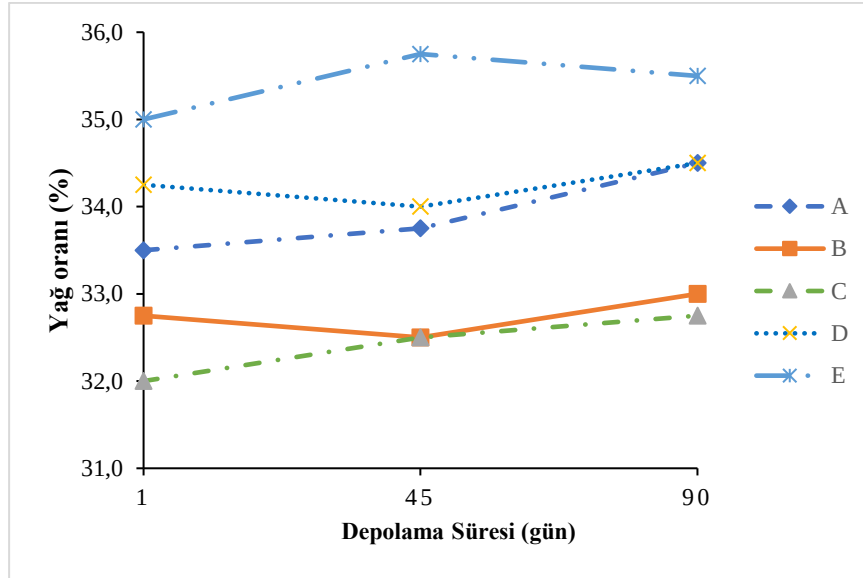
İşletmeler arası yapılan karşılaştırmada, depolamanın 1. ve 45. günlerinde A, D ve E işletmeleri arasında, 90. gününde ise E işletmesinde kurumadde miktarları arasındaki farklılığın $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

4.5.2. Yağ oranı

Peynir örnekleri arasındaki ortalama yağ oranlarının %32.00-35.75 arasında değiştiği saptanmıştır (Çizelge 4.10). En yüksek yağ oranı depolamanın 45. gününde E işletmesinde, en düşük yağ oranı ise 1. günde C işletmesinde bulunmuştur.

İşletme tipinin peynirin yağ miktarı üzerinde $p < 0.01$ düzeyinde çok önemli bir etkisi olduğu, depolama süresinin ise $p < 0.05$ düzeyinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

Örneklerdeki yağ oranının depolama periyodunca değişimi Şekil 4.8.'de gösterilmiştir. Depolama sonunda tüm işletmelerde yağ oranı depolamanın ilk gününe oranla artmış ve bu artmanın C işletmesinde $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır.



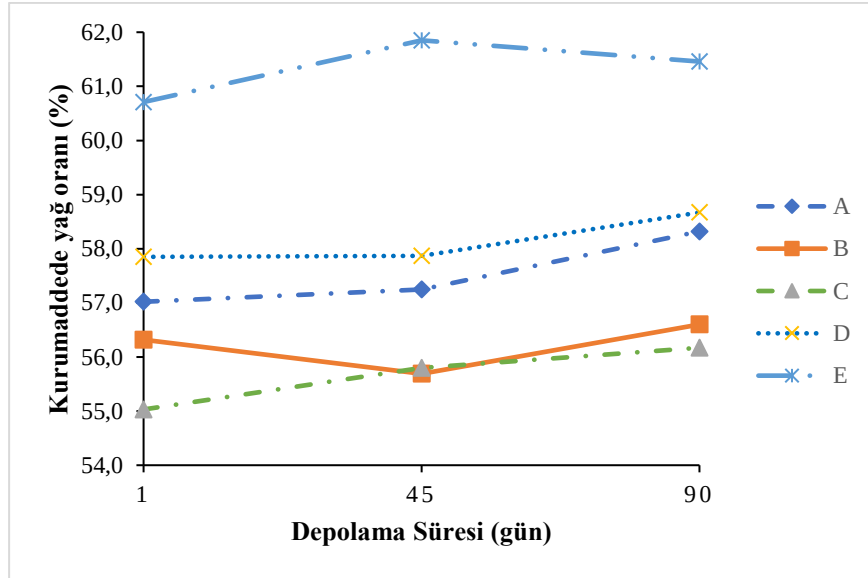
Şekil 4. 8. Muş Tulum peynirlerinde yağ oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi

İşletmeler açısından incelendiğinde, yağ oranları arasındaki farklılıkların depolamanın 1. gününde tüm işletmelerde, 45. gününde ise E işletmesinde $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

4.5.3. Kurumaddede yağ oranı

Muş Tulum peynirine ait örneklerin ortalama kurumaddede yağ oranları Çizelge 4.10.'da sunulmuştur. Örneklerin kurumaddede yağ oranları %55.03-61.85 arasında değişmekte olup, en yüksek değer depolamanın 45. gününde E işletmesinde, en düşük değer ise depolamanın 1. gününde C işletmesinde bulunmuştur.

Varyans analiz sonuçlarına göre, işletme tipinin peynirin kurumaddede yağ oranları üzerinde ($p < 0.01$) çok önemli, depolama süresinin ise ($p < 0.05$) önemli düzeyde etki ettiği belirlenmiştir.



Şekil 4. 9. Muş Tulum peynirlerinde kurumaddede yağ oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi

Tulum peyniri örneklerine ait kurumaddede yağ oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi Şekil 4.9’da gösterilmiştir. Depolama sonunda örneklerin kurumaddede yağ oranlarında artış gözlemlenmiş, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

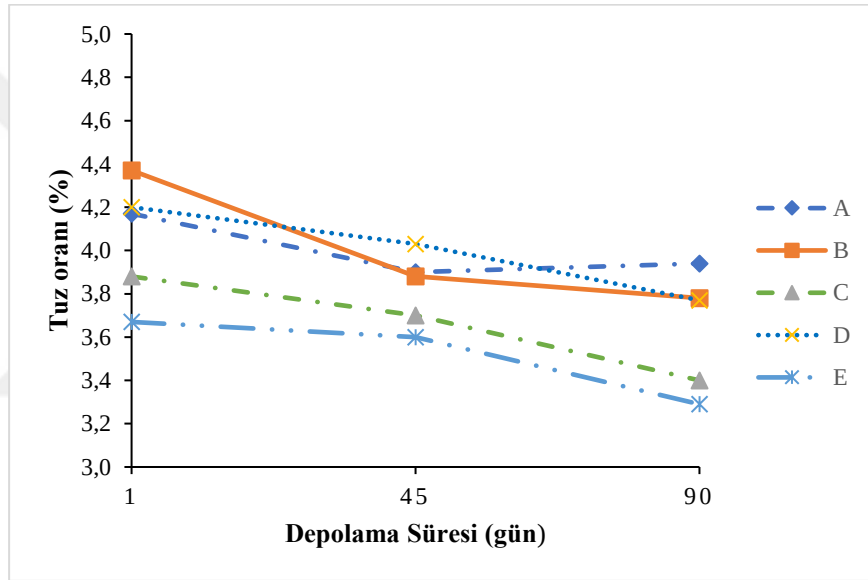
İşletmeler arasındaki kurumaddede yağ oranları kıyaslandığında, depolamanın 1. gününde tüm işletmelerde, 45. ve 90. günlerinde ise yalnızca E işletmesinde $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir (Çizelge 4.10).

4.5.4. Tuz oranı

Farklı işletmelerden alınan Muş Tulum peynirlerine ait tuz değerleri %3.29-4.37 arasında değişmiştir (Çizelge 4.10). En yüksek tuz değeri depolamanın 1. gününde B işletmesinden alınan örnekte, en düşük tuz değeri ise 90. gününde E işletmesinden alınan örnekte saptanmıştır.

Peynirin tuz miktarı üzerine işletme tipi ve depolama süresinin $p<0.01$ düzeyde çok önemli etki ettiği belirlenirken, işletme*depolama süresi interaksiyonunun etkisi ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Örneklere ait tuz oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi Şekil 4.10'da verilmiştir. Depolama süresince peynir örneklerindeki tuz miktarının sürekli olarak azaldığı görülmüştür. Bu azalma A, D ve E işletmelerinde 90. günde, B işletmesinde ise 45. günden sonra anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.10).



Şekil 4. 10. Muş Tulum peynirlerinde tuz oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi

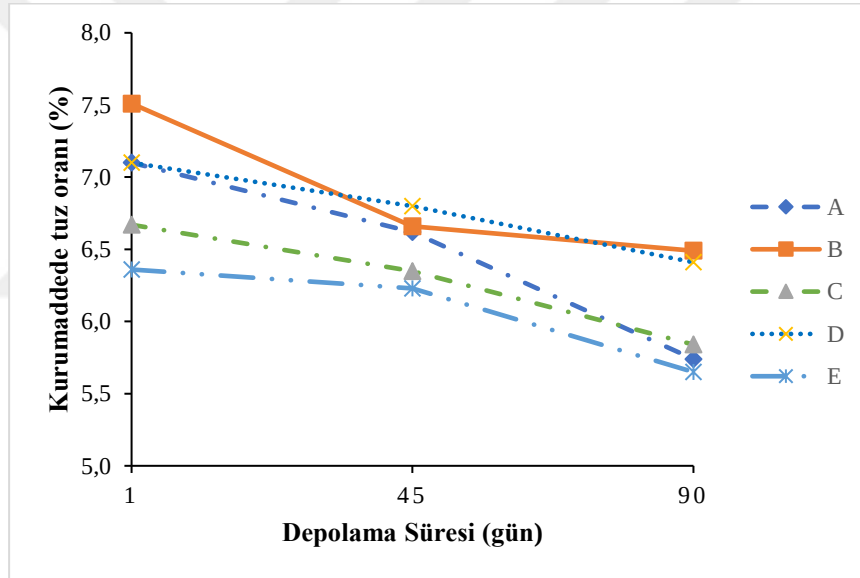
Tuz miktarı işletmeler arasında değerlendirildiğinde, depolamanın 45. gününde B, C ve E işletmelerinde, 90. gününde ise E işletmesinde anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.10).

4.5.5. Kurumaddede tuz oranı

Örneklerin kurumaddede tuz değerlerinin %5.65-7.51 arasında değiştiği ve en yüksek değerinin depolamanın 1. gününde B işletmesinde, en düşük değerinin ise depolamanın 90. gününde E işletmesinde tespit edildiği belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

İşletme tipi ve depolama süresinin, peynirin kurumaddesindeki tuz değerleri üzerinde $p<0.01$ düzeyinde çok önemli bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Depolama süresince örneklerin kurumaddede tuz oranlarının değişimi Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Kurumaddede tuz değerlerinde depolama periyodu boyunca tüm işletmelerde sürekli bir azalma eğilimi gözlenmiş, bu azalmanın A ve E işletmelerinde depolamanın 90. gününde B ve D işletmelerinde ise 45. günde farklılık gösterdiği saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.10). Ancak, C işletmesindeki azalma istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 4. 11. Muş Tulum peynirlerinde kurumaddede tuz oranlarının depolama periyodu boyunca değişimi

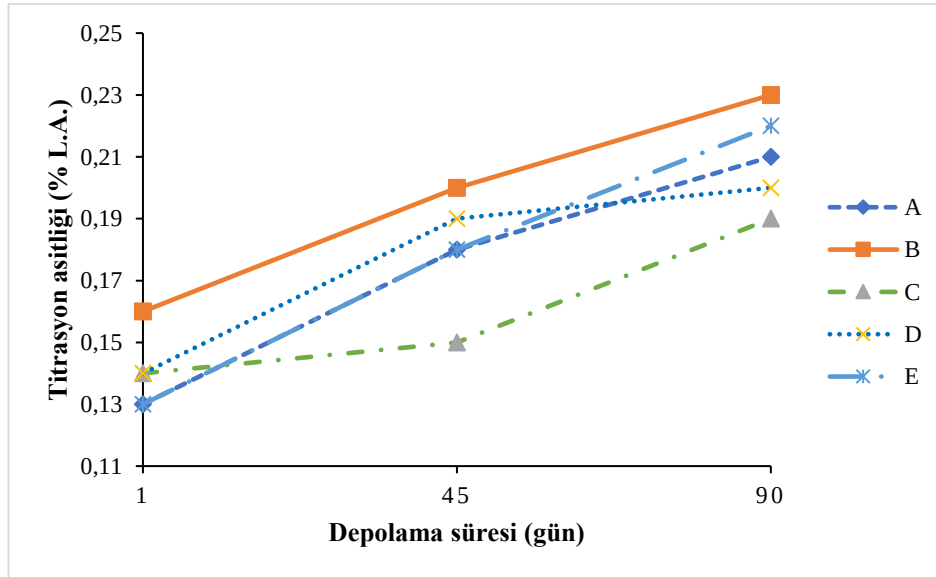
İşletmeler arası kıyaslamada, kurumaddede tuz değerlerinin depolamanın 1. gününde B, C ve E işletmelerinde, 45. günde D işletmesinde ve 90. günde ise B ve E işletmelerinde $p<0.05$ düzeyinde farklılık gösterdiği saptanmıştır.

4.5.6. Titrasyon asitliği değeri

İncelenen peynir örneklerinin titrasyon asitliği miktarları Çizelge 4.10'da gösterilmiştir. Titrasyon asitliği, depolamanın 90. gününde B işletmesinde %0.23 olarak en yüksek değere ulaşırken, en düşük değerin ise depolamanın 1. gününde A ve E işletmelerinde %0.13 olduğu belirlenmiştir.

Titrasyon asitliği üzerine işletme tipi, depolama süresi ve işletme tipi*depolama süresi etkileşiminin $p<0.01$ düzeyinde çok önemli bir etkisi olduğu belirlenmiştir.

Muş Tulum peyniri örneklerinde titrasyon asitliği değerlerinin depolama periyodu boyunca değişimi Şekil 4.12'de sunulmuştur. Depolama periyodunca tüm işletmelerden alınan peynir örneklerinde titrasyon asitliği değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu artış, A, C ve E işletmelerinde depolama süresi boyunca, B ve D işletmelerinde ise 45. günde $p<0.05$ seviyesinde anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.10).



Şekil 4. 12. Muş Tulum peynirlerinde titrasyon asitliği değerlerinin depolama periyodu boyunca değişimi

Depolamanın 1. gününde titrasyon asitliği değerleri işletmeler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermezken ($p>0.05$); 45. gününde A, C ve E işletmelerinde; 90. günde ise A, C ve D işletmelerinde $p<0.05$ düzeyinde anlamlı farklar tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

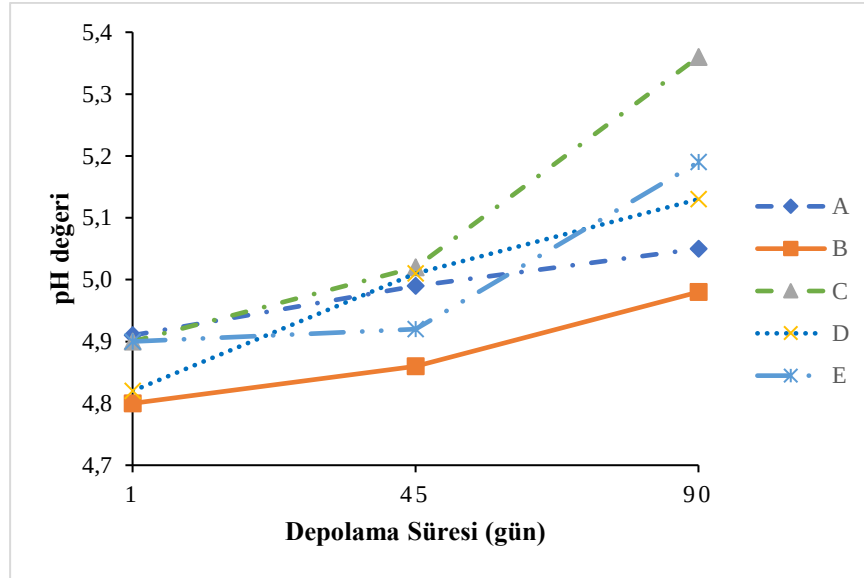
4.5.7. pH değeri

Muş Tulum peyniri örneklerinde belirlenen ortalama pH değerleri, depolama süresince 4.80-5.36 arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 4.10). pH değeri, C işletmesinde depolamanın sonunda en yüksek seviyeye ulaşmış, en düşük değer ise depolamanın başında B işletmesinde ölçülmüştür.

Varyans analiz sonucuna göre depolama süresinin pH değerini çok önemli ($p<0.01$) düzeyde, işletme tipinin ise önemli ($p<0.05$) düzeyde etkilediği belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Muş Tulum peyniri örneklerinde pH değerlerinin depolama periyodu boyunca değişimi Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Depolama süresi boyunca tüm örneklerde pH artışı olmuş, bu artış A ve D işletmelerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur. Ancak, B ve C işletmelerindeki pH artışının istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yaratmadığı, E işletmesinde ise depolama sürecinin sonunda pH artışının anlamlı ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

Aynı depolama gününde işletmeler arasındaki pH değerlerine bakıldığında, 45. günde A, B ve E işletmeleri, 90. günde ise B ve C işletmeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıkların ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10).



Şekil 4. 13. Muş Tulum peynirlerinde pH değerlerinin depolama periyodu boyunca değişimi

4.6. Muş Tulum Peyniri Örneklerine Ait Serbest Yağ Asidi Dağılımı

Muş Tulum peynirlerine ait serbest yağ içerikleri Çizelge 4.13’de, varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.12’te sunulmuştur.

İncelenen tüm peynirlerde depolama sonunda en yüksek konsantrasyonda bulunan serbest yağ asitlerinin oleik asit (C18:1), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0) ve miristik asit (C14:0) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4. 12. Muş Tulum peyniri örneklerinin toplam yağ asitlerine ait varyans analiz sonuçları

Düzeltilmiş Kareler Ortalaması					
VK	SD	FFA	SFA	PUFA	UNSFA
İşletme (A)	4	57310557.148**	17307278.870**	185766.563**	11852347.123**
Depolama (B)	2	95024.999**	2121.755	5555.251**	84290.023**
A*B	8	205766.374**	121422.801**	4133.495**	77274.316**
Hata	15	2756.582	1458.027	91.127	220.635
Toplam	30				

VK: Varyasyon kaynakları; SD: Serbestlik derecesi; FFA: Toplam yağ asidi; SFA: Toplam doymuş yağ asidi; PUFA: Toplam çoklu doymamış yağ asidi; UNSFA: Toplam doymamış yağ asidi; *:p<0.05; **:p<0.01; düzeyinde önemli

Çizelge 4. 13. Muş Tulum peyniri örneklerine ait serbest yağ asidi içeriği (mg/kg)

Serbest yağ asidi	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
		A	B	C	D	E
C4:0	1	175.62±2.50 ^{bA}	182.47±2.50 ^{abA}	189.89±2.50 ^{aAB}	133.08±2.50 ^{cA}	179.62±2.50 ^{bB}
	45	177.99±3.00 ^{bA}	153.62±3.00 ^{cB}	197.53±3.00 ^{aA}	137.52±3.00 ^{dA}	189.29±3.00 ^{aB}
	90	174.67±4.35 ^{bcA}	163.18±4.35 ^{cB}	182.08±4.35 ^{bB}	140.22±4.35 ^{dA}	280.98±4.35 ^{aA}
C6:0	1	115.06±2.50 ^{bB}	142.21±2.50 ^{aB}	44.47±2.50 ^{dB}	98.78±2.50 ^{cB}	42.35±2.50 ^{dB}
	45	123.32±3.00 ^{bB}	144.41±3.00 ^{aB}	59.25±3.00 ^{dB}	110.24±3.00 ^{cAB}	45.13±3.00 ^{eB}
	90	142.09±4.35 ^{bA}	192.72±4.35 ^{aA}	88.32±4.35 ^{dA}	116.72±4.35 ^{cA}	72.53±4.35 ^{dA}
C8:0	1	121.95±2.50 ^{aB}	62.66±2.50 ^{bC}	50.82±2.50 ^{cC}	33.25±2.50 ^{dB}	54.94±2.50 ^{bcB}
	45	135.28±3.00 ^{aB}	83.19±3.00 ^{bB}	71.45±3.00 ^{cB}	42.03±3.00 ^{eB}	56.29±3.00 ^{dB}
	90	165.16±4.35 ^{aA}	120.76±4.35 ^{bA}	117.12±4.35 ^{bA}	60.17±4.35 ^{dA}	97.31±4.35 ^{cA}
C10:0	1	229.77±2.50 ^{aC}	130.92±2.50 ^{bC}	107.68±2.50 ^{cC}	69.99±2.50 ^{dB}	116.27±2.50 ^{cB}
	45	255.42±3.00 ^{aB}	153.22±3.00 ^{bB}	142.43±3.00 ^{bB}	83.25±3.00 ^{dB}	114.43±3.00 ^{cB}
	90	314.83±4.35 ^{aA}	224.77±4.35 ^{bA}	219.06±4.35 ^{bA}	115.09±4.35 ^{dA}	198.40±4.35 ^{cA}
C12:0	1	227.84±2.50 ^{aB}	143.12±2.50 ^{bAB}	108.57±2.50 ^{cB}	72.37±2.50 ^{eB}	83.84±2.50 ^{dB}
	45	241.78±3.00 ^{aAB}	132.99±3.00 ^{bB}	119.17±3.00 ^{cB}	79.71±3.00 ^{dAB}	83.83±3.00 ^{dB}
	90	244.34±4.35 ^{aA}	149.02±4.35 ^{bA}	150.20±4.35 ^{bA}	90.80±4.35 ^{dA}	116.13±4.35 ^{cA}
C14:0	1	844.26±2.50 ^{aC}	577.66±2.50 ^{bA}	433.52±2.50 ^{cB}	321.39±2.50 ^{dB}	321.02±2.50 ^{dB}
	45	894.11±3.00 ^{aA}	535.11±3.00 ^{bC}	431.58±3.00 ^{cB}	329.62±3.00 ^{dB}	302.98±3.00 ^{eC}
	90	872.29±4.35 ^{aB}	560.72±4.35 ^{bB}	484.02±4.35 ^{cA}	355.64±4.35 ^{eA}	376.36±4.35 ^{dA}
C16:0	1	3911.73±2.50 ^{aB}	2908.14±2.50 ^{bA}	2035.33±2.50 ^{cA}	1541.11±2.50 ^{dA}	1407.54±2.50 ^{eB}
	45	4206.71±3.00 ^{aA}	2578.94±3.00 ^{bB}	1882.58±3.00 ^{cC}	1516.96±3.00 ^{dB}	1346.22±3.00 ^{eC}
	90	3674.64±4.35 ^{aC}	2472.83±4.35 ^{bC}	1906.83±4.35 ^{cB}	1546.30±4.35 ^{dA}	1500.43±4.35 ^{eA}
C18:0	1	1254.95±2.50 ^{aA}	1044.11±2.50 ^{bB}	769.16±2.50 ^{cA}	632.54±2.50 ^{dA}	575.39±2.50 ^{eA}
	45	1244.27±3.00 ^{aA}	1086.17±3.00 ^{bA}	703.41±3.00 ^{cB}	613.41±3.00 ^{dB}	549.28±3.00 ^{eB}
	90	1089.26±4.35 ^{aB}	803.18±4.35 ^{bC}	655.74±4.35 ^{cC}	620.20±4.35 ^{dAB}	538.90±4.35 ^{eB}
C18:1	1	4712.06±2.50 ^{aA}	3590.48±2.50 ^{bC}	2656.89±2.50 ^{cA}	1959.06±2.50 ^{dB}	1875.41±2.50 ^{eA}
	45	4705.32±3.00 ^{aA}	3861.45±3.00 ^{bB}	2302.43±3.00 ^{cC}	1866.55±3.00 ^{dC}	1661.63±3.00 ^{eC}
	90	4560.77±4.35 ^{aB}	4000.11±4.35 ^{bA}	2511.11±4.35 ^{cB}	2320.25±4.35 ^{dA}	1788.99±4.35 ^{eB}
C18:2	1	478.28±2.50 ^{aB}	294.66±2.50 ^{bB}	192.61±2.50 ^{dA}	161.52±2.50 ^{eA}	218.27±2.50 ^{cA}
	45	555.81±3.00 ^{aA}	285.31±3.00 ^{bB}	172.86±3.00 ^{cB}	158.34±3.00 ^{dA}	162.29±3.00 ^{cdB}
	90	444.19±4.35 ^{aC}	328.21±4.35 ^{bA}	188.33±4.35 ^{cA}	167.94±4.35 ^{dA}	134.80±4.35 ^{eC}
C18:3	1	123.28±2.50 ^{aC}	71.72±2.50 ^{bC}	60.77±2.50 ^{cC}	51.44±2.50 ^{dB}	40.24±2.50 ^{eB}
	45	144.48±3.00 ^{aB}	99.05±3.00 ^{bB}	77.67±3.00 ^{cB}	53.36±3.00 ^{eB}	65.58±3.00 ^{dA}
	90	182.94±4.35 ^{aA}	169.61±4.35 ^{aA}	146.34±4.35 ^{bA}	84.16±4.35 ^{cA}	78.63±4.35 ^{cA}

Çizelge 4.13 (devam)

Serbest yağ asidi	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
		A	B	C	D	E
FFA	1	12194.80±27.50 ^{aB}	9148.15±27.50 ^{bA}	6649.71±27.50 ^{cA}	5074.53±27.50 ^{dB}	4914.89±27.50 ^{eB}
	45	12684.49±33.00 ^{aA}	9113.46±33.00 ^{bA}	6160.36±33.00 ^{cB}	4990.99±33.00 ^{dB}	4576.95±33.00 ^{eC}
	90	11865.18±47.85 ^{aC}	9185.11±47.85 ^{bA}	6649.15±47.85 ^{cA}	5617.49±47.85 ^d	5183.46±47.85 ^{eA}
SFA	1	6881.18±20.00 ^{aB}	5191.29±20.00 ^{bA}	3739.44±20.00 ^{cA}	2902.51±20.00 ^{dB}	2780.97±20.00 ^{eB}
	45	7278.88±24.00 ^{aA}	4867.65±24.00 ^{bB}	3607.40±24.00 ^{cB}	2912.74±24.00 ^{dB}	2687.45±24.00 ^{eB}
	90	6677.28±34.80 ^{aC}	4687.18±34.80 ^{bC}	3803.37±34.80 ^{cA}	3045.14±34.80 ^{eA}	3181.04±34.80 ^{dA}
UNSFA	1	5313.62±7.50 ^{aB}	3956.86±7.50 ^{bC}	2910.27±7.50 ^{cA}	2172.02±7.50 ^{dB}	2133.92±7.50 ^{eA}
	45	5405.61±9.00 ^{aA}	4245.81±9.00 ^{bB}	2552.96±9.00 ^{cC}	2078.25±9.00 ^{dC}	1889.50±9.00 ^{eC}
	90	5187.90±13.05 ^{aC}	4497.93±13.05 ^{bA}	2845.78±13.05 ^{cB}	2542.35±16.95 ^d	2002.42±13.05 ^{eB}
PUFA	1	601.56±5.00 ^{aB}	366.38±5.00 ^{bB}	253.38±5.00 ^{cB}	212.96±5.00 ^{dB}	258.51±5.00 ^{eA}
	45	700.29±6.00 ^{aA}	384.36±6.00 ^{bB}	250.53±6.00 ^{cB}	211.70±6.00 ^{dB}	227.87±6.00 ^{dB}
	90	627.13±8.70 ^{aB}	497.82±8.70 ^{bA}	334.67±8.70 ^{cA}	252.10±8.70 ^{dA}	213.43±8.70 ^{eB}
SFA / UNSFA	1	1.295±0.00 ^{cdB}	1.312±0.00 ^{bA}	1.285±0.00 ^{dC}	1.336±0.00 ^{aB}	1.303±0.00 ^{bcC}
	45	1.346±0.00 ^{cA}	1.146±0.00 ^{dB}	1.413±0.00 ^{abA}	1.401±0.00 ^{bA}	1.422±0.01 ^{aB}
	90	1.287±0.00 ^{aB}	1.042±0.00 ^{eC}	1.336±0.01 ^{bB}	1.198±0.02 ^{dC}	1.588±0.01 ^{aA}

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). FFA: Toplam serbest yağ asidi; SFA: Toplam doymuş yağ asidi; UNSFA: Toplam doymamış yağ asidi; PUFA: Toplam çoklu doymamış yağ asidi

Varyans analizi sonuçlarına göre işletme tipi, depolama süresi (toplam SFA miktarı hariç) ve işletme tipi*depolama süresi interaksyonunun toplam FFA, SFA, PUFA ve UNSFA miktarları üzerinde $p<0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak çok önemli bir etkisi olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.12).

Depolama periyodu boyunca, peynir örneklerinde kısa zincirli yağ asitlerinin (C4:0, C6:0 ve C8:0) miktarları belirgin değişiklikler göstermiştir. Bütirik asit (C4:0) miktarı 133.08-280.98 mg/kg aralığında bulunmuştur. Bütirik asitin B işletmesi dışındaki tüm işletmelerde en fazla bulunan kısa zincirli yağ asidi olduğu belirlenmiştir. En yüksek C4:0 miktarı, depolamanın sonunda E işletmesinde, en düşük miktar ise depolamanın başında D işletmesinde bulunmuştur. A işletmesinden alınan örnekte C4:0 miktarının depolamanın başı ve sonunda benzer olduğu, B ve C ($p<0.05$) işletmelerinde depolama sonunda azaldığı, D ve E işletmelerinde ise

depolama süresince arttığı görülmüştür. Özellikle depolamanın sonunda E işletmesinde görülen artmanın istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0.05$) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.13). Depolamanın 1. gününde B, C ve D işletmeleri arasında, 45. günde A, B ve D işletmeleri arasında ve 90. günde tüm işletmeler arasında C4:0 miktarının anlamlı $p<0.05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.13).

Kaproik asit (C6:0) en fazla miktarda, depolamanın 90. gününde B işletmesinde (192.72 mg/kg) belirlenirken, en düşük miktarda ise depolamanın 1. gününde E işletmesinde (42.35 mg/kg) ölçülmüştür. Kaproik asit miktarı, tüm işletmelerde depolamanın her aşamasında sürekli olarak artmıştır. Bu artışın A, B, C ve E işletmelerinde depolamanın 45. gününde, D işletmesinde ise depolama boyunca istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.13). Ayrıca, depolamanın 45. gününde tüm işletmeler arasında, 1. ve 90. günlerde ise A, B ve D işletmeleri arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir (Çizelge 4.13).

Peynir örneklerinin kaprilik asit (C8:0) değerleri 33.25-165.16 mg/kg aralığında tespit edilmiştir. En yüksek C8:0 değeri, depolamanın 90. gününde A işletmesinde, en düşük değer ise depolamanın 1. gününde D işletmesinde bulunmuştur. Kaprilik asit değerinin tüm işletmelerde depolama boyunca arttığı ve bunun A, D ve E işletmelerinde depolamanın 90. gününde, B ve C işletmelerinde ise depolama süresince $p<0.05$ düzeyinde önemli olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.13). İşletmeler arası kıyaslamada ise C8:0 değerinin, depolamanın başı ve ortasında tüm işletmelerde, sonunda ise A, D ve E işletmelerinde anlamlı farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).

Tulum peynirlerine ait orta zincirli yağ asitlerinin (C10:0, C12:0 ve C14:0) içerikleri depolama süresince farklılık göstermiştir. Kaprik asit (C10) içeriği 69.99-315.83 mg/kg aralığında bulunmuştur. Kaprik asit değeri A işletmesinden alınan örneklerde depolamanın her aşamasında diğer işletmelere göre belirgin bir şekilde

yüksek çıkmış ve en yüksek değere depolamanın 90. gününde ulaşmıştır. En düşük C10:0 değerine ise depolamanın 1. gününde D işletmesinde rastlanmıştır. Depolama süresi sonunda C10:0 içeriğinin her işletmede depolamanın ilk gününe oranla arttığı tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13). Depolama periyodunun 1. gününde A, B ve D işletmeleri, 45 ve 90. günlerinde ise A, D ve E işletmeleri arasında C10:0 içeriklerinin istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).

Örneklerde laurik asit (C12:0) miktarının, 72.37-244.34 mg/kg arasında olduğu belirlenmiştir. En yüksek ve en düşük C12:0 miktarı sırasıyla depolamanın 90. gününde A işletmesi ile 1. gününde D işletmesinde bulunmuştur. Laurik asit miktarının tüm işletmelerde depolama sonunda arttığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.13). Aynı depolama gününde C12:0 miktarı, işletmeler arasında farklılık göstermiştir. Bu farkın depolamanın 1. gününde tüm işletmeler, 45. günde A, B ve C işletmeleri, 90. günde ise A, D ve E işletmeleri arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.13).

Peynirlerdeki miristik asit (C14:0) değerleri ise 302.98-894.11 mg/kg aralığında değişmiş olup en yüksek ve en düşük C14:0 değerleri depolamanın 45. gününde, sırasıyla A ve E işletmelerinde saptanmıştır. Miristik asitin tüm peynir işletmelerinde en fazla bulunan orta zincirli yağ asidi olduğu görülmüştür. Depolama süresince C14:0 değerlerinde dalgalanmalar görülse de depolama sonunda B işletmesi hariç diğer işletmelerde ilk güne göre artış görülmüştür ($p<0.05$) (Çizelge 4.13). C14:0 değeri, depolamanın başında A, B ve C işletmeleri, 45 ve 90. günlerde ise tüm işletmeler arasında anlamlı farklılıklar sergilemiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).

Örneklere ait palmitik asit (C16:0) miktarı, 1346.22-4206.71 mg/kg arasında bulunmuştur. En yüksek ve en düşük C16:0 miktarı, depolamanın 45. gününde sırasıyla A ve E işletmelerinde belirlenmiştir. Palmitik asit miktarının B işletmesinden alınan örnekte depolama süresi boyunca sürekli olarak azaldığı ($p<0.05$), A ve C işletmelerinde depolamanın 45. gününde artış ve azalışlar görülse de depolama

sonunda azaldığı, D ve E işletmelerinde ise depolama sonunda arttığı saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.13). Ayrıca depolamanın her aşamasında C16:0 miktarı, tüm işletmeler arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık göstermiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).

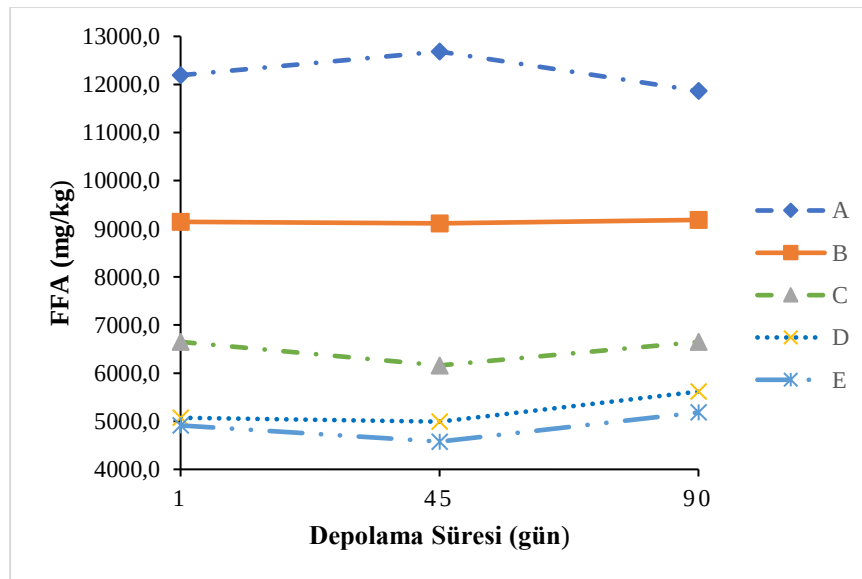
Analiz edilen peynirlerde en yüksek stearik asit (C18:0) içeriği depolamanın 1. gününde A işletmesinde (1254.95 mg/kg), en düşük ise 90. günde E işletmesinde (538.90 mg/kg) tespit edilmiştir. Stearik asit içeriğinin, tüm işletmelerde depolama süresinin sonunda başlangıç gününe kıyasla azalığı belirlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13). Aynı depolama gününde işletmeler arasında C18:0 içerikleri incelendiğinde ise, her üç depolama periyodunda da istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).

İncelenen tüm peynir örneklerinde, oleik asitin (C18:1) en yüksek konsantrasyona sahip yağ asidi olduğu, miktarının 1661.63-4712.06 mg/kg aralığında değiştiği belirlenmiştir. Oleik asit miktarı, depolamanın başında A işletmesinde en yüksek seviyeye ulaşmış, en düşük değer ise E işletmesinde 45. günde görülmüştür (Çizelge 4.13). Depolama süresince C18:1 miktarı B ve D işletmelerinde artarken ($p<0.05$), A, C ve E işletmelerinde azalmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.13). Tüm depolama günlerinde C18:1 miktarının işletmeler arasında anlamlı farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).

Örneklere ait linoleik asit (C18:2) değerlerinin 158.34-555.81 mg/kg aralığında değiştiği, en yüksek ve en düşük linoleik asit değerlerinin depolamanın 45. gününde A ve D işletmelerinde belirlenmiştir. C18:2 değerinin, depolama süresince E işletmesinde sürekli olarak azaldığı ($p<0.05$), A ve C işletmelerinde dalgalanmalar görülse de depolama süresi sonunda azaldığı, B ve D işletmelerinde ise arttığı ($p<0.05$) saptanmıştır (Çizelge 4.13). C18:2 değerlerinin her depolama aşamasında işletmeler arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir.

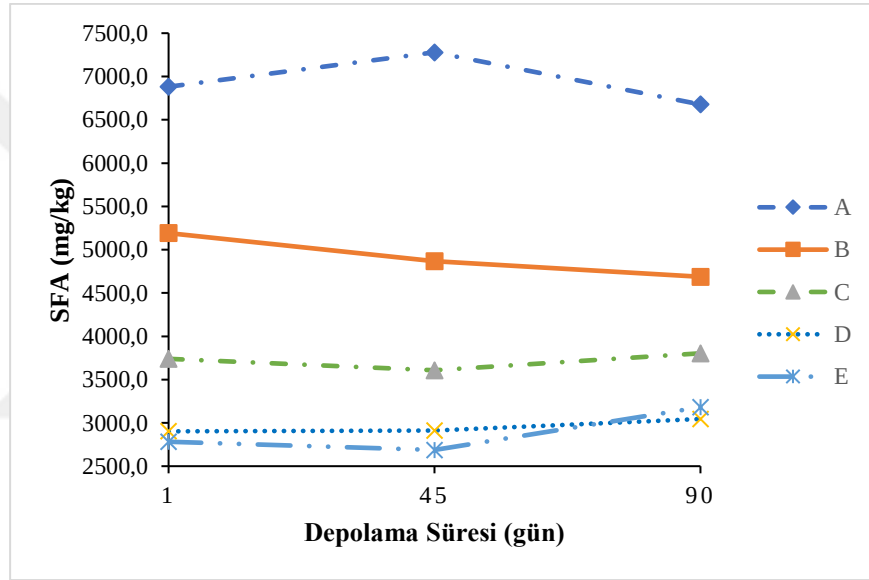
Analizi sonuçlarına göre, tulum peynirlerinde en yüksek linolenik asit (C18:3) miktarının, depolamanın 90. gününde A işletmesinde 182.94 mg/kg olarak belirlendiği, en düşük miktarın ise depolamanın 1. gününde E işletmesinde 40.24 mg/kg olarak tespit edildiği saptanmıştır. Depolama periyodu boyunca tüm işletmelerde C18:3 miktarının sürekli olarak arttığı gözlemlenmiştir. Bu artış A, B ve C işletmelerinde depolama süresi boyunca, D işletmesinde depolamanın 90. gününde, E işletmesinde ise depolamanın 45. gününde istatistiksel olarak anlamlı olmuştur (Çizelge 4.13). C18:3 miktarındaki farklılıkların depolamanın 1 ve 45. günlerinde tüm işletmeler arasında, 90. günde ise C işletmesinde anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).

Peynir örneklerinin toplam serbest yağ asitleri (FFA) miktarları 4576.95-12684.49 aralığında belirlenmiştir. Örneklerin toplam FFA miktarının depolama süresince değişimi Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Toplam FFA miktarı depolama süresince B, D ve E ($p<0.05$) işletmelerinde artmış, A işletmesinde azalmış ($p<0.05$), C işletmesinde ise değişmemiştir (Çizelge 4.13). İşletmeler arasında, her depolama döneminde toplam FFA miktarının istatistiksel açıdan önemli farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).



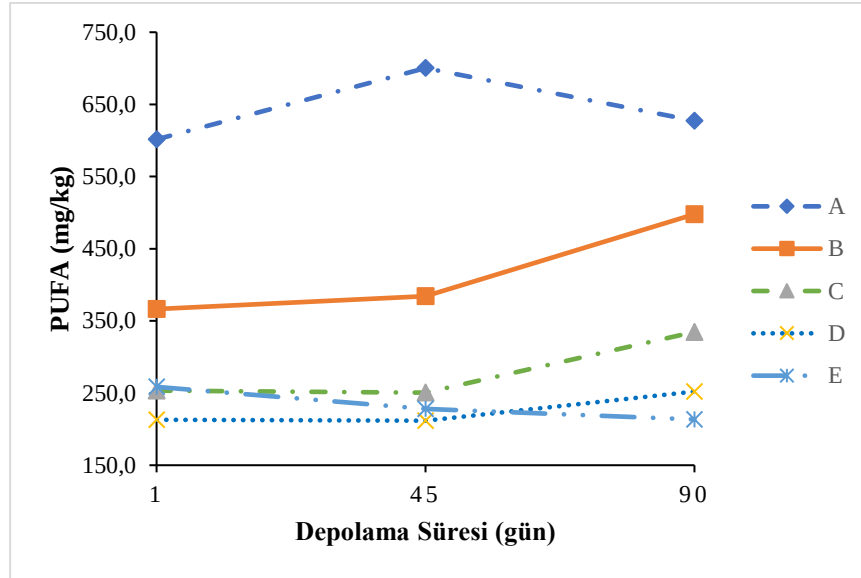
Şekil 4. 14. Depolama periyodunca örneklere ait toplam FFA değerlerinin değişimi
FFA: Toplam serbest yağ asidi

Tulum peyniri örneklerinde toplam doymuş yağ asidi (SFA) içeriği 2687.45-7278.88 mg/kg arasında bulunmuştur. Tulum peynirlerine ait toplam SFA miktarının depolama süresince değişimi Şekil 4.15'te gösterilmiştir. Depolama süresi boyunca örneklerin toplam SFA içeriğinde artış ve azalışlar gözlemlenmiştir. Bu bağlamda A ve B işletmelerinde toplam SFA içeriğinin depolama süresi sonunda azaldığı ($p<0.05$); C, D ve E işletmelerinde ise depolama başlangıcına kıyasla arttığı tespit edilmiştir. Toplam SFA içeriğinin işletmeler arasında, depolamanın her aşamasında anlamlı farklılıklar gösterdiği saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).



Şekil 4. 15. Depolama periyodunca örneklere ait SFA değerlerinin değişimi
SFA: Toplam doymuş yağ asidi

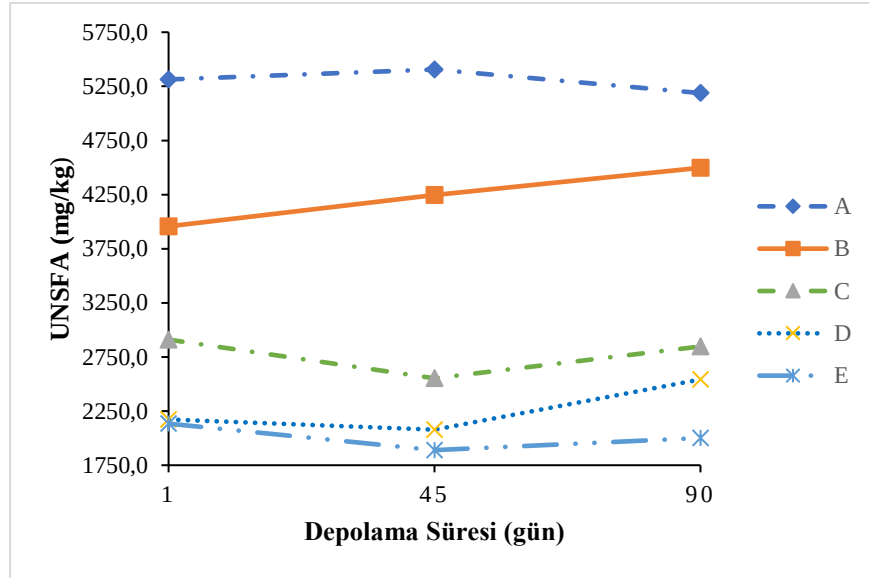
Tulum peynirlerinde hesaplanan toplam çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeriği 211.70-700.29 mg/kg arasında değişim göstermiştir. Peynir örneklerinde toplam PUFA miktarının depolama süresince değişimi Şekil 4.16'da verilmiştir. Depolama süresi boyunca, E işletmesinde toplam PUFA içeriğinin sürekli olarak azaldığı, diğer işletmelerde ise depolama sonunda ($p<0.05$) arttığı gözlenmiştir. Toplam PUFA içeriğinin depolamanın 1. gününde A, B ve D işletmeleri, 45. günde A, B ve C işletmeleri, 90. günde ise tüm işletmeler arasında anlamlı değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).



Şekil 4. 16. Depolama periyodunca örneklere ait PUFA değerlerinin değişimi
PUFA: Toplam çoklu doymamış yağ asidi

Çalışmada, peynir örneklerinde toplam doymamış yağ asitleri (UNSFA) miktarının 1889.50-5313.62 mg/kg arasında değiştiği belirlenmiştir. Muş Tulum peynirlerine ait toplam UNSFA miktarının depolama süresince değişimi Şekil 4.17’de sunulmuştur. Depolama süresinin artmasıyla birlikte, A, C ve E işletmelerinde toplam UNSFA miktarının azaldığı ($p<0.05$), buna karşılık B ve D işletmelerinde ise arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Aynı depolama döneminde tüm işletmeler arasında toplam UNSFA miktarında önemli farklılıklar saptanmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).

Peynir örneklerine ait SFA/UNSFA oranı 1.042-1.588 mg/kg arasında hesaplanmıştır. SFA/UNSFA oranı depolama sonunda C ve E işletmesinde artmış ($p<0.05$), A, B ve D işletmesinde ise azalmıştır ($p<0.05$). SFA/UNSFA oranındaki değişimin depolamanın 1 ve 45. günlerinde tüm işletmelerde, 90. günde ise B, C ve D işletmelerinde istatistiksel açıdan önemli olduğu görülmüştür ($p<0.05$) (Çizelge 4.13).



Şekil 4. 17. Depolama periyodunca örneklere ait UNSFA değerlerinin değişimi
UNSFA: Toplam doymamış yağ asidi

4.7. Muş Tulum Peyniri Örneklerinde Belirlenen Uçucu Bileşikler

Muş Tulum peynirinde 20 asit, 20 ester, 6 alkol, 7 hidrokarbon, 2 aldehit, 1 keton, 2 terpen, 1 lakton ve 17 diğer bileşen olmak üzere toplam 76 aroma bileşiği tanımlanmıştır.

Peynir örneklerinde depolama süresince uçucu bileşiklerin değişimi Çizelge 4.15 ile Çizelge 23'te, toplam uçucu bileşiklerin varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.14'te gösterilmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre işletme tipi, depolama süresi ve işletme tipi*depolama süresi interaksyonunun toplam uçucu bileşenler üzerinde $p < 0.01$ düzeyinde çok önemli bir etkisi olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4. 14. Muş Tulum peyniri örneklerinin toplam uçucu bileşenlerine ait varyans analiz sonuçlar

Düzeltilmiş Kareler Ortalaması										
VK	SD	Asitler	Esterler	Alkoller	Hidrokarbonlar	Aldehitler	Ketonlar	Terpenler	Laktonlar	Diğer bileşenler
İşletme (A)	4	315.150**	2766.167**	387.503**	211.794**	36.906**	38.753**	221.119**	2.165**	381.035**
Depolama (B)	2	170.234**	1543.186**	337.370**	451.705**	1.164**	9.775**	768.386**	2.165**	158.480**
A*B	8	565.125**	669.925**	401.240**	362.240**	8.216**	9.775**	94.943**	2.165**	304.427**
Hata	30	0.010	0.069	0.000	0.000	0.000	5.333E-5	0.000	6.667E-6	0.000
Toplam	45									

VK: Varyasyon kaynağı; SD: Serbestlik derecesi; *:p<0.05; **:p<0.01; düzeyinde önemli

4.7.1. Asitler

Farklı işletmelerden temin edilen Muş Tulum peyniri örneklerinde, depolama periyodu boyunca hekzanoik (kaproik), palmitoleik, undekanoik, dodekanoik, 9-oktadekanoik, oktadekanoik, cis-vaksenik, pentadekanoik, nonanoik, 11-bromodekanoik, tetradekanoik, oleik, palmitik, bütanoik, izovalerik, oktanoik (kaprilik), heptanoik, 2-metilundekanoik, 2,5-dihidroksi benzoik ve 4-hidroksi benzoik asit olmak üzere 20 farklı asit bileşiği saptanmıştır (Çizelge 4.15).

90 günlük depolama sonunda peynir örneklerinde toplam asit miktarı 0.29-21.84 mg/kg aralığında bulunmuştur. En düşük toplam asit miktarı depolamanın 90. gününde A işletmesinde en yüksek toplam asit miktarı ise aynı depolama döneminde B işletmesinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Örneklerin depolama süresi boyunca toplam asit miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.18’de gösterilmiştir. B ve D işletmelerinden alınan peynir örneklerinde depolama süresince toplam asit miktarının arttığı ($p<0.05$), A, C ve E işletmelerinde depolamanın sonunda ilk güne göre azaldığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Aynı depolama günlerinde işletmeler arası kıyaslamada toplam asit miktarının depolamanın 1. ve 45. günlerinde A ve B işletmeleri dışındaki diğer işletmelerde, 90. günde ise tüm işletmeler arasında $p<0.05$ düzeyinde farklılık gösterdiği görülmüştür.

Palmitik asitin peynir örneklerinde en yüksek konsantrasyonda (13.11 mg/kg) bulunan asit olduğu ve B işletmesinden alınan örnekte depolama sonunda tespit edildiği belirlenmiştir. Peynir örneklerinde genel olarak belirgin bir asit bileşiğinin olmadığı, tespit edilen asitlerin depolamanın farklı aşamalarında ve farklı örneklerde görüldüğü saptanmıştır. Hekzanoik asit, E işletmesinden alınan örneklerde tüm depolama aşamalarında, D işletmesinden alınan örneklerde 45 ve 90. günlerde bulunmuştur. Hekzanoik asit miktarı E ve D işletmelerinde depolama süresince azalmıştır ($p<0.05$). cis-Vaksenik asit B işletmesinde depolamanın 90. gününde, C işletmesinde ise depolama periyodu boyunca tespit edilmiş ve depolama sonunda miktarının azaldığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Heptanoik asit sadece C işletmesinde

depolamanın 45 ve 90. günlerinde saptanmış ve depolama sonunda miktarının azaldığı görülmüştür ($p<0.05$). Bütanoik ve 3-metil bütanoik asit sadece D işletmesinde ve depolamanın 1. ve 90. günlerinde tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 15. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen asitler (mg/kg)

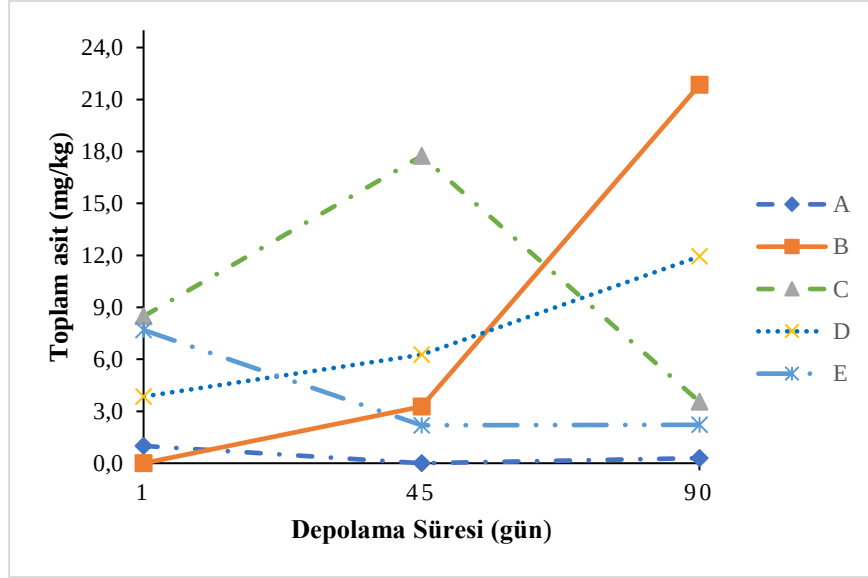
Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam asitler		1	1.00±0.03 ^{dA}	te	8.48±0.01 ^{aB}	3.85±0.01 ^{cC}	7.69±0.01 ^{bB}
		45	te	3.28±0.01 ^{cB}	17.74±0.01 ^{aA}	6.27±0.01 ^{bB}	2.19±0.02 ^{dC}
		90	0.29±0.01 ^{eB}	21.84±0.03 ^{aA}	3.55±0.01 ^{cC}	11.94±0.03 ^{bA}	2.22±0.03 ^{dA}
Hekzanoik asit	18.92	1	te	te	te	te	2.31±0.02 ^{aA}
		45	te	te	te	6.27±0.02 ^{aA}	2.19±0.03 ^{bB}
		90	te	te	te	5.03±0.01 ^{aB}	2.22±0.01 ^{bB}
Palmitoleik asit	18.24	1	te	te	1.47±0.04 ^{aA}	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Undekanoik asit	19.54	1	te	te	1.51±0.02 ^{aA}	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	1.19±0.01 ^{aA}	te	te	te
Dodekanoik asit	18.71	1	te	te	0.61±0.02 ^{aA}	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
9-Oktadekanoik asit	19.54	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	1.78±0.01 ^{aA}	te	te
		90	te	te	te	te	te
Oktadekanoik asit	18.14	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	0.27±0.01 ^{aA}	te	te
cis-Vaksenik asit	20.10	1	te	te	1.71±0.02 ^{aB}	te	te
		45	te	te	9.87±0.01 ^{aA}	te	te
		90	te	5.02±0.17 ^{aA}	0.37±0.01 ^{bC}	te	te
Pentadekanoik asit	18.86	1	te	te	3.18±0.03 ^{aA}	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Nonanoik asit	20.44	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	0.66±0.02 ^{aA}	te	te
11-Bromodekanoik asit	21.43	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	0.36±0.02 ^{aA}	te	te
Tetradekanoik asit	18.93	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	2.52±0.02 ^{aA}	te	te	te

Çizelge 4.15 (devam)

Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Oleik asit	19.09	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	1.30±0.05 ^{aA}	te	te
Palmitik asit	19.11	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	13.11±0.05 ^a _A	te	te	te
Bütanoik asit	17.22	1	te	te	te	2.26±0.02 ^{aA}	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
3-Metilbütanoik asit	17.21	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	6.91±0.02 ^{aA}	te
Oktanoik asit	19.65	1	te	te	te	1.59±0.01 ^{aA}	te
		45	te	3.28±0.03 ^{aA}	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Heptanoik asit	18.89	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	6.09±0.01 ^{aA}	te	te
		90	te	te	0.86±0.03 ^{aB}	te	te
2-Metilundekanoinik asit	17.19	1	te	te	te	te	5.38±0.02 ^a _A
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
2, 5-Dihidroksi Benzoik asit	21.89	1	1.00±0.03 ^a _A	te	te	te	te
			te	te	te	te	te
			te	te	te	te	te
4-Hidroksi benzoik asit	10.44	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	0.29±0.01 ^a _A	te	te	te	te

RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4. 18. Depolama boyunca toplam asit miktarlarında gözlenen değişimler

Undekanoik asit depolamanın 90. gününde B işletmesinde, 1. günde ise C işletmesinden alınan örneklerde belirlenmiştir. Oktanoik asit depolamanın 45. gününde B işletmesinde, 1. gününde D işletmesinde, 2-metilundekanoik asit ise depolamanın 1. gününde E işletmesinden alınan örneklerde saptanmıştır.

Palmitoleik, dodekanoik ve pentadekanoik asit C işletmesinde, 2,5-dihidroksi benzoik asit ise A işletmesinden alınan örneklerde depolamanın 1. gününde; 9-oktadekanoik asit C işletmesinde depolamanın 45. gününde; 4-hidroksi benzoik asit A işletmesinde, oktadekanoik, nonanoik, 11-bromodekanoik ve oleik asit C işletmesinde, tetradekanoik B işletmesinde, izovalerik asit ve 3-metilbütanoik asit D işletmesinde ve 2-metilundekanoik asit ise E işletmesinde depolamanın 90. gününde bulunmuştur.

4.7.2. Esterler

Muş Tulum peyniri örneklerinde, depolama süresince metil pentanoat, hekzanoik asit metil ester, hekzanoik asit etil ester, dekanoik asit metil ester, dekanoik asit etil ester, heptadesil hekzanoat, heptanoik asit etil ester, bütanoik asit etil ester, 3-metillbutil asetat, benzoik asit 2-feniletıl ester, oktanoik asit metil ester, oktanoik asit

etil ester, etil 5-metilnonanoat, bütanoik asit 2-feniletıl ester, metil 3,4-dimetılbenzoat, 3,5-dimetılbenzil 2,4-dimetılbenzoat, 4-bütilbenzoik asit 2-feniletıl ester, sek-butıl 4-etılbenzoat, (10Z)-10-tetradesenil asetat ve fumarik asit 2-fenetyl 2,2,3,3-tetrafloroproyl ester olmak üzere toplam 20 farklı ester bileşiyi tespit edilmiştir (Çizelge 4.16).

Peynir örneklerinde depolama periyodu boyunca en yüksek toplam ester miktarı depolamanın 90. gününde E işletmesinden (67.96 mg/kg), en düşük toplam ester miktarı ise depolamanın 45. gününde A işletmesinden (2.46 mg/kg) alınan örneklerde saptanmıştır (Çizelge 4.16).

Örneklerin depolama süresince toplam ester miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.19'da verilmiştir. Toplam ester miktarının A, B, D ve E işletmelerinden alınan peynir örneklerinde depolama sonunda ilk güne göre arttığı ($p<0.05$), C işletmesinden alınan örnekte ise depolamanın 45. gününe kadar arttığı ($p<0.05$) fakat depolama sonunda herhangi bir ester bileşiyine rastlanılmadığı belirlenmiştir. İşletmeler arasında toplam ester miktarının depolamanın her aşamasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ($p<0.05$) gösterdiği tespit edilmiştir.

Hekzanoik asit metil ester, hekzanoik asit etil ester ve heptanoik asit etil esterin A işletmesi dışında diğer işletmelerde, dekanoyik asit metil esterin A, B ve E işletmelerinde, oktanoyik asit metil esterin B, D ve E işletmelerinde, oktanoyik asit etil esterin ise A ve E işletmelerinde depolamanın farklı aşamalarında saptandığı görülmüştür. Hekzanoik asit metil ester miktarının C, D ve E işletmelerinde, dekanoyik asit metil ester miktarının B ve E işletmelerinde, oktanoyik asit etil ester miktarının ise E işletmesinde depolama süresince azaldığı ($p<0.05$); hekzanoik asit etil ester miktarının B, D ve E işletmelerinde depolama süresince, heptanoik asit etil esterin B işletmesinde, oktanoyik asit metil esterin ise E işletmesinde depolamanın 45. gününe kadar arttığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Ayrıca bu ester bileşiklerinin aynı depolama

günlerinde görüldüğü işletmeler arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar ($p<0.05$) gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4. 16. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen esterler (mg/kg)

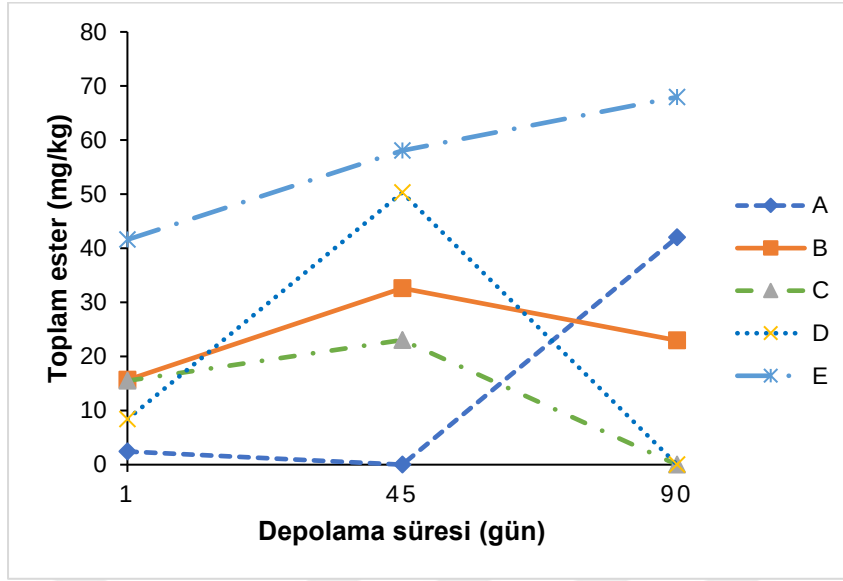
Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam esterler		1	te	15.66±0.02 ^{bC}	15.53±0.01 ^{cB}	8.43±0.01 ^{dC}	41.60±0.06 ^{aC}
		45	2.46±0.02 ^{eB}	32.62±0.04 ^{cA}	23.04±0.01 ^{dA}	50.30±0.06 ^{bA}	58.79±0.01 ^{aB}
		90	42.00±0.58 ^{bA}	22.94±0.03 ^{dB}	te	37.92±0.02 ^{cB}	67.96±0.02 ^{aA}
Metil pentanoat	10.95	1	te	3.02±0.01 ^{aA}	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	8.69±0.01 ^{aA}
Hekzanoik asit, metil ester	9.74	1	te	1.31±0.01 ^{cA}	14.44±0.02 ^{aA}	te	7.64±0.01 ^{cA}
		45	te	te	9.39±0.01 ^{bB}	10.79±0.01 ^{aA}	7.42±0.02 ^{cB}
		90	te	te	te	5.98±0.02 ^{bB}	7.12±0.01 ^{aC}
Hekzanoik asit, etil ester	10.68	1	te	te	te	8.43±0.01 ^{aC}	6.53±0.01 ^{bC}
		45	te	2.41±0.01 ^{dB}	7.55±0.01 ^{cA}	38.25±0.01 ^{aA}	10.71±0.01 ^{bB}
		90	te	14.44±0.01 ^{cA}	te	22.02±0.02 ^{aB}	14.88±0.01 ^{bA}
Dekanoik asit, metil ester	18.74	1	te	6.08±0.01 ^{aA}	te	te	te
		45	te	4.45±0.01 ^{bB}	te	te	6.60±0.06 ^{aA}
		90	6.58±0.01 ^{aA}	te	te	te	6.49±0.01 ^{bA}
Dekanoik asit, etil ester	18.25	1	te	te	te	te	te
		45	2.46±0.02 ^{bA}	te	te	te	7.36±0.02 ^{aA}
		90	te	te	te	te	te
Heptadeasil hekzanoat	18.51	1	te	te	1.09±0.01 ^{aA}	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Heptanoik asit, etil ester	19.04	1	te	5.25±0.03 ^{aB}	te	te	te
		45	te	7.25±0.03 ^{aA}	6.46±0.02 ^{bA}	te	te
		90	te	te	te	4.04±0.01 ^{bA}	6.86±0.03 ^{aA}
Bütanoik asit, etil ester	6.31	1	te	te	te	te	1.91±0.01 ^{aB}
		45	te	te	te	te	1.60±0.03 ^{aC}
		90	te	te	te	te	7.40±0.01 ^{aA}
3- Metilbütül asetat	8.41	1	te	te	te	te	3.20±0.01 ^{aA}
		45	te	te	te	te	2.12±0.02 ^{aC}
		90	te	te	te	te	2.83±0.01 ^{aB}
Benzoik asit, 2- feniletül ester	18.85	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	3.25±0.01 ^{aA}
Oktanoik asit, metil ester	17.20	1	te	te	te	te	7.49±0.01 ^{aB}
		45	te	18.51±0.01 ^{aA}	te	te	8.97±0.02 ^{bA}
		90	te	te	te	5.88±0.01 ^{aA}	te

Çizelge 4.16 (devam)

Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Oktanoik asit, etil ester	15.06	1	te	te	te	te	10.63±0.02 ^{aA}
		45	te	te	te	te	10.17±0.02 ^{aC}
		90	26.24±0.01 ^{aA}	te	te	te	10.44±0.01 ^{bB}
Etil 5-metilnonanoat	19.02	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	6.94±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
Bütanoik asit, 2-feniletil ester	19.78	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	2.24±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
Metil 3, 4-dimetilbenzoat	16.76	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	0.35±0.01 ^{aA}	te	te	te
3, 5-Dimetilbenzil 2, 4-dimetilbenzoat	16.30	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	1.57±0.01 ^{aA}	te	te	te
4-Bütilbenzoik asit, 2-feniletil ester	18.86	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	1.26±0.02 ^{aA}	te
		90	te	te	te	te	te
4-Etilbenzoik asit, 2-bütil ester	17.26	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	0.17±0.01 ^{aA}	te	te	te
(10Z)-10-Tetradecen-1-il asetat	18.99	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	6.41±0.01 ^{aA}	te	te	te
Fumarik asit, 2-fenetil 2, 2, 3, 3-tetrafluoropropil ester	18.86	1	te	te	te	te	4.20±0.02 ^{aA}
		45	te	te	te	te	3.84±0.01 ^{aB}
		90	te	te	te	te	te

RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4. 19. Depolama boyunca toplam ester miktarlarında gözlenen değişimler

Bütanoik asit etil ester ile 3-metillbutil asetatın depolama süresince, fumarik asit 2-fenetil 2,2,3,3-tetrafloroproil esterin ise depolamanın 45. gününe kadar sadece E işletmesinde saptandığı ve miktarlarında artış ve azalışlar ($p < 0.05$) sergilendiği tespit edilmiştir. Benzoik asit 2-feniletil ester E işletmesinde, etil 5-metilnonanoat ve bütanoik asit 2-feniletil ester A işletmesinde, metil 3,4-dimetilbenzoat, 3,5-dimetilbenzil 2,4-dimetilbenzoat, Sek-butil 4-etilbenzoat ve (10Z)-10-Tetradesenil asetat ise B işletmesinde ve sadece depolamanın 90. gününde saptanmıştır. Metil pentanoat depolamanın 1. gününde B işletmesinde 90. gününde ise E işletmesinde, dekanoik asit etil ester depolamanın 45. gününde A ve E işletmelerinde, heptadesil hekzanoat depolamanın 1. gününde C işletmesinde, 4-bütilbenzoik asit 2-feniletil ester depolamanın 45. gününde D işletmesinde bulunmuştur (Çizelge 4.16).

4.7.3. Alkoller

Peynir örneklerinde depolama süresi boyunca fenetil alkol, benzil alkol, 2-etilhekzanol, buten-1,4-diol, 3-heptanol ve etanol olmak üzere toplam 6 farklı alkol bileşiği tanımlanmıştır.

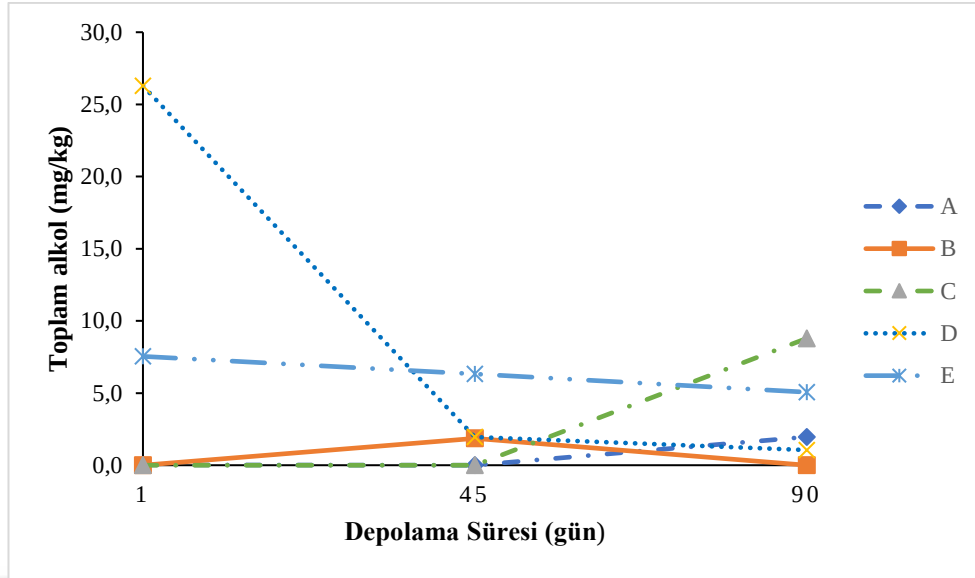
Depolama süresince en yüksek (26.28 mg/kg) ve en düşük (0.02 mg/kg) alkol miktarları depolamanın 1. gününde sırasıyla D ve A işletmelerinden alınan peynirlerde bulunmuştur (Çizelge 4.17). Örneklerin depolama süresi boyunca toplam alkol miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.20.'de sunulmuştur. Toplama alkol miktarı D ve E işletmelerinde depolama süresince azalmış ($p<0.05$), A işletmesinde ise depolamanın sonunda artmıştır ($p<0.05$). Aynı depolama günlerinde işletmeler arasındaki toplam alkol miktarları arasında da anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.17).

Çizelge 4. 17. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen alkoller (mg/kg)

Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam alkoller		1	0.02±0.01 ^{CB}	te	te	26.28±0.01 ^{aA}	7.54±0.01 ^{bA}
		45	te	1.86±0.03 ^{cA}	te	1.95±0.01 ^{bB}	6.31±0.02 ^{aB}
		90	1.96±0.01 ^{cA}	te	8.79±0.01 ^{aA}	1.05±0.01 ^{dC}	5.06±0.01 ^{bC}
Benzil alkol	24.44	1	0.02±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Fenetil Alkol	19.54	1	te	te	te	te	7.54±0.01 ^{aA}
		45	te	1.86±0.01 ^{cA}	te	1.95±0.01 ^{bA}	6.31±0.01 ^{aB}
		90	1.96±0.01 ^{bA}	te	te	1.05±0.01 ^{cB}	5.06±0.01 ^{aC}
2-Etilheksanol	15.91	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	3.58±0.01 ^{aA}	te	te
2-Büten-1, 4-diol	18.40	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	4.81±0.01 ^{aA}	te	te
3-Heptanol	25.09	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	0.40±0.01 ^{aA}	te	te
Etanol, 2-[2-(2-metoksi etoksi)-etoksi]-	19.31	1	te	te	te	26.28±0.01 ^{aA}	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te

RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4. 20. Depolama boyunca toplam alkol miktarlarında gözlenen değişimler

Tüm peynir örneklerinde etanol en fazla miktarlarda (26.28 mg/kg) bulunan alkol bileşiği olup sadece depolamanın 1. gününde D işletmesinde saptanmıştır.

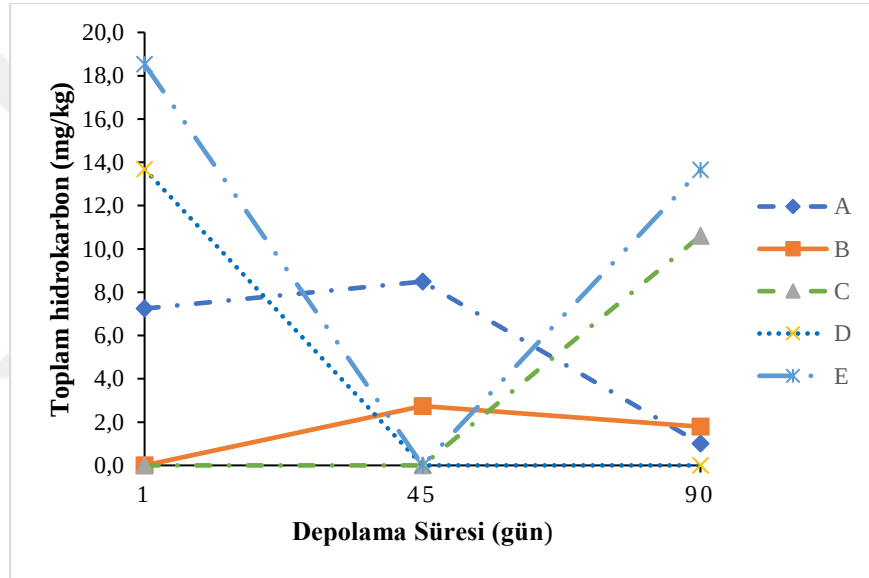
Fenetil alkol bileşiği E işletmesinde depolama süresince, D işletmesinde depolamanın 45 ve 90. günlerinde, A işletmesinde depolama sonunda, B işletmesinde ise depolamanın 45. gününde tespit edilmiştir. Fenetil alkol miktarı E ve D işletmelerinde depolama süresince azalmıştır ($p < 0.05$) (Çizelge 4.17).

Ayrıca, 2-etilhekzanol, buten-1,4-diol ve 3-heptanol bileşikleri depolamanın 90. gününde sadece C işletmesinde, benzil alkol ise depolamanın 1. gününde A işletmesinde tespit edilmiştir.

4.7.4. Hidrokarbonlar

Depolama süresince peynir örneklerinde o-ksilen, m-ksilen, p-ksilen, o-diklorobenzen, benzosiklobuten, 2-metil-2-büten ve 2-penten olmak üzere toplam 7 farklı hidrokarbon bileşiği tespit edilmiştir.

Örneklere ait toplam hidrokarbon miktarları depolama periyodunca 1.01-18.52 mg/kg aralığında değişmiştir. En yüksek toplam hidrokarbon miktarı depolamanın 1. gününde E işletmesinde en düşük toplam hidrokarbon miktarı ise depolamanın 90. gününde A işletmesinde bulunan örneklerde saptanmıştır (Çizelge 4.18). Örneklerin depolama süresi boyunca toplam hidrokarbon miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.21’de verilmiştir. Toplam hidrokarbon miktarının A, B ve E işletmelerinde depolama sonunda azaldığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Ayrıca işletmeler arasında toplam hidrokarbon miktarları depolama periyodunca farklılık ($p<0.05$) göstermiştir (Çizelge 4.18).



Şekil 4. 21. Depolama boyunca toplam hidrokarbon miktarlarında gözlenen değişimler

Çizelge 4. 18. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen hidrokarbonlar (mg/kg)

Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam hidrokarbonlar		1	7.24±0.01 ^{cB}	te	te	13.68±0.02 ^{bA}	18.52±0.01 ^{aA}
		45	8.49±0.01 ^{aA}	2.74±0.01 ^{bA}	te	te	te
		90	1.01±0.01 ^{dC}	1.79±0.02 ^{cB}	10.60±0.01 ^{bA}	te	13.64±0.01 ^{aB}
o-Ksilen	11.35	1	0.57±0.02 ^{aB}	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	0.83±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
m-Ksilen	11.83	1	0.55±0.01 ^{aB}	te	te	te	te
		45	5.43±0.02 ^{aA}	2.74±0.01 ^{bA}	te	te	te
		90	0.18±0.01 ^{aC}	te	te	te	te
p-Ksilen	10.81	1	0.10±0.01 ^{aB}	te	te	te	te
		45	3.06±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
		90	te	te	4.01±0.01 ^{aA}	te	te
o-Dikloro benzen	16.34	1	6.02±0.01 ^{aA}	te	te	4.60±0.03 ^{bA}	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	4.80±0.03 ^{aA}	te	te
Benzosi klobuten	10.92	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	1.79±0.01 ^{aA}	te	te
2-Metil-2-büten	10.20	1	te	te	te	9.08±0.01 ^{aA}	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
2-Penten	10.19	1	te	te	te	te	18.52±0.01 ^{aA}
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	13.64±0.02 ^{aB}

RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir (p<0.05).

En fazla miktarda bulunan hidrokarbon bileşiği 2-penten depolamanın başı ve sonunda sadece E işletmesinde tespit edilmiş ve depolama sonunda miktarı azalmıştır (p<0.05). O-ksilen sadece A işletmesinden alınan örnekte depolama süresince; m-ksilen A işletmesinde depolama süresince, B işletmesinde örnekte depolamanın 45. gününde; p-ksilen ise A işletmesinde depolamanın başı ve ortasında, C işletmesinde depolamanın sonunda tespit edilmiştir. Bu hidrokarbonlardan o-ksilen ve m-ksilen miktarı belirtilen süre ve örneklerde depolama süresince azalmış, p-ksilen miktarı ise

artmıştır ($p<0.05$). Ayrıca o-diklorobenzen A ve D işletmesinde depolamanın başında, C işletmesinde ise depolamanın sonunda; benzosiklobuten depolamanın sonunda C işletmesinde, 2-metil-2-büten ise depolamanın başında sadece D işletmesinde bulunmuştur.

4.7.5. Aldehitler

Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince benzaldehit ve 3-furaldehit bileşikleri tanımlanmıştır.

Çizelge 4.19. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince belirlenen aldehitler (mg/kg)

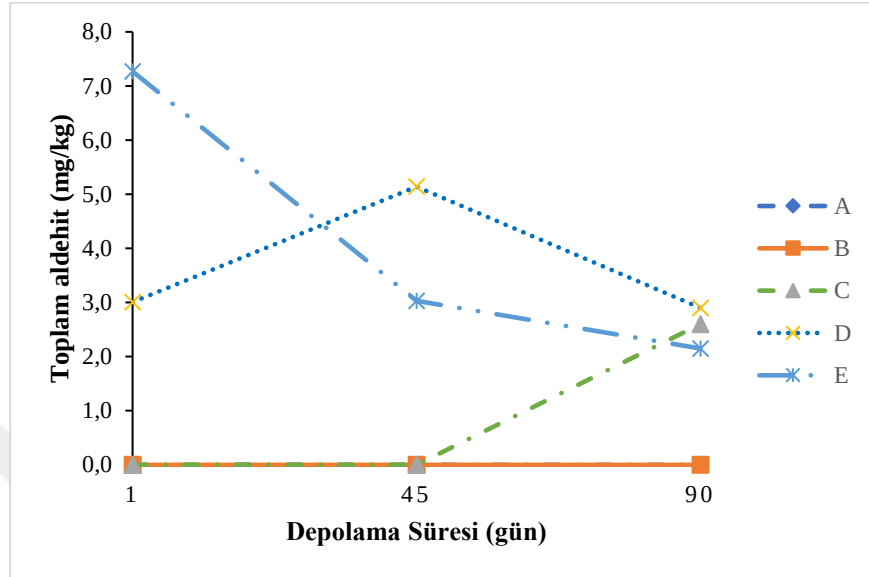
Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam aldehit		1	te	te	te	3.01±0.01 ^{bB}	7.27±0.02 ^{aA}
		45	te	te	te	5.14±0.01 ^{aA}	3.03±0.01 ^{bB}
		90	te	te	2.60±0.02 ^{bA}	2.90±0.02 ^{aC}	2.15±0.01 ^{cC}
Benzaldehit	16.13	1	te	te	te	3.01±0.01 ^{bB}	7.27±0.02 ^{aA}
		45	te	te	te	5.14±0.01 ^{aA}	3.03±0.01 ^{bB}
		90	te	te	1.96±0.01 ^{cA}	2.90±0.02 ^{aC}	2.15±0.01 ^{bC}
3-Furaldehit	15.16	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	0.64±0.01 ^{aA}	te	te

RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$).

Depolama periyodu boyunca en düşük ve en yüksek toplam aldehit miktarına E işletmesinde sırasıyla depolamanın 1. ve 90. günlerinde rastlanılmıştır (Çizelge 4.19). Örneklerin depolama süresi boyunca toplam aldehit miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.22’de verilmiştir. Toplam aldehit miktarı D ve E işletmelerinde depolama sonunda azaldığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Benzaldehit bileşiğinin E ve D işletmelerinde depolama süresince bulunduğu ve miktarının depolama sonunda azaldığı görülmüştür. C işletmesinde ise depolamanın 90. gününde rastlanılmıştır.

3-Furaldehit (furfural) bileşiği depolamanın 90. gününde sadece C işletmesinde bulunmuştur.



Şekil 4. 22. Depolama boyunca toplam aldehit miktarlarında gözlenen değişimler

4.7.6. Ketonlar

Depolama boyunca örneklerde keton bileşiği olarak 2,5-dimetil-3-hekzanon, depolamanın 1. gününde sadece E işletmesinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.20).

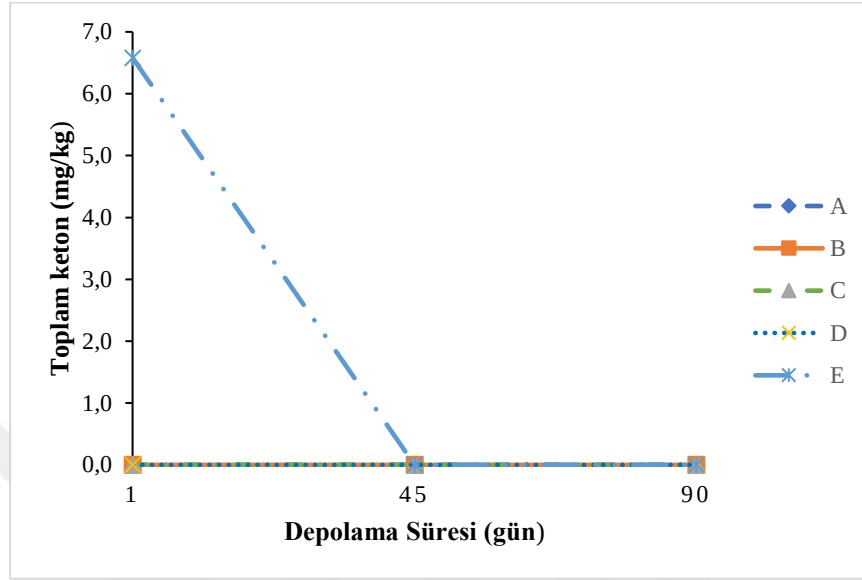
Çizelge 4. 20. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince ketonlar (mg/kg)

Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam ketonlar		1	te	te	te	te	6.58±0.01 ^{aA}
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
2,5-Dimetil-3-hekzanon	9.38	1	te	te	te	te	6.58±0.01 ^a
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te

RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$).

Örneklerin depolama süresi boyunca toplam keton miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.23'te gösterilmiştir.



Şekil 4. 23. Depolama boyunca toplam keton miktarlarında gözlenen değişimler

4.7.7. Terpenler

Depolama periyodu boyunca peynir örneklerinde D-limonen ve p-simen olmak üzere 2 farklı terpen bileşiği tanımlanmıştır.

Çizelge 4. 21. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince terpenler (mg/kg)

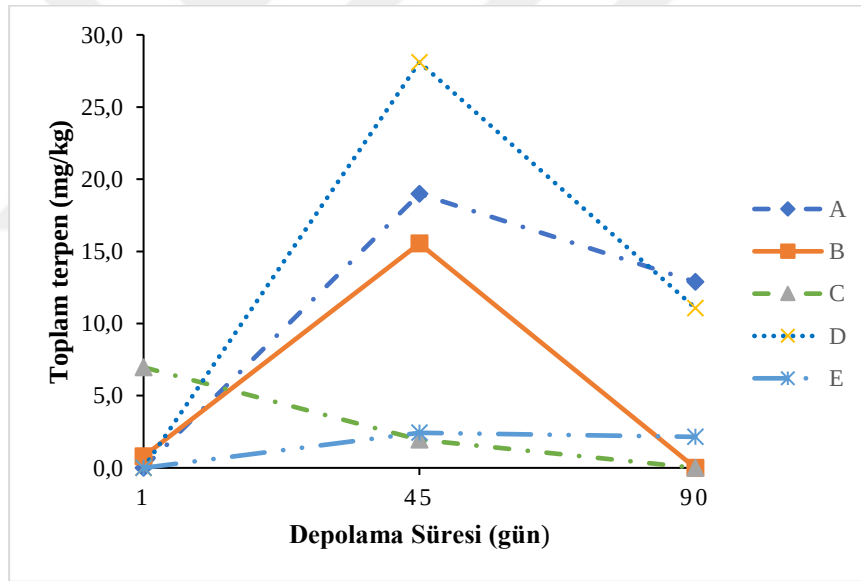
Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam terpenler		1	te	0.79±0.01 ^{aB}	te	te	te
		45	18.98±0.01 ^{bA}	15.24±0.01 ^{cA}	6.97±0.01 ^{dA}	28.11±0.01 ^{aA}	2.43±0.01 ^{eA}
		90	12.88±0.01 ^{aB}	te	1.96±0.01 ^{dB}	11.06±0.01 ^{bB}	2.14±0.01 ^{cB}
D-Limonen	13.30	1	te	0.79±0.01 ^{aB}	te	te	te
		45	18.98±0.01 ^{bA}	15.24±0.01 ^{cA}	te	28.21±0.01 ^{aA}	te
		90	12.88±0.01 ^{aB}	te	1.96±0.01 ^{cA}	11.06±0.01 ^{bB}	te
p- Simen	11.36	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	6.97±0.01 ^{aA}	te	2.43±0.01 ^{bA}
		90	te	te	te	te	2.14±0.01 ^{aB}

RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$).

Örneklere ait en yüksek toplam terpen miktarına depolamanın 45. gününde D işletmesinde (28.11 mg/kg), en düşük terpen miktarına ise depolamanın 1. gününde B işletmesinde (0.79 mg/kg) rastlanılmıştır (Çizelge 4.21).

Depolama süresi boyunca toplam terpen miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.24'te sunulmuştur. Toplam terpen miktarının A, C, D ve E işletmelerinden alınan örneklerde depolamanın sonunda azaldığı ($p<0.05$), B işletmesinden alınan örnekte ise depolamanın 45. gününde arttığı ($p<0.05$) fakat depolama sonunda tespit edilmediği belirlenmiştir.



Şekil 4. 224. Depolama boyunca toplam terpen miktarlarında gözlenen değişimler

D-limonen bileşiğine, A ve D işletmelerinden alınan örneklerde depolamanın 45 ve 90. günlerinde, B işletmesinden alınan örnekte depolamanın 1 ve 45. günlerinde, C işletmesinden alınan örnekte ise depolamanın sonunda saptanılmıştır. D-limonen miktarının A ve D işletmelerinde depolama sonunda azaldığı ($p<0.05$), B işletmesinde ise depolamanın 45. gününe kadar arttığı ($p<0.05$) tespit edilmiştir.

p-Simen bileşiğinin E işletmesinde depolamanın 45 ve 90. günlerinde, C işletmesinde depolamanın 45. gününde bulunduğu, diğer işletme ve depolama aşamalarında ise bulunmadığı görülmüştür (Çizelge 4.21).

4.7.8. Laktonlar

90 günlük depolama sırasında peynir örneklerinde lakton bileşiği olarak sadece butirolakton tespit edilmiştir. Butirolakton depolama sonunda yalnız C işletmesinde (3.29 mg/kg) bulunmuştur (Çizelge 4.22).

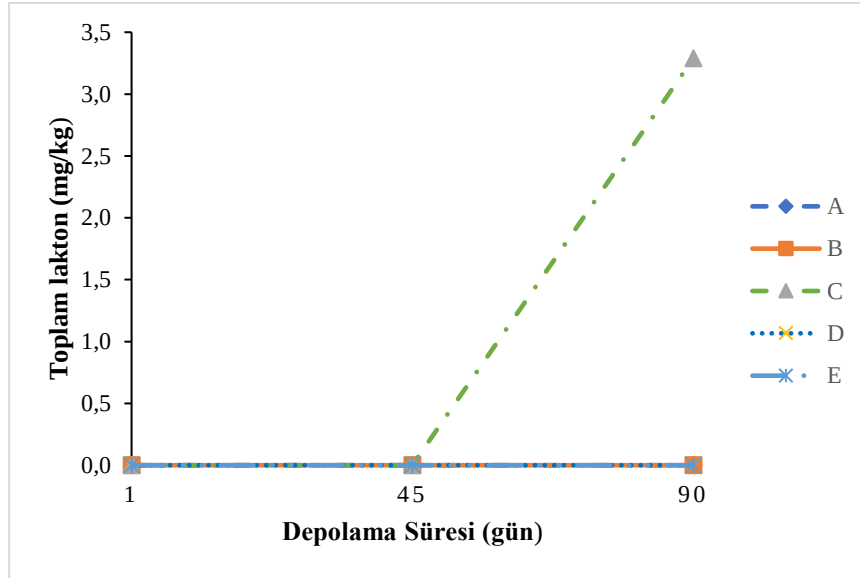
Çizelge 4.22. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince laktonlar (mg/kg)

Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam laktonlar		1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	3.29±0.01 ^{aA}	te	te
Butirolakton	17.32	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	3.29±0.01 ^{aA}	te	te

RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir (p<0.05).

Örneklerin depolama süresi boyunca toplam lakton miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.25'te verilmiştir.



Şekil 4.25. Depolama boyunca toplam lakton miktarlarında gözlenen değişimler

4.7.9. Diğer bileşenler

Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince fenol, pentaetilen glikol monometil eter, pentaetilen glikol dimetil eter, 1-bütoksi-2-etilhekzan, tetraetilen glikol, 18-crown-6 eter, 1,2,4-triazol, silan, [[3,3-dimetil-4-metilen-2-(trimetilsilil)-1-siklopenten-1-il] metoksi] trimetil-, 5-metilprimidin, di-tert-bütillhidrokinon, 2-metoksi-6-metilpirazin, 2,2,3,3,3-pentafloro-N-(2-feniletil) propanamid, 2-feniletilamin N,N-di(trifloroasetil)-, silan-dietoksi-dimetil, oksim-metoksi-fenil, silan, [[(3.beta.,11.beta., 20S)-pregn-5-ene-3,11,17,20 tetraol] tetrakis (oksi)] tetrakis [trimetill- ve 1,2-dimetil hidrazin olmak üzere 17 farklı diğer bileşen saptanmıştır.

En yüksek toplam diğer bileşen miktarına depolamanın başında D işletmesinde, en düşük miktara ise depolamanın ortasında A işletmesinde rastlanılmıştır (Çizelge 4.23). Örneklerin depolama süresince toplam diğer bileşen miktarlarında gözlenen değişimler Şekil 4.26'da gösterilmiştir. Depolama süresince A işletmesinde diğer bileşen miktarı azalırken B işletmesinde artmıştır ($p < 0.05$).

Çizelge 4. 23. Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince diğer bileşenler (mg/kg)

Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
Toplam diğer bileşenler		1	8.46±0.01 ^{bA}	6.00±0.01 ^{cB}	te	43.78±0.04 ^{aA}	te
		45	1.25±0.02 ^{cC}	2.94±0.01 ^{bC}	te	8.17±0.04 ^{aB}	te
		90	1.40±0.01 ^{cB}	39.20±0.01 ^{aA}	2.81±0.01 ^{bA}	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Pentaetilen glikol monometil eter	19.04	1	te	te	te	18.84±0.01 ^{aA}	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Pentaetilen glikol dimetil eter	25.22	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	0.73±0.01 ^{aA}	te	te
1-Bütoksi-2-etilhekzan	15.94	1	te	te	te	2.29±0.01 ^{aA}	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Tetraetilen glikol	18.20	1	te	te	te	0.83±0.01 ^{aA}	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
18-Crown-6 eter	19.38	1	te	te	te	21.82±0.02 ^{aA}	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
1, 2, 4-Triazoller	17.34	1	3.15±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Silan, [[3,3-dimetil-4-metilen-2-(trimetilsilil)-1-siklopenten-1-il] metoksi] trimetil-	18.87	1	1.12±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Fenol	20.08	1	4.19±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	1.17±0.01 ^{aA}	te	te
5-Metilpirimidin	20.21	1	te	te	te	te	te
		45	1,03±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Di-tert-bütilhidrokinon	24.07	1	te	te	te	te	te
		45	0.22±0.01 ^{aA}	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te

Çizelge 4.23 (devam)

Bileşik	RT	Dep. Sür. (gün)	İşletmeler				
			A	B	C	D	E
2-Metoksi-6-metilpirazin	20.80	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	1.40±0.06 ^{aA}	te	te	te	te
2,2,3,3,3-Pentafluoro-N-(2-fenetil) propanamid	19.72	1	te	6.00±0.01 ^{aA}	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
2-Fenetilamin, N, N-di(trifluoroasetil)-	19.72	1	te	te	te	te	te
		45	te	2.94±0.01 ^{aA}	te	te	te
		90	te	te	te	te	te
Silan, dietoksidimetil-	17.22	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	1.13±0.01 ^{aA}	te	te	te
Oksim-metoksi-fenil	17.78	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	38.07±0.02 ^{aA}	te	te	te
Silan, [[(3.beta.,11.beta.,20S)-pregn-5-ene-3,11,17,20-tetralil] tetrakis (oksi)] tetrakis [trimetil-	21.55	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	te	te
		90	te	te	0.91±0.01 ^{aA}	te	te
1,2-dimetil Hidrazin	17.21	1	te	te	te	te	te
		45	te	te	te	8.17±0.02 ^{aA}	te
		90	te	te	te	te	te

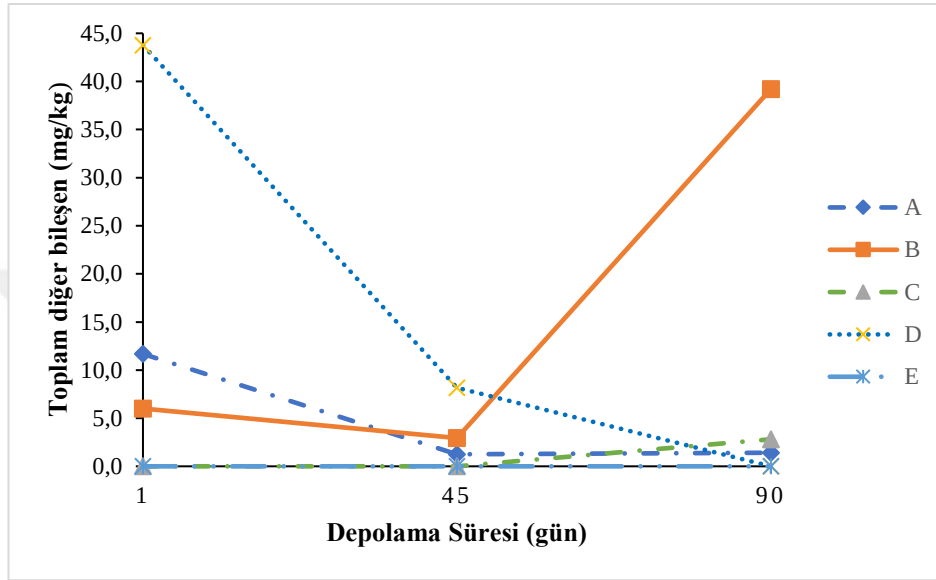
RT: Retention time (Alıkonma süresi); te: tespit edilmedi

Büyük ve küçük harflerle gösterilen üstel simgeler, sırasıyla işletmelerin kendi içindeki ve işletmeler arası farklılıkları göstermektedir (p<0.05).

Oksim-metoksi-fenil en fazla miktarda (38.07 mg/kg) bulunan diğer bileşen olarak depolamanın 90. gününde sadece B işletmesinde tespit edilmiştir. 18-crown-6 eter, pentaetilen glikol monometil eter, 1-bütoksi-2-etilhekzan ve tetraetilen glikol bileşikleri depolamanın 1. gününde sadece D işletmesinde tanımlanmıştır.

1,2,4-triazol, silan, [[3,3-dimetil-4-metilen-2-(trimetilsilil)-1-siklopenten-1-il]metoksi]trimetil-, 5-metilprimidin, di-tert-bütilhidrokinon, 4-hidroksibenzoik asit ve 2-metoksi-6-metilpirazin bileşikleri depolamanın farklı aşamalarında sadece A işletmesinde; fenol A ve C işletmesinde; 2,2,3,3,3-pentafloro-N-(2-feniletıl)

propanamid, 2-feniletilamin N,N-di(trifloroasetil), silan-dietoksi-dimetil sadece B işletmesinde; silan, [[(3.beta.,11.beta.,20S)-pregn-5-ene-3,11,17,20-tetralil] tetrakis (oksi)] tetrakis [trimetill- C işletmesinde; 1,2-dimetil hidrazin ise sadece D işletmesinde bulunmuştur. E işletmesinde ise diğer bileşiğe rastlanılmamıştır.



Şekil 4. 26. Depolama boyunca toplam diğer bileşen miktarlarında gözlenen değişimler

5. TARTIŞMA

5.1. Mikrobiyolojik Analizler

Çalışmada, Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama periyodu boyunca MRS agarda gelişen ortalama bakteri sayıları 8.69-7.21 log kob/g arasında belirlenmiştir. Bu sonuçların daha önce farklı ambalaj materyalinde olgunlaştırılan Muş Tulum peynirindeki toplam laktobasil (7.82-8.15 log kob/g) sayımları ile uyumlu (Rençber, 2017), fakat bazı çalışmalarda bulunan farklı peynirlere ait ortalama laktobasil sayılarına göre yüksek olduğu görülmüştür (Kara ve Akkaya, 2015; Evren ve Şıvgın, 2021; Mohammed ve Çon, 2021; Aktaş ve Erdoğan 2022; Ektik, 2022).

Karabey ve ark. (2018), starter kültür kullanılmadan üretilen İzmir Tulum Peynirinde laktobasil sayısını 6.15-8.45 log kob/g; Yerlikaya, (2018) Beyaz Peynirde laktobasil sayısını 4.62-8.90 log kob/g; Kırdar ve ark. (2018) ise geleneksel Keş Peynir örneklerinde laktobasil sayısını 7.16 log cfu/g olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Tulum peyniri ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda; Dinkçi ve ark. (2012), Kargı Tulum peynirinde *Lactobacillus* sayısını 7.19-7.56 log kob/g aralığında bulurken, İspirli, (2016) Erzincan Tulum peynirlerinde bu değeri 6.00-7.70 log kob/g (İspirli, 2016) olarak rapor etmiştir. Demir ve ark. (2018) ise Şavak Tulum peynirinde ortalama *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* sayısının 6.40 log kob/g olduğunu belirlemişlerdir.

MRS petrilerindeki bakteri sayıları, tüm işletmelerde depolama periyodu boyunca sürekli olarak artış göstermiştir ($p<0.05$). Bu artışın, çiğ süt kaynaklı laktobasillerin peynirdeki düşük pH, sıcaklık, nem ve yüksek tuz konsantrasyonu gibi çeşitli koşullara dayanıklı olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Gobetti ve ark., 2007; Quigley ve ark., 2012). Keçi derisinde olgunlaştırılan Tulum peynirlerinde olgunlaşma süresince laktobasil sayısının arttığı belirtilmiştir (Demirci ve ark., 2021). İşletme tipi ve depolama süresi bakımından MRS agarda gelişen bakteri sayıları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde çok önemli olduğu

belirlenmiştir. Benzer şekilde Rençber (2017), olgun Muş Tulum Peynirlerinde MRS agarda gelişen bakteri sayıları arasındaki farklılığın işletmeler arasında önemli ($p<0.01$) düzeyde olduğunu bildirmiştir.

M17 petrilerinde gelişen bakteri sayılarının depolama periyodu boyunca 7.73-8.71 log kob/g aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların, İzmir Tulum peynirlerinde olgunlaşma sürecinde ortalama laktokok sayılarıyla (7.95-8.45 log kob/g) uyumlu olduğu (Karabey ve ark., 2018), fakat Muş Tulum peyniri (7.50-7.80 log kob/g) (Rençber, 2017) ve çiğ süttten üretilen Keş peynirlerinde bulunan (7.54 log cfu/g) (Kırdar ve ark., 2018) sonuçlardan yüksek çıktığı saptanmıştır.

İspirli (2016), Erzincan Tulum peynirinde laktokok sayısının 7.04-9.27 log kob/g aralığında olduğunu bildirmiştir. Yerlikaya, (2018) Beyaz peynirde laktokok sayısını 4.20-9.50 log kob/g arasında; Mohammed ve Çon, (2021) ise *Lactococcus/Streptococcus* sayısını <2.00-8.01 log cfu/g arasında bulmuştur.

M17 agarda gelişen bakteri sayıları tüm depolama aşamalarında C işletmesi hariç diğer işletmelerde tutarlı bir şekilde artmıştır. Laktokok sayılarının, laktobasillerle olan simbiyotik ilişkileri nedeniyle peynirde depolama süresi boyunca arttığı düşünülmektedir (Wishah, 2007). Bu sonuçların aksine Demirci ve ark. (2021), keçi derisinde olgunlaştırılan Tulum peynirlerinde olgunlaşma süresince laktokok sayısının azaldığını belirtilmişlerdir. İşletme tipi, depolama süresi ve işletme*depolama süresi interaksyonu bakımından M17 petrilerinde gelişen bakteri sayıları arasındaki farklılık $p<0.01$ düzeyinde çok önemli bulunmuştur. Muş Tulum peyniriyle ilgili daha önce yapılan bir çalışmada M17 agarda gelişen bakteri sayıları arasındaki farklılığın işletmeler arasında çok önemli ($p<0.01$) düzeyde olduğu, işletme*depolama süresi interaksyonunun ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı rapor edilmiştir (Rençber, 2017).

Çalışmada, SB agarda gelişen bakteri sayısının depolama süresince 7.0-7.76 log kob/g aralığında değiştiği belirlenmiştir. Morul ve İşleyici (2012), Divle Tulum peynirlerinde ortalama enterokok sayısını 3.46-8.85 log kob/g; Karabey ve ark. (2018) ise İzmir Tulum peynirlerinde olgunlaşma sürecinde enterokok sayısının ortalama 5.84-8.11 log kob/g arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Aktaş ve Erdoğan (2022), beyaz peynirde ortalama enterokok sayısını 5.53 log cfu/g olarak belirlemişken, Yerlikaya (2018), beyaz peynirde bu sayının <2.00-7.46 log cfu/g arasında değiştiğini tespit etmiştir.

SB petrilerindeki bakteri sayılarının depolama sonunda A ($p<0.05$), D ve E işletmelerinde arttığı, B ($p<0.05$) ve C işletmelerinde ise azaldığı görülmüştür. İzmir Tulum peynirlerinde enterokok sayılarının olgunlaşma süresince arttığı ve bunun sebebinin enterokokların yüksek tuz konsantrasyonu ve düşük pH seviyelerine dayanıklılığından kaynaklandığı ifade edilmiştir (Karabey ve ark., 2018).

5.2 Moleküler Karakterizasyon

Çalışmada, Muş Tulum peyniri örneklerinden depolama süresince izole edilen LAB izolatlarının moleküler karakterizasyonu 16S rDNA gen dizi analizi ile yapılmıştır.

Dizi analizi sonucunda otokton LAB popülasyonu *Enterococcus spp.* (%76.92), *Lactiplantibacillus spp.* (%15.38), *Lactococcus spp.* (%6.15) ve *Pediococcus spp.* (%1.54) olarak tanımlanmıştır. Genetik karakterizasyon sonucu 50 *Enterococcus spp.*'nin 43'ü *Enterococcus faecium* (%86), 4'ü *Enterococcus faecalis* (%8) ve 3'ü *Enterococcus durans* (%6); 10 *Lactiplantibacillus spp.*'nin 9'u *Lactiplantibacillus plantarum* (%90), 1'i *Lactiplantibacillus pentosus* (%10); 4 *Lactococcus spp.*'nin 2'si *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (%50), 1'i *Lactococcus lactis* (%25), 1'i *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* (%25) ve bir

suşun ise *Pediococcus pentosaceus* olduğu tespit edilmiştir. Geriye kalan 21 suşun ise tanımlanması yapılamamıştır.

Sekanslaması yapılan LAB suşlarının 27'si (%70.37 *Enterococcus spp.*, %25.92 *Lactiplantibacillus spp.* ve %3.70 *Pediococcus spp.*) olgunlaşmanın 1. gününde, 23'ü (%78.26 *Enterococcus spp.*, %17.39 *Lactococcus spp.* ve %4.34 *Lactiplantibacillus spp.*) olgunlaşmanın 45. gününde, 15'i (%86.66 *Enterococcus spp.* ve %13.33 *Lactiplantibacillus spp.*) ise olgunlaşmanın 90. gününde izole edilmiştir.

Çalışmada, Muş Tulum peyniri örneklerinde olgunlaşmanın her aşamasında baskın türün *Enterococcus spp.*'den oluştuğu, bir işletme (D işletmesinde olgunlaşmanın 45. gününde ikinci baskın türü *Lactococcus spp.* oluşturmuştur) hariç bunu *Lactiplantibacillus spp.*'nin takip ettiği belirlenmiştir. Sonuçlarımız Demirci ve ark.'nın (2021), geleneksel keçi tulum peynirlerinde olgunlaşma boyunca baskın türün *Enterococcus spp.*'den (olgunlaşmanın her aşamasında % 60'tan fazla *Enterococcus spp.*) oluştuğu, *Lactiplantibacillus spp.*'nin ise ikinci baskın tür olarak bulunduğu sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir. Türkiye'de üretilen İzmir Tulum ve Mengen peynirlerinde sırasıyla *Enterococcus* ve *Lactiplantibacillus* türlerinin baskın olduğu tespit edilmiştir (Akoğlu ve ark., 2017; Karabey ve ark., 2018).

Enterokokların yüksek tuz konsantrasyonu ve asidik koşullara olan direnci (Elkenany ve ark., 2018; Terzić-Vidojević ve ark., 2020), Muş Tulum peynirinin her aşamasında baskın tür olmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Muş Tulum peynirinde enterokokların ortama hakim olması çiğ sütün veya işleme ekipmanlarının hijyenik kalitesinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Enterokok varlığı hayvanın dış yüzeyi, hijyenik olmayan sağım ekipmanları ve süt depolama tankları ya da dışkı ile kontamine olmuş su kaynaklarının süte bulaşmasıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir (Kırmacı ve ark., 2016). Bu bakteriler Feta, Mozerella, Cebreiro ve Venaco gibi birçok peynirin lezzet gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar (Hayaloğlu, 2016). Bununla beraber *Enterococcus*'un çeşitli türleri üretmiş oldukları antimikrobiyal peptitler

sayesinde peynirde istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engellemektedirler (Tsanasidou ve ark., 2021).

Akdeniz bölgesinde üretilen geleneksel peynirlerde enterokokların yoğun bir şekilde bulunabileceği ifade edilmektedir (Fox ve ark., 2017). Farklı hammadde ve üretim teknikleri ile üretilen birçok peynirde mikrofloranın büyük çoğunluğunu *Enterococcus* türlerinin temsil ettiği bildirilmiştir (Milani ve ark., 2017; Russo ve ark., 2018; Uymaz ve ark., 2019; Albayrak ve Duran, 2021; Aktaş ve Erdoğan, 2022; Tsigkrmani ve ark., 2022). Genel olarak peynirde *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. durans* en sık bulunan *Enterococcus* türleridir. Çalışmamızda baskın enterokok türünün *E. faecium*'dan (%86) oluştuğu görülmüştür. Benzer şekilde Ezine peynirinden izole edilen *Enterococcus* türlerinin önemli bir kısmının (%64.3) *E. faecium* türlerinden oluştuğu bildirilmiştir (Uymaz ve ark., 2019). Bunu yanı sıra bazı *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinin süt ürünlerinde diğer LAB suşları ile beraber başlatıcı kültür olarak kullanılmasına izin verilmektedir (Hanchi ve ark., 2018; Graham ve ark., 2020). Öte yandan, *Enterococcus* suşları, insan ve hayvan gastrointestinal sisteminde baskınlıkları nedeniyle süt endüstrisinde büyük bir risk oluşturmaktadırlar. Buna ek olarak, süt ürünlerinden elde edilen bazı enterokokların yüksek virülansı ve çeşitli antibiyotiklere karşı direnci ciddi endişe kaynağıdır. Özellikle *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinin çeşitli enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenler olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, süt ürünlerinde bulunan enterokok tür ve suşlarının doğru bir şekilde tanımlanması önem arz etmektedir (Terzić-Vidojević ve ark., 2021).

Lactiplantibacillus spp.'i (*Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus*) Muş Tulum peyniri örneklerinde olgunlaşmanın başında ve sonuna doğru ikinci baskın flora olarak bulunmuştur. Tulum peynirlerinde bakteri çeşitliliğinin belirlenmesi için 16S rRNA dizileme tekniği kullanılmış ve baskın türün *Streptococcus* ve *Lactiplantibacillus spp.*'den oluştuğu bildirilmektedir (Gezginç ve ark., 2022). Türkiye'de üretilen Kargı Tulum peynirinde baskın LAB'ın *Lactobacillus spp.*'den (*Lb. paracasei* ve *Lb. plantarum*) oluştuğu bunları *Streptococcus thermophilus* ve *E. durans*'ın takip ettiği tespit edilmiştir (Kunduhoglu ve ark., 2012). *Lactiplantibacillus* türleri peynirde düşük

pH ve yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişebildiği ve peynirin lezzet gelişimi üzerinde etkileri ile endüstriyel açıdan dikkat çekici olduğu düşünülmektedir (Uymaz ve ark., 2019). Nitekim *Lb. plantarum*'un hızlı olgunlaşması istenen bazı peynirlerde yardımcı starter kültür olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Spus ve ark., 2017). Çalışmamızda tanımlaması yapılan *Lactiplantibacillus* suşlarının %90'ı *Lb. plantarum*'dan oluşmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda baskın mikrofloranın *Lb. plantarum*'dan oluştuğu rapor edilmiştir (Hasanzadazar ve ark., 2017; Özkan ve ark., 2021; Nalepa ve Markiewicz, 2022).

Lactococcus türleri sütte hızlı asitlik oluşturarak pıhtı oluşumunu sağlamakta ve istenmeyen mikrobiyotanın gelişmesini engellemektedirler. Laktokoklar güçlü kazeinaz, aminopeptidaz ve esteraz-lipaz aktiviteleri ile peynirin karakteristik lezzetini oluşturan çok sayıda tat-aroma bileşiklerinin üretiminde rol almaktadırlar (Pisano ve ark., 2019; Gezginç ve ark., 2022). Ayrıca sitratı metabolize ederek Camembert, Cheddar ve Emmental gibi çeşitli peynirlerin tipik lezzetini oluşturan diasetil, asetoin ve asetaldehit gibi aromatik bileşikler üretmektedirler (Fusieger ve ark., 2020).

Çalışmada izole edilen *Lactococcus* suşlarının (%6.15) 2'sinin *L. lactis* subsp. *lactis* (FFH51 ve FFH54 suşları), 1'inin *L. lactis* FFH48 ve diğerinin ise *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* FFH53 olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Ezine peynirinden izole edilen tüm suşların %6.84'ü *L. lactis*'ten oluştuğu belirtilmiştir (Uymaz ve ark., 2019). Geleneksel Sokobanja peynirinden izole edilen *Lactococcus* spp.'nin *L. lactis* subsp. *lactis* ve *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*'ten oluştuğu bildirilmiştir (Muruzoviç ve ark., 2018). *Lactococcus* spp.'nin fermantasyonun ilk saatlerinde ortaya çıktığı (Terzić-Vidojević ve ark., 2020), çiğ süt ve ürünlerinde hakim LAB florasını oluşturdıkları bilinmektedir (McSweeney ve ark., 2000). Muş tulum peynirinde, *Lactococcus* izolatları sadece olgunlaşmanın 45. gününde tespit edilmiş ve olgunlaşmanın bu aşamasında ikinci baskın tür olarak değerlendirilmiştir. Tulum peyniri üzerine yapılan bir çalışmada *Lactococcus* izolatlarının olgunlaşmanın başlarında düşük düzeyde bulunduğu açıklanmıştır (Demirci ve ark., 2021). LAB türleri arasında *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*

türünün en iyi lezzet üreticisi olduğu ifade edilmektedir (Farahani ve ark., 2017). Bu sebeple *L. lactis* subsp. *lactis* ve *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* türleri sütün pastörize edildiği birçok ticari peynir yapımında starter kültür olarak kullanılmaktadır.

Muş Tulum peyniri örneklerinde sadece 1 tane *Pediococcus pentosaceus* FFH20 suşu izole edilmiştir. Pediokoklar peynir aroması oluşumunda rol oynasa da proteolitik ve lipolitik etkilerinin *Lactococcus*, *Lactiplantibacillus* ve *Enterococcus* türleri kadar etkili olmadığı bilinmektedir (Uymaz ve ark., 2019). *P. pentosaceus* izolatlarının Feta ve Teleme peynirlerde yavaş asit oluşumu ve daha çok diasetil ve asetaldehit ürettikleri söylenmektedir (Litopoulou Tzanetaki ve Tzanetakis, 2011). Yapılan bazı çalışmalarda belirli peynir çeşitlerinde düşük düzeyde *P. pentosaceus* türü tanımlanmıştır (Ertürkmen ve Öner, 2015; Şenocak Soran, 2018; Shi ve ark., 2019; Gantzias ve ark., 2020; Tsigkrmani ve ark., 2022).

5.3 Teknolojik Özellikler

Çalışmada, Muş Tulum peynirinden izole edilen ve depolama süresince tanımlanan LAB suşlarının, starter kültür olarak kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla bazı teknolojik özellikleri incelenmiştir.

Tanımlanan izolatların farklı sıcaklık (10 °C, 15 °C ve 45 °C) ve tuz konsantrasyonunda (%4, %6.5 ve %10) gelişebilme durumlarına bakıldığında, 50 *Enterococcus* ve 4 *Lactococcus* suşundan 35 *Enterococcus* ve 2 *Lactococcus* suşu (FFH51 ve FFH53) 10 °C, 45 °C ve %10 NaCl'de geliştiği tespit edilmiştir. Fakat geriye kalan 15 *Enterococcus* ile *Lactococcus* (FFH48 ve FFH54) suşları 45 °C ve %10 NaCl'de gelişmiş, ancak 10 °C'de gelişemediği saptanmıştır. Bazı çalışmalarda enterokokların tümünün 10 °C, 45 °C ve %6.5 NaCl'da geliştiği bildirilmiştir (Kırmacı ve ark., 2016; Uymaz ve ark., 2019). Başka bir çalışmada ise beyaz peynirden izole edilen birçok enterokok ve laktokok suşunun 10 °C'de gelişmediği görülmüştür (Ertürkmen ve Öner, 2015).

Çalışmamızda laktokoklar Silva ve ark. (2022)'nın bildirdiğinden farklı olarak %6.5 ve 10 NaCl konsantrasyonunda gelişme yeteneği göstermiştir. Özellikle *Lactococcus* izolatları %10 NaCl'de gelişme göstererek farklı fenotipik karakter sergilemiştir. Öte yandan, tüm *Lactiplantibacillus* izolatları 15 °C, 45 °C ve %10 NaCl'de gelişme göstermiştir. Aktaş ve Erdoğan (2022), beyaz peynirden izole ettikleri *Lactiplantibacillus* suşlarının 45 °C'de ve %10 NaCl'de zayıf gelişme gösterdiğini veya hiç gelişme göstermediğini bildirmiştir.

Tanımlanan suşların tamamının homofermentatif LAB olduğu belirlenmiştir. Çeşitli çalışmalarda *Enterococcus*, *Lactiplantibacillus* ve *Lactococcus* türlerinin tamamının homofermentatif olduğu tespit edilmiştir (Albayrak ve Duran, 2021; Mohammed ve Çon, 2021; Aktaş ve Erdoğan, 2022). Ancak, Dağdemir ve Özdemir (2008) beyaz peynirden izole ettikleri laktobasillerin (*Lb. fermentum*, *Lb. parabuncheri* ve *Lb. brevis* gibi) çoğunun heterofermentatif olduğunu bildirmişlerdir. Elde ettiğimiz bulgular, söz konusu suşların peynir üretim sürecinde starter kültür olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Asitleştirme etkisi yüksek olan LAB izolatları peynir üretiminde arzu edilen tat ve aromanın gelişmesi ve bozulmaya neden olan bakteri gelişiminin engellenmesi açısından önem arz etmektedir (Anagnostopoulos ve ark., 2018). Çalışmada, 24 saat sonra yağsız sütün asitliğini *Lactococcus* suşlarının (FFH48, FFH51, FFH53 ve FFH54) tamamı ile *E. faecium* FFH2 ve *Lb. plantarum* FFH59 suşları pH'ı 2.00 birimden fazla düşürerek yüksek asitleştirme; 29 *E. faecium*, 4 *E. faecalis*, 2 *E. durans*, 1 *P. pentosaceus* ve 9 *Lactiplantibacillus* suşları pH'ı 1.50-2.00 birim arasında düşürerek orta seviyede; 13 *E. faecium* ve 1 *E. durans* suşu ise pH'ı 1.50 birimden daha az düşürdüğü için düşük asitleştirme kapasitesi göstermiştir. Aktaş ve Erdoğan, (2022) Beyaz peynirde tanımlandıkları suşlardan 5'nin (*L. lactis* L1, *L. lactis* L52, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* L66, *Str. maceddonicus* L36 ve *Str. lutetiensis* E224 suşları) yağsız sütün pH'sını 2 birimden fazla düşürerek yüksek asitleştirme kapasitesine sahip olduğu, diğer 22 suşın ise düşük asitleştirme kapasitesi sergilediğini rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Mengen peynirinden izole edilen 30 laktokok suşundan

19'unun, 52 enterokok suşundan 11'nin ve 35 laktobasil suşundan 5'inin yüksek asidifikasyon aktivitesi gösterdiği ve bu suşların starter kültür olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir (Akoğlu ve ark., 2017).

Hızlı asit üreten LAB suşlarının 37 °C'de 6 saat sonra sütün pH'ını 5.30'un altına düşürmesi gerektiği bilinmektedir (Aspri ve ark., 2017). Çalışmada sadece *L. lactis* (FFH48, FFH51 ve FFH53) suşlarının pH'ı 5.30'un altına düşürerek hızlı asit üreten suşlar olduğu diğer suşların ise orta ya da yavaş asit üreticisi olduğu tespit edilmiştir. Laktokoklar, laktozu hızlı metabolize ettikleri için özellikle inkübasyonun ilk 6 saatinde laktobasil ve enterokok'lardan daha yüksek asitleştirme kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Turhan ve Öner, 2014;Pisano ve ark., 2019). Çalışmamıza benzer olarak daha önceki çalışmalarda farklı peynirlerden izole edilen *L. lactis* türlerinin hızlı asitleştirme kapasitesi gösterdiği rapor edilmiştir (Ertürkmen ve Öner, 2015;Kırmacı ve ark., 2016;Akoğlu ve ark., 2017). Enterokokların ise orta ve düşük düzeyde asitleştirme kapasitesi gösterdiği ve bu sonucun bazı çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir (Ribeiro ve ark., 2014;Anagnostopoulos ve ark., 2018). Biri hariç tüm *Lactiplantibacillus* suşları orta düzeyde asitleştirme kapasitesi göstermiştir. Elçioğlu (2010), Kargı tulum peynirinde hızlı asitleştirme kapasitesi gösteren *Lb. plantarum*, *E. faecium* ve *E. durans* suşlarının başlangıç kültürü olarak kullanılmasını önermiştir. Cezayir peynirinden izole edilen bir *Lb. plantarum* suşunun yüksek asitleştirme kapasitesine sahip olduğu rapor edilmiştir (Metrouh ve ark., 2022).

Nicosia ve ark. (2023) Brezilya Marajó peynirinden izole ettikleri 2 *Lb. plantarum* suşunun 6 saatlik inkübasyon sonunda pH' 5.30'un altına düşürerek hızlı asitleştirme aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise geleneksel Cezayir peynirleri ve tereyağından izole edilen 25 suşun 9'unun hızlı, 7'sinin orta ve 9'unun yavaş asitleştirme aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir (Hadeef ve ark., 2023). Ektik (2022) ise Klasik Beyaz peynir üretiminin farklı aşamalarında izole ettiği ve teknolojik özelliklerini değerlendirdiği toplam 20 suşun, 6 saatlik inkübasyon sonunda pH'ı 5.30'un altına düşürmediğini belirlemiştir.

Ayrıca Herreros ve ark. (2003), 6 saatlik inkübasyon sonucunda sütte ≥ 25 mg/mL laktik asit üretebilen suşların peynir üretiminde starter kültür olarak değerlendirilebileceğini ifade etmişlerdir. İnkübasyonun ardından titrimetrik yöntemle (Sarantinopoulos ve ark., 2001a) yapılan analizde, *L. lactis* (FFH48, FFH51 ve FFH53) suşları ile *E. faecium* FFH50 suşunun 27 mg/ml laktik asit ürettiği tespit edilmiştir. Bütün bu sonuçlar, yüksek asitleştirme kapasitesine ve hızlı asit üretim yeteneğine sahip suşların, peynir üretiminde starter veya yardımcı starter kültür olarak kullanılmasının uygun olabileceğini göstermektedir.

Laktik asit bakterileri proteinaz ve peptidaz aktiviteleri nedeniyle etkili bir proteolitik aktivite sergilerler. LAB'i, kazeini düşük molekül ağırlıklı peptitler ve amino asitlere dönüştürerek peynirin lezzet gelişimi üzerinde etkili olan çeşitli aroma bileşiklerinin oluşmasında önemli rol oynamaktadırlar (Nicosia ve ark., 2023). Ancak, aşırı proteoliz peptitlerin ve serbest aminoasitlerin (FAA'lar) diğer bileşiklerle reaksiyona girmesi sonucu peynirde istenmeyen tatların oluşmasına da neden olabilmektedir (Duan ve ark., 2019).

OPA yöntemi ile yapılan analiz sonucunda, suşların proteolitik aktivitesinin 0.0347 ile 2.2452 mmol/L FAA (serbest amino asit) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Toplamda 65 suştan 57'si düşük düzeyde (FAA 1 mmol/L'den az) proteolitik aktivite göstermiştir. *E. faecium* (FFH13 ve FFH45) (1.1091 ve 1.2147 mmol/L), *E. faecalis* FFH69 (1.5996 mmol/L) ve *P. pentosaceus* FFH20 (1.0954 mmol/L) suşları ise orta düzeyde (FAA 1-2 mmol/L arasında) proteolitik aktivite sergilemiştir. En yüksek proteolitik aktivite (FAA 2 mmol/L'den fazla) sırasıyla *E. faecalis* (FFH46 ve FFH14) (2.2452 ve 2.1926 mmol/L), *L. lactis* subsp. *lactis* FFH51 (2.1484 mmol/L) ve *E. faecium* FFH16 (2.0593 mmol/L) suşlarında gözlenmiştir.

Çalışmada, diğer enterokok suşlarından farklı olarak *E. faecalis* suşlarının yüksek düzeyde proteolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak bazı çalışmalarda *E. faecalis* suşlarının diğer enterokok suşlarına göre daha

yüksek proteolitik aktivite sergilediği bildirilmiştir (Sarantinopoulos ve ark., 2001; Morandi ve ark., 2006; Dağdemir ve Özdemir, 2008).

Lb. plantarum suşlarının 0.0834-0.2088 mmol/L arasında düşük düzeyde proteolitik aktivite gösterdiği ve bunun Belarbi ve ark. (2022) tarafından bildirilen sonuçlarla (0.0-0.1460 mg Leu/ml) uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Akoğlu ve ark. (2017) ise laktokokların, enterokok ve laktobasillere göre daha yüksek proteolitik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise sadece bir tane *Lactococcus* izolatu (FFH51 suşu) yüksek proteolitik aktivite sergilemiştir.

Ektik (2022), Klasik Beyaz peynir üretiminin farklı aşamalarında izole ettiği 20 suşun 3'ünün (*Lb. rhamnosus*, *Lb. paracasei* ve *Lb. plantarum*) yüksek, 15'inin orta ve 2'sinin zayıf proteolitik aktivite gösterdiğini belirlemiştir. Hadeş ve ark. (2023), Cezayir peynirleri ve tereyağından tanımladıkları 25 suşun 15'inde proteolitik aktivite gözlemlenmiştir. Başka bir çalışmada, Oğuz ve Andiç (2024), Kars Kaşar peynirinin peynir altı suyundan izole ettikleri LAB'nin proteolitik aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, izolatların %56.47'sinin düşük (<50 mg tirozin/mL), %23.53'ünün orta (<50 ile 100< mg tirozin/mL), %17.06'sinin yüksek (<100 ile 200< mg tirozin/mL), %2.94'ünün ise çok yüksek (>200 mg tirozin/mL), proteolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *Lb. delbrueckii* ve *Str. thermophilus* izolatlarının diğer suşlara kıyasla daha yüksek proteolitik aktivite sergilediği rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, tanımlanan toplam 65 suşun tamamının indikatör *Lactococcus lactis* SIK1403'e karşı inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. *Lactococcus lactis* SIK1403 bakterisine karşı en iyi antogonistik aktiviteyi *Lb. plantarum* (FFH73, FFH27 ve FFH30) suşları ile *E. faecium* FFH77 suşunun gösterdiği belirlenmiştir. Şenocak Soran (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ise, farklı geleneksel kültürlerle telemesi haşlanan peynir florasından izole edilen LAB suşları arasında, *E. coli* bakterisine karşı en iyi antogonistik aktiviteyi gösteren suşun *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* olduğu rapor edilmiştir (Şenocak Soran, 2018).

Çalışmada, yalnızca 2 *Enterococcus* suşunun (*E. faecium* FFH12 ve *E. faecium* FFH77) inhibitör aktivitesinin bakteriyosin üretiminden kaynaklandığı, diğer 63 suşun inhibitör aktivitesinin ise asitlik artışından kaynaklandığı tespit edilmiştir. Kırmacı ve ark. (2016), Urfa peynirinden izole ettikleri 129 suştan 14'ünün *Micrococcus luteus*'a karşı inhibisyon zonu oluşturduğunu, bu suşlardan 4'ünün (3 *E. durans* ve 1 *E. faecium*) bakteriyosin üretiminden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Gonzales ve ark. (2007), İspanya'ya özgü geleneksel Genestoso peynirinden izole ettikleri 395 suştan 24'ünün (13 *L. lactis* subsp. *lactis*, 5 *E. faecium*, 2 *Leuc. mesenteroides*, 2 *Lb. paracasei*, 1 *Leuc. pseudomesenteroides* ve 1 *Lb. plantarum*) indikatör suşlara karşı bakteriyosin aktivitesi sergilediğini rapor etmişlerdir.

Enterokoklar ürettikleri bakteriyosinler (enterosinler) sayesinde gıda bozulmasına neden olan patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterirler. Bu da bazı enterokok suşlarının peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Yerlikaya ve Akbulut, (2019) çiğ süttten izole ettikleri *E. faecium* ve *E. durans* türlerinin İzmir Tulum peyniri üretiminde yardımcı kültür olarak kullanıldığını rapor etmişlerdir. Dolayısıyla izole edilen *Enterococcus* suşlarının deneme Muş Tulum peyniri üretiminde starter kültür olarak değerlendirilebilmesi için bütün virülans testlerinin gerçekleştirilmesi ve risk faktörlerinin belirlenmesi gerektiği düşünülmektedir.

5.4 Fizikokimyasal Özellikler

Muş Tulum peynirlerine ait ortalama kurumadde miktarları %57.65-59.25 arasında bulunmuştur. Çalışmada elde edilen kurumadde miktarlarının, Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (2015/6) Tulum peynirleri için belirlenen en az %55 kurumadde değeri ile uyumlu olduğu görülmüştür (Türk Gıda Kodeksi, 2015). Rençber ve Çelik (2021), plastik bidonda olgunlaştırılan Muş Tulum peynirlerinde kurumadde miktarını %58.51-61.33 aralığında belirlemiştir. Tekin ve Güler (2019), plastik bidonda olgunlaştırılan tulum peynirlerinde kurumadde miktarını %60.30-61.14; Sancak ve ark. (2018), Bitlis Tulum peynirinde ortalama kurumadde miktarını

%59.35; Karasu Yalçın ve ark. (2012) ise Erzincan Tulum peynirlerinde ortalama kurumadde miktarını %58.92 olarak bildirmişlerdir. Çalışmada elde ettiğimiz kurumadde değerlerinin belirtilen çalışmalarla benzer olduğu görülmektedir.

Tulum peyniri ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda farklı araştırmacılar tarafından elde edilen ortalama kurumadde değerleri değişiklik göstermektedir. Tomar ve Akarca (2019), koyun sütünden üretilen ve plastik bidonda depolanan Afyon Tulum peynirinde ortalama kurumadde değerini %52.84, Kara ve Akkaya (2015) ise aynı peynirde bu değeri ortalama %53.69 olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca diğer tulum peynirlerinde ortalama kurumadde değerleri, Kargı Tulum peynirlerinde %61.71 (Kiraz, 2018), Divle Tulum peynirlerinde %56.27 (Morul ve İşleyici, 2012) ve Samsun piyasasından temin edilen tulum peynirlerinde %47.95 (Evren ve Şıvgın, 2021) olarak rapor edilmiştir.

İşletme tipinin peynirin kurumadde üzerindeki etkisi $p < 0.01$ düzeyinde çok önemli bulunmuştur. Daha önceki çalışmada Muş Tulum peynirlerinde işletme tipinin kurumadde miktarını istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde etkilediği bildirilmiştir (Rençber ve Çelik, 2021).

Depolama süresi boyunca kurumadde miktarının D işletmesi dışında diğer işletmelerden alınan örneklerde ilk güne göre arttığı görülmüştür. Kurumadde miktarındaki artışın ortamdaki tuzun peynire nüfuz ederek su kaybetmesinden veya çok az da olsa ambalaj malzemesinin geçirgenliğinden ileri geldiği düşünülmektedir. Benzer şekilde Karabekmez Erdem (2021), 90 günlük olgunlaşma döneminde tulum peynirlerinde kurumadde miktarının olgunlaşmanın sonuna doğru arttığını bildirmiştir. İşletmeler arasında kurumadde miktarının farklılık gösterdiği ve bu durumun peynire işlenen sütün farklı bileşimde olması, pıhtının asitliği, taze peynire uygulanan baskı süresi ve kullanılan tuz miktarı ile alakalı olduğu düşünülmektedir.

Peynir örnekleri arasındaki ortalama yağ oranlarının %32.00-35.75 arasında değiştiği saptanmıştır. Plastik bidonda olgunlaştırılan tulum peynirlerinde yağ oranları, Tekin ve Güler (2019) tarafından %33.75-34.17 aralığında, Rençber ve Çelik (2021) tarafından ise %32.25-34.50 aralığında tespit edilmiştir. Bu verilerin, elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. İspirli (2016), plastik ve deri tulumda olgunlaştırılan Erzincan Tulum peynirlerinde ortalama yağ oranını % 38.80 olarak belirlemiştir. Sancak ve ark. (2018), Bitlis Tulum peynirlerinde bu oranı %31.23; Tomar ve Akarca (2019), Afyon Tulum peynirlerinde %34.20; Kiraz (2018) ise Kargı Tulum peynirlerinde %30.28 olarak bulmuştur.

İşletme tipinin peynirin yağ miktarı üzerinde $p<0.01$ düzeyinde çok önemli bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Rençber ve Çelik (2021), Muş Tulum peynirlerinde işletme tipinin yağ oranı üzerine önemli düzeyde ($p<0.01$) etki ettiğini bildirmiştir. Depolama sonunda tüm işletmelerde yağ oranı depolamanın ilk gününe oranla artmış ve bu artmanın C işletmesinde $p<0.05$ düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır. Yağ miktarındaki artışın, kurumadde miktarındaki artışla alakalı olduğu söylenilebilir. Tulum peynirlerinde yağ oranının 90 günlük depolama sonunda arttığı bildirilmiştir (Karabekmez Erdem, 2021). Çalışmada işletmeler arasında yağ oranları arasındaki farklılığın kullanılan sütün türü, sütün yağ oranı, üretim tekniği ve örneklerinin kurumadde miktarının farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Örneklerin kurumadede yağ oranları %55.03-61.85 arasında bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (2015/6) tam yağlı Tulum peyniri için kurumadede yağ oranının en az %45 olması gerektiği bildirilmiştir. Bu tebliğ bağlamında analiz edilen peynirlerin tümünün 'tam yağlı peynir' kategorisine girdiği görülmektedir (Türk Gıda Kodeksi, 2015). Bu çalışmadan elde edilen sonuçların, Tomar ve Akarca (2019) tarafından bildirilen değer (%58.36) ile Çakır ve Çakmakçı (2018) tarafından bildirilen değerlerle (% 56.97-57.94) benzer olduğu görülmüştür. Diğer taraftan kurumadede yağ oranı Kargı Tulum peynirlerinde %49.09 (Kiraz, 2018), Afyon Tulum peynirlerinde %53.98 (Kara ve Akkaya, 2015), Divle Tulum

peynirinde %41.50 (Morul ve İşleyici, 2012) ve Bitlis Tulum peynirlerinde ise %52.53 (Sancak ve ark., 2018) olarak tespit edilmiştir.

İşletme tipinin peynirin kurumaddede yağ oranları üzerinde ($p<0.01$) çok önemli, depolama süresinin ise ($p<0.05$) önemli düzeyde etki ettiği belirlenmiştir. Tulum peynirlerinde kurumadde de yağ oranları üzerine örnek tipi, olgunlaşma süresi ve bu iki faktörün etkileşiminin istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde önemli etkisi olduğu bildirilmiştir (Karabekmez Erdem, 2021). Depolama sonunda örneklerin kurumaddede yağ oranlarında artış gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Sert (2011) ve Karabekmez Erdem (2021) de tulum peynirlerinde kurumaddede yağ oranını olgunlaşma süresince arttığını bildirmişlerdir.

Muş Tulum peynirlerine ait ortalama tuz değerleri %3.29-4.37 arasında değişmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlara benzer olarak Demirtaş ve Coşkun (2018), tulum peynirlerinde ortalama tuz miktarını %3.47-4.16, Rençber ve Çelik (2021) ise plastik bidonda olgunlaştırılan tulum peynirlerinde bu miktarı %2.34-4.06 aralığında bulmuşlardır. Tulum peynirlerinde tuz değerini farklı araştırmalarda, Evren ve Şıvgın (2021) %3.16-5.61; Çakır ve Çakmakçı (2018) %2.64-3.11; Beykaya (2018) ise %2.93-3.05 aralıklarda bildirmiştir.

Peynirin tuz miktarı üzerine işletme tipi ve depolama süresinin $p<0.01$ düzeyde çok önemli etki ettiği belirlenmiştir. Rençber ve Çelik (2021), Muş Tulum peynirlerinde işletme tipinin tuz miktarı üzerine $p<0.01$ düzeyinde etki ettiğini, Karabekmez Erdem (2021) ise tulum peynirlerinde tuz miktarı üzerine örnek tipi, olgunlaşma süresi ve bu iki faktörün interaksiyonunun $p<0.01$ düzeyinde etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Depolama süresince peynir örneklerindeki tuz miktarının sürekli olarak azaldığı görülmüştür. Depolama süresince tuz miktarının azalması genellikle su kaybı ve peynirdeki mikroorganizmaların faaliyetlerinin artması (mikroorganizmalar

tarafından üretilen laktik asit ve serbest aminoasitler tuzla reaksiyona girerek yeni iyonik bileşikler oluşabilir) ile ilişkilendirilir. Peynirde suyun bağlanması rol oynayan tuzun bir kısmı zamanla çözünür ve peynirdeki suya karışarak azalmasına neden olabilir. Tuz miktarının işletmeler arasında farklılık gösterdiği, bunun da geleneksel yöntemlerle üretilen Muş Tulum peynirlerinde üretim süreçlerindeki farklılıklar, kullanılan tuz miktarı ve peynir örneklerindeki kurumadde miktarındaki değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Örneklerin kurumaddede tuz değerlerinin %5.65-7.51 arasında değiştiği tespi edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (2015/6) Tulum peynirinde bu oranın en fazla %5 olması gerektiği belirtilmiştir (Türk Gıda Kodeksi, 2015). Muş Tulum peynirlerinde kurumaddede tuz değerlerin tebliğde belirtilen değerden yüksek çıktığı ve tebliğe uygun olmadığı görülmüştür. Peynir örneklerinde bulunan kurumaddede tuz değerlerinin Divle Tulum peynirlerinde bulunan ortalama tuz değerleri (%7.17) ile uyumlu olduğu (Morul ve İşleyici, 2012), fakat bazı araştırmacılar tarafından tulum peynirlerinde bulunan tuz değerlerinden yüksek çıktığı saptanmıştır (Çakır ve Çakmakçı, 2018; Tekin ve Güler, 2019; Sancak ve ark., 2018).

İşletme tipinin peynirin kurumaddede tuz değerleri üzerinde $p < 0.01$ düzeyinde çok önemli bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Muş Tulum peyniri ile ilgili yapılan önceki çalışmada işletme tipinin kurumaddede tuz oranı üzerine istatistiksel olarak $p < 0.01$ düzeyinde etki ettiği rapor edilmiştir (Rençber ve Çelik, 2021). Kurumaddede tuz değerlerinde depolama periyodu boyunca tüm işletmelerde sürekli azalmıştır. Depolama periyodunca tuz miktarının azalması ve kurumadde miktarının artması, kurumaddede tuz miktarının azalmasına sebep olmuştur.

Peynir örneklerindeki ortalama titrasyon asitliği değerlerinin %0.23-0.13 aralığında değiştiği saptanmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların Muş Tulum peynirinde daha önce bildirilen sonuçlarla (%0.20 L.A.) uyumlu olduğu görülmektedir. Titrasyon asitliği değerini Çakır ve Çakmakçı (2018), Erzincan Tulum

peynirlerinde %0.85-1.05;Tomar ve Akarca (2019), Afyon Tulum peynirinde %0.37-0.71;Kara ve Akkaya (2015) ise Divle Tulum peynirinde %0.4-0.62 aralığında tespit etmişlerdir.

Titrasyon asitliği üzerine işletme tipinin $p<0.01$ düzeyinde çok önemli bir etkisi olduğu belirlenmiştir. Önceki çalışmada, Muş Tulum peynirinde işletme tipinin titrasyon asitliğini istatistiksel açıdan $p<0.01$ düzeyde etkilediği bildirilmiştir (Rençber ve Çelik, 2021).

Depolama periyodunca tüm işletmelerden alınan peynir örneklerinde titrasyon asitliği değerlerinin arttığı gözlemlenmiştir. Tulum peynirleri ile ilgili yapılan çalışmalarda olgunlaşma süresi boyunca titrasyon asitliği değerlerinin arttığı rapor edilmiştir (Çakır ve Çakmakçı, 2018;Karabekmez Erdem, 2021). Titrasyon asitliğinin depolama süresince sürekli artması, peynirde baskın olarak bulunan laktik asit bakterilerinin proteolitik ve lipolitik aktivitelerinden kaynaklanmaktadır. Proteoliz sonucu oluşan serbest aminoasitlerin deaminasyonu veya dekarboksilasyonu ile ortaya çıkan organik asitler ve lipoliz sonucu oluşan serbest yağ asitleri peynirin asitliğinin artmasına neden olmaktadır. Depolama sırasında titrasyon asitliği değerleri işletmeler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir. İşletmeler arasındaki bu farklılığın depolama sırasındaki LAB faaliyetine, pıhtıdaki laktoz miktarına ve kullanılan tuz miktarına bağlı olduğu söylenilebilir.

Muş Tulum peyniri örneklerinde depolama süresince ortalama pH değerlerinin 4.80-5.36 arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmamızda bulunan sonuçlara benzer şekilde Rençber ve Çelik (2021), plastik bidonda olgunlaştırılan Muş Tulum peynirlerinde ortalama pH değerlerini 5.20; Evren ve Şıvgın (2021), Samsun piyasasından temin ettiği tulum peynirlerinde ortalama pH değerlerini 5.41; Morul ve İşleyici (2012) ise Divle Tulum peynirlerinde ortalama pH değerlerini 5.42 olarak tespit etmişlerdir.

Depolama süresinin pH değerini çok önemli ($p<0.01$) düzeyde, işletme tipinin ise önemli ($p<0.05$) düzeyde etkilediği belirlenmiştir. Muş Tulum peynirlerinde işletme tipinin pH'ı $p<0.01$ düzeyde etkilediği bildirilmiştir (Rençber ve Çelik, 2021).

Depolama süresi boyunca pH'nın tüm örneklerde arttığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Öztürkoğlu Budak ve ark. (2016) Divle Tulum peynirinde depolama boyunca pH'nın sürekli arttığını bildirmişlerdir. pH, LAB'nin laktozu parçalaması sonucu peynirde depolama başlangıcında düşmektedir. Fakat daha sonra laktozun tamamen parçalanması sonucu oluşan laktik asidin diğer mikroorganizmalar tarafından CO_2 ve H_2O 'ya metabolize olması, pH'nın depolama boyunca artmasına neden olmuştur. Ayrıca, depolama sırasında aminoasitlerin deaminasyonu sonucu amfoter karakterli amonyak oluşumu ve yağ asitlerinin metil ketonlara dönüşmesi sonucunda da pH yükselbilmektedir.

Aynı depolama gününde işletmeler arasındaki pH değerlerine bakıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı farklılıkların ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. Muş Tulum peynirinin üretildiği işletmeler arasında pH değerinin farklılık göstermesinde; çiğ sütün mikrobiyal yükü, pıhtının pH değeri, kullanılan tuz miktarı ve olgunlaştırma koşulları gibi faktörlerin rol aldığı düşünülmektedir.

5.5 Serbest Yağ Asidi Dağılımı

İncelenen tüm peynirlerde depolama sonunda en yüksek konsantrasyonda bulunan serbest yağ asitlerinin oleik asit (C18:1), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0) ve miristik asit (C14:0) olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde tulum peyniri ile ilgili yapılan çalışmalarda en yüksek konsantrasyonlarda bulunan serbest yağ asitlerinin palmitik, oleik, miristik ve stearik asitlerden oluştuğu bildirilmiştir (Sert ve ark., 2014; Şengül ve ark., 2014; Öztürkoğlu Budak ve ark., 2018; Tekin ve Güler, 2019; Akarca, 2020; Tomar ve ark., 2020). Yüksek konsantrasyonlarda bulunan bu serbest yağ asitleri, laktik asit bakterilerinin lipazları aracılığıyla bunları kısa zincirli

yağ asitlerinden serbest bırakmasıyla alakalı olduğu düşünülmektedir (Şengül ve ark., 2014).

Kısa zincirli yağ asitlerinin lipolitik aktiviteleri nedeniyle peynirde özellikle olgunlaşma dönemlerinde arttığı ve peynirin tat ve aroma oluşumunda oldukça önemli bir rol aldığı bildirilmiştir (Prandini ve ark., 2011; Raynal Ljutovac ve ark., 2011). Depolama süresince bütirik asit (C4:0) miktarının D ve E işletmelerinde arttığı, A, B ve C işletmelerinde ise azaldığı saptanmıştır. Benzer şekilde Tekin (2016), Karaman Tulum peynirlerinde C4:0 miktarının olgunlaşma sırasında arttığını, Tomar ve ark. (2020) ise 90 günlük olgunlaşma periyodunda tulum peynirlerinde C4:0 miktarının ilk 60 gün arttığını daha sonra azaldığını bildirmişlerdir. Öte yandan kaproik asit (C6:0) ve kaprilik asit (C8:0) miktarları ise tüm işletmelerde depolama süresince sürekli artış göstermiştir. Sert ve ark. (2014), tulum peynirlerinde C6:0 miktarının olgunlaşma süresince arttığı bildirilmişlerdir. Öztürkoğlu Budak ve ark. (2018) Tulum peynirinde, Ceylan ve ark. (2024) ise Çerkez peynirinde C8:0 değerlerinin olgunlaşma sonunda arttığını rapor etmişlerdir. Bu artışın, süt lipoprotein lipazı (LPL) ve mikrobiyal lipazların, trigliseritlerin *sn*-1 ve *sn*-3 pozisyonlarındaki ester bağlarını hidrolize etmesi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu enzimler özellikle süt trigliseritlerinin *sn*-3 pozisyonunda esterleşmiş olarak bulunan kısa zincirli yağ asitlerinin ester bağlarını keserek serbest bırakırlar (Ceylan ve ark., 2024). Dolayısıyla, bu enzimlerin aktivitesi, kısa zincirli yağ asitlerinin serbest bırakılmasına yol açarak bu asitlerin peynirdeki konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır (Tomar ve ark., 2020). C4:0 miktarının depolamanın sonunda azalması, bu asidin uçucu özellik göstermesi ve depolama koşullarında bu özellik nedeniyle kayba uğraması ile açıklanabilir.

Orta zincirli yağ asitlerinden kaprik (C10:0) ve laurik (C12:0) asit miktarlarının tüm işletmelerde depolama sonunda arttığı saptanmıştır. Çalışmamıza benzer olarak Sert ve ark. (2014), tulum peynirlerinde depolama sonunda bu yağ asitleri miktarının arttığını, Tomar ve ark. (2020) ise aynı peynirde bu miktarın azaldığını bildirmişlerdir. Oluşan farklılıkların kullanılan sütün yağ bileşimi, üretim metodu, depolama şartları

ve yağ asidi oksidasyonu ile alakalı olduğu düşünülmektedir. Miristik asitin (C14:0) tüm peynir işletmelerinde en fazla bulunan orta zincirli yağ asidi olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresince C14:0 değerlerinde dalgalanmalar görülse de depolama sonunda B işletmesi hariç diğer işletmelerde ilk güne göre artış görülmüştür ($p<0.05$). B işletmesindeki farklılığın lipaz aktivitesinin düşük olmasından kaynaklı olabileceği söylenilebilir. Çalışmamıza uygun olarak Urfa (Atasoy ve Türkoğlu, 2009) ve Çerkez (Ceylan ve ark., 2024) peynirlerinde depolama periyodunca C14 değerlerinin arttığı bildirilmiştir.

Peynir örneklerinde palmitik asit (C16:0) miktarında depolama süresince artış ve azalışlar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Akarca (2020), Erzincan Tulum peynirlerinde C16:0 miktarının olgunlaşma süresince arttığını bildirmiştir. Çalışmada, stearik asit (C18:0) miktarının, tüm işletmelerde depolama süresinin sonunda başlangıç gününe kıyasla azalışı belirlenmiştir ($p<0.05$). Bunun aksine, bazı peynir türlerinde depolama boyunca stearik asit miktarının arttığı rapor edilmiştir (Atasoy ve Türkoğlu, 2009; Ceylan ve ark., 2024). Depolama süresince oleik (C18:1) ve linoleik (C18:2) asit miktarlarında dalgalanmalar saptanmıştır ($p<0.05$). Tomar ve ark. (2020), Tulum peynirlerinde depolama boyunca C18:1 miktarının arttığını; Atasoy ve Türkoğlu (2009) ise olgunlaşma süresince Urfa peynirinde C18:2 değerinin arttığını rapor etmişlerdir. Depolama periyodu boyunca tüm işletmelerde linolenik asit (C18:3) miktarının sürekli olarak arttığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, Çerkez peynirinde C18:3 miktarının olgunlaşma süresince arttığı bildirilmiştir (Ceylan ve ark., 2024). Uzun zincirli yağ asitlerinde gözlemlenen değişimler, enzimatik aktivite, hücre otolizi, lipolitik mikroflora, depolama koşulları, oksidasyon ve mikroorganizmaların yağ asitlerini tüketimi gibi çeşitli faktörlerle açıklanabilir.

Muş Tulum peyniri örneklerine ait toplam serbest yağ asitleri (FFA) miktarlarında depolama süresince artış ve azalışlar tespit edilmiştir. Artma, mikrobiyal lipaz ve esteraz aktivitesi ile kalıntı süt LPL'ı tarafından lipidlerin parçalanması, azalma ise uçucu yağ asitlerinin buharlaşması, serbest yağ asitlerinin oksidasyonu veya mikrobiyal tüketim ile ilişkilendirilebilir (McCarthy ve ark., 2016). Tekin ve

Güler (2019), Tulum peynirinde depolama sonunda toplam FFA miktarının arttığını belirtmişlerdir.

Toplam çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeriğinin E işletmesi dışında diğer işletmelerde depolama sonunda arttığı gözlemlenmiştir. Muş Tulum peyniri üretiminde kullanılan sütün merada beslenen hayvanlardan elde edildiği ve bunun sütün yağ asidi profili üzerinde önemli bir etki yaparak çoklu doymamış yağ asitlerinin miktarını artırdığı düşünülmektedir.

Çalışmada, örneklerin toplam doymamış yağ asitleri (UNSFA) miktarlarında artış ve azalışlar tespit edilmiştir ($p<0.05$). UNSFA miktarındaki artışın mikrobiyal lipaz aktivitesi, azalışın ise lipit peroksidasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ceylan ve ark. (2024) Çerkez peynirinde doymamış yağ asitlerinin arttığını, Şengül ve ark. (2014) ise tulum peynirlerinde bu asitlerin depolama sırasında azaldığını bildirmişlerdir.

Genel olarak, farklı işletmelerden alınan Muş Tulum peyniri örneklerinin serbest yağ asidi içeriği önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir. Bu değişkenliğin, kullanılan süt türü ve sütün yağ içeriği, sütün doğal mikroflorası ve bu mikrofloranın lipaz ile esterase aktivitesi, peynirde arta kalan süt lipoprotein lipazı, üretim teknikleri ve olgunlaştırma koşulları gibi çeşitli faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle, olgunlaşma sürecinde meydana gelen mikrobiyal aktivitelerin serbest yağ asidi oluşumunda belirleyici rol oynadığı ifade edilebilir. Sonuç olarak, Muş Tulum peynirinde gözlemlenen yüksek serbest yağ asidi düzeyinin peynirde baskın bulunan enterokoklar ile diğer ikinci floranın enzimatik aktivitesinden kaynaklandığı söylenebilir.

5.6 Uçucu Bileşikler

Çalışmada, Muş Tulum peyniri örneklerinde 20 asit, 20 ester, 6 alkol, 7 hidrokarbon, 2 aldehit, 1 keton, 2 terpen, 1 lakton ve 17 diğer bileşen olmak üzere toplam 76 aroma bileşiği tanımlanmıştır. Tekin (2016), Karaman Tulum peynirlerinde 16'sı alkol, 10'u asit, 17'si ester, 12'si keton, 8'i terpen, 6'sı fenil-fenol, 9'u alkan-alken ve 10'u diğer bileşen olmak üzere toplam 88 aroma bileşiği tespit etmiştir. Başka bir çalışmada Gezginç ve ark. (2022), Orta ve Doğu Anadolu bölgesinden toplanan tulum peynirlerinde 13 asit, 8 ester, 5 alkol, 3 hidrokarbon, 3 keton, 3 aldehit ve 1 diğer bileşen olmak üzere toplam 36 uçucu bileşik belirlemişlerdir.

Peynirin depolama sürecinde bazı aroma bileşenlerinin arttığı veya yeni bileşenlerin oluştuğu görülmüştür. Bu durumun organik bileşikler arasında gerçekleşen kimyasal reaksiyonlar ile glikoliz, proteoliz ve lipoliz gibi süreçlerden kaynaklandığı düşünülebilir (Atasoy ve ark., 2008; Wang ve ark., 2020). Bunun yanı sıra, bazı uçucu bileşenler peynirin depolama aşamasında azalmış veya tamamen ortadan kalkmıştır. Bu azalma söz konusu bileşenlerin bozunması ya da buharlaşmasıyla ilişkilendirilebilir (Chaliha ve ark., 2013).

Peynirde bulunan asitler, süt yağının lipolizi, laktoz fermentasyonu ve aminoasit metabolizması sonucu oluşmaktadır (Duan ve ark., 2019). Çalışmamızda, B ve D işletmelerinden alınan peynir örneklerinde depolama süresince toplam asit miktarının arttığı ($p<0.05$), A, C ve E işletmelerinde depolamanın sonunda ilk güne göre azaldığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Bu artmanın depolama sürecinde lipoliz ve mikrobiyal aktivitenin yoğunluğundan, azalmanın ise bu asitlerin alkollerle reaksiyona girerek esterleşmesinden kaynakladığı düşünülebilir.

Palmitik asitin peynir örneklerinde en yüksek konsantrasyonda (13.11 mg/kg) bulunan asit olduğu ve B işletmesinden alınan örnekte depolama sonunda tespit edildiği belirlenmiştir. Palmitik asitin süt yağında doğal olarak yüksek miktarda bulunduğu bilinmektedir (Jensen, 2002). Bu durumun B işletmesinde kullanılan sütün

yağ oranının yüksek olması ile genetik faktörler, hayvanın beslenme şekli ve laktasyon dönemi gibi unsurlara bağlı olarak yağ asidi profilinin farklı olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Fox ve McSweeney, 2007). Peynir örneklerinde genel olarak belirgin bir asit bileşiğinin olmadığı, tespit edilen asitlerin depolamanın farklı aşamalarında ve farklı örneklerde görüldüğü saptanmıştır.

cis-Vaksenik, hekzanoik ve heptanoik asit miktarlarının depolama süresince azaldığı ve bu durumun söz konusu asitlerin uçucu özellikleri nedeniyle buharlaşması veya alkollerle esterleşerek ester bileşiklerine dönüşmesi ile alakalı olduğu düşünülmektedir.

Bütanoik ve 3-metil bütanoik asit sadece D işletmesinde ve depolamanın farklı günlerinde tespit edilmiştir. Bütanoik asit lipoliz, laktoz fermantasyonu ve Val, Thr, Glu ve Met gibi aminoasitlerin parçalanması, 3-metilbütanoik asit ise izolösin aminoasidinin metabolizması sonucu oluşmaktadır (Hayaloğlu ve ark., 2007).

Bu asitler, doğrudan peynirin keskin ve karakteristik aromasını oluşturmamanın yanı sıra, keton, alkol, aldehit, lakton ve ester gibi diğer lezzet bileşenlerinin oluşmasında da temel bileşen olarak rol alırlar (Çakmakçı ve ark., 2013). Örneğin bütanoik asit lakton oluşumuna katkı sağlarken, hekzanoik asit meyvemsi ve tereyağımsı aroma sağlayabilir. Ayrıca, Tulum ve Kaşar peynirlerinde benzer asit bileşiklerinin tespit edildiği bildirilmiştir (Hayaloğlu, 2009; Karabekmez Erdem, 2021; Gezginç ve ark., 2022).

Esterlerin, yüksek konsantrasyonda bulunan serbest yağ asitleri, metil ketonlar ve aminlerin neden olduğu keskin ve acı tat ile kötü kokuları baskılama yeteneğinden dolayı peynirde önemli uçucu aroma bileşenleri olduğu bilinmektedir (Hayaloğlu ve Karabulut, 2013; Tylewicz ve ark., 2022). Peynirde tatlı-meyvemsi aroma ile karakterize edilen esterler, esterifikasyon veya alkoliz reaksiyonları sonucu oluşmaktadırlar (Liu ve ark., 2004). Muş Tulum peyniri örneklerinde etil esterlerin

daha fazla saptandığı ve bu sonuçların tulum peynirleri üzerine yapılan önceki çalışmalara uyduğu gözlemlenmiştir (Hayaloğlu ve ark., 2007;Çakır ve ark., 2016;Akarca, 2020). Etil esterler, özellikle düşük konsantrasyonlarda peynirin genel lezzetindeki dengeyi destekleyerek peynire elma, muz ve ananas aromaları gibi bir lezzet verir (Li ve ark., 2019).

Toplam ester miktarının A, B, D ve E işletmelerinden alınan peynir örneklerinde depolama sonunda ilk güne göre arttığı ($p<0.05$), C işletmesinden alınan örnekte ise depolamanın 45. gününe kadar arttığı ($p<0.05$) fakat depolama sonunda herhangi bir ester bileşiğine rastlanılmadığı belirlenmiştir. Bu durum mikrobiyal aktivitenin ve esterifikasyon reaksiyonlarının depolama süresiyle birlikte artmasına bağlanabilir.

Alkoller laktoz fermentasyonu, amino asit metabolizması ve metil ketonların parçalanması gibi birçok yolla oluşabilmektedir (Hayaloğlu ve ark., 2007;Tylewicz ve ark., 2022). Alkoller, özellikle esterlerle reaksiyona girerek peynirde alkolümsü veya meyvemsi aroma oluşumuna etki eden önemli uçucu bileşenler arasında yer alırlar (Hayaloğlu ve ark., 2007;Muelas ve ark., 2018). Tüm peynir örneklerinde etanol en fazla miktarlarda (26.28 mg/kg) bulunan alkol bileşiği olup sadece depolamanın 1. gününde D işletmesinde saptanmıştır. Daha önceki çalışmalarda bazı araştırmacılar tarafından tulum peynirlerinde en fazla bulunan alkol bileşiğinin etanol olduğu bildirilmiştir (Hayaloğlu ve ark., 2007; Akarca, 2020; Gezginç ve ark., 2022). Etanol esas olarak laktozun fermentasyonu ve alanin aminoasidinin katabolizmasıyla üretilmektedir. Etanol, peynir aromasında belirgin bir etkiye sahip olmamasına rağmen esterlerin oluşmasında önemli rol oynamaktadır (Hayaloğlu ve ark., 2007).

Çalışmada tespit edilen fenetil alkolün koyun sütü peynirlerinde yaygın olarak bulunduğu ve peynire hafif gül kokusu aroması verdiği bilinmektedir (Atasoy ve ark., 2013;Kırmacı ve ark., 2016). Fenetil alkol, α -keto asitlerin enzimatik olmayan reaksiyonu sonucu üretildiği gibi mayalar tarafından fenilalanin aminoasidinin metabolize edilmesiyle de üretilebilmektedir (Atasoy ve ark., 2013;Zheng ve ark.,

2018). Bir diğer alkol bileşiği olan benzil alkolün depolamanın başında ortaya çıkması başlangıçta metabolik reaksiyonların belirli alkollerin üretimine yol açtığını göstermektedir. Benzil alkolün genellikle fenilalanin ve diğer aromatik amino asitlerin metabolizmasıyla ortaya çıktığı ve peynirin karakteristik aromasına katkıda bulunduğu bilinmektedir (Akarca, 2020).

Lipit otooksidasyonu sonucu ortaya çıkan hidrokarbonlar, algılama eşiklerinin yüksek olması nedeniyle özellikle aromatik bileşiklerin öncülü olarak peynirin karakteristik lezzetine katkıda bulunurlar (Hayaloğlu ve ark., 2007). Hidrokarbon bileşiklerinden o-ksilen ve m-ksilen miktarı depolama süresince azalmış, p-ksilen miktarı ise artmıştır ($p < 0.05$). Peynirde bu bileşiklerin bulunması, özellikle oksidasyon süreçlerine ve mikroorganizmalara bağlı olarak değişmektedir. O-ksilen ve m-ksilenin azalması, bu bileşiklerin oksidasyona uğrayarak başka bileşenlere dönüşmesiyle açıklanabilir.

Aldehitler, genellikle aminoasitlerin parçalanması sonucu veya doymamış yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile ortaya çıkan hidroperoksitlerden oluşmaktadırlar (Dopieralska ve ark., 2020). Aldehitlerin hızlı bir şekilde asit ve alkollere dönüştüğü, bu yüzden peynirde birikmediği bildirilmiştir (Hayaloğlu ve ark., 2007). Çalışmada aldehit bileşiği olarak Benzaldehit ve 3-Furaldehit (furfural) bileşiği bulunmuştur. Xinjiang peynirinde yüksek miktarda benzaldehit bileşiğinin bulunduğu ve bu bileşiğin peynire acı badem, kiraz ve fındık aroması sağladığı bildirilmiştir (Xu ve ark., 2020). Başka bir çalışmada da tulum peynirinde benzaldehit bileşiğinin tanımlandığı ve bu bileşiğin peynirin aroması için önemli olduğu vurgulanmıştır (Hayaloğlu ve ark., 2007). Peynirde 3-furaldehit Maillard reaksiyonları, lipit peroksidasyonu veya mikrobiyal aktivite sonucu oluşmaktadır. Karamelize ve kavruk aroma ile ilişkilendirilen bu bileşik uzun süren depolama sonrasında ortaya çıkmaktadır. Xu ve ark. (2020), olgunlaşma sırasında Maillard reaksiyon ürünlerinin aromatik bileşiklerin oluşumuna katkıda bulunduğunu ve furfuralın bu süreçte önemli bir bileşen olduğunu vurgulamışlardır. Zheng ve ark. (2018), fermente süt ürünlerinde furfuralın mikrobiyal

aktivitelerle ilişkili olarak düşük konsantrasyonlarda ortaya çıktığını ve hoş aromalar sağladığını belirtmişlerdir.

Ketonlar, serbest yağ asitlerinin oksidasyonu ile önce β -ketoasitlere daha sonra dekarboksilasyon ile metil ketonlara dönüşen ve küçük miktarlarda bile aromayı etkileyen bileşiklerdir. Bu bileşikler, peynirin olgunlaşması sonrasında meydana gelen keskin kokudan sorumlu ve düşük algılama düzeyine sahiptirler (Bontinis ve ark., 2012; Akarca, 2020). Çalışmada keton bileşiğinin depolama ilk günlerinde bulunması, bu bileşiklerin hızla metabolize olup başka bileşiklere dönüşebileceğini göstermektedir.

Terpenlerin, hayvanların meralarda tükettikleri bitkilerden veya yem karışımlarından süte ve buradan da peynire geçerek aromayı zenginleştirdiği rapor edilmiştir (Bezerra ve ark., 2017). Ayrıca, fermentasyon sürecinde bazı mikroorganizmaların aktivitesi sonucunda da terpen bileşiklerinin sentezlenebildiği ifade edilmiştir (Tekin, 2016). Toplam terpen miktarında depolama sonunda azalma tespit edilmiştir. Bu azalma terpenlerin depolama sırasında mikroorganizmalar tarafından metabolize edilerek diğer hidrokarbon türevi bileşiklere dönüşmesi ile açıklanabilir (Valdivielso ve ark., 2016). Çalışmada terpen bileşiği olarak D-limonen ve p-simen bileşikler tanımlanmıştır. Baskın terpen bileşiğinin peynire turuncgil aroması veren D-limonen olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Divle Tulum peynirlerinde baskın terpen bileşiğinin limonen olduğu rapor edilmiştir (Hayaloğlu ve Karabulut, 2013). Ayrıca, Hayaloğlu (2009), Kaşar peynirinde önemli miktarda p-simen bileşiği bulunduğunu rapor etmiştir.

Laktonlar, şeftali, kayısı ve hindistan cevizi benzeri aromalara sahip, hidroksi asitlerin molekül içi esterleşmesi sonucu oluşan siklik esterlerdir (McSweeney, 2004). Xu ve ark. (2020) peynirde en sık tespit edilen laktonlardan biri olan butirolakton miktarının genellikle lipoliz derecesiyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, Kaşar peynirinde butirolakton bileşiğinin tanımlandığı bildirilmiştir (Hayaloğlu, 2009).

Çalışmada diğer bileşen olarak oksim-metoksi-fenil ile fenol bileşiklerinin tespit edildiği ve bu bileşiklerin Tekin (2016), tarafından da tulum peynirinde tanımladığını rapor edilmiştir. Bir diğer bileşen olarak tanımlanan 18-crown-6 eter bileşiğinin peynirde, bazı mikrobiyal aktiviteler ya da çevresel faktörlerin etkisiyle oluşan özgül reaksiyonlardan oluştuğu düşünülmektedir. 1,2-dimetil hidrazin gibi toksik özellik taşıyabilecek bileşiklerin varlığı, peynir üretiminde çevresel kontaminasyon olduğunu göstermektedir. Ayrıca 2,2,3,3,3-pentafloro-N-(2-feniletil) propanamid, 2-feniletilamin N,N-di(trifloroasetil) ve silan türevlerinin peynire ambalaj materyalinden, temizlik maddelerinden veya üretim sırasında kullanılan diğer ekipmanlardan geçmiş olabileceği düşünülmektedir. Bu bileşikler, peynirin özgün aroma ve tat profilini oluştururken, aynı zamanda peynirin kalitesinin korunması veya bozulmasına da katkıda bulunabilirler.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, 5 farklı işletmeden temin edilen ve çiğ koyun sütü kullanılarak üretilen Muş Tulum peynirinde depolama periyodu boyunca hakim laktik floranın biyokimyasal, fenotipik ve genotipik yöntemler aracılığı ile suş düzeyinde karakterizasyonu sağlanmış ve seçilen suşların bazı teknolojik özellikleri tespit edilmiştir. Ayrıca peynirin fizikokimyasal özelliklerindeki, serbest yağ asidi ve uçucu bileşen profillerindeki değişimler depolama süresi boyunca takip edilmiştir.

Çalışmada Muş Tulum peynirinden izole edilen LAB suşları, 16S rDNA dizi analizi sonucunda *Enterococcus spp.* (%76,92), *Lactiplantibacillus spp.* (%15,38), *Lactococcus spp.* (%6,15) ve *Pediococcus spp.* (% 1,54) olarak sınıflandırılmıştır. Genetik karakterizasyon sonucu 50 *Enterococcus spp.*'nin 40'ı *Enterococcus faecium* (%86), 4'ü *Enterococcus faecalis* (%8) ve 3'ü *Enterococcus durans* (%6); 10 *Lactiplantibacillus spp.*'nin 9'u *Lactiplantibacillus plantarum* (%90), 1'i *Lactiplantibacillus pentosus* (%10); 4 *Lactococcus spp.*'nin 2'si *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (%50), 1'i *Lactococcus lactis* (%25), 1'i *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* (%25) ve bir suşun ise *Pediococcus pentosaceus* olduğu tespit edilmiştir.

İzole edilen LAB suşlarının 27'si (%70,37 *Enterococcus spp.*, %25,92 *Lactiplantibacillus spp.* ve %3,70 *Pediococcus spp.*) depolamanın 1. gününde, 23'ü (%78,26 *Enterococcus spp.*, %17,39 *Lactococcus spp.* ve %4,34 *Lactiplantibacillus spp.*) 45. gününde ve 15'i (%86,66 *Enterococcus spp.* ve %13,33 *Lactiplantibacillus spp.*) 90. gününde izole edilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak 5 farklı işletmeden alınan geleneksel Muş Tulum peyniri örneklerinde her depolama aşamasında baskın türün *Enterococcus spp.*'den oluştuğu, bir işletme (D işletmesinde olgunlaşmanın 45. gününde ikinci baksın türü *Lactococcus spp.* oluşturmuştur) hariç bunu *Lactiplantibacillus spp.*'nin takip ettiği belirlenmiştir.

Test edilen 50 *Enterococcus* ve 4 *Lactococcus* suşundan 35 *Enterococcus* ve 2 *Lactococcus* suşu (FFH51 ve FFH53) 10 °C, 45 °C ve %10 NaCl'de gelişebilmiştir. Fakat geriye kalan 15 *Enterococcus* ile *Lactococcus* (FFH48 ve FFH54) suşları 45 °C ve %10 NaCl'de gelişebilse de 10 °C'de gelişmediği tespit edilmiştir. *Lactococcus* izolatlarının %10 NaCl'de gelişerek farklı fenotipik özellik sergilediği, *Lactiplantibacillus* izolatlarının ise 15 °C ve 45 °C ile %10 NaCl'de gelişme gösterdiği görülmüştür. Ayrıca tanımlanan suşların tamamının homofermentatif olduğu belirlenmiştir.

Farklı işletmelerden alınan peynir örneklerinde 90 günlük depolama sonunda KM (D işletmesi hariç), yağ, KM'de yağ, titrasyon asitliği ve pH değerlerinin arttığı, tuz ve KM'de tuz değerlerinin ise azaldığı görülmüştür.

Peynir örneklerinde en fazla bulunan kısa, orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin bütirik, miristik ve oleik asit olduğu belirlenmiştir.

Depolama süresi boyunca C8, C10, C12, C14, C16, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, SFA, UNSFA ve PUFA değerleri A işletmesinde, C6 değeri ise B işletmesinden alınan peynirlerde daha fazla tespit edilmiştir ($p<0.05$). C4 değeri ise depolama başında C işletmesinde, sonunda ise E işletmesinden alınan örneklerde daha fazla bulunmuştur ($p<0.05$).

Depolama sonunda C4 ve C16 değerleri D ve E işletmelerinde; C6, C8, C10, C12 ve C18:3 değerlerinin tüm işletmelerde; C14 değerinin B işletmesinde, PUFA değerinin E işletmesi dışındaki diğer işletmelerde; C18:1 ve UNSFA değerlerinin B ve D işletmelerinde; SFA değerinin C, D ve A işletmelerinde arttığı, C18:0 değerinin ise tüm işletmelerde azaldığı tespit edilmiştir.

Muş Tulum peyniri örneklerinde 90 günlük depolama sonunda 20 ester, 20 asit, 7 hidrokarbon, 6 alkol, 2 aldehit, 1 keton, 2 terpen, 1 lakton ve 17 diğer bileşen olmak üzere toplam 76 uçucu aroma bileşiği bulunmuştur.

Farklı işletmelerden alınan Muş Tulum peynirlerinde depolama sonunda toplam asit ve diğer bileşen miktarları B işletmesinde, toplam ester ve hidrokarbon miktarları E işletmesinde, toplam alkol ve aldehit miktarları sırasıyla C ve D işletmelerinde ve toplam keton miktarı ise A işletmesinden alınan örneklerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

Uçucu aroma bileşen grupları içinde en yüksek konsantrasyonlarda bulunan ester bileşiklerinden hekzanoik asit etil ester depolamanın 45. gününde, alkol bileşiklerinden etanol depolamanın 1. gününde D işletmesinde; asit bileşiklerinden palmitik asit ve diğer bileşenlerden oksim-metoksi-fenil depolamanın 90. gününde B işletmesinde; aldehitlerden benzaldehit depolamanın 1. günü E işletmesinde ve terpenlerden D-limonen depolamanın 45. gününde D işletmesinden alınan peynirlerde tanımlanmıştır.

Tespit edilen uçucu bileşenlerin dağılımları işletmeler arasında ve farklı depolama aşamalarında değişkenlik göstermiştir ($p<0.05$). Bu bileşiklerden 2,5-dihidroksi benzoik asit, 4-hidroksibenzoik asit ,etil 5-metilnonanoat, bütanoik asit 2-feniletil ester, benzil alkol, o-ksilen, 1,2,4-triazoller, silan, [[3,3-dimetil-4-metilen-2-(trimetilsilil)-1-siklopenten-1-il]metoksi]trimetil-, 5-metilpirimidin, di-tert-bütilhidrokinon ve 2-metoksi-6-metilpirazin bileşikleri sadece A işletmesinde; tetradekanoik asit, metil 3,4-dimetilbenzoat, 3,5-dimetilbenzil 2,4-dimetilbenzoat, 4-etilbenzoik asit, 2-bütil ester, 10Z)-10-tetradecen-1-il asetat, benzosiklobuten, 2,3,3,3-pentafluoro-N-(2-fenetil) propanamid, 2-fenetilamin, N,N-di(trifluoroasetil)- ve silan, dietoksidimetil- bileşikleri sadece B işletmesinde; palmitoleik, dodekanoik, 9-oktadekanoik, oktadekanoik, pentadekanoik, nonanoik, 11-bromodekanoik, oleik ve heptanoik asitler ile heptadeasil hekzanoat, 2-etilhekzanol, 2-büten-1,4-diol, 3-

heptanol, pentaetilen glikol dimetil eter, silan, [[(3.beta.,11.beta.,20S)-pregn-5-ene-3,11,17,20-tetral]tetrakis(oksi)]tetrakis(trimetil, 3-furaldehit ve bütanolakton bileşikleri sadece C işletmesinde; bütanoik ve 3-metilbütanoik asit, 4-bütılbenzoik asit 2-feniletil ester, pentaetilen glikol monometil eter, 2-metil-2-büten, 1-bütoksi-2-etilhekzan, tetraetilen glikol ve 1,2-dimetil hidrazin bileşikleri sadece D işletmesinde ve 2,5-dimetil-3-hekzanon ile 2-metilundekanoik asit, bütanoik asit etil ester, 3-metilbütıl asetat, benzoik asit 2-feniletil ester, fumarik asit, 2-fenetil 2,2,3,3-tetrafluoropropil ester ve 2-penten bileşikleri ise sadece E işletmesinden alınan peynirlerde bulunmuştur.

Sonuç olarak, Muş Tulum peynirinde LAB dağılımı, fizikokimyasal özellikler, serbest yağ asidi ve uçucu aroma bileşenlerinin depolama sürecinde ve işletmeler arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

7. ÖNERİLER

Bakteriyosin üreticisi olduğu belirlenen *E. faecium* FFH12 ve FFH77 suşlarının, potansiyel sağlık risklerini tespit etmek amacıyla tüm toksikolojik testlerinin yapılması gerekmektedir. Bu testlerin ardından bu suşların Muş Tulum peyniri üretiminde starter kültür olarak kullanılabilirliği değerlendirilebilir.

Teknolojik karakterizasyon sonucunda yüksek asitleştirme veya proteolitik aktivite gösteren *L. lactis* (FFH48, FFH51, FFH53 ve FFH54), *Lb. plantarum* FFH59, *E. faecium* (FFH2 ve FFH16) ve *E. faecalis* (FFH14 ve FFH46) suşlarının starter veya karışık kültür olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olabileceği düşünülmektedir. Özellikle istenilen teknolojik özelliklere sahip *L. lactis* suşlarının, Muş Tulum peyniri üretiminde kullanılması önerilmektedir. Bu suşların kullanımı ile peynirin karakteristik tat ve aroma profillerinin nasıl etkilendiği araştırılmalıdır.

Son olarak elde edilen veriler doğrultusunda, Muş Tulum peynirinin, ürün kalitesinin artırılmasının yanı sıra, geleneksel bilgi ve kültürel değerlerin korunarak yerel üretimin desteklenmesi adına Coğrafi İşaret Tescili alınması mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn Król, M., and Varzakas, T., 2020. Lactic acid bacteria as antibacterial agents to extend the shelf life of fresh and minimally processed fruits and vegetables: Quality and safety aspects. *Microorganisms*, 8 (6): 952.
- Ahmed, S., Singh, S., Singh, V., Roberts, K. D., Zaidi, A., and Rodríguez Palacios, A., 2022. The *Weissella* genus: Clinically treatable bacteria with antimicrobial/probiotic effects on inflammation and cancer. *Microorganisms*, 10 (12): 2427.
- Akarca, G., 2019. Lipolysis and aroma occurrence in Erzincan Tulum cheese, which is produced by adding probiotic bacteria and ripened in various packages. *Food Science and Technology*, 40 (1): 102-116.
- Akoğlu, A., Yaman, H., Coşkun, H., ve Sarı, K., 2017. Mengen peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler identifikasyonu ve bazı starter kültür özelliklerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21 (2): 453-459.
- Aktas, H. M., and Erdogan, A., 2022. Characterization of technological properties of lactic acid bacteria isolated from Turkish Beyaz (white) cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46 (10): e16837.
- Albayrak, C. B., and Duran, M., 2021. Isolation and characterization of aroma producing lactic acid bacteria from artisanal white cheese for multifunctional properties. *LWT-Food Science and Technology*, 150: 112053.
- Alegria, Á., Szczesny, P., Mayo, B., Bardowski, J., and Kowalczyk, M., 2012. Biodiversity in Oscypek, a traditional Polish cheese, determined by culture-dependent and-independent approaches. *Applied and environmental microbiology*, 78 (6): 1890-1898.
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., and Chevallier, I., 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and caharacterization of the antimicrobial compounds. *Food Control*, 17: 454-461.
- Anagnostopoulos, D. A., Bozoudi, D., and Tsaltas, D., 2018. Enterococci isolated from cypriot green table olives as a new source of technological and probiotic properties. *Fermentation*, 4 (2): 48.
- Araújo, T. F., and Ferreira, C. L. D. L. F., 2013. The genus *Enterococcus* as probiotic: safety concerns. *Brazilian archives of biology and technology*, 56: 457-466.
- Araújo Rodrigues, H., Dos Santos, M. T. P., Ruiz Moyano, S., Tavaría, F. K., Martins, A. P., Alvarenga, N., and Pintado, M. E., 2021. Technological and protective performance of LAB isolated from Serpa PDO cheese: Towards selection and development of an autochthonous starter culture. *Lwt*, 150: 112079.
- Aspri, M., Bozoudi, D., Tsaltas, D., Hill, C., and Papademas, P., 2017. Raw donkey milk as a source of *Enterococcus* diversity: Assessment of their technological properties and safety characteristics. *Food Control*, 73: 81-90.

- Atasoy, A. F., Yetişmeyen, A., Türkoğlu, H., and Özer, B., 2008. Effects of heat treatment and starter culture on the properties of traditional Urfa cheeses (a white-brined Turkish cheese) produced from bovine milk. *Food Control*, 19 (3): 278-285.
- Atasoy, A. F., and Türkoğlu, H., 2009. Lipolysis in Urfa cheese produced from raw and pasteurized goats' and cows' milk with mesophilic or thermophilic cultures during ripening. *Food chemistry*, 115 (1): 71-78.
- Atasoy, A. F., Hayaloğlu, A. A., Kırmacı, H., Levent, O., and Türkoğlu, H., 2013. Effects of partial substitution of caprine for ovine milk on the volatile compounds of fresh and mature Urfa cheeses. *Small Ruminant Research*, 115 (1-3): 113-123.
- Aydemir, O., Hart, H., Weckx, S., Dervişoğlu, M., and De Vuyst, L., 2015. Microbial Communities Involved In Kasar Cheese Ripening. *Food Microbiology*, 46: 587-595.
- Ayivi, R., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S., Worku, M., Tahergorabi, R., Da Silva, R., and Ibrahim, S., 2020. Lactic Acid Bacteria: Food Safety and Human Health Applications. *Dairy*, 1: 15.
- Awad, S., Hassan, A. N., and Muthukumarappan, K., 2005. Application of exopolysaccharide-producing cultures in reduced-fat cheddar cheese: Texture and melting properties. *Journal of Dairy Science*, 88 (12): 4204-4213.
- Awaishah, S. S., Al Nabulsi, A. A., Osaili, T. M., Ibrahim, S., and Holley, R., 2013. Inhibition of *Cronobacter sakazakii* by heat labile bacteriocins produced by probiotic LAB isolated from healthy infants. *Journal of Food Science*, 78: M1416-M1420.
- Azhar, N. S., Zin, N. H. M., and Hamid, T. H. T. A., 2017. *Lactococcus lactis* strain a5 producing nisin-like bacteriocin active against gram positive and negative bacteria. *Tropical Life Sciences Research*, 28 (2): 107.
- Bağder Elmacı, S., Tokatlı, M., Dursun, D., Özçelik, F., and Şanlıbaba, P., 2015. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles of the Çubuk region in Türkiye. *Folia Microbiologica*, 60: 241-251.
- Bancalari, E., Sardaro, M. L. S., Levante, A., Marseglia, A., Caligiani, A., Lazzı, C., and Gatti, M., 2017. An integrated strategy to discover *Lactobacillus casei* group strains for their potential use as aromatic starters. *Food research international*, 100: 682-690.
- Baruzzi, F., Quintieri, L., Caputo, L., Cocconcelli, P., Borcakli, M., Owczarek, L., Jasińska, U.T., Skąpska, S., and Morea, M., 2016. Buttermilk quality improvement by selection of autochthonous microbial cultures. *Food Microbiology*, 60: 92-103.
- Baugh, A. V., Howarth, T. M., West, K. L., Kerr, L. E. J., Love, J., and Parker, D. A., 2021. Draft genome sequence of *Weissella paramesenteroides* STCH-BD1, isolated from ensiled sorghum bicolor. *Microbiology Resource Announcements*, 10 (87): 10-1128.
- Belarbi, A. Y., De Almeida, O. G., Gatto, V., Torriani, S., Del Rio, B., Ladero, V., Redruello, B., Bensalah, F., and Alvarez, M. A., 2022. Investigating the biotechnological potential of lactic acid bacteria strains isolated from different Algerian dairy and farm sources. *Archives of Microbiology*, 204 (4): 220.

- Benhoua, I. S., Heumann, A., Rieu, A., Guzzo, J., Kihal, M., Bettache, G., and Weidmann, S., 2019. Exopolysaccharide produced by *Weissella confusa*: Chemical characterisation, rheology and bioactivity. *International Dairy Journal*, 90: 88-94.
- Benkerroum, N., Ghouati, Y., Ghalfi, H., Elmejdoub, T., Roblain, D., Jacques, P., and Thonart, P., 2002. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* in a model cultured milk (lben) by in situ bacteriocin production from *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*. *International Journal of Dairy Technology*, 55 (3): 145-151.
- Bergamaschi, M. and Bittante, G., 2018. From milk to cheese: Evolution of flavor fingerprint of milk, cream, curd, whey, ricotta, scotta, and ripened cheese obtained during summer Alpine pasture. *Journal of Dairy Science*, 101 (5): 3918-3934.
- Beykaya, M., 2018. Farklı Ambalaj Materyali ve Probiyotik Kültürle Üretilen Erzincan Tulum Peynirlerinin Depolama Sürecindeki Kalite Özellikleri. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Afyonkarahisar, 139s.
- Bezerra, T. K. A., De Oliveira Arcanjo, N. M., De Araújo, A. R. R., De Queiroz, A. L. M., De Oliveira, M. E. G., Gomes, A. M. P., and Madruga, M. S., 2017. Volatile profile in goat coalho cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. *LWT-Food Science and Technology*, 76: 209-215.
- Bhandari, M. P., Carmona, E. N., Galstyan, V., and Sberveglieri, V., 2016. Quality evaluation of Parmigiano Reggiano cheese by a Novel Nanowire device S3 and evaluation of the VOCs profile. *Procedia Engineering*, 168: 460-464.
- Bintsis, T., 2018. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4: 665.
- Bjorkroth, J. A., Dicks, L. M. T. D., and Endo, A., 2014. The genus *Weissella*. W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood (Der). *Lactic acid bacteria, biodiversity and taxonomy*. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell, USA, pp.418-428.
- Bluma, A., Ciprovica, I., and Sabovics, M., 2017. The influence of non-starter lactic acid bacteria on swiss-type cheese quality. *Journal of International Scientific Publications; Agriculture and Food*, 5 (1000023): 34-41.
- Bontinis, T. G., Mallatou, H., Pappa, E. C., Massouras, T., and Alichanidis, E., 2012. Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. *Small Ruminant Research*, 105 (1-3): 193-201.
- Bozoudi, D., Torriani, S., Zdragas, A., and Litopoulou Tzanetaki, E., 2016. Assessment of microbial diversity of the dominant microbiota in fresh and mature PDO Feta cheese made at three mountainous areas of Greece. *LWT-Food Science and Technology*, 72: 525-533.
- Broome, M. C., Powell, I. B., and Limsowtin, G. K. Y., 2011. Cheese Starter cultures: Specific properties. J.W. Fuquay, P. F. Fox and P. L. H. McSweeney (Der.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press, London, ss. 559-566.
- 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 (5): 1140-1144.
- Campagnollo, F. B., Margalho, L. P., Kamimura, B. A., Feliciano, M. D., Freire, L., Lopes, L. S., and Sant'ana, A. S., 2018. Selection of indigenous lactic acid

- bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. *Food Microbiology*, 73: 288-297.
- Castada, H. Z., Harper, W. J., and Barringer, S. A., 2015. Volatile organic compounds of a Swiss cheese slurry system with and without added reduced glutathione, compared with commercial Swiss cheese. *International Dairy Journal*, 49: 72-77.
- Cavicchioli, V. Q., Camargo, A. C., Todorov, S. D., and Nero, L. A., 2019. Potential control of *Listeria monocytogenes* by bacteriocinogenic *Enterococcus hirae* ST57ACC and *Pediococcus pentosaceus* ST65ACC strains isolated from artisanal cheese. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11 (2): 696-704.
- Ceylan, H. G., Tokgöz, M., Akgül, F. Y., and Atasoy, A. F., 2024. Monitoring the properties during ripening of full-and low-fat acid-coagulated (Circassian) cheeses produced from ovine or bovine milk. *International Dairy Journal*, 150: 105859.
- Chaliha, M., Cusack, A., Currie, M., Sultanbawa, Y., and Smyth, H., 2013. Effect of packaging materials and storage on major volatile compounds in three Australian native herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 5738-5745.
- Chen, S., Yi, J., Suo, K., Kang, Q., Lu, L., and Lu, J., 2023. Probiotic properties and proteomics analysis of ethanol-induced *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39 (8): 197.
- Chhatwal, G. S., and Graham, R., 2008. Streptococcal diseases. H.K. Heggenhougen and S. Quah (Der.), *International encyclopedia of public health*. Academic Press, San Diego, pp. 231-241.
- Chikindas, M. L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V. A., and Dicks, L. M., 2018. Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current opinion in biotechnology*, 49: 23-28.
- Cho, Y., Kim, E., Lee, Y., Han, S. K., Kim, C. G., Choo, D. W., and Kim, H. Y., 2017. Rapid and accurate identification of species of the genus *Pediococcus* isolated from Korean fermented foods by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight MS with local database extension. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67 (3): 744-752.
- Coelho, M. C., Silva, C. C. G., Ribeiro, S. C., Dapkevicius, M. L. N. E., and Rosa, H. J. D., 2014. Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 191: 53-59.
- Collins, Y. F., Mcsweeney, P. L. H., and Wilkinson, M. G., 2004. Lipolysis and catabolism of fatty acids in cheese. P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan and T. P. Guinee (Der.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Academic Pres, Boston, pp. 373-389.
- Crowley, S., Mahony, J., and Van Sinderen, D., 2013. Current Perspectives on Antifungal Lactic Acid Bacteria as Natural Bio-preservatives. *Trends in Food Science and Technology*, 33 (2): 93-109.
- Çakır, Y., Çakmakçı, S., and Hayaloğlu, A. A., 2016. The effect of addition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and ripening period on proteolysis, sensory properties and volatile profiles of Erzincan Tulum (Şavak) cheese made from raw Akkaraman sheep's milk. *Small Ruminant Research*, 134: 65-73.

- Çakır, Y., and Çakmakçı, S., 2018. Some microbiological, physicochemical and ripening properties of Erzincan Tulum cheese produced with added black cumin (*Nigella sativa* L.). Journal of food science and technology, 55: 1435-1443.
- Çakmakçı, S., Dağdemir, E., Hayaloğlu, A. A., Gürses, M., Çetin, B., and Tahmas-Kahyaoğlu, D., 2013. Effect of *Penicillium roqueforti* and incorporation of whey cheese on volatile profiles and sensory characteristics of mould-ripened Civil cheese. International Journal of Dairy Technology, 66 (4): 512-526.
- Dağdemir, E., and Özdemir, 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.
- Deeth, H. C., Fitz Gerald, C. H., and Snow, A. J., 1983. A gas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk and milk products. New Zealand J. Dairy Science and Technology, 18: 13-20.
- Demir, P., Erkan, S., ve Öksüztepe, G., 2018. Elazığ'da Satılan Şavak Tulum peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 7 (1): 15-20.
- Demirci, T., Akın, N., Atik, D. S., Özkan, E. R., Dertli, E., and Akyol, I., 2021. Lactic acid bacteria diversity and dynamics during ripening of traditional Turkish goatskin Tulum cheese produced in Mut region assessed by culturing and PCR-DGGE. LWT, 138: 110701.
- Demirtaş, M., and Coşkun, H., 2018. The changes during ripening of Tulum cheeses produced by different coagulation methods from goat milk. Journal of Food, 43 (5): 835-845.
- Derek, A. A., Joost, V. D. B., Inge, M. K. M., Jack, T. P., and Antonius, J. A. V. M., 2009. Anaerobic homolactate fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* results in depletion of ATP and impaired metabolic activity. FEMS Yeast Research, 9 (3): 349-357.
- Devi, S. M., Archer, A. C., and Halami, P. M., 2015. Screening, characterization and in vitro evaluation of probiotic properties among lactic acid bacteria through comparative analysis. Probiotics and antimicrobial proteins, 7: 181-192.
- Dey, D. K., Koo, B. G., Sharma, C., and Kang, S. C., 2019. Characterization of *Weissella confusa* DD_A7 isolated from kimchi. LWT, 111: 663-672.
- Dey, D. K., Khan, I., and Kang, S. C., 2019. Anti-bacterial susceptibility profiling of *Weissella confusa* DD_A7 against the multidrug-resistant ESBL-positive *E. coli*. Microbial pathogenesis, 128: 119-130.
- Dilsiz, N., 2009. DNA' nın Görüntülenmesi ve İzolasyonunda Kullanılan Agaro Jel Elektroforezi. Moleküler Biyoloji, Palme Yayıncılık, Ankara, 58s.
- Dinkçi, N., Ünal, G., Akalin, A. S., Varol, S., ve Gönç, S., 2012. Kargı Tulum Peynirinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 49 (3): 287-292.
- Domingos Lopes, M., Stanton, C., Ross, P., Dapkevicius, M., and Silva, C., 2017. Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. Food Microbiology, 63: 178-190.
- Dopieralska, P., Barłowska, J., Teter, A., Krol, J., Brodziak, A., and Domaradzki, P., 2020. Changes in fatty acid and volatile compound profiles during storage of smoked cheese made from the milk of native polish cow breeds raised in the low beskids. Animals, 10 (11): 2103.

- Du Toit, M., Huch, M., Cho, G. S., and Franz, C. M. A. P., 2014. The genus *Streptococcus*. W.H. Holzapfel and B.J.B. Wood (Der). Lactic acid bacteria, biodiversity and taxonomy. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell, pp. 457-506.
- Duan, C., Li, S., Zhao, Z., Wang, C., Zhao, Y., Yang, G., Niu, C., Gao, L., Liu, X., and Zhao, L., 2019. Proteolytic activity of *Lactobacillus plantarum* strains in cheddar cheese as adjunct cultures. *Journal of Food Protection*, 82 (12): 2108-2118.
- Eiteman, M. A., and Ramalingam, S., 2015. Microbial production of lactic acid. *Biotechnology letters*, 37: 955-972.
- Ektik, N., 2022. Klasik (olgunlaştırılmış) Beyaz Peynir Üretiminin Farklı Aşamalarından Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Balıkesir, 113s.
- El Issaoui, K., Senhaji, N. S., Zinebi, S., Zahli, R., Haoujar, I., Amajoud, N., and Khay, E. O., 2020. Potential application of bacteriocin produced from lactic acid bacteria. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 48 (3): 237-251.
- Elçioğlu, Ö., 2010. Kargı Tulum Peynirinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Starter ve Probiyotik Kültür Özelliklerinin Belirlenmesi. Osman Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 115s.
- Elkenany, R. M., Elsayed, M. M., Eltaysh, R. A., Zakaria, A. I., and El Baz, A. H., 2018. In vitro probiotic characteristics of *Enterococcus* species isolated from raw cow milk. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 13: 117-126.
- Ercolini, D., De Filippis, F., La Stora, A., and Iacono, M., 2012. Remake by high-throughput sequencing of the microbiota involved in the production of water buffalo mozzarella cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 78: 8142-8145.
- Ertürkmen, P., and Öner, Z., 2015. Determination of starter culture characteristics of lactic acid bacteria isolated from feta cheese samples by biochemical methods. *Journal of Süleyman Demirel University Institute of Science and Technology*, 19: 9-16.
- Esteban Torres, M., Mancheño, J. M., De Las Rivas, B., and Muñoz, R., 2014. Production and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum* suitable for cheese lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 97 (11): 6737-6744.
- Eugster, E., Fuchsmann, P., Schlichtherle Cerny, H., Butikofer, U., and Irmeler, S., 2019. Formation of alanine, α -aminobutyrate, acetate, and 2-butanol during cheese ripening by *Pediococcus acidilactici* FAM18098. *International Dairy Journal*, 96: 21-28.
- Evren, M., ve Şıvgın, E. T., 2021. Samsun piyasasında deri ve plastik bidonda satışa sunulan tulum peynirlerinin bazı kalite özellikleri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 36 (2): 334-345.
- Farahani, Z., Rasooli, I., and Owlia, P., 2017. Isolation, identification and characterization of indigenous lactic acid bacteria for flavour improvement. *International Food Research Journal*, 24 (1): 428-436.
- Favaro, L., Basaglia, M., Casella, S., Hue, I., Dousset, X., De Melo Franco, B. D. G., and Todorov, S. D., 2014. Bacteriocinogenic potential and safety evaluation of

- non-starter *Enterococcus faecium* strains isolated from home made white brine cheese. Food microbiology, 38: 228-239.
- Fessard, A., and Remize, F., 2017. Why are *Weissella* spp. not used as commercial starter cultures for food fermentation?. Fermentation, 3 (3): 38.
- Fidan, H., Esatbeyoğlu, T., Simat, V., Trif, M., Tabanelli, G., Kostka, T., and Özoğul, F., 2022. Recent developments of lactic acid bacteria and their metabolites on foodborne pathogens and spoilage bacteria: Facts and gaps. Food Bioscience, 47: 101741.
- Fortina, M. G., Ricci, G., Acquati, A., Zeppa, G., Gandini, A., and Manachini, P. L., 2003. Genetic characterization of some lactic acid bacteria occurring in an artisanal protected domination origin (PDO) Italian cheese, Toma piemontese. Food Microbiology, 20 (4): 397-404.
- Fox, P. F., 1999. Cheese: Chemistry, physics, and microbiology. Volume 1. General Aspects. 2nd ed. Chapman and Hall; Gaithersburg, MD, USA.
- Fox, P. F., and McSweeney, P. L., 2007. Advanced dairy chemistry volume 2: lipids (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., Mcsweeney, P. L., and Mcsweeney, P. L., 2017. Microbiology of cheese ripening. Fundamentals of cheese science, 333-390.
- Freire, T. T., Silva, A. L. T., Ferreira, B. K. O., and Dos Santos, T. M., 2021. Bactérias ácido lácticas suas características e importância: Revisão. Research, Society and Development, 10 (11): e513101119964.
- Fusco, V., Quero, G. M., Cho, G. S., Kabisch, J., Meske, D., Neve, H., and Franz, C. M. A. P., 2015. The genus *Weissella*: Taxonomy, ecology and biotechnological potential. Frontiers in Microbiology, 6: 1-22.
- Fusieger, A., Martins, M. C. F., De Freitas, R., Nero, L. A., and De Carvalho, A. F., 2020. Technological properties of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* by *diacetylactis* obtained from dairy and non-dairy niches. Brazilian Journal of Microbiology, 51: 313-321.
- Galanis, A., Kourkoutas, Y., Tassou, C. C., and Chorianopoulos, N., 2015. Detection and identification of probiotic *Lactobacillus plantarum* strains by multiplex PCR using RAPD-derived primers. International Journal of Molecular Sciences, 16: 25141-25153.
- Galvez, A., Lopez, R. L., Abriouel, H., Valdivia, E., and Omar, N. B., 2008. Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. Critical reviews in biotechnology, 28 (2): 125-152.
- Gantzias, C., Lappa, I. K., Aerts, M., Georgalaki, M., Manolopoulou, E., Papadimitriou, K., De Brandt, E., Tsakalidou, E., and Vandamme, P., 2020. MALDI-TOF MS profiling of non-starter lactic acid bacteria from artisanal cheeses of the Greek island of Naxos. International Journal of Food Microbiology, 323: 108586.
- García Cano, I., Rocha Mendoza, D., Ortega Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., and Jiménez Flores, R., 2019. Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. Applied Microbiology Biotechnology, 103: 5243-5257.
- García Solache, M., and Rice, L. B., 2019. The *Enterococcus*: A model of adaptability to its environment. Clinical Microbiology Reviews, 32 (2): e00058-18.

- Garrity, G. M., Bell, J. A., and Lilburn, T., 2005. Class III. Gammaproteobacteria class. nov. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edn, vol. 2 (The Proteobacteria), part B (The Gammaproteobacteria), p. 1. Edited by D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley and G. M. Garrity. New York: Springer.
- Garsa, A. K., Kumariya, R., Kumar, A., Lather, P., Kapila, S., and Sood, S. K., 2014. Industrial cheese whey utilization for enhanced production of purified pediocin PA-1. *LWT-Food Science and Technology*, 59 (2): 656-665.
- Gezginç, Y., Karabekmez Erdem, T., Tatar, H. D., Dağgeçen, E. C., Ayman, S., and Akyol, İ., 2022. Metagenomics and volatile profile of Turkish artisanal Tulum cheese microbiota. *Food Bioscience*, 45: 2212-4292.
- Giraffa, G., and Rossetti, L., 2004. Monitoring of the bacterial composition of dairy starter cultures by RAPD-PCR. *FEMS Microbiology Letters*, 237: 133-138.
- Giraffa, G., 2003. Functionality of Enterococci in dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 215-222.
- Gobbetti, M., Morea, M., Baruzzi, F., Corbo, M. R., Matarante, A., Considine, T., Di Cagno, R., Guinee, T., and Fox, P.F., 2002. Microbiological, compositional biochemical and textural characterisation of caciocavallo pugliese cheese During ripening. *International Dairy Journal*, 12: 511-523.
- Gobetti, M., Angelis M. D., Cagno, R. D., and Rizzello, C. G., 2007. The relative contributions of starter cultures and non-starter bacteria to the flavour of cheese.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Mancini, L., and Fox, P. F., 2015. Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. *Trends Food Science Technology*, 45 (2): 167-178.
- Gonzales, L., Sandoval, H., Sacristan, N., Castro, J. M., Fresno, J.M., and Tornadgjo, M.E., 2007. Identification of lactic acid bacteria 96 isolated from Genestoso Cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. *Food Control*, 18: 716-722.
- Graham, K., Stack, H., and Rea, R., 2020. Safety, beneficial and technological properties of enterococci for use in functional food applications - A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60 (22): 3836-3861.
- Guarrasi, V., Sannino, C., Moschetti, M., Bonanno, A., Di Grigoli, A., and Settanni, L., 2017. The individual contribution of starter and non-starter lactic acid bacteria to the volatile organic compound composition of Caciocavallo Palermitano cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 259: 35-42.
- Güler, Z., 2008. Evaluation of lipolysis in set-type fermented milks made with different commercial yogurt starter cultures during storage. *Milchwissenschaft*, 33: 73-77.
- Gürses, M., and Erdoğan, A., 2006. Identification of lactic acid bacteria isolated from Cheese during ripening period. *International Journal of Food Properties*, 9: 551-557.
- Hacıoğlu, S., and Kunduhoğlu, B., 2021. Probiotic Characteristics of *Lactobacillus brevis* KT38-3 Isolated from an Artisanal Tulum Cheese. *Food Science of Animal Resources*, 41 (16): 967-982.
- Hadef, S., Idoui, T., Sifour, M., Genay, M., and Dary Mourot, A., 2023. Screening of wild lactic acid bacteria from Algerian traditional cheeses and goat butter to develop a new probiotic starter culture. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 15 (2): 387-399.

- Hammes, W. P., and Hertel, C., 2009. Genus I. *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. Bergey's manual of systematic bacteriology, 3: 465-90.
- Han, X., Yang, Z., Jing, X., Yu, P., Zhang, Y., Yi, H. and Zhang, L., 2016. Improvement of the texture of yogurt by use of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria. *BioMed Research International*, 1: 7945675.
- Hanchi, H., Mopttawea, W., Sebei, K., and Hammami, R., 2018. *Enterococcus* genus: between probiotic potential and safety concerns an update. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1-16.
- Harper, A. R., Dobson, R. C., Morris, V. K., and Moggré, G. J., 2022. Fermentation of plant-based dairy alternatives by lactic acid bacteria. *Microbial Biotechnology*, 15 (5): 1404-1421.
- Hassanzadazar, H., Mardani, K., Yousefi, M., and Ehsani, A., 2017. Identification and molecular characterisation of lactobacilli isolated from traditional Koopeh cheese. *International Journal Dairy Technology*, 70 (4): 556-561.
- Hayaloğlu, A. A., Çakmakçı, S., Brechany, E. Y., Deegan, K. C., and Mcsweeney, P. L. H., 2007. Microbiology, biochemistry, and volatile composition of Tulum cheese ripened in goat's skin or plastic bags. *Journal of Dairy Science*, 90 (3): 1102-1121.
- Hayaloğlu, A. A., 2009. Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese. *International journal of food science and technology*, 44 (7): 1388-1394.
- Hayaloğlu, A. A., and Karabulut, I., 2013. SPME/GC-MS characterization and comparison of volatiles of eleven varieties of Turkish cheeses. *International Journal of Food Properties*, 16 (7): 1630-1653.
- Hayaloğlu, A. A., 2016. Cheese: Microbiology of cheese. *Reference Module in Food Science*, 1: 1-11.
- Hazır Dalca, S., 2015. Denizli İlinden Toplanan Çiğ Süt ve Peynirlerden Otolitik Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Tanımlanması ve Otolitik Özelliklerinin Belirlenmesi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Denizli, 82s.
- Heredia Castro, P. Y., Méndez Romero, J. I., Hernández Mendoza, A., Acedo Félix, E., González Córdova, A. F., and Vallejo Cordoba, B., 2015. Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus spp.* isolated from artisanal Mexican cheese. *Journal of dairy science*, 98 (12): 8285-8293.
- Herreros, M.A., Fresno, J.M., Priteto, J.M., and Tornadijo, M.E., 2003. Technological characterization of lactic acid bacteria (Spanish Goat's Milk Cheese). *International Dairy Journal*, 13: 469-479.
- Hertzberger, R., Arents, J. C., Dekker, H. L., Pridmore, R. D., Gysler, C., Kleerebezem, M., and De Mattos, M. J. T., 2014. H₂O₂ Production in Species of the *Lactobacillus acidophilus* Group: A Central Role for a Novel NADH-Dependent Flavin Reductase. *Appl. Environ. Microbiology*, 80: 2229-2239.
- Hizarcı, Ö., 2011. Tulum Peynirinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Anti-listerial Etkilerinin Araştırılması. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 122s.
- İspirli, H., 2016. Erzincan Tulum Peynirinden Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) İzolasyonu, Moleküler Metotlarla Tanımlanması ve Ekzopolisakkarit (EPS)

- Üretim Potansiyellerinin Genetik Olarak Belirlenmesi. Bayburt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bayburt, 104s.
- Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., and Bakhshayesh, R. V., 2021. Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. *Foods*, 10 (12): 3131.
- Issa, A. T., and Tahergorabi, R., 2019. Milk bacteria and gastrointestinal tract: Microbial composition of milk. *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases*, 265-275.
- Jamet, E., Akary, E., Poisson, M. A., Chamba, J. F., Bertrand, X., and Serror, P., 2012. Prevalence and characterization of antibiotic resistant *Enterococcus faecalis* in French cheeses, *Food Microbiology*, 31 (2): 191-198.
- Jensen, C. L., and Heird, W. C., 2002. Lipids with an emphasis on long-chain polyunsaturated fatty acids. *Clinics in perinatology*, 29 (2): 261-281.
- Jo, Y., Benoist, D. M., Barbano, D. M., and Drake, M. A., 2018. Flavor and flavor chemistry differences among milks processed by high-temperature, short-time pasteurization or ultra-pasteurization. *Journal of Dairy Science*, 101 (5): 3812-3828.
- Kabelitz, T., Aubry, E., Van Vorst, K., Amon, T., and Fulde, M., 2021. The role of *Streptococcus spp.* in bovine mastitis. *Microorganisms*, 9 (7): 1497.
- Kakelar, H.M., Barzegari, A., Hanifian, S., Barar, J., and Omid, Y., 2019. Isolation and molecular identification of *Lactobacillus* with probiotic potential from abomasums driven rennet. *Food Chemistry*, 272: 709-714.
- Kampf, G., and Hollingsworth, A., 2008. Comprehensive bactericidal activity of an ethanol-based hand gel in 15 seconds. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 7: 1-6.
- Kanak, E. K., and Yılmaz, S. Ö., 2018. 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: 462-469.
- Kang, M. S., Yeu, J. E., Oh, J. S., Shin, B. A., and Kim, J. H., 2017. Complete genome sequences of *Weissella cibaria* Strains CMU, CMS1, CMS2, and CMS3 isolated from infant saliva in South Korea. *Genome Announcement*, 5 (40): 10-1128.
- Kara, R. ve Akkaya, L., 2015. Afyon tulum peynirinin mikrobiyolojik ve fiziko-kimyasal özellikleri ile laktik asit bakteri dağılımlarının belirlenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 15 (1): 1-6.
- Karabekmez Erdem, T., 2021. Farklı Bölgelerden Toplanan Tulum Peynirlerinin Bakteriyel Florasının ve Starter Kültür Potansiyellerinin Belirlenmesi, Oluşturulan Kombinasyonlarla Üretilen Tulum Peynirlerinin Olgunlaşma ve Kalitatif Özelliklerinin İncelenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Kahramanmaraş*, 185s.
- Karabey, B., Eroğlu, D., Vural, C., Özdemir, G., Yerlikaya, O., and Kınık, O., 2018. Determination of the microbial flora in traditional İzmir Tulum cheeses by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Journal of food science and technology*, 55: 956-963.
- Karasu Yalçın, S., Şenses Ergül, S., and Özbaş, Z. Y., 2012. Identification and enzymatic characterization of the yeasts isolated from Erzincan tulum cheese. *Mljekarstvo*, 62 (1): 53-61.

- Kaur, J., Lee, S., Park, Y. S., and Sharma, A., 2017. RAPD analysis of *Leuconostoc mesenteroides* strains associated with vegetables and food products from Korea. *LWT- Food Science and Technology*, 77: 383-388.
- Kenji, O., Qiao, Z., Satoru, S., Shogo, Y., Tsutomu, T., Hideki, F., and Akihiko, K., 2009. Efficient production of optically pure D-Lactic Acid from raw corn starch by using a genetically modified L-Lactate dehydrogenase gene-deficient and -Amylase-secreting *Lactobacillus plantarum* strain. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (2): 462-467.
- Khalid, K., 2011. An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*, 1 (3): 1-13.
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., and Kot, A. M., 2021. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria. *Molecules*, 26 (7): 1858.
- Kim, W., 2014. The genus *Lactococcus*. W.H. Holzapfel and B.J.B Wood. (Der.), *Lactic acid bacteria, biodiversity and taxonomy*. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell, pp. 429-444.
- Kiraz, Ş., 2018. Çorum Yöresinde Üretilen Geleneksel Kargı Tulum Peynirlerinin Bazı Bileşim Özelliklerinin Belirlenmesi. Hitit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çorum, 44s.
- Kılıç, S., 2021. Peynir starter kültürleri. A. A. Hayaloğlu ve B. Özer. (Der.). *Peynir biliminin temelleri* (2. bs.). Atlas Akademik Basım, Ankara, 151- 216s.
- Kıran, F., ve Osmanağaoğlu, Ö., 2011. Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda/tiplendirmesinde kullanılan moleküler yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 27 (1): 62-74.
- Kırdar, S. S., Yurdakul, O. K., Kalit, S., and Kalit, M. T., 2018. Microbiological changes throughout ripening of Keş cheese. *Journal of Central European Agriculture*, 19 (1): 61-71.
- Kırmacı, H. A., Özer, B. H., Akçelik, M., and Akçelik, N., 2016. Identification and characterisation of lactic acid bacteria isolated from traditional Urfa cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 69 (2): 301-307.
- Kleerebezem, M., Hols, P., Bernard, E., Rolain, T., Zhou, M., Siezen, R. J., and Bron, P. A., 2010. The extracellular biology of the lactobacilli. *FEMS microbiology reviews*, 34 (2): 199-230.
- Konig, H., and Frohlich, J., 2017. Lactic acid bacteria. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, ss. 3-41.
- Kunduhoglu, B., Elçioğlu, O., Gezginç, Y., Akyol, I., Pilatin, S., and Çetinkaya, A., 2012. Genotypic identification and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish Kargı tulum cheese. *African Journal of Biotechnology*, 11 (28): 7218-7226.
- Linares Morales, J. R., Cuellar Nevárez, G. E., Rivera Chavira, B. E., Gutiérrez Méndez, N., Pérez Vega, S. B., and Nevárez Moorillón, G. V., 2020. Selection of lactic acid bacteria isolated from fresh fruits and vegetables based on their antimicrobial and enzymatic activities. *Foods*, 9 (10): 1399.
- Litopoulou Tzanetaki, E., and Tzanetakis, N., 2011. Microbiological characteristics of Greek traditional cheeses. *Small Ruminant Research*, 101 (1-3): 17-32.
- Liu, W., Pang, H., Zhang, H., and Cai, Y., 2014. Biodiversity of lactic acid bacteria. H. Zhang and Y. Cai (Der.), *Lactic Acid Bacteria* (ss. 103-203). Netherlands: Springer.

- Li, Y. H., Wang, W. J., Zhang, F., Shao, Z. P., and Guo, L., 2019. Formation of the oxidized flavor compounds at different heat treatment and changes in the oxidation stability of milk. *Food science and nutrition*, 7(1): 238-246.
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., and Franco, D., 2018. Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: General aspects and overall description. In *Innovative technologies for food preservation*. Academic Press, pp. 53-107
- Mama, V., Hatzikamari, M., Lombardi, A., Tzanetakis, N., and Litopoulou Tzanetaki, E., 2002. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* Heterogeneity: the Diversity Among Strains Isolated from Traditional Greek Cheeses. *Italian Journal of Food Science*, 14: 351-362.
- Manan, N., Chin, S., Abdullah, N., and Wan, H., 2009. Differentiation of *Lactobacillus*-probiotic strains by visual comparison of random amplified polymorphic DNA (RAPD) profiles. *African Journal of Biotechnology*, 8: 3964-3969.
- Markiewicz, L. H., Biedrzycka, E., Wasilewska, E., and Bielecka, M., 2010. Rapid molecular identification and characteristics of *Lactobacillus* strains. *Folia Microbiology*, 55 (5): 481-488.
- Mccarthy, C. M., Wilkinson, M. G., Kelly, P. M., and Guinee, T. P., 2016. Effect of salt and fat reduction on proteolysis, rheology and cooking properties of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 56: 74-86.
- Medeiros, R. S., Araújo, L. M., Queiroga Neto, V., Andrade, P. P., Melo, M. A., and Gonçalves, M. M. B. P., 2016. Identification of lactic acid bacteria isolated from artisanal Coalho cheese produced in the Brazilian Northeast. *CyTA-Journal of Food*, 14 (4): 613-620.
- Meng, Z., Zhang, L., Xin, L., Lin, K., Yi, H., and Han, X., 2018. Technological characterization of *Lactobacillus* in semihard artisanal goat cheeses from different Mediterranean areas for potential use as nonstarter lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 101 (4): 2887-2896.
- Meral Aktaş, H., and Erdoğan, A., 2022. Characterization of technological properties of lactic acid bacteria isolated from Turkish Beyaz (white) cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46 (10): e16837.
- Mcsweeney, P. L. H., and SOUSA, M. J., 2000. Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80 (3): 293-324.
- Mcsweeney, P. L. H., 2004. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57 (2-3): 127-144.
- Metrouh, R., Fares, R., Mechai, A., Debabza, M., and Menasria, T., 2022. Technological properties and probiotic potential of *Lactiplantibacillus plantarum* SJ14 isolated from Algerian traditional cheese “Jben”. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46 (4): e16482.
- Milani, E., Şahidi, F., Mortazavi, S. A., and Saidi, M., 2017. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria in Kurdish Cheese During Ripening Using 16S rRNA Gene Sequence Analysis. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41 (4): 1-8.
- Mills, S., Serrano, L., Griffin, C., O'connor, P. M., Schaad, G., Bruining, C., and Meijer, W. C., 2011. Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* LMG P-

- 26358 against *Listeria innocua* when used as an adjunct starter in the manufacture of cheese. In *Microbial cell factories*, 10: 1-11.
- Mohammed, M., El Aziz, H. A., Omran, N., Anwar, S., Awad, S., and El Soda, M., 2009. Rep-PCR characterization and biochemical selection of lactic acid bacteria isolated from the delta area of Egypt. *International Journal of Food Microbiol*, 128: 417-423.
- Mohammed, S., and Çon, A. H., 2021. Isolation and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria from traditional cheese. *LWT*, 152: 112319.
- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S., and Yadav, H., 2008. Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of Digestive Diseases*, 9 (4): 190-198.
- Mokoena, M. P., 2017. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review. *Molecules*, 22: 1255.
- Mohkam, M., Nezafat, N., Berenjian, A., Mobasher, M. A., and Ghasemi, Y., 2016. Identification of *Bacillus* probiotics isolated from soil rhizosphere using 16S rRNA, recA, rpoB gene sequencing and RAPD-PCR. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 8: 8-18.
- Montel, M. C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N., and Berthier, F., 2014. Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Dairy Technology*, 177: 136-154.
- 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.
- Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., and De Vuyst, L., 2006. The role and application of enterococci in food and health. *International journal of food microbiology*, 106 (1): 1-24.
- Morul F., ve İşleyici, Ö., 2012. Divle tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 23 (2): 71-76.
- Muelas, R., De Olives, A. M., Romero, G., Díaz, J. R., Sayas-Barberá, M. E., and Sendra, E., 2018. Evaluation of individual lactic acid bacteria for the fermentation of goat milk: Quality parameters. *LWT*, 98: 506-514.
- Muruzović, M. Z., Mladenović, K. G., Žugić Petrović, T. D., and Čomić, L. R., 2018. Characterization of lactic acid bacteria isolated from traditionally made Serbian Cheese and evaluation of their antagonistic potential against *Enterobacteriaceae*. *Journal of Processing and Preservation*, 42 (4): e13577.
- Nacef, M., Chevalier, M., Chollet, S., Drider, D., and Flahaut C., 2017. MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of lactic acid bacteria isolated from a French cheese: The Maroilles. *International Journal of Food Microbiology*, 247:2-8.
- Nalepa, B., and Markiewicz, L. H., 2022. Microbiological biodiversity of regional cow, goat and ewe milk cheeses produced in Poland and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from them. *Animals*, 13 (1): 168.
- Ng, Z. J., Abu Zarin, M., Lee, C.K., and Tan, J. S., 2020. Application of bacteriocins in food preservation and infectious disease treatment for humans and livestock. A review, 10: 38937–38964.

- Ngoi, S.T., Teh, C.S.J., Chai, L.C., and Thong, K.L., 2015. Overview of molecular typing tools for the characterization of *Salmonella enterica* in Malaysia. *Biomedical and Environmental Sciences*, 28: 751-764.
- Nguyen, P. T., Nguyen, T. T., Bui, D. C., Hong, P. T., Hoang, Q. K., and Nguyen, H. T., 2020. Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: The manipulation of environmental stresses for industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6 (4): 451-469.
- Nikitina, E., Petrova, T., Sungatullina, A., Bondar, O., Kharina, M., Mikshina, P., and Kayumov, A., 2023. The profile of exopolysaccharides produced by various *Lactobacillus* species from silage during not-fat milk fermentation. *Fermentation*, 9 (2): 197.
- Nicosia, F. D., Pino, A., Maciel, G. L. R., Sanfilippo, R. R., Caggia, C., De Carvalho, A. F., and Randazzo, C.L., 2023. Technological characterization of lactic acid bacteria strains for potential use in cheese manufacture. *Foods*, 12 (6): 1154.
- Norris, J. R., Berkeley, Rcw., Logan, N. A., and O'donnell, A. G., 1981. The Genara *Bacillus* and *Sporolactobacillus*. MP Starr, A. Stolp, AG Truper, A Ballows, and HG Schlegel. *The Procaryotes*, 2: 1711-1742.
- Obioha, P. I., Ouoba, L. I. I., Anyogu, A., Awamaria, B., Atchia, S., Ojmelukwe, P. C., and Ghoddusi, H. B., 2021. Identification and characterisation of the lactic acid bacteria associated with the traditional fermentation of dairy fermented product. *Brazilian journal of microbiology*, 52: 869-881.
- Ogier, J. C., and Serror, P., 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: the *Enterococcus* genus. *International journal of food microbiology*, 126 (3): 291-301.
- Oğuz, Ş., and Andiç, S., 2024. Isolation, identification, and characterization of thermophilic lactic acid bacteria isolated from whey of Kars Kashar cheeses. *Antonie van Leeuwenhoek*, 117 (1): 1-18.
- Okafor, N., 2011. *Environmental microbiology of aquatic and waste systems*. Dordrecht: Springer.
- Oluk, A. C., Guven, M., and Hayaloğlu, A. A., 2014. Proteolysis texture and microstructure of low-fat Tulum cheese affected by exopolysaccharide-producing cultures during ripening. *International Journal of Food Science and Technology*, 49 (2): 435-443.
- Ortolani, M. B. T., Moraes, P. M., Perin, L. M., Vicoso, G. N., Carvalho, K. G., Júnior, A. S., and Nero, L. A., 2010. Molecular identification of naturally occurring bacteriocinogenic and bacteriocinogenic-like lactic acid bacteria in raw milk and soft cheese. *Journal of Dairy Science*, 93 (7): 2880-2886.
- Osmanağaoğlu, O., Kıran, F., and Ataoğlu, H., 2010. Evaluation of in vitro probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* OZF isolated from human breast milk. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2: 162-174.
- Østlie, H. M., Eliassen, L., Florvaag, A., and Skeie, S., 2005. Phenotypic and PCR-based characterization of the microflora in Präst cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 15 (6): 911-920.
- Öztürkoğlu Budak, S., Gürsoy, A., Aykas, D. P., Koçak, C., Dönmez, S., De Vries, R. P., and Bron, P. A., 2016. Volatile compound profiling of Turkish Divle Cave cheese during production and ripening. *Journal of Dairy Science*, 99 (7): 5120-5131.

- Öztürkoğlu Budak, S., Aykas, D. P., Koçak, C., Dönmez, S., Gürsoy, A., De Vries, R. P., and Bron, P. A., 2018. Temporal microbiota and biochemical profiles during production and ripening of Divle Cave cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 71: 99-106.
- Öz, E., Kaban, G., Barış, O., and Kaya, M., 2017. Isolation and identification of lactic acid bacteria from pastırma. *Food Control*, 77: 158-162.
- Özcan, E., Selvi, S. S., Nikerel, E., Teusink, B., Toksoy Oner, E., and Çakır, T., 2019. A genome-scale metabolic network of the aroma bacterium *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103: 3153-3165.
- Özkan, E. R., Demirci, T., Öztürk, H. I., and Akın, N., 2021. Screening *Lactobacillus* strains from artisanal Turkish goatskin casing Tulum cheeses produced by nomads via molecular and in vitro probiotic characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101 (7): 2799–2808.
- Pandey, N., Malik, R. K., Kaushik, J. K., and Singroha, G., 2013. Gassericin A: a circular bacteriocin produced by lactic acid bacteria *Lactobacillus gasseri*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29: 1977-1987.
- Papagianni, M., and Anastasiadou, S., 2009. Pediocins: The bacteriocins of *Pediococci*. sources, production, properties and applications. *Microbial Cell Factories*, 8 (1): 3.
- Parte, A. C., Sardà Carbasse, J., Meier Kolthoff, J. P., Reimer, L. C., and Göker, M., 2020. List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic. Evolutionary Microbiology*, 70: 5607-5612.
- Partovi, R., Gandom, H., Akhondzadeh Basti, A., Noori, N., Nikbakht Borujeni, G., and Kargozari, M., 2015. Microbiological and chemical properties of Siahmazgi cheese, an Iranian artisanal cheese: Isolation and identification of dominant lactic acid bacteria: Microbiological properties of Siahmazgi cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39 (6): 871-880.
- Patel, A., and Prajapati, J. B., 2013. Food and health applications of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Adv Dairy Res*, 1 (2): 1-7.
- Perez, R. H., Zendo, T., and Sonomoto, K., 2014. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): Various structures and applications. *Microbial Cell Factories*, 13: 1-13.
- Pilar, C. M., Samuel, A., Karola, B., Trinidad, M., Ananias, P., and Jorge, B. V., 2008. Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food and Bioprocess Technology*, 1 (1): 43-63.
- Pingitore, E. V., Todorov, S. D., Sesma, F., and De Melo Franco, B. D. G., 2012. Application of bacteriocinogenic *Enterococcus mundtii* CRL35 and *Enterococcus faecium* ST88Ch in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh Minas cheese. *Food Microbiology*, 32 (1): 38-47.
- Pino, A., Russo, N., Van Hoorde, K., De Angelis, M., Sferrazzo, G., Randazzo, C. L. and Caggia, C., 2019. Piacentinu Ennese PDO Cheese as reservoir of promising probiotic bacteria. *Microorganisms*, 7 (8): 254.
- Picon, A., López Pérez, O., Torres, E., Garde, S., and Nuñez, M., 2019. Contribution of autochthonous lactic acid bacteria to the typical flavour of raw goat milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 299: 8-22.

- Pisano, M. B., Deplano, M., Fadda, M. E., and Cosentino, S., 2019. Microbiota of Sardinian goat's milk and preliminary characterization of prevalent LAB species for starter or adjunct cultures development. *BioMed Research International*, 1: 6131404.
- Plessas, S., Nouska, C., Karapetsas, A., Kazakos, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Chondrou, P., Fournomiti, M., Galanis, A., and Bezirtzoglou, E., 2019. Isolation, characterization and evaluation of the probiotic potential of a novel *Lactobacillus* strain isolated from Feta-type cheese. *Food Chemistry*, 226: 102-108.
- Popović, N. T., Kazazić, S. P., Strunjak Perović, I., and Čož Rakovac, R., 2017. Differentiation of environmental aquatic bacterial isolates by MALDI-TOF MS. *Environmental Research*, 152: 7-16.
- Popović, N., Djokić, J., Brdarić, E., Dinić, M., Terzić Vidojević, A., Golić, N., and Veljović, K., 2019. The influence of heat-killed *Enterococcus faecium* BGPAS1-3 on the tight junction protein expression and immune function in differentiated Caco-2 cells infected with *Listeria monocytogenes* ATCC 19111. *Frontiers in Microbiology*, 10: 412.
- Popović, N., 2019. Examination of probiotic and immunomodulatory characteristics of natural isolates of enterococci on in vitro and in vivo models. Ph.D. thesis. Faculty of Biology, University of Belgrade, Belgrade.
- Porto, M. C. W., Kuniyoshi, T. M., Azevedo, P. O. S., Vitolo, M., and Oliveira, R. P. S., 2017. *Pediococcus spp.*: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnology Advances*, 35 (3): 361-374.
- Prandini, A., Sigolo, S., and Piva, G., 2011. A comparative study of fatty acid composition and CLA concentration in commercial cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24 (1): 55-61.
- Psomas, E., Sakaridis, L., Boukouvala, E., Karatzia, M. A., Ekateriniadou, L. V., and Samouris, G., 2023. Indigenous Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw Graviera Cheese and Evaluation of Their Most Important Technological Properties. *Foods*, 12 (2): 370.
- Raimondi, S., Candeliere, F., Amaretti, A., Costa, S., Vertuani, S., Spampinato, G., and Rossi, M., 2022. Phylogenomic analysis of the genus *Leuconostoc*. *Frontiers in Microbiology*, 13: 897656.
- Randazzo, C. L., Caggia, C., and Neviani, E., 2009. Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *Journal of Microbiological Methods*, 78 (1): 1-9.
- Ranjbar, R., Karami, A., Farshad, S., Giammanco, G. M., and Mammina, C., 2014. Typing methods used in the molecular epidemiology of microbial pathogens: a how-to guide. *New Microbiology*, 37: 1-15.
- Raynal Ljutovac, K., Le Pape, M., Gaborit, P., and Barrucand, P., 2011. French goat milk cheeses: an overview on their nutritional and sensorial characteristics and their impacts on consumers' acceptance. *Small Ruminant Research*, 101 (1-3): 64-72.
- Rea, M. C., and Cogan, T. M., 2003. Glucose Prevents Citrate Metabolism by Enterococci. *International Journal of Food Microbiology*, 88: 201-206.
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., and Penna, A. L. B., 2012. Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4: 124-140.

- Rençber, F., 2017. Oğlak Derisi ve Plastik Bidonda Olgunlaştırılan Muş Tulum Peynirinin Bazı Karakteristik Özellikleri ve Gıda Güvenliği Açısından Değerlendirilmesi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 78s.
- Rençber, F., ve Çelik, Ş., 2021. Farklı ambalaj materyalinde olgunlaştırılan Muş Tulum peynirinin bazı karakteristik özellikleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 52 (1): 1-10.
- Ribeiro, S. C., Coelho, M. C., Todorov, S. D., Franco, B. D. G. M., Dapkevicius, M. L. E., and Silva, C. C. G., 2014. Technological properties of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from Pico cheese an artisanal cow's milk cheese. Journal of Applied Microbiology, 116 (3): 573-585.
- Ribeiro, S. C., O'connor, P. M., Ross, R. P., Stanton, C., and Silva, C. C. G., 2016. An anti-listerial *Lactococcus lactis* strain isolated from Azorean Pico cheese produces lacticin 481. International Dairy Journal, 63: 18-28.
- Ribeiro, S. C., Ross, R. P., Stanton, C., and Silva, C. C., 2017. Characterization and application of antilisterial enterocins on model fresh cheese. Journal of Food Protection, 80: 1303-1316.
- Riboldi, G. P., Frazzon, J., D'azevedo, P. A., and Frazzon, A. P. G., 2009. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus spp.* isolated from food in Southern Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 40 (1): 125-128.
- Ruas Madiedo, P., Sánchez, B., Hidalgo Cantabrana, C., Margolles, A., and Laws, A., 2012. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria and bifidobacteria. Handbook of animal based fermented food and beverage technology, 125-151.
- Ruppitsch, W., Nisic, A., Hyden, P., Cabal, A., Sucher, J., Stöger, A., and Martinović, A., 2021. Genetic diversity of *Leuconostoc mesenteroides* isolates from traditional Montenegrin brine cheese. Microorganisms, 9 (8): 1612.
- Russo, N., Caggia, C., Pino, A., Coque, T. M., Arioli, S., and Randazzo, C. L., 2018. *Enterococcus spp.* in Ragusano PDO and Pecorino Siciliano cheese types: A snapshot of their antibiotic resistance distribution. Food and Chemical Toxicology, 120: 277-286.
- Sáez, G. D., Flomenbaum, L., and Zárate, G., 2018. Lactic acid bacteria from argentinean fermented foods: isolation and characterization for their potential use as starters for fermentation of vegetables. Food Technology and Biotechnology, 56 (3): 398-410.
- Salomskiene, J., Jonkuvienė, D., Macioniene, I., Abraitiene, A., Zeime, J., Repeckiene, J., and Vaiciulyte Funk, L., 2019. Differences in the occurrence and efficiency of antimicrobial compounds produced by lactic acid bacteria. European Food Research and Technology, 245: 569-579.
- Salveti, E., Torriani, S., and Felis, G. E., 2012. The genus *Lactobacillus*: a taxonomic update. Probiotics Antimicrobial Proteins, 4: 217-226.
- Samanta, I., and Bandyopadhyay, S., 2020. Chapter 17 – *Streptococcus*. Antimicrobial resistance in agriculture. perspective, policy and mitigation. Academic Press, ss. 217-232.
- Sancak, H., İşleyici, Ö., Tuncay, R. M., ve Sancak, Y. C., 2018. Geleneksel olarak üretilen Bitlis Tulum peyniri ve kimyasal kalite nitelikleri. BEÜ Fen Bilimleri Dergisi, 7(2): 380-389.

- Sangoyomi, T. E., Owoseni, A. A., and Okerokun, O., 2010. Prevalence of enteropathogenic and lactic acid bacteria species in wara: A local cheese from Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, 4 (15): 1624-1630.
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G., and Tskalidou, E., 2001. Citrate metabolism by *Enterococcus faecalis* FAIR-E229. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (12): 5482-5487.
- Sert, D., 2011. Geleneksel Yöntemle Üretilen Tulum Peynirlerinde Kullanılan Sütün Orijinine Bağlı Olarak Olgunlaşma Esnasında Meydana Gelen Bazı Değişmelerin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, 221s.
- Sert, D., Akın, N., and Aktümsek, A., 2014. Lipolysis in Tulum cheese produced from raw and pasteurized goats' milk during ripening. *Small ruminant research*, 121 (2-3): 351-360.
- Sharma, A., Kaur, J., Lee, S., and Park, Y. S., 2016. RAPD typing of *Lactobacillus brevis* isolated from various food products from Korea. *Food Science of Biotechnology*, 25: 1651-1655.
- Sharma, G., Dang, S., Gupta, S., and Gabrani, R., 2018. Antibacterial activity, cytotoxicity, and the mechanism of action of bacteriocin from *Bacillus subtilis* GAS101. *Medical Principles and Practice*, 27: 186-192.
- Sharma, A., Lee, S., and Park, Y. S., 2020. Molecular typing tools for identifying and characterizing lactic acid bacteria: a review. *Food science and biotechnology*, 29: 1301-1318.
- Shi, Y., Cui, X., Gu, S., Yan, X., Li, R., Xia, S., and Ge, J., 2019. Antioxidative and probiotic activities of lactic acid bacteria isolated from traditional artisanal milk cheese from Northeast China. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11: 1086-1099.
- Sieuwerds, S., Bron, P. A., and Smid, E. J., 2018. Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. *Lwt*, 90: 201-206.
- Silva, L. F., Casella, T., Gomes, E. S., Nogueira, M. C. L., De Dea Lindner, J., and Penna, A. L. B., 2015. Diversity of lactic acid bacteria isolated from Brazilian water buffalo mozzarella cheese. *Journal of Food Science*, 80 (2): 411-417.
- Silva, C. C., Silva, S. P., and Ribeiro, S. C., 2018. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in microbiology*, 9: 594.
- Silva, L. F., De Dea Lindner, J., Sunakozawa, T. N., Amaral, D. M. F., Casella, T., Nogueira, M. C. L., and Penna, A. L. B., 2022. Biodiversity and succession of lactic microbiota involved in Brazilian buffalo mozzarella cheese production. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53: 303-316.
- Silva, B. N., Fernandes, N., Carvalho, L., Faria, A. S., Teixeira, J. A., Rodrigues, C., and Cadavez, V., 2023. Lactic acid bacteria from artisanal raw goat milk cheeses: technological properties and antimicrobial potential. *Italian Journal of Food Safety*, 12 (4).
- Singh, S., Goswami, P., Singh, R., and Heller, K. J., 2009. Application of molecular identification tools for *Lactobacillus*, with a focus on discrimination between closely related species: a review. *LWT-Food Science and Technology*, 42: 448-457.

- Singh, P., and Saini, P., 2017. Food and health potentials of exopolysaccharides derived from Lactobacilli. *Microbiology Research Journal International*, 22: 1-14.
- Singh, V. P., 2018. Recent approaches in food bio-preservation - a review. *Open Veterinary Journal*, 8 (1): 104-111.
- Singla, V., Mandal, S., Anand, S. and Sharma, Y., 2018. Sugar fermentation profile of *Pediococcus* strains from diverse sources. *Indian Journal of Dairy Science*, 71 (3): 317-319.
- Singla, V., Mandal, S., Sharma, P., Anand, S., and Tomar, S. K., 2018. Antibiotic susceptibility profile of *Pediococcus spp.* From diverse sources. *3 Biotech*, 8 (12): 489.
- Smit, G., Smit, B. A., and Engels, W. J. M., 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29 (3): 591-610.
- Sofu, A., 2017. Analyses of dynamics in dairy products and identification of lactic acid bacteria population by molecular methods. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5 (1): 6-13.
- Somma, M., and Querci, M., 1998. Agarose Gel Electrophoresis. Analysis of Genetically Modified Organisms in Food Samples. Chapter 5. World Health Organization Regional Office for Europe. Institute for Health and Consumer Protection.
- Sözeri Atik, D., Akın, N., Akal, H. C., and Koçak, C., 2021. The determination of volatile profile during the ripening period of traditional Tulum cheese from Turkey, produced in Anamur in the Central Taurus region and ripened in goatskin. *International Dairy Journal*, 117: 104991.
- Spiegelhauer, M. R., Yusibova, M., Rasmussen, I. K. B., Fuglsang, K. A., Thomsen, K., and Andersen, L. P., 2020. A case report of polymicrobial bacteremia with *Weissella confusa* and comparison of previous treatment for successful recovery with a review of the literature. *Access Microbiology* 2 (5): e000119.
- Spus, M., Liu, H., Wels, M., Abee, T., and Smid, E. J., 2017. Isolation and characterization of *Lactobacillus helveticus* DSM 20075 variants with improved autolytic capacity. *International Journal of Food Microbiology*, 241: 173-180.
- Stashenko E. E., and Martinez J. R., 2007. Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction. *J Biochem Biophys Methods*, 70 (2): 235-42.
- Sturino, J. M., 2018. Literature-based safety assessment of an agriculture-and animal-associated microorganism: *Weissella confusa*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 95: 142-152.
- Suganthi, V., and Mohanasrinivasan, V., 2015. Optimization studies for enhanced bacteriocin production by *Pediococcus pentosaceus* KC692718 using response surface methodology. *Journal of food science and technology*, 52: 3773-3783.
- Surayot, U., Wang, J., Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Tabarsa, M., Lee, Y., and You, S., 2014. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: structural analysis, molecular weight effect on immunomodulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 68: 233-240.
- Şanlıbaba, P., and Güçer, Y., 2015. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria. *Journal of International Scientific Publications*, 3: 451-457.

- Şengül, M., and Çakmakçı, S., 2003: Characterization of natural isolates of lactic acid bacteria from Erzincan (Savak) Tulum cheese, *Milchwissenschaft*, 58 (9-10): 510-513.
- Şengül, M., Erkaya, T., Dervişoğlu, M., Aydemir, O., and Gül, O., 2014. Compositional, biochemical and textural changes during ripening of Tulum cheese made with different coagulants. *International Journal of Dairy Technology*, 67 (3): 373-383.
- Şenocak Soran, G., 2018. Geleneksel Peynirlerin Üretimine Uygun Doğal Starter Kültürlerin Üretimi ile Bu Kültürlerin Laktik Asit Bakteri Floralarının Tanımlanması ve Karakterizasyonu. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Şanlıurfa, 103s.
- Tabssum, F., Ahmad, Q. U. A., and Qazi, J. I., 2018. DNA sequenced based bacterial taxonomy should entail decisive phenotypic remarks: Towards a balanced approach. *Journal of basic microbiology*, 58 (11): 918-927.
- Tamime, A.Y., and Robinson, R. K., 2007. Historical Background. In: *Yoghurt Science and Technology*. Woodhead Publishing, Cambridge, pp. 1-12.
- Tanasupawat, S., Phoottosavako, M., and Keeratipibul, S., 2015. Characterization and lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5 (3): 006-012.
- Teixeira, C. G., Da Silva, R. R., Fusieger, A., Martins, E., De Freitas, R., and De Carvalho, A. F., 2021. The *Weissella* genus in the food industry: A review. *Research, Society and Development*, 10 (5): e8310514557.
- Tekin, A., 2016. Keçi Derisi ve Bidonda Olgunlaştırılan Koyun (Karaman) Tulum Peynirlerinde Biyokimyasal ve Duyusal Nitelikler. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Hatay, 127s.
- Tekin, A., and Güler, Z., 2019. Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum cheese during production and ripening: Effect of ripening materials. *Food Chemistry*, 286: 160-169.
- Temiz, A., 2000. *General Microbiology Application Techniques*. 3 rd edn. pp. 291. Ankara, Hatipoğlu Publications.
- Terzić Vidojević, A., Vukasinovic, M., Veljovic, K., Ostojic, M., and Topisirovic, L., 2007. Characterization of microflora in homemade semi-hard white Zlutar cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 114 (1): 36-42.
- Terzić Vidojević, A., Mihajlovic, S., Uzelac, G., Veljovic, K., Tolinački, M., Nikolic, M., and Kojic, M., 2014. Characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Travnik young cheeses, sweet creams and sweet kajmaks over four seasons. *Food microbiology*, 39: 27-38.
- Terzić Vidojević, A., Veljović, K., Begović, J., Filipić, B., Popović, D., Tolinački, M., and Golić, N., 2015. Diversity and antibiotic susceptibility of autochthonous dairy enterococci isolates: are they safe candidates for autochthonous starter cultures?. *Frontiers in Microbiology*, 6: 954.
- Terzić Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., Fira, D., Jovčić, B., Strahinić, I., Begović, J., Popović, N., Miljković, M., Kojić, M., Topisirović, L., and Golić, N., 2020. Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries-Technological and probiotic properties. *Food Research International*, 136: 109494.

- Terzić Vidojević, A., Veljović, K., Popović, N., Tolinački, M., and Golić, N., 2021. Enterococci from raw milk-cheese: current knowledge on safety, technological, and probiotic concerns. *Foods*, 10 (11): 2753.
- Teusink, B., and Molenaar, D., 2017. Systems biology of lactic acid bacteria: For food and thought. *Current Opinion in Systems Biology*, 6: 7-13.
- Thierry, A., Collins, Y. F., Mukdsi, M. A., Mcsweeney, P. L., Wilkinson, M. G., and Spinnler, H. E., 2017. Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese. In *Cheese*. Academic Press, pp. 423-444.
- Toe, C. J., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohamad, R., Abdul Rahim, R. and Idrus, Z., 2019. Extracellular proteolytic activity and amino acid production by lactic acid bacteria isolated from Malaysian foods. *International journal of molecular sciences*, 20 (7): 1777.
- Tomar, O., ve Akarca, G., 2019. Afyonkarahisar ilinde farklı sütlerden üretilip, değişik ambalaj malzemeleri içerisinde satışa sunulan Tulum peynirlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32 (2): 151-157.
- Tomar, O., Akarca, G., Gök, V., and Çağlar, M. Y., 2020. The effects of packaging materials on the fatty acid composition, organic acid content, and texture profiles of Tulum cheese. *Journal of Food Science*, 85 (10): 3134-3140.
- Tomasino, E., Turbes, G., Lim, J., Waite Cusic, J., and Meunier Goddik, L., 2018. Flavor composition of raw and pasteurized milk Cheddar Cheeses made from milk sourced from different producers. *Advances in Dairy Research*, 6 (2).
- Tsanasidou, C., Asimakoula, S., Sameli, N., Fanitsios, C., Vandera, E., Bosnea, L., Koukkou, A.I., and Samelis, J., 2021. Safety evaluation, biogenic amine formation, and enzymatic activity profiles of autochthonous enterocin-producing Greek cheese isolates of the *Enterococcus faecium/durans* group. *Microorganisms*, 9 (4): 777.
- Tsigkrimani, M., Bakogianni, M., Paramitiotis, S., Bosna, L., Pappa, E., Drosinos, E.H., Skandamis, P.N., and Mataragas, M., 2022. Microbial ecology of artisanal Feta and Kefalograviera Cheeses, part I: Bacterial community and its functional characteristics with focus on lactic acid bacteria as determined by culture-dependent methods and phenotype microarrays. *Microorganisms*, 10 (1): 161.
- Tunail, N., 2009. Mikrobiyoloji. Pelin Ofset Tipo Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, 434 s.
- Turhan, I., and Öner, Z., 2014. Determination of starter culture properties of lactic acid bacteria isolated from cheese. *The Journal of Food*, 39 (1): 9-15.
- Türk Gıda Kodeksi, 2015. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği 2015/6. Retrieved from: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/02/20150208-16.htm>. Erişim tarihi: 01.02.2024.
- Tylewicz, U., Inchingolo, R., and Rodriguez Estrada, M. T., 2022. Food aroma compounds. In *Nutraceutical and functional food components*. Academic Press, pp. 363-409.
- Uymaz, B., Akçelik, N., and Yüksel, Z., 2019. Physicochemical and microbiological characterization of protected designation of origin Ezine Cheese: Assessment of non-starter lactic acid bacterial diversity with antimicrobial activity. *Food Science of Animal Resouce*, 39 (5): 804-819.

- Üçüncü, M., 2012. Peynir Teknolojisi: Süt ve mamülleri teknolojisi, (3.bs.) Sidas Yayınları, İzmir, 185-358s.
- Valdivielso, I., Albusu, M., De Renobales, M., and Barron, L. J. R., 2016. Changes in the volatile composition and sensory properties of cheeses made with milk from commercial sheep flocks managed indoors, part-time grazing in valley, and extensive mountain grazing. *International Dairy Journal*, 53: 29-36.
- Vandera, E., Lianou, A., Kakouri, A., Feng, J., Koukkou, A. I., and Samelis, J., 2017. Enhanced control of *Listeria monocytogenes* by *Enterococcus faecium* KE82, a multiple enterocin-producing strain, in different milk environments. *Journal of Food Protection*, 80: 74-85.
- Vandera, E., Kakour, A., Koukkou, A., and Samelis, J., 2019. Major ecological shifts within the dominant nonstarter lactic acid bacteria in mature Greek Graviera Cheese as affected by the starter culture type. *International Journal of Food Microbiology*, 290: 15-26.
- Van Hoorde, K., Vandamme, P., and Huys, G., 2008. Molecular identification and typing of lactic acid bacteria associated with the production of two artisanal raw milk cheeses. *Dairy Science and Technology*, 88: 445-455.
- Van Mastrigt, O., Abee, T., and Smid, E. J., 2017. Complete genome sequences of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* bv. *diacetylactis* FM03 and *Leuconostoc mesenteroides* FM06 isolated from cheese. *Genome Announcements*, 5 (28): e00633-17.
- Veljovic, K., Terzic Vidojevic, A., Vukasinovic M., Strahinic, I., Begovic, J., Lozo, J., Ostojic, M., and Topisirovic, L., 2007. Preliminary characterisation of lactic acid bacteria isolated from Zlata cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 103: 2142-2152.
- Walsh, C. J., Guinane, C. M., Hill, C., Ross, R. P., O'toole, P. W., and Cotter, P. D., 2015. In silico identification of bacteriocin gene clusters in the gastrointestinal tract, based on the Human Microbiome Project's reference genome database. *BMC microbiology*, 15: 1-11.
- Wang, P., Pang, S., Zhang, H., Fan, M., and He, L., 2020. Characterization of *Lactococcus lactis* response to ampicillin and ciprofloxacin using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 408: 933-941.
- Wessels, S., Axelsson, L., Hansen, E. B., De Vuyst, L., Laulund, S., Lahteenmaki, L., Lindgren, S., Mollet, B., Salminen, S., and Von Wright, A., 2004. The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 498-505.
- Whetstone C. M. E., Karagül Yüceer, Y., Avşar Y. K., and Drake M. A., 2003. Identification and quantification of characteristic aroma components in fresh chevre-style goat cheese. *Journal of Food Science*, 68 (8): 2441-2447.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J.A., and Tingey, S. V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535.
- Wishah, R., 2007. Peynir Üretiminde Starter Kültürlere Ek Olarak Bazı Bakteri Suşlarının Kullanımı ve Bunun Peynir Özelliklerine Etkisi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 101s.

- Yang, Z., 2000. Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: their structures and properties (Doctoral dissertation, Helsingin yliopisto).
- Ye, P., Wang, J., Liu, M., Li, P., and Gu, Q., 2021. Purification and characterization of a novel bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* ZFM54. LWT, 143: 111125.
- Yerlikaya, O., 2018. Ege ve Marmara ölgesi'nde Üretilen ve Tüketime Sunulan Beyaz Peynirlerin Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 55 (4): 499-505.
- Yerlikaya, O., and Akbulut, N., 2019. Potential use of probiotic *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* strains in Izmir Tulum cheese as adjunct culture. Journal of Food Science and Technology, 56: 2175-2185.
- Yüce, S., 2017. Peynir ve Yoğurtlardan İzole Edilmiş Olan Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Teknolojik Özelliklerinin Araştırılması. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Burdur, 87s.
- Ženišová, J. L. J. K. K., and Kuchta, L. V. T., 2015. Isolation of autochthonous lactic acid bacteria from ewes' lump cheese, bryndza cheese and barrelled ewes' cheese, and their characterization using Fourier transform infrared spectroscopy. Journal of Food and Nutrition Research, 54 (4): 308-313.
- Zheng, X., Liu, F., Li, K., Shi, X., Ni, Y., Li, B., and Zhuge, B., 2018. Evaluating the microbial ecology and metabolite profile in Kazak artisanal cheeses from Xinjiang, China. Food research international, 111, 130-136.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., and Lebeer, S., 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 70 (4): 2782-2858.
- Zhou, Y., Cui, Y., and Qu, X., 2019. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. Carbohydrate Polymers, 207: 317-332.
- Quigley, L., O'sullivan, O., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., and Cotter, P. D., 2012. High-throughput sequencing for detection of subpopulations of bacteria not previously associated with artisanal cheeses. Applied and environmental microbiology, 78 (16): 5717-5723.
- Quinto, E. J., Caro, I., Villalobos Delgado, L. H., Mateo, J., De Mateo Silleras, B., and Redondo Del Rio, M. P., 2019. Food safety through natural antimicrobials. Antibiotics, 8 (4): 208.
- Xu, Z., Chen, J., Shi, X., Wang, B., Zheng, X., and Zheng, X., 2020. Characteristic physicochemical indexes and flavor compounds in Xinjiang Kazak cheese during ripening. Food Bioscience, 35, 100586.