

Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Başlatıcı (Starter) Kültür Özelliklerinin Biyokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi

Pelin ERTÜRKMEN*¹, Zübeyde ÖNER²

¹Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, 15030, Burdur

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, 32200, Isparta

(Alınış Tarihi: 13.05.2015, Kabul Tarihi: 06.08.2015)

Anahtar Kelimeler

Beyaz peynir
Başlatıcı kültür
İzolasyon
İdentifikasyon

Özet: Bu çalışmada laboratuvar şartlarında çiğ süttten üretilmiş 7 adet beyaz peynir örneği izolasyon materyali olarak kullanılmıştır. 7 adet peynir örneğinden toplam 145 koloni izole edilmiş bunlardan 77 adedine biyokimyasal identifikasyon yöntemleri ve Gram-pozitif ID test kiti uygulanmıştır. Bu izolatlardan 25'i *Lactococcus* spp., 22'si *Enterococcus* spp. ve 30 tanesi *Lactobacillus* spp. olarak belirlenmiştir. *Lactococcus* spp. olarak tanımlanmış izolatların, 19'unun *Lc. lactis* spp. *lactis*, 4'ü ise *Lc. lactis* spp. *cremoris* olarak identifiye edilmiştir. *Enterococcus* spp. izolatından 5 tanesi *E. faecalis*, 2'si *E. durans*, 2'si *E. avium*, 4'ü *Pediococcus pentosaceus*, 2'si *E. faecium* ve 1'i *E. solitorius* olarak tanımlanmıştır. *Lactobacillus* spp. izolatlarına uygulanan şeker testleri sonucunda izolatların ise 7'si *Lactobacillus plantarum* olarak, 7 'si *Lb. curvatus*, 10'u da *Lb. jensenii* olarak tanımlanmıştır. Gram pozitif ID test kiti uygulanan 14 izolat tanımlanamamıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda, beyaz peynirde hakim olan florayı *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. grubu laktik asit bakterilerinin oluşturduğu belirlenmiştir. İdentifikasyonu yapılan 77 bakterinin asit üretimi, proteolitik ve dekarboksilaz aktivitesi, antibiyotik duyarlılığı, organik asit üretimi ve aroma maddeleri belirlenmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre seçilen 8 adet laktik asit bakterisinin peynir endüstrisinde uygun başlatıcı kültür olabileceği düşünülmüştür.

Determination of Lactic Acid Bacteria Properties as Starter Cultures Isolated from the Beyaz Cheese by Biochemical Methods

Keywords

Beyaz cheese
Starter culture
Isolation
Identification

Abstract: In this study, 7 samples of white cheese which was manufactured from raw milk under laboratory conditions were used as an isolation material. 145 colonies were isolated from 7 cheese samples and biochemical identification methods and Gram-positive ID test kits were applied to the 77 strains. The isolates were determined as 25 *Lactococcus* spp., 22 *Enterococcus* spp. and 30 *Lactobacillus* spp. strains. *Lactococcus* spp. were identified 19 *Lc. lactis* spp. *lactis* and 4 *Lc. lactis* spp. *cremoris*. Among enterococi, 5 *E. faecalis*, 2 *E. durans*, 2 *E. avium*, 4 *Pediococcus pentosaceus*, 2 *E. faecium* and 1 *E. solitorius* were identified. Strains of *Lactobacillus* spp. were identified according to sugar fermentation tests 7 *Lb. plantarum*, 7 *Lb. curvatus* and 10 *Lb. jensenii* were identified. 14 strains of Gram-positive ID test kits applied could not be identified. These results show that, *Lactobacillus* spp. and *Lactococcus* spp. are the dominant flora in beyaz cheese. Acid production, proteolytic and decarboxylase activity, antibiotic susceptibility, organic acid production and aroma compounds were determined in 77 lactic acid bacteria. According to the results, selected 8 lactic acid bacteria are thought to be suitable starter culture in cheese industry.

* İlgili yazar: perturkmen@mehmetakif.edu.tr

1. Giriş

Laktik asit bakterileri(LAB), başta peynir olmak üzere birçok süt ürününün üretimi ve olgunlaşmasında önem taşıyan mikroorganizmalardır. Peynir teknolojisi açısından LAB'nin teknolojik öneme sahip mikroorganizmalar olarak tanımlanmasında; bu mikroorganizmaların aroma geliştirme yeteneğinin olması, bakteriyosin ve ekzopolisakkarit oluşturabilmeleri, bakteriyofajlara olan dirençlilikleri, laktoz ve sitrat metabolizmaları, antibiyotik ve ağır metallere dirençleri dikkate alınmaktadır (Morandi vd., 2006; Fortina vd., 2007).

LAB türlerinin izolasyonu ve sayımı seçici ortamlar aracılığı ile gerçekleştirilmektedir. Uygun besiyerlerinden saf kültürler olarak izole edilen bakterilerin daha sonra klasik yöntemlerle gram reaksiyonu, mikroskopik morfolojisi ve katalaz aktiviteleri belirlenmektedir. Yapılan testler sonucunda sporsuz çubuk veya kok şeklinde, Gram pozitif ve katalaz negatif olarak değerlendirilen izolatlar laktik asit bakterisi olarak ayrılmaktadır (Schillinger ve Lücke, 1987). Bakteri suşlarının cins düzeyinde tanımlanmasında; bakterilerin farklı sıcaklık ve pH değerlerinde, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişebilme yetenekleri, karbonhidratları fermente edebilme durumları, oksijene karşı toleransı, besinsel gereksinimleri, antibiyotiklere karşı duyarlılıkları, morfolojisi ve boya maddeleri ile verdiği reaksiyonlar gibi fizyokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinden yararlanılmaktadır. Tuz, pH, sıcaklık dirençliliği fenotipik testler; katalaz reaksiyonu, oksidaz aktivitesi ve şeker fermentasyonu gibi testler ise biyokimyasal testler içerisinde yer almaktadır. Bunun yanı sıra, mikroorganizmaların genel grup profillerine göre hazırlanmış çeşitli sayıda klasik biyokimyasal testten oluşan, hazır API 50 CH, LRA Zym ve API AZM gibi enzimatik kitler, saf kültürlerin karbonhidratları fermente edebilme özelliklerinden faydalanılarak çiğ süt, fermente süt ürünleri ve peynirde bulunan laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Test kitinden alınan sonuçlar, bilgisayar programının veri tabanında yer alan bakteri türleri ile tanımlanmaktadır (Coeuret vd., 2003).

Türkiye'de beyaz peynir başlatıcı kültürü için çok sayıda araştırma yapılmışsa da tüm araştırmacılar tarafından benimsenen bir beyaz peynir kültürü seçilememiştir. Araştırmacılar tarafından farklı bakteri kombinasyonları önerilmiş olup Türk damak tadına sahip başlatıcı kültür kombinasyonu oluşturulamamıştır (Karasoy, 1955; Bostan vd., 1992; Patır vd., 2001). Son yıllarda herhangi bir başlatıcı kültür ilave edilmeden çiğ sütlerden geleneksel olarak üretilen peynirlerden izole edilen izolatlar (wild-type) üzerine fenotipik ve genotipik araştırmalar hızla artmaktadır (Suzzi vd., 2000; Coppola vd., 2001; Fortina vd., 2003).

Bu çalışmada amaç, çiğ süttten üretilmiş peynirlerde bulunan mikroorganizmalardan LAB'nin başlatıcı kültür özelliklerinin belirlenmesidir. Bu kapsamda Isparta ve çevresinden temin edilmiş çiğ sütlerden laboratuvar şartlarında beyaz peynir üretilmiş ve bu peynirler başlatıcı kültürlerin izolasyonu için kullanılmıştır. İzole edilen LAB'nin tanımlanması biyokimyasal testlerle ve identifikasyon testi kiti kullanılarak yapılmıştır. İdentifiye edilen mikroorganizmaların başlatıcı kültür olma özelliklerinden olan asit gelişimi, proteolitik aktivite, dekarboksilasyon aktivite testi bu çalışma kapsamında belirlenmiştir. Antibiyotik direnç testi, organik asit üretim yetenekleri ve aroma oluşturma yetenekleri başka bir çalışmada Alp ve Öner (2013) tarafından yapılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Araştırmada Isparta yöresinden temin edilen çiğ inek sütlerinden toplam 7 adet beyaz peynir örneği başlatıcı kültür kullanılmaksızın laboratuvar şartlarında üretilmiş, peynir ve peyniraltı suları izolasyon materyali olarak kullanılmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. İzolatların Saflaştırılması

İzolasyona hazırlanmış uygun dilüsyonlardan laktokokların izolasyonu için M17 agara (Merck, Almanya), laktobasiller için de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agara (Merck, Almanya) ve enterokoklar için Nutrient agar (Merck, Almanya) (NA) agar besiyerlerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. MRS agar (pH 5.7 ± 0.2) 30 °C' de, M17 agar (pH 7.2 ± 0.2) 28 °C' de, NA (pH 7.0 ± 0.2) 37 °C' de 48 saatlik inkübasyon sonucunda farklı morfolojik özelliklere sahip koloniler seçilmiştir. Enterokokların petri kutularından seçiminde küçük, beyaz ya da soluk renkli ve düzgün kenarlı tipik kolonilere, laktobasillerin seçiminde krem renkli, mat düzgün kenarlı kolonilere ve laktokokların seçiminde beyaz düzgün kenarlı parlak kolonilere öncelik verilmiştir. Saflık kontrolleri yapılan izolatların mikroskopik görünümü, Gram reaksiyonu ve katalaz aktiviteleri incelenmiştir. Çeşitli boyutlarda kok şekilli, Gram pozitif görünümlü ve katalaz negatif izolatlar enterokok ve laktokoklara; çubuk şekilli, Gram pozitif görünümlü ve katalaz negatif izolatlar laktobasilere özgü tanı testleri yapılmak üzere ayrılmıştır (Halkman, 2005).

2.2.2. Biyokimyasal Yöntemlerle İdentifikasyon

Sherman sınıflamasına ve diğer bazı fizyolojik ve biyokimyasal testlere göre identifikasyonlar yapılmıştır. Laktokokları tanımlamada; 10 °C' de ve 45 °C' de, pH 9.6 ve % 6.5 NaCl içeren besiyerinde

üreme testleri ile % 0.1 metilen mavisi içeren Skim Milk (Oxoid) besiyerinde metilen mavisini redükte etme durumları, laktobasilleri tanımlamada; glikozdan gaz oluşturma, arjininden amonyak oluşturma, 45 °C ve 15 °C'de gelişme testleri, litmus milk (Fluka) besiyerinde pıhtılaştırma testi, enterokokları tanımlamada 10 °C' de ve 45 °C' de, pH 9.6, % 6.5 NaCl ve % 0.3 metilen mavisi içeren besiyerini redükte etme durumları ile %0.04 telluriti indirgeme durumları incelenmiştir (Tunail vd., 2001). Ayrıca BBL™ CRYSTAL™ Gram pozitif identifikasyon (ID) test kitleri kullanılmıştır. Bu test kitinde kromojenik ve florojenik renk değişimine göre suş ayrımları yapılmaktadır.

2.2.3. Suşların Laktik Asit Üretim Düzeylerinin Belirlenmesi

Laktik asit üretim düzeylerinin belirlenmesi amacıyla 18 saatlik aktif kültürlerden skim milk besiyerine % 1 oranında inokülasyonlar yapılmış, 30 °C' de 6 ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Asit gelişimini belirlemek için inkübasyon süreleri sonunda pH değerleri belirlenmiştir. Değerlendirme yapılırken, skim milk besiyerinin başlangıç pH değeri ile inkübasyon sonrası oluşan pH değerleri arasındaki fark (Δ pH) dikkate alınmıştır (Bradley vd., 1992).

2.2.4. Suşların Proteolitik Aktivite Düzeylerinin Belirlenmesi

Suşlarının proteolitik aktivite düzeyleri, gelişme ortamında meydana gelen tirozin miktarının spektrofotometrik olarak ölçümü ile tespit edilmiştir. Bu amaçla Citti vd. (1963) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır.

2.2.5. Suşların Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi

Dekarboksilaz aktivitelerinin belirlenmesinde Joosten ve Northolt (1989) yöntemi kullanılmıştır. İzole edilen kültürlerin dekarboksilaz aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla laktokoklar için M17 yatık agara (pH 7.2 \pm 0.2) 28 °C' de, laktobasiller için de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) yatık agara (pH 5.7 \pm 0.2) 30 °C' de ve enterokoklar için Nutrient yatık agara (pH 7.0 \pm 0.2) 37 °C' de sürme yapılmış ve gelişimleri için 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda Mac Farland metoduna göre hücreler dilüe edilmiştir. Bu hücreler % 2 düzeyinde çeşitli amino asitlerce zenginleştirilmiş (histidin, tirozin, lizin, ornitin, fenilalanin, triptofan) bazal besiyerlerine inoküle edilerek 7 gün süreyle, anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

3. Araştırma Bulguları ve Tartışma

3.1. Biyokimyasal Yöntemlerle İdentifikasyon Sonuçları

Tablo 1.'de görüldüğü üzere biyokimyasal yöntemlerle *Lactococcus* spp. cinsi olarak tanımlanmış 25 adet izolatın Gram Pozitif ID kitleri kullanılarak 19'unun *Lc. lactis* spp. *lactis*, 4'ünün *Lc. lactis* spp. *cremoris* olduğu belirlenmiş diğer 2'sinin ise tanımlanması yapılamamıştır. Enterokokların zor koşullara direnç göstermeleri nedeniyle çalışmamızda özellikle % 6.5 NaCl, pH 9.6, 10 °C ile 45 °C sıcaklık testlerine pozitif reaksiyon gösteren izolatlar *Enterococcus* spp. olarak ayrılmış ve toplamda 22 adet izolat tanımlanmıştır. Bu izolatların 6 tanesi % 0.04 telluriti indirgemesi nedeniyle *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır (Tablo 2). *E. faecalis* olduğu tahmin edilen 6 adet izolatın 3'ü sitrattan CO₂ üretimi gerçekleştirmiştir. Şeker testlerinin sonucu 30 adet laktobasil suşunun 10 adedi *Lactobacillus plantarum*, 20 adedi *Lactobacillus* spp. olarak belirlenmiştir. Gram Pozitif ID kiti kullanılarak yapılan karbonhidrat testleriyle tanımlanan 24 adet *Lactobacillus* spp. izolatının 7'si *L. plantarum*, 7'si *L. curvatus* ve 10'u ise *L. jensenii* olarak tanımlanmıştır (Tablo 3). Biyokimyasal testler ile *L. plantarum* olarak tanımlanan 7 izolat karbonhidrat testleri ile de *L. plantarum* olarak tanımlanmıştır. Bu izolatlar sellobiyoz, laktoz, maltoz, melibiyoz, rafinoz, riboz, salisin, sakkaroz ve trehaloz şekerlerini fermente etmiş fakat ramnoz, ksiloz, arabinoz, sorbozdan asit üretememiş ve sorbitolde asit üretimleri değişkenlik göstermiştir (Durlu-Özkaya, 2001).

3.2. Suşların Asit Üretim Sonuçları

Asit üretimi açısından kıyaslandığında; laktokoklarda skim milk ortamında 30 °C'de 6 saat inkübasyon sonucunda saptanan Δ pH değerleri, 0.13-1.52 arasında değişim göstermiştir. Karakuş (1994)'ün çalışmasında beyaz peynirden 82 adet *Lc. lactis* suşu izole edilmiş ve tanımlanmış olup, suşların % 25.6'sı yavaş (Δ pH<1.00), % 59.7'si orta düzeyde (1.00< Δ pH<1.50) ve % 14.6'sı hızlı düzeyde (Δ pH >1.50) asit oluşturma aktivitesi göstermişlerdir. Ayrıca *Lc. diacetylactis* suşlarının % 20.4'ü yavaş, % 65.3'ü orta ve % 14.2'si ise hızlı asit oluşturma aktivitelerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu değerlere göre; 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda Δ pH düzeylerinde meydana getirdikleri değişim 1'in altında olanlar düşük düzeyde, 1-1.5 arasında olanlar orta düzeyde, 1.5'den yüksek olanlar ise yüksek düzeyde asit üreten suşlar olarak tanımlanmıştır (Bradley vd. 1992; Karakuş, 1994; Durlu-Özkaya, 2001). Çalışmamızda yüksek asit üretim özelliği için sınır alt değer olan pH 1.52 düzeyinde laktik asit üretimi, yalnız *Lc. lactis* spp. *lactis* PeLc15 suşunda tanımlanmıştır. Diğer yandan, *Lc. lactis* spp. *lactis* PeLc6 suşu 0.50 pH değeri saptandığından, orta düzeye yakın laktik asit oluşturma yeteneği ile diğerlerinden ayrılmıştır.

Tablo 1. Laktokokların identifikasyon sonuçları

İzolat Kodu	10 °C	15 °C	45 °C	%4 NaCl	%6.5 NaCl	pH 9,2	pH 9,6	Litmus	% 0.1 Metilen		% 0.3 Metilen		Arjinin	Sitrat	Voges Pros.	%0.04 Tellürit	Biyokimyasal Tanısı	API CH50 Test Kiti
									P	R	P	R						
PeLc1	-	+	+	+	+	+	-	-	P	R	P	R	+	-	-	Z	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc2	Z	+	-	+	-	+	-	+	H	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. diacetylactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc3	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc4	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc5	Z	+	-	+	-	+	-	+	H	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc6	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	H	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc7	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	H	-	-	-	<i>Lc. lactis</i>	-
PeLc8	Z	+	-	-	-	-	-	+	+	Z	+	+	-	-	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. cremoris</i>
PeLc9	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc10	Z	+	-	+	-	Z	-	+	H	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc11	Z	+	+	+	-	+	-	-	+	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc12	Z	+	-	+	+	+	-	+	H	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc13	+	+	-	-	-	Z	-	+	H	+	+	+	-	-	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. cremoris</i>
PeLc14	Z	+	-	+	-	+	-	-	+	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc15	Z	+	+	+	+	+	-	+	H	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc16	+	+	Z	+	-	+	-	+	H	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc17	Z	+	-	-	+	-	-	+	H	+	H	+	-	-	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. cremoris</i>
PeLc18	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc19	Z	+	-	-	-	Z	-	-	+	+	H	-	-	-	+	-	<i>Lc. diacetylactis</i>	<i>Lc. cremoris</i>
PeLc20	Z	+	+	+	-	+	-	-	+	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc21	+	+	-	+	-	+	-	+	H	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc22	Z	+	+	+	+	-	-	-	+	+	H	-	-	-	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc23	Z	+	+	+	+	+	-	-	+	+	H	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc24	Z	+	+	+	+	+	-	+	+	+	H	-	+	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. lactis</i>
PeLc25	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>Lc. lactis</i>	-

Tablo 2. Enterokokların identifikasyon sonuçları

İzolat Kodu	10 °C	15 °C	45 °C	%4 NaCl	%6.5 NaCl	pH 9,2	pH 9,6	Litmus	% 0.1 Metilen		% 0.3 Metilen		Arjinin	Sitrat	Voges Pros.	Biyokimyasal Tanısı	API CH50 Test Kiti	
									P	R	P	R						
PeE26	Z	+	+	+	+	+	+	+	H	+	H	-	H	+	+	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>E. durans</i>
PeE27	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>E. avium</i>
PeE28	Z	+	+	+	+	+	+	-	H	+	H	+	H	+	-	-	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
PeE29	Z	+	+	+	+	+	+	-	+	+	H	-	-	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>E. faecium</i>
PeE30	Z	+	+	+	+	+	+	+	H	+	H	-	+	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>E. avium</i>
PeE31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	H	+	H	+	+	-	-	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
PeE32	Z	+	+	+	+	+	+	+	+	+	H	-	-	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>E. faecium</i>
PeE33	Z	+	+	+	-	+	+	-	+	+	H	-	-	+	Z	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>E. durans</i>
PeE34	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>P. pentosaceus</i>
PeE35	+	+	+	+	+	+	+	+	+	H	+	H	+	+	+	-	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
PeE36	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	Z	-	<i>Enterococcus spp.</i>	-
PeE37	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	Z	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>E. solitarius</i>
PeE38	-	+	+	+	+	+	+	+	H	+	+	+	H	+	+	-	<i>Enterococcus spp.</i>	-
PeE39	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	-
PeE40	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>E. raffinosus</i>
PeE41	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	H	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>P. pentosaceus</i>
PeE42	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	H	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>P. pentosaceus</i>
PeE43	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	H	+	-	-	<i>Enterococcus sp.</i>	<i>P. pentosaceus</i>
PeE44	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	H	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	-
PeE45	+	+	+	+	+	+	+	+	+	H	+	-	-	+	+	-	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
PeE46	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Enterococcus spp.</i>	-
PeE47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
PeE48	+	+	+	+	+	+	+	+	H	+	+	-	-	+	-	-	<i>E. faecalis</i>	-

Tablo 3. Laktobasillerin identifikasyon sonuçları

İzolat Kodu	15°C	45°C	%4 NaCl	%6.5 NaCl	pH9.2	pH 9.6	Litmus		%0,1Metilen		Arjinin	Sitrat	VP	Sorbitol	Maltoz	Sakkaroz	Ksiloz	Melibiyoz	Laktöz	Ramnoz	Trehaloz	Rafinoz	Sellobioz	Arabinoz	Salisin	Biyokimyasal Tanısı	Gram Pozitif ID Test Kiti
							P	R	P	R																	
PeLb49	+	+	-	-	+	+					+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb50	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Z	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb51	+	-	+	+	Z	Z	-	+	+	H	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	-
PeLb52	+	+	+	+	Z	-	-	+	+	H	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb53	+	+	+	+	+	+	-	+	+	H	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb54	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
PeLb55	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. curvatus</i>
PeLb56	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. curvatus</i>
PeLb57	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. curvatus</i>
PeLb58	+	-	Z	+	+	Z	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. curvatus</i>
PeLb59	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. curvatus</i>
PeLb60	+	Z	Z	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. curvatus</i>
PeLb61	+	Z	Z	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	-
PeLb62	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
PeLb63	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb64	+	Z	Z	-	+	Z	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
PeLb65	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
PeLb66	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb67	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	Z	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb68	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>
PeLb69	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb70	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	Z	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. jensenii</i>
PeLb71	+	Z	?	-	+	Z	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	-	
PeLb72	+	Z	-	+	+	+	-	+	-	+	?	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	-
PeLb73	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	Z	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Lb. jensenii</i>
PeLb74	+	-	Z	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	-
PeLb75	+	-	-	-	Z	Z	-	+	-	-	?	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>	
PeLb76	+	Z	Z	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. curvatus</i>	
PeLb77	+	Z	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Lactobacillus spp.</i>	-	
PeLb78	+	Z	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	<i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i>

Tablo 4. Peynir üretimi için seçilen suşların asidifikasyon, dekarboksilaz ve proteolitik aktivitesi

Suş Kodu	Tanısı	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Lisin	µg tirozin/ml
		ΔpH	ΔpH	Ornitin	Histidin	Tirozin	Triptofan	Fenilalanin		
6 saat	24 saat									
PeLc2	<i>Lc. lactis</i>	1.19	2.09	-	-	-	-	-	-	17.30
PeLc6	<i>Lc. lactis</i>	0.50	2.16	-	-	-	-	-	-	27.76
PeLc15	<i>Lc. lactis</i>	1.52	2.53	-	-	-	-	-	-	41.71
PeE26	<i>E. durans</i>	1.03	2.21	-	-	(+)Z	-	-	-	13.80
PeE32	<i>E. faecium</i>	0.59	2.40	-	-	-	-	-	-	30.55
PeLb73	<i>L. jensenii</i>	0.09	1.87	-	-	-	-	-	-	23.82
PeLb75	<i>L. plantarum</i>	1.03	2.59	-	-	-	-	-	-	53.90
İE25	<i>E. faecalis</i>	0.67	2.17	-	-	(+)M	-	-	-	14.30

Tüm suşlar için 6 saat sonunda tespit edilen ΔpH değerlerinin, 24 saat sonunda 0.9-2.1 arasında arttığı saptanmıştır. Bu değerler dikkate alınarak; özellikle *Lc. lactis* spp. *lactis* PeLc2 suşunun (ΔpH 2.09/24s), endüstriyel fermentasyonlar için potansiyel suş olabileceği düşünülerek peynir üretiminde seçilmiştir. Tunail vd. (2001)'nin beyaz peynirde asit üretimi üzerine yaptıkları bir çalışmada 13 adet *Lc. lactis* suşundan yalnızca 1'inin orta düzeyde

(ΔpH = 1.00) asit oluşturduğu, diğerlerinin ise düşük düzeyde asit oluşturduğu belirlenmiştir.

Asit üretimi iyi olan laktokok suşlarının 30 °C' de 6 saat sonunda pH'yı 5.3'e indirmesi gerektiği belirtilmiştir (Cogan vd., 1997). Elçioğlu (2010)'nun Kargı tulum peynirinden izole etmiş olduğu 96 adet izolattan 6 saatte ortam pH'sını 5.81-5.97 arasına indiren 2 adet *L. plantarum*, 2 adet *E. durans* ve 1 adet

E. faecium' un ortamı hızlı asitleştirme özellikleriyle başlatıcı kültür hazırlamada kullanılabileceklerini belirtmişlerdir. Dağdemir (2006)'in salamura beyaz peynir çalışmasında *Enterococcus sp.* izolatlarının 6 saatlik Δ pH değişimi 0.10–1.11 arasında, *Lactobacillus spp.* izolatlarının ise 0.08–0.38 arasında daha düşük düzeylerde değişkenlik göstermiştir. Tunail vd. (2001)'nin çalışmasında enterokokların ve laktobasillerin, laktokoklara oranla daha yavaş asit üretme yeteneğine sahip oldukları gözlenmiş ve 6 saatte en yüksek asit oluşturan laktobasil suşu *Lactobacillus casei* (Δ pH 1.60) olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda *Enterococcus spp.* olarak değerlendirilen suşların 6 saat içinde Δ pH değişimi en düşük 0.03 ve en yüksek 1.03 (PeE26) olduğu belirlenmiştir. 24 saatlik Δ pH değişimi ise 0.8 ile 2.72 arasında değişkenlik göstermiştir. Araştırmamızda diğer endüstriyel özellikleri de dikkate alınarak PeE26 ve PeE32 suşları asit geliştiren alternatif kültürler olarak peynir yapımında tercih edilmiştir. *Lactobacillus spp.* olarak değerlendirilen suşların asit üreten kültür olarak seçimi yeterli düzeyde bulunmamıştır. Beyaz peynir üretimi için uygun olduğu düşünülen suşların asit üretim sonuçları Tablo 4.'de verilmiştir. Peynir üretiminde asitlik gelişimi son derece önemli bir parametredir. Bu nedenle suşların asit üretim aktiviteleri başlatıcı kültür olma özellikleri arasında ilk sırayı almıştır.

3.3. Suşların Proteolitik Aktivite Sonuçları

Karakuş (1994) beyaz peynir çalışmasında proteolitik aktivite değerleri (PAD), PAD<10 zayıf düzey, 10<PAD<20 orta düzey ve PAD>20 kuvvetli şeklinde değerlendirmiştir. Çalışmamızda *Lactococcus spp.* izolatlarının PAD 13.7–46.86 μ g tirozin/mL arasında değişmiş olup Karakuş (1994)' un değerlendirmesine göre izolatların 6 adetinin (PeLc2, PeLc5, PeLc10, PeLc12, PeLc13, PeLc21) orta düzeyde, 19'unun kuvvetli proteolitik aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. *Lc. cremoris* izolatlarının (PeLc8, PeLc13, PeLc17, PeLc19) PAD sırasıyla 49.2, 16.7, 28.41 ve 22.67 μ g tirozin/mL olmak üzere orta ve kuvvetli düzeylerde bulunmuştur. *Enterococcus spp.* izolatlarının PAD 13.8–198.9 μ g tirozin/mL arasında çok büyük bir değişkenlik gösterirken, *Lactobacillus spp.* izolatlarında PAD 17.4–56.2 μ g tirozin/mL arasında değişmiştir. Dağdemir (2006) salamura beyaz peynir çalışmasında *Enterococcus* izolatlarına ait PAD 14.2 ile 117.0 μ g tirozin/mL arasında, *Lactococcus* izolatlarına ait PAD ise 33.2 ile 54.8 μ g tirozin/mL arasında değiştiği belirlenmiş olup genel olarak *E. faecalis* suşlarının proteolitik aktivitesinin *E. faecium* suşlarından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Durlu-Özkaya vd. (2001)' nin çiğ keçi sütünden üretilen beyaz peynir çalışmasında *Lc. lactis* suşlarının proteolitik aktivite değerleri 25.5–77.2 μ g tirozin/mL arasında değişirken, enterokok suşlarının 29.3 (*E. faecium*)–121.1 (*E. faecium*) μ g tirozin/mL daha geniş sınırlar arasında değiştiği ve enterokokların yaklaşık % 36'sının 60 μ g tirozin/mL' den daha yüksek

proteolitik aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Aynı çalışmada laktobasil suşlarının PAD ise 19.4–57.3 μ g tirozin/mL olarak bulunmuştur. Durlu-Özkaya vd. (2001) çalışmasında yüksek proteolitik aktiviteye sahip olan suşların bir kısmının yüksek asitliğe sahip olurken bir kısmının düşük asitliğe sahip olması gibi çeşitli verilerinin bulunması nedeniyle asitlikle proteolitik aktivite arasında herhangi bir korelasyonun olmadığını bildirmiştir. Özellikle 50 μ g tirozin/mL üzerinde proteolitik aktivite içeren suşlar, oluşturdukları yüksek miktardaki protein kalıntıları ve amino asitler nedeni ile üründe acı bir tadın gelişimine yol açtığından tercih edilmemektedir (Karakuş, 1994; Cogan vd., 1997; Atilas vd., 2000; Madera vd., 2003). Çalışmamızda 19 adet laktokok (PeLc1, PeLc2, PeLc3, PeLc6, PeLc7, PeLc9, PeLc10, PeLc11, PeLc12, PeLc13, PeLc14, PeLc16, PeLc17, PeLc18, PeLc19, PeLc20, PeLc23, PeLc24, PeLc25), 8 adet enterokok (PeE29, PeE30, PeE31, PeE34, PeE36, PeE41, PeE43, PeE46), 12 adet laktobasil (PeLb49, PeLb51, PeLb54, PeLb63, PeLb66, PeLb67, PeLb69, PeLb71, PeLb72, PeLb73, PeLb77, PeLb78) suşunun proteolitik aktiviteleri bakımından optimal başlatıcı kültür karakteristiği taşıdığı ortaya çıkmıştır.

3.4. Suşların Dekarboksilaz Aktivite Sonuçları

Mikroorganizmalardan dekarboksilaz aktivitesine sahip olanlar, gıdalarda bulunan amino asitleri enzimatik olarak dekarboksile ederek biyojen amin oluştururlar (Halász vd., 1994). Bu çalışmada dekarboksilaz aktivitelerinin belirlenmesinde Joosten ve Northolt (1989) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde analiz besiyerinde negatif dekarboksilaz sonuçları koloni etrafında oluşan sarı halka ile pozitif dekarboksilaz sonuçları ise koloni etrafında oluşan mor halka ile tespit edilmektedir. Yalnızca tirozin dekarboksilaz aktivitesine sahip olan izolatlar koloni etrafında berrak bir zon meydana getirmektedirler. Çalışmamızda laktokok olarak tanımlanan izolatların hiçbirinde herhangi bir dekarboksilaz aktivitesi gözlemlenmemiştir. Laktobasil olarak değerlendirilen PeLb58 izolatu tirozin aminoasidinin, PeLb62 izolatu ise triptofan aminoasidinin bulunduğu besiyerinde negatif reaksiyon için beklenen sarı koloni renginin dışında kırmızı kahve bir renk meydana getirmişlerdir. PeE26 izolatu tirozin aminoasidinin bulunduğu besiyerinde berrak zon meydana getirmiştir. Durlu-Özkaya vd. (2001) beyaz peynirden izole edilen laktokok (*Lc. lactis*) ve laktobasil (*L. plantarum*, *L. paracasei*) izolatlarının histidin, tirozin, lizin, ornitin, fenilalanin ve treonin aminoasitlerinin hiçbirini indirgemediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda 2 suş (*E. hirae*) hariç tüm enterokok suşlarının (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae*) tirozini dekarboksile ettiklerini bildirmişlerdir. Tunail vd. (2001) beyaz peynirden izole edilen 18 laktobasil (*L. plantarum*, *L. casei*, *L. lactis*) suşunun ve 13 *Lc. lactis* suşlarından 2'si hariç hepsinin dekarboksilaz negatif olduğunu yalnızca bu 2 suşun triptofan dekarboksilaz aktivitesine sahip

olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda 1 *E. durans* suşu hariç tüm enterokokların (*E. faecalis*, *E. faecium*) tiramin pozitif sonuç gösterdiğini ve 1 *E. faecium* suşunun ise zayıf bir fenilalanin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

4. Sonuç

LAB' nin tanısında biyokimyasal ve karbonhidrat test sonuçları arasında farklılıkların olması genotipik tanının önemini ortaya koymuştur. Asitlik gelişimi, proteolitik aktivite ve dekarboksilaz aktivitesi açısından suşların asit oluşturma yetenekleri, proteolitik aktiviteleri ve dekarboksilaz aktiviteleri değerlendirildiğinde laktokok izolatlarından; PeLc2, PeLc6 ve PeLc15 (*Lc. Lactis*), laktobasil izolatlarından; PeLb73 (*L. jensenii*) ve PeLb75 (*L. plantarum*), enterokok izolatlarından; PeE26 (*E. durans*), PeE32 (*E. faecium*) ve İE25 (*E. faecalis*) izolatlarının en iyi başlatıcı kültür özellikleri gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4). Bu izolatların tümü 6 saat içinde pH'yı 6'nın altına düşürebilmiş, orta düzeyde (<20 µg tirozin/mL) proteolitik aktiviteye sahip ve dekarboksilaz negatif izolatlardır. Bu çalışmanın devamında başlatıcı kültür için uygun olduğu düşünülen bu 8 adet laktik asit bakterisinin antibiyotik duyarlılıkları, organik asit üretimi ve aroma maddesi olarak 1-bütanol-3-metil, 3-metilbütanal, asetik asit, etanol, izopropil alkol ve n-bütanol olduğu belirlenmiştir. Bakteri türleri PeLc2, PeLc6, PeLc15, PeE26, PeE32 ve PeLb75 kodlu izolatların antibiyotik sonuçları 0.20'den büyük çıkmıştır. Yapılan istatistik analiz sonucunda (SPSS 17.0 Khi- Kare testi) mikroorganizmaların, antibiyotik dirençlilikleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05), izolatların laktik asidin yanı sıra ağırlıklı olarak malik asit ürettikleri tespit edilmiştir (Alp ve Öner, 2013).

Teşekkür

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2914-YL-11 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Alp, D., Öner, Z., 2013. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri ve Aroma Maddeleri Oluşturma Özelliklerinin Belirlenmesi. Gıda Dergisi, 39(6), 331-337.

Atilas, M.W., Dudley, E.G. and Steele, J.L., 2000. Gene Cloning, Sequencing, and Inactivation of the Branched-Chain Aminotransferase of *Lactococcus lactis* Lm0230. Applied and Environmental Microbiology, 66(6), 2325-2329.

Bostan, K., Uğur, M., Çiftçioğlu, G., 1992. Tulum Peynirinde Laktik Asit Bakterileri ve Küf Florası.

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17(2), 111-118.

Bradley, R.L., Arnold, E., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E., Vines, B.K., 1992. Chemical and Physical Methods. In: Marshall, T.(Ed). Standart Methods for The Examination of Dairy Products. American Public Health Association, Washington Dc, Pp, 433-531.

Citti, J.E., Sandine, W.E., Elliker, P.R., 1963. Some Observation on the Hull Method for Measurement of Proteolysis in Milk. Journal of Dairy Science, 46, 337-345.

Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M., Vernoux, J.P., 2003. Isolation, Characterisation and Identification of *Lactobacilli* Focusing Mainly on Cheeses and Other Dairy Products, Lait, 83, 269-306.

Cogan, B.T.M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P.S., Fernandes, I., Gomez, J., Gomez, R., Kalantzopoulos, G., Ledda, A., Medina, M., Rea, M.C., Rodriguez, E., 1997. Characterization of The Lactic Acid Bacteria in Artisanal Dairy Products. Journal of Dairy Research, 64, 409-421.

Coppola, R., Nanni, M., Succi, M., Sorrentino, A., Iorizzo, M., Chiavari, C., Grazia, C., 2001. Enumeration of Thermophilic Lactic Acid Bacteria in Ripened Cheeses Manufactured from Raw Milk. Milchwissenschaft, 56, 140-142.

Dağdemir, E., 2006. Salamura Beyaz Peynirlerden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Seçilen Bazı İzolatların Kültür Olarak Kullanılabilme İmkanları. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 190s, Erzurum.

Durlu-Özkaya, F., 2001. Salamura Beyaz Peynirlerden İzole Edilen Bazı Laktokok, Enterokok ve Laktobasil Suşlarının Proteolitik Aktivite, Bakteriyosin Etkenliği ve Biyojen Amin Oluşumu Açısından Karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Doktora Tezi (Yayınlanmamış), 134s, Ankara.

Elçioğlu, Ö., 2010. Kargı Tulum Peynirinden izole edilen Laktik Asit Bakterilerinin Starter ve Probiyotik Kültür Özelliklerinin Belirlenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 115s, Eskişehir.

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: 397-404.

Fortina, M. G., Ricci, G., Foschino, R., Picozzi, C., Dolci, P., Zeppa, G., Cocolin, L. and Manachini, P. L., 2007. Phenotypic Typing, Technological Properties and Safety Aspects of *Lactococcus garvieae* Strains from

Dairy Enviroments. Journal of Applied Microbiology, 103: 445-453.

Halász, A., Baráth, Á., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W., 1994. Biogenic Amines and their Production by Microorganisms in Food. Trends in Food Science & Technology, 5, 42-49.

Halkman, A.K., 2005. Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları. Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ankara.

Joosten, H.M.L.J. and Northolt, M.D. 1989. Detection, Growth, and Amine-Producing Capacity of Lactobacilli in Cheese. Applied and Environmental Microbiology, 55, 2356–2359.

Karakuş, M. 1994. Beyaz Peynirlerden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Asit Oluşturma ve Proteolitik Aktiviteleri. Gıda Dergisi, 19(4); 237-241.

Karasoy, M., 1955. Yurdumuz Peynirlerini Olgunlaştıran Mikroplar ve Enzimleri. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi. Yay. :67 Yeni Desen Matbaası, Ankara

Madera, C., García, P., Janzen, T., Rodríguez, A. and Suárez, J.E., 2003. Characterization of Technologically Proficient Wild Lactococcus Lactis Strains Resistant to Phage İnfection. International Journal of Food Microbiology, 86; 213-222.

Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto C., Lombardi, A. and Lodi R., 2006. Technological and Molecular Characterization of Enterococci Isolated from North-West Italian Dairy Products. International Dairy Journal, 16:867-875.

Patır, B., G. Ateş, A.H. Dinçoğlu, F. Kök., 2001. Elazığ Tüketime Sunulan Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi ile Laktik Asit Bakterileri Üzerine Araştırmalar. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Dergisi.

Schillinger, U. and Lucke , F.K., 1987. Identification of *Lactobacilli* from Meat and Meat Products. Food Microbiology, 4: 199–208.

Suzzi, G., Lombardi, A., Lanorte, M.T., Caruso, M., Andrighetto, C. and Gardini, F., 2000. Phenotypic and Genotypic Diversity of Yeasts Isolated from Water- Buffalo Mozzarella Cheese. Journal of Applied Microbiology, 88: 117–123.

Tunail N., Özkaya F.D., Gürsel A. ve Tamuçay B., 2001. Starter Bakterilerin Oluşturdukları Biyojen Aminlerin Saptanması ve Salamura Beyaz Peynirdeki Biyojen Amine Bağlı Risk Faktörünün Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu, Proje No: 96–11–12–04, Ankara.

Semboller

Z	Zayıf reaksiyon
R	Renk değişimi
P	Pıhtı oluşumu
H	Besiyeri yüzeyinde renkli halka oluşumu
(+)M	Pozitif mor halka oluşumu
(+)Z	Pozitif berrak zon oluşumu