

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI TUZ KONSANTRASYONLARININ PEYNİRİN TEKSTÜR
ÖZELLİKLERİNE VE BAZI PATOJENLERİN ASİT VE TUZA
ADAPTASYON YETENEKLERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Paerhatı WUSIMANJIANG

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ
Tez Danışmanı : Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU

Ocak 2017

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

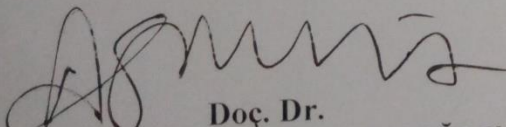
FARKLI TUZ KONSANTRASYONLARININ PEYNİRİN TEKSTÜR
ÖZELLİKLERİNE VE BAZI PATOJENLERİN ASİT VE TUZA
ADAPTASYON YETENEKLERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

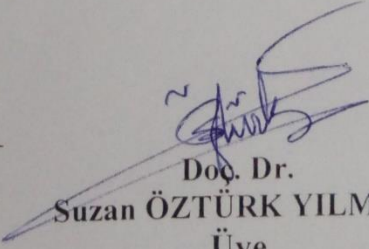
YÜKSEK LİSANS TEZİ

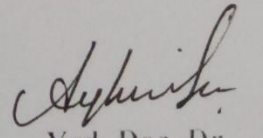
Paerhati WUSIMANJIANG

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 17/01/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.


Doç. Dr.
Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU
Jüri Başkanı


Doç. Dr.
Suzan ÖZTÜRK YILMAZ
Üye


Yrd. Doç. Dr.
Aylin AKOĞLU
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Paerhatı WUSIMANJIANG

17.01.2016

TEŞEKKÜR

Araştırma konumun belirlenmesi, planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU'na,

Çalışmalarıma yardımcı olan değerli Hocam Sayın Arş. Gör. Dr Mustafa ÖZTÜRK'e ve öğretimim boyunca maddi, manevi desteklerini esirgemeyen kıymetli aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY	x
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Peynir.....	4
2.1.1. Peynir tanımı ve önemi.....	4
2.1.2. Peynir çeşitleri	4
2.1.3. Peynirin insan beslenmesinde önemi.....	6
2.1.4. Peynirde tuzun önemi ve yasal değişiklikler	6
2.1.5. Tuzun peynirdeki etkisi	8
2.1.5.1. Mikrobiyel gelişme üzerine etkisi.....	8
2.1.5.2. Tekstür özellikleri üzerine etkisi	8
2.1.5.3. Duyusal özelliklere etkisi	9
2.2. <i>Escherichia coli</i> O157:H7	9

2.2.1. Tarihçesi ve tanımı.....	9
2.2.2. Genel özellikleri	10
2.2.3. Kaynağı ve yayılması	11
2.2.4. Gelişme koşulları.....	12
2.2.5. Peynirlerde kontaminasyonu	13
2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	14
2.3.1. Tarihçesi ve tanımı.....	14
2.3.2. Genel özellikleri	14
2.3.3. Kaynağı ve yayılması	15
2.3.4. Gelişme koşulları.....	16
2.3.5. Kontaminasyonu.....	16
2.4. Bakteri Adaptasyonu.....	17
2.4.1. Adaptasyonun tanımı	17
2.4.2. Adaptasyon ve gıda güvenliği.....	18
2.4.3. Adaptasyon çeşitleri.....	18
2.4.3.1. Tuz adaptasyonu.....	18
2.4.3.2. Asit adaptasyonu	21
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE METOT.....	25
3.1. Materyal.....	25
3.1.1. Materyal ve kimyasallar	25
3.1.2. Kullanılan ekipmanlar	25
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler	26
3.2. Metot.....	27
3.2.1. Peynir yapımı.....	27
3.2.2. Kimyasal analizler	30
3.2.2.1. Kuru madde oranı.....	30

3.2.2.2. Yağ oranı	30
3.2.2.3. Tuz oranı	30
3.2.2.4. Kül oranı	31
3.2.2.5. pH.....	31
3.2.2.6. Su aktivitesi.....	31
3.2.2.7. Protein oranı	31
3.2.3. Mikrobiyolojik analizler	31
3.2.4. Tekstür analizi.....	33
3.2.5. İstatistiksel analizi	34
BÖLÜM 4.	
BULGULAR VE TARTIŞMA.....	35
4.1. Kimyasal Özellikleri.....	35
4.1.1. Kimyasal bileşikler.....	35
4.1.2. pH değerleri	36
4.1.3. Su aktiviteleri.....	37
4.2. Mikrobiyolojik Analizler	38
4.2.1. <i>Escherichia coli</i> O157:H7 sayısı	38
4.2.1.1. Aside adapte edilmiş <i>E. coli</i> O157:H7 ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki yaşama yeteneklerinin karşılaştırılması	38
4.2.1.2. Tuza adapte edilmiş <i>E. coli</i> O157:H7 ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki yaşama yeteneklerinin karşılaştırılması	41
4.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i> sayısı	42
4.2.2.1. Aside adapte edilmiş <i>L. monocytogenes</i> ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki yaşama yeteneklerinin karşılaştırılması	42

4.2.2.2. Tuza adapte edilmiş <i>L. monocytogenes</i> ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki yaşama yeteneklerinin karşılaştırılması	44
4.2.3. Maya sayısı	46
4.2.4. Laktik asit bakterilerin sayısı	47
4.2.4.1. <i>Lactobacillus</i> spp. sayısı	47
4.2.4.2. <i>Lactococcus</i> spp. sayısı	48
BÖLÜM 5.	
SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	77

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
° C	: Santigrat derece
ATY	: Asit Tolerans Yanıtı
a_w	: Su aktivitesi
CaCl ₂	: Kalsiyum Klorür
dk	: Dakika
g	: Gram
HACCP	: Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları
Kob	: Koloni oluşturan birim
L	: Litre
LAB	: Laktik asit bakterileri
log	: Logaritma
MRS	: Lactobacillus Agar acc. to De Man, Rogosa and Sharpe Agar
NaCl	: Sodyum klorür
OGYE	: Oxytetracyclin-Glucose-Yeast Extract Agar
PCA	: Plate Count Agar
SMAC	: Sorbitol MacConkey Agar
SPT	: Süt proteini tozu
TSB	: Tryptic Soy Broth
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YST	: Yağsız süt tozu
µm	: Mikrometre

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Combase program tarafından belirlenen <i>E.coli</i> 'nin farklı tuz konsantrasyonundaki gelişmesi	19
Şekil 2.2. Combase program tarafından belirlenen <i>L. monocytogenes</i> 'nin farklı asit ortamında gelişmesi	21
Şekil 3.1. Beyaz peynir üretim aşamaları.....	29
Şekil 3.2. Çalışmada kullanan farklı ekim metodu yöntemleri.....	33
Şekil 3.3. Kohesifliği TA. XTPlus cihazı	34
Şekil 4.1. Depolama süresinin farklı tuz konsantrasyonundaki örneklerin pH değeri üzerine etkisi.....	36
Şekil 4.2. Depolama süresinin farklı tuz konsantrasyonundaki örneklerin su aktivitesi üzerine etkisi	37
Şekil 4.3. Farklı oranlarda tuz içeren rekombine peynir örneklerinin %50'lik gerinim kuvveti (N) ve standart sapmaları.....	50
Şekil 4.4. Farklı oranlarda tuz içeren rekombine peynir örneklerinin ilk kırılma gerinim kuvveti (N) ve standart sapmaları.....	51

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1.	Beyaz peynir örneklerinde yapılan analizler.....	28
Tablo.3.2.	Farklı besiyerleri kullanılması ve inkübasyon bilgileri.....	32
Tablo 4.1.	Farklı tuz konsantrasyonunda üretilen peynir örneklerin kimyasal özellikleri.....	35
Tablo 4.2.	Tuzun ..asit ve tuza adapte edilmiş <i>E. coli</i> O157:H7'nin rekombine peynirde kalmasına etkisi	40
Tablo 4.3.	Tuzun asit ve tuza adapte edilmiş <i>Listeria monocytogenes</i> 'nin rekombine peynirde canlı kalmasına etkisi	45
Tablo4.4.	Farklı tuz konsantrasyonunda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki maya sayım sonuçları	46
Tablo 4.5.	Farklı tuz konsantrasyonunda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki <i>Lactococcus</i> suşların sayım sonuçları	48
Tablo4.6.	Farklı tuz konsantrasyonda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki aerobik bakteri sayım sonuçları.....	49

ÖZET

Anahtar Kelimeler: Rekombine peynir, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, tuz, tuz adaptasyonu, aside adaptasyonu

Tuzun azalması ile ilgili yasal değişmelere göre Türk peynirlerindeki tuz %3 ile 7,5 seviyesine düşürülmüştür. Bu çalışmada tuzun azalmasının peynirde sık görülen patojen bakterilere ve tekstür yapısına olan etkisini analize etmek amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmada farklı tuz konsantrasyonunda üretilen deneysel rekombine peynir örneklerinde 56 günlük depolama sırasında asit ve tuza adapte olan ve olmayan *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* hücrelerinin yaşama yeteneği incelenmiştir. Yirmi dört saat inkübe edilmiş *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* kültürleri, 1 M laktik asit (%99,5; Merck) ve NaCl kullanarak sırasıyla pH'si 5,4 ayarlanan ve %3,5 tuz içeren TSB besiyerinde 2 saat inkübasyona bırakılarak asit ve tuza adapte ettirilmiştir. Bu kültürler farklı konsantrasyonlarda tuz (%4, %6, %8 veya %10) içeren rekombine peynir örneklerine 1×10^3 kob/g düzeyinde ayrı ayrı inokule edilmiştir. Kontamine rekombine peynirin depolama (4°C 'de) esnasında belirli günlerde (1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 56) mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Peynir üzerindeki tekstür analizinde, TA. XTPlus tekstür analiz cihazı kullanarak 2 mm/s hızda tek açılı baskı (uniaxial compression) yöntemiyle tek seferde %50 gerinim kuvveti ölçülmüştür.

Alınan analiz sonuçlarına göre, peynir örneklerindeki tuz miktarı arttıkça iki patojen bakterinin sayısında da azalma görülmesine rağmen, tuzun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ayrıca aside ve tuza adapte olan *E. coli* O157:H7 hücre sayıları depolama boyunca kontrol grubundan daha yüksek düzeyde olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, aside adapte olmuş *L. monocytogenes* kontrol grubuna göre bir hafta daha fazla (28 gün) canlılığını sürdürmesine rağmen tuza adapte edilen *L. monocytogenes* adapte edilmeyen gruba benzer şekilde sadece 21. güne kadar canlı kalabilmişlerdir. Tekstür analizi incelemelerinde, tuz konsantrasyonu arttıkça peynirin sertliğinin de önemli derecede arttığı ($p < 0,05$). Ayrıca depolama süresince peynir yapısında önce sertleşme sonra ise yumuşama meydana gelmiştir. Bu denemeler sonunda tuzun patojen bakterilerin canlı kalma yetenekleri üzerinde etkisi önemli bulunmamıştır. Tuz ve aside adapte edilen hücrelerin adapte edilmeyenlerden daha dirençli ve uzun yaşayabildikleri görülmüştür. Tuz peynirin sertleşmesinde önemli etkide bulunmuştur.

INVESTIGATION ON LIFE RESISTANCE OF *Escherichia coli* O157: H7 AND *Listeria monocytogenes* WITH ACID AND SALT ADAPTED IN THE RECOMBINANT CHIMNEYS PRODUCED IN DIFFERENT SALT CONCENTRATIONS

SUMMARY

Keywords: Recombine cheese, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, salt and acid adaptation

According to the legal changes, the amount of salt is control between 3-7.5% in Turkish cheeses. To determine the effect of salt reduction on pathogen bacteria which are common in cheese and order to fill the gap regarding risk safety in dairy products in the literature. In this study, the survival ability of acid and salt adapted or not adapted *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in recombine cheese samples produced with different salt concentrations during 56 days of storage were analyzed. One night cultured of *E. coli* O157:H7 and *L. monocytogenes* were cultivated in TSB broth (pH 5.4 adjusted with 1 M lactic acid) and TSB broth (3.5% NaCl) for 2 hours. The adapted pathogenic bacteria (1×10^3 CFU/g) were inoculated to the recombine cheese samples with different salt concentrations (4, 6, 8, or 10%). Microbiological analysis was conducted on the certain days (1, 3, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 56) during the storage at 4°C. In the texture analysis of the cheese samples, 50% tensile strength was measured at one time by uniaxial compression method at 2 mm/s using TA. XTPlus textile analyzer.

According to the results of the analysis, with the increase of salt concentration in the samples, the bacterial counts of both pathogen bacteria decreased during the storage, while no significant difference was found. Additionally, the number of acid and salt adapted *E. coli* O157:H7 was observed as higher than the number of the control group in all samples ($P < 0.01$). Although acid adapted *L. monocytogenes* could survive one more week (28 days) than the control group, the salt adapted group showed the same survival pattern as the control group. In the texture analysis, the hardness of cheese increased significantly with the increase of salt concentration ($p < 0.05$). The hardness of cheese started to decrease again after 4 weeks of storage. At the end of the experiments, the salt in different concentrations did not have a significant effect on the survival of the pathogenic bacteria. Salt and acid adapted cells showed more resistancy and live longer than unadapted grup. Addition of salt had a significant effect on the hardness of the cheese samples.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Gıda zehirlenmelerine neden olan patojenlerin kontrol altına alınması için, gıdaların üretim ve muhafaza sırasında yüksek sıcaklık uygulaması, soğukta muhafaza, tuz ve asit uygulaması gibi farklı stres ajanları kullanılmaktadır (Gutierrez ve ark., 1995).

Tuz en çok tercih edilen gıda lezzetlendirici ve önemli bir gıda koruyucudur. Tuzun koruyucu olarak kullanılması çok eski zamanlara kadar gitmektedir. Geleneksel teknolojilerde tuzlama fermantasyonla birlikte daha etkili koruma mekanizmasını meydana getirmektedir. Bu yöntemler güvenli bir gıda muhafaza yöntemi olarak tanımlanmasına rağmen, son yıllarda yapılan çalışmalarda patojen mikroorganizmaların çeşitli streslere adapte olarak direnç kazandıkları gösterilmiştir (Russell ve ark., 1995; Shee ve ark., 2010).

Mikroorganizmaların stres yanıt sistemi, çeşitli stresler tarafından aktive olarak streslere karşı korunmasını sağlar. Mikroorganizmaların stres faktörlerine karşı tolerans veya direnç artışının sağlanması, spor gibi dormant durumdaki hücre formasyonlarının oluşması, konak organizmaların savunmasından kaçma veya adaptif mutasyonlarının gerçekleştirilmesi gibi strese karşı adaptif veya farklı tipteki streslere karşı tolerans yanıtlarını artırmaktadır (Öztürk, 2010).

Peynir gibi süt ürünleri üzerindeki mikroorganizmaların fermantasyon gibi gıda üretim teknolojisinde düşük pH uygulamaları yaygın olarak kullanılmaktadır. Asitli ortam patojenlerin asit adaptasyon yeteneğini artırmakta ve asit ortama daha dirençli

hale getirmektedir. Gıdaların hazırlanma aşamalarında meydana gelen asitli ortam mikroorganizmaların hücre içi hidrojen iyonlarının sitoplazmadan hücre dışına pompalar, bu metabolizma ile ilgili çeşitli fonksiyonların durması ve sonunda mikroorganizmaların gelişme hızının azalmalarına sebep olmaktadır (Hill ve ark., 1995).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, hemorajik kolit vakalara sebep olan *Escherichia coli* O157:H7'nin aside dirençli olduğunu ve bu özellik ile midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçebildiğini gösterilmiştir. Meyve suyu, cottage peyniri gibi asitli gıdalarda diğer patojen bakteriler inhibe olurken, bu asitli ortamın *E. coli* O157:H7'nin gelişmeleri için bir avantaj olduğu gösterilmiştir (Halkman ve ark., 2001).

Listeria monocytogenes, epidemik gıda kaynaklı hastalıklara, gastroenteritis, merkezi sinir sistemi enfeksiyonu hatta ölü doğum gibi ciddi vakalara neden olmaktadır. Bu patojen bakteri, düşük pH ve yüksek tuzlu ortamlarda ve geniş bir sıcaklık aralığında gelişme yeteneğine sahiptir. Shabala ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada *L. monocytogenes* pH'sı 4,3-4,5 ve su aktivitesi 0,79-0,86 olan fermente et ürünlerinde 84 gün boyunca canlılığını sürdürdüğünü ortaya koymuştur (Shabala ve ark., 2002).

2015 yılında "Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı"nın yayımlandığı "peynirin tuz ve yağ oranı ile etiket bilgilerine ilişkin standartlarını belirleyen" tebliği de peynir ürünlerinde, peynir çeşitlerine göre değişmek üzere kuru madde oranının %3 ile 7,5 arasında tuz kullanımlarını önermiştir (Anonim, 2011). Ayrıca önerilen tuz konsantrasyonları bazı bakterilerin gelişmelerini engellerken diğer bazı bakterilerin gelişmelerini stimüle edebilir. Örneğin, peynir üzerine yapılan bir çalışmada, %5'lik tuz konsantrasyonunda starter kültürlerin gelişmeleri de engellenirken, peynirde

kusur olarak bilinen koliform grubu mikroorganizmaların gelişmeleri engellenemediği rapor edilmiş (Tekinşen ve ark., 1999).

Tuzun peynir tekstürü üzerindeki önemi mikrobiyal gelişmelerin önlenmesi, proteolitik enzimlerin aktivitelerinin kontrol altına alınması ve proteinlerin suya bağlanma derecesine etkisi olarak sayılabilir. Peynir de tuz miktarı arttıkça daha sert, katı ve ufalanabilecek bir yapı oluşturduğu fakat bu özelliğin peynirin olgunlaştırma sırasında değiştiği tespit edilmiştir (Mistry ve Kasperson, 1998).

Tebliğde önerilen tuz konsantrasyonunda üretilecek peynirlerde sık bulunan *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* gibi tehlikeli patojen bakterilerin canlılıkları ile ilgili literatürde yeterince çalışma rastlanılmamaktadır. Aynı zamanda önerilen tuz limitlerinde üretilen peynirin yapısal sertliği üzerine etkisi olup olmayacağı da endüstri için bir muammaya dönüşmüştür. Bu nedenle literatürde ve endüstrinin sorularını cevaplamaya yönelik yapılan çalışmamızda farklı tuz konsantrasyonunda üretilen rekombine peynirlerde tuz azalmalarının tuz ve aside adapte yeteneği olan *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* gibi patojen bakteriler üzerindeki etkisi ile birlikte ayrıca peynir tekstürü ve diğer bozulma yapabilen mikroorganizmalra etkisi analiz edildi.

BÖLÜM 2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Peynir

2.1.1. Peynir tanımı ve önemi

Peynir, sütün peynir mayası (rennet) yardımıyla pıhtılaştırılıp, farklı yöntemle peynir altı suyunun ayrılmasından sonra pıhtının değişik şekillerde işlenmesi ve olgunlaşması ile kendisine has tat, aroma ve yapı kazanmış bir üründür. Hızlı artan bugünkü dünya nüfusu göze alındığında insan beslenmesinde çok önem kazanan bir süt ürünüdür (Kamber, 2005).

Beslenme uzmanları dengeli bir beslenme için bir kişinin her gün 30 g peynir tüketmesi gerektiğini ifade etmiştir. Peynir, yağ ve mineral maddeler açısından da zengindir. Kalsiyum, fosfor ve vitamin bakımından zengin olması sebebiyle insan beslenmesinde de önem kazanmaktadır. Esansiyel amino asitler bakımından zengin olan peynir proteini onun sağlık açısından önemini daha da arttırmaktadır (Waltner ve ark., 2008).

2.1.2. Peynir çeşitleri

Günümüzde dünya üzerinde üretilen, lezzet ve tekstür açısından birbirinden farklı 4000 civarında peynir çeşidi olduğu tahmin edilmektedir (Keven ve ark., 1998). Peynir, özelliklerine göre aşağıda görüldüğü gibi farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır (Özalp ve Kaymaz., 1992).

1. Sert peynirler
2. Dilimlik peynirler
3. Yarı sert dilimlik peynirler
4. Ekşitilmiş sütlerden yapılan peynirler
5. Yumuşak peynirler
6. Taze peynirler
7. Pişirilmiş peynirler
8. Beyaz peynirler
9. Koyun sütünden yapılmış peynirler
10. Keçi sütünden yapılmış peynirler
11. Manda sütünden yapılmış peynirler
12. Peynir altı suyundan yapılmış peynirler

Dünya Sağlık Örgütü ve Gıda Tarım Örgütü'nün 2003 yılında çalışmaları sonucunda peynirler 3 ana gruba sınıflandırılmıştır:

1. Üretildikten hemen sonra tüketilemeyen; belirli sıcaklık ve bağıl nem koşullarında belirli bir süre “ olgunlaşmış ” peynirler,
2. Yüzeylerinde ya da tüm kitlede geliştirilen özel küfler yardımıyla olgunlaşmaları sağlanan “küflü” peynirler
3. Yapıldıktan hemen sonra tüketime hazır olan “taze veya olgunlaşmamış” peynirlerdir (Anonim, 2004).

Günümüzde ülkemizdeki sütün %23'ü farklı yöntemlerle yapılan 260'dan fazla peynir üretiminde kullanılmaktadır. Bu üretilen peynirin %85'den fazlası sırasıyla beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peyniridir (Tekinşen ve Nizamlioğlu, 1993).

2.1.3. Peynirin insan beslenmesinde önemi

İnsanın büyüme ve sağlığının korunması için hayvansal gıdaları tüketmesi gerekir. Hayvansal bir gıda olan süt her zaman ve her yerde bulunabilen çeşitli besin maddeleriyle her yaştaki insanların beslenmelerinde önem kazanmaktadır. Ancak süt, hacimli olması, naklinin zor olması ve hızlı bozulması gibi sebepler ile peynir gibi daha dayanıklı ürünlere dönüştürülmektedir (İnal, 1990).

Peynirin günlük beslenmemizdeki önemi; kolay sindirilebilme özelliğinin yanı sıra, yapısında süt yağı, çözünmeyen tuzları, koloidal maddelerin tümüne yakın miktarını buldurması ve süt serumundaki çözünen tuzlar, vitaminler, serum proteinleri ve diğer besin unsurlarının da büyük bir ölçüde peynirin yapısına girmesinden ileri gelir. Peynir, özellikle yüksek oranda protein, yağ, A ve B₂ vitaminleri oldukça zengindir (Tan ve Ertürk, 2002).

2.1.4. Peynirde tuzun önemi ve yasal değişiklikler

Türk gıda kodeksi tuz tebliğine göre tuz, ana maddesi sodyum klorür olan ham tuzdan tüketime uygun nitelikte üretilen tuzlardır. Günümüzde birçok sağlık alanında olmak üzere yaklaşık 14000 türlü ürünün imalatında kullanılmaktadır. Ayrıca insan vücuduna tuzun fazla alınması yüksek kan basıncı olmak üzere inme, kalıp hastalıkları ve böbrek hastalıklarına neden olabilmektedir. Bir yetişkinin sağlıklı bir biçimde yaşaması için günde 1500 mg sodyuma ihtiyacı vardır. Bu değer bile son dönemde bazı kaynaklarda yüksek olarak nitelendirilmektedir (Anonim, 2011).

Aşırı derecede tuz tüketimi günümüzde dünya çapında bir problem olarak rapor edilmiştir. WHO ve FAO' nun 2003 yılında yayınlandığı raporlara göre günde 5 gram veya daha da az tuz tüketilmesi hedefi belirlenmiştir. Türk Hipertansiyon ve Böbrek

Hastalıkları Derneği tarafından 2008 yılında yapılan bir çalışmada Türk toplumunun tuz tüketim miktarının diğer ülkelerden yaklaşık 13 gram fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durumda çerçevesinde WHO başta olmak üzere yürütülen programların değerlendirilmeleri sonucunda Türkiye’de de çeşitli çalışmalar yürütülmeye başlanmış ve bu çalışmalarda ülkemizde aşırı tuz tüketiminin azaltılması ile ilgili farklı öneriler yer almıştır (Anonim, 2011).

2015 yılında yayılan “Türkiye Kalp ve Damar Hastalıklarını Önleme ve Kontrol Programı” çerçevesinde “4.2 Sağlıkla Beslenme A. Obezitenin Önlenmesi ve Sağlıklı Beslenmenin Sağlanması” bölümünde bulunan on bir stratejiden ikisi tuzun az tüketimi ilgili öneriler olduğu bilinmiştir. Yine aynı yıl şubat ayında “Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı”nın yayınlandığı “peynirin tuz ve yağ oranı ile etiket bilgilerine ilişkin standartlarını belirleyen” tebliği de peynir ürünlerinde, peynir çeşitlerine göre değişmek üzere kuru madde oranının %3 ile 7,5 arasında tuz kullanımlarını önermiştir (Anonim, 2011).

Peynirlerde tuz, peynirlerin karakteristik özelliklerini kontrol etmek amacıyla kullanılan bir maddedir. Farklı oranlardaki tuz, mikroorganizmaların faaliyetleri, enzimlerin aktivitesi ve farklı biyokimyasal reaksiyonları düzenler. Bununla birlikte peynirlerin tat ve aromasını, reolojisini ve tekstür özelliklerini etkileyerek peynirlerin kalitesini belirlemektedir (Cervantes ve ark., 1983).

2.1.5. Tuzun peynirdeki etkisi

2.1.5.1. Mikrobiyel gelişme üzerine etkisi

Tuzlama peynirlerde mikroorganizmaların faaliyetlerini kontrol altına alarak yabancı mikrofloranın çoğalmasını önlenmektedir. Bu etkiyi, ortamın osmotik basıncını arttırarak, su aktivitesi değerini düşürerek, enzimatik faaliyetleri yavaşlatarak ve ortamın oksijen gerilimini azaltarak oluşturmaktadır (Akgün ve Anar, 1991).

Starter kültür aktivitesi, peynirin içerdiği tuz konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Peynirlerde düşük konsantrasyonlardaki tuz oranı laktik asit kültürlerinin gelişmelerini teşvik ederek arzu edilmeyen mikroorganizmaların üremesini durdur (Guinee ve Fox, 1987).

Bazı bakterilerin üremelerini engelleyen tuz düzeyleri diğer bazı bakterilerin üremelerini de stimüle edebilir. Starter kültürlerin gelişmeleri %5'lik tuz konsantrasyonunda engellenirken, peynirde diğer risk yaratabilen koliform grubu mikroorganizmaların gelişmeleri engellenmediği, aksine %3-4'lük tuz konsantrasyonlarında bu bakterilerin gelişiminin teşvik ettiği açıklanmıştır (Tekinşen ve ark., 1999).

2.1.5.2. Tekstür özellikleri üzerine etkisi

Tuzun peynirlerin tekstürü üzerine etkisi mikrobiyel gelişmeyi önlemesi, proteolitik enzimlerin aktivitelerini kontrol etmesi ve proteinlerin su bağlama özellikleri üzerine etkili olmasından kaynaklanmaktadır (Cervantes ve ark., 1983).

Tuz oranı arttıkça peynirin sert ve ufalanabilir bir yapı aldığı görülmektedir fakat bu özellik peynirin olgunlaşması sırasında değişmektedir. Olgunlaşma süresince peynirin tekstürel yapısında gelişiminde iki faz şekillenecektir: ilk fazda taze peynirlerin yapısı ilk iki hafta içinde daha homojen ve pürüzsüz bir yapıya dönüşmektedir. Bu fazda oluşan α s1-I peptidi ilk safhalarda ve tüm peynirlerde bulunmaktadır. İkinci fazda ise geriye kalan α s1-I- kazeinin ve diğer kazeinlerin parçalanması aylarca devam etmekte ve yapıdaki değişim kademeli bir şekilde olmaktadır (Lawrence ve ark., 1987).

2.1.5.3. Duyusal özelliklere etkisi

Tuz, enzim ve mikroorganizmaların aktiviteleri üzerine etkilerinden dolayı tat ve aroma üzerine de direkt olarak etkilidir.

Mistry ve Kasperson tarafından yapılan bir çalışmada, çedar peynirinde tuz miktarı arttıkça peynirin acılığının azaldığı belirlenmiştir. Tuz oranının çok yüksek olması durumunda ise peynirde yapısal kusurlar olmasına karşın aromada herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Bunun nedeni tuzun enzim aktivitesini engelleyerek acı tada neden olan proteoliz ürünlerin oluşmasını engellemesidir (Mistry ve Kasperson, 1998; Atasoy ve Akın, 1999).

2.2. *Escherichia coli* O157:H7

2.2.1. Tarihçesi ve tanımı

E. coli, ilk 1885 yılında Theodor Escherich tarafından tanımlanan sonra Castellani ve Chalmer tarafından "*Escherichia*" cins adı önerildikten sonra *Escherichia coli* olarak isimlendirilen bir *Enterobacteriaceae* familyasına ait bir bakteridir (Walker, 2008). *E.*

E. coli O157:H7 ise *Enterohemorajik Escherichia coli* (EHEC) olarak bilinen *E. coli* tipleri içerisinde en önemlisi olup çoğu gıda kaynaklı enfeksiyona hatta ölüme yol açabilen serotipidir. *E. coli* O157:H7 hemolitik üremik sendrom (HUS) adı verilen yaşamı ciddi anlamda tehdit eden etkide bulunur. HUS hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek yetmezliğinden oluşmaktadır (Levinson, 2008).

E. coli O157:H7 Kuzey Amerika'da ve Avrupa ülkelerinde sık görülerek salgınlar meydana getirmektedir. Türkiye'de ise yapılan araştırmalarda bu suşunun epidemiyolojik ve mikrobiyolojik olarak varlığı tespit edilmiştir (Ustaçelebi, 1999). *E. coli* O157:H7'nin sebep olduğu salgınlar arasında en önemlileri 1992-1993 yıllarında 700'den fazla kişilerin etkilendiği Amerika Birleşik Devletleri'nin batısında görülen salgın ile 1996 yılında Japonya'da 8000'den fazla kişiye etkileyen salgınlardır (Meng ve ark., 1998).

2.2.2. Genel özellikleri

E. coli O157:H7 serotipi, Shiga benzeri toksin salgılayan, çubuk şekilli Gram-negatif, 0,4-0,7 µm eninde, 2-6 µm boyundaki bir bakteridir. Serotipi ismindeki "O" somatik antijen, "H" ise flagella antijenine göre tiplendirildiğini göstermektedir. Somatik O antijenleri lipopolisakkarit formundan, ısıya (100°C'ye) ve alkole dayanıklıdır (Bilgehan, 1996). Flagella H antijenleri ise protein tabiatında, ısıya dayanıksız ve monofaziktir (Bilgehan, 1996; Erdem, 1999).

E. coli O157:H7'nin en önemli özelliklerinden biri asidik koşullara dirençli olmasıdır. Bu özelliği nedeniyle vücudun en önemli savunma mekanizmasından biri olan midenin asidik ortamından çoğunlukla etkilenmeden bağırsaklara geçmektedir. *E. coli* O157:H7'nin diğer önemli bir özelliği de ağız yoluyla yaklaşık 100 bakterinin alınmasıyla insanlarda hastalık oluşturabilmesi, yani minimal enfeksiyon dozunun

çok düşük olmasıdır. *E. coli* O157:H7 ısıya duyarlı olup pastörizasyon ve pişirme gibi ısı işlemler yardımıyla etkisiz hale gelebilir. Fakat soğutarak ve dondurarak muhafaza koşullarında uzun süre canlılığını koruyabilmektedir (Özkuyumcu, 2009).

E. coli O157:H7'nin, *E. coli* diğer suşlarından farklı 3 temel özelliği mevcuttur:

1. 45°C üzerindeki sıcaklıklarda gelişmemesi
2. Sorbitolü fermente edememesi
3. 4-methy lumbelliferone glucuronide (MUG) hidrolize eden B-glukorinadaz enzim aktivitesine sahip olmamasıdır (Leyer ve ark., 1995).

2.2.3. Kaynağı ve yayılması

E. coli O157:H7 kaynağı ile ilgili farklı araştırmalar yapılmış ve sonunda bu bakterinin sıcak kanlı hayvan olarak tanımlanan memeli ve kanatlı hayvanların dışkı yoluyla gıdaya bulaştığı gösterilmiştir (Gürgün ve Ayhan, 1996).

E. coli O157:H7 serotipinin temel kaynağı sığır olarak bilinir. Bunun nedeni pek çok vakalarda yeterince pişirilmemiş etlerin ve çiğ sütlerin zehirlenmelerde sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Bununla beraber hayvan dışkısı ile bulaşmış toprak ve suyun da patojen taşınmasında ve yayılmasında önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir (Aksu ve ark., 1999).

Süt hayvanlarının beslenmesinde kullanılan mısır silajı gibi yemlerin az olsa da *E. coli* O157:H7 içerdiğinin belirlenmesi sığırların dışkılarında bu bakteri sayısının artmasına sebebiyet vermekle birlikte, yeni yapılan çiftliklerde beslenen sığırların dışkılarında *E. coli* O157:H7 daha az rastlanmıştır. Bu daha önce bu bakterinin ana kaynağının sığır olduğu ve insanlara geçişin süt ürünleri ile olduğu düşünülmüş ve

süt ürünlerinde ilişkin olarak yapılan çalışmalardan bu varsayımı doğru kılacak bulgular elde edilmiştir (Murinda ve ark., 2002).

Yapılan bir çalışmada *E. coli* O157:H7 bulaştırılan civcivlerin 8 ay sonrasına kadar dışkılarında *E. coli* O157:H7'nin belirlenmesi üzerine önce bu bakterinin ana kaynağı olduğu düşünülmüştür. Daha sonra 50 çiftlikte 500 hayvanın dışkısından da *E. coli* O157:H7'ye rastlanmaması kanatlı hayvanların bu açıdan potansiyel kaynak olmadığını göstermiştir (Aksu ve ark., 1999).

2.2.4. Gelişme koşulları

Gıda kaynaklı zehirlenmelere yol açabilen *E. coli* O157:H7'lerin gelişmeleri optimum 37°C'da ve pH 7,2 olarak tespit edilmiştir. Özellikle bu patojenin aside direnç göstermesi midenin kuvvetli asit ortamından rahatlıkla geçebilmesini sağlamıştır. Bu özelliği nedeniyle elma suyu ve geleneksel fermente et ürünleri gibi güvenli olarak kabul edilen gıdalarda da canlılığını koruyabilmektedir (Söyletir ve Topçu, 1996).

Yapılan bir çalışmada *E. coli* O157:H7 'nin pH'sı 3,6-4,0 olan elma şarabında 8°C'da 1 ay, pH'sı 4,2 olan et salatalarında birkaç hafta canlı kalabildiğini kanıtlanmıştır. Elma suyu, mayonez ve peynir gibi asitli gıdalarda diğer patojenlerin inhibe olması *E. coli* O157:H7'nin rahatlıkla gelişebilmesini sağlayan bir avantaj olduğu görülmüştür (Tunail, 1999).

E. coli O157:H7 serotipi yüksek tuz konsantrasyonlarında da dirençlidir. Yapılan bir çalışmada bu bakterinin inhibisyon etkisinin %8,5 tuz konsantrasyonunda başladığı ve % 6,5'a kadar gelişebildiği kanıtlanmıştır. Bir başka çalışmada TSB besiyerine ilave edilen %3,5 ve %6,5 NaCl derişimlerinde 40 saatlik inkübasyon

süresinde $4,6 \times 10^4$ kob/ml düzeyde başlanan *E. coli* O157:H7'nin 10^8 kob/mL düzeyine arttığı saptanmıştır (Glass ve ark., 1992; Govaris ve ark., 2002).

2.2.5. Peynirlerde kontaminasyonu

Bakteriyel kontaminasyonu süt endüstrisinde çözülmesi zor olan bir problemdir. Bu bakteriler ciddi hastalıklara hatta ölümlere yol açabilmektedir. Yüksek protein ve kalsiyum içeren peynirde, farklı yollarla bulaşan birçok patojen çok hızlı bir çoğalma göstermektedir. Peynirin neden olduğu gıda zehirlenmelerinden brusellosis, malta humması, tifo, paratifo, dizanteri ve gastroenteritis örnek olarak verilebilir. Bu hastalıklara neden olan patojenlerin bazıları peynirlerin protein, yağ, karbonhidrat gibi besin kaynaklarını kullanarak kötü tat ve kokulara sebep olan metabolitleri de üreterek acılaşıma ve kokuşma gibi bozulmalar oluştururlar (Vatan, 1996).

Peynirlere bulaşabilen bu patojenlerin arasında en tehlikelilerden birisi *E. coli*'nin O157:H7 suşudur. *E. coli* O157:H7 enfeksiyon oluşturması bakterinin bağırsak epiteline yapışması ve burada kolonize olması ile gerçekleşir. Enfeksiyon aynı zamanda kırmızı kan hücrelerinin yıkımı sebebiyle HUS olarak adlandırılan komplikasyonlara neden olmaktadır. Semptomları arasında şiddetli kanlı ishal ve abdominal kramplar sayılabilir (Baştürk, 2005).

Lin ve ark. Japonya'da yapılan bir araştırmada *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının çocuklara göre gençlerde daha da etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu bakteriyle rastlanan 20 yaş altındaki kişilerin semptomları dışkılarında *E. coli* O157:H7 serotipi bulunan 30-45 yaş arasındaki kişilerin semptomlarından yaklaşık %10 daha fazla olduğu gösterilmiştir (Lin ve ark., 2000).

2.3. *Listeria monocytogenes*

2.3.1. Tarihçesi ve tanımı

L. monocytogenes günümüzde gıdadan kaynaklanan enfeksiyon vakalarının artışına ve ölümlere sonuçlanmalarına sebep olan patojenlerin biri olarak tanımlanır. İlk 1891 yılında Hayem tarafından insan dokularında tespit edilmiştir (Gray ve Killinger, 1966).

Hülpers 1911 yılında bu bakteriyi tavşan ciğerinden izole etmiş ve *Bacillus hepatis* olarak adlandırmıştır. Pirie, 1927 yılında Güney Afrika'da gerbil karaciğerinden izole ederek Güney Afrika Araştırma Enstitüsü tarafından *Listerella hepatolytica* olarak adlandırılmıştır. Nyfeld, Danimarka'da 1929 yılında, hasta insanların kanından elde ettiği bakteriyi *Listerella hominis* ismiyle nitelendirmiştir. Farklı isimleriyle adlandırılan bu bakteriyi 1940 yılında Pirie *Listeria monocytogenes* adının kullanılmasını önermiştir ve günümüze kadar bu adı kullanılmıştır (Gray ve Killinger, 1966; Rocourt ve Buchrieser, 2007; Wagner ve McLauchlin 2008).

2.3.2. Genel özellikleri

L. monocytogenes çubuk şeklinde, Gram-pozitif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik, aerobik ve mikroaerofilik koşullarda üreyebilen bir bakteridir. Günümüze kadar somatik (O) ve flagellar (H) antijenlerin etken antiserumları ile 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d 4e ve 7 serotiplerine rastlanmıştır ve gıda kaynaklı zehirlenmelerin sıklıkla 1/2a, 1/2b ve 4b serotipleri ile olduğu tespit edilmiştir (Denis ve Ramet, 1989; Kathariou, 2000).

Genetik çalışmalar sonucunda *L. monocytogenes* serotipleri genetik özelliklerine göre aşağıda görüldüğü gibi birkaç gruba ayrılmıştır (Rocourt ve Buchrieser, 2007):

Grup I : 1/2a, 1/2c, 3a ve 3c serotipleri

Grup II: 1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e ve 7 serotipleri

Grup III: 4a ve 4c serotipleridir

L. monocytogenes genellikle çoğu besiyerlerinde rahatlıkla üreyebilmesine karşın gelişmesi için riboflavin, tiamin veya tiotik asit gibi B grubu vitaminlere, sisteyin, lösin veya valin gibi aminoasitlere ihtiyaç duymaktadır. Glikoz, ramnoz, maltoz, mannoz, salisin, früktoz gibi bazı karbonhidratları asit oluşturarak fermente edebilirler. Nitrat ve H₂S negatif, Metil-Red ve Voges-Proskauer (MR-VP) pozitifdir. Eskulini hidrolize edebilir ve kanlı agarlarda β-hemoliz yapabilir (Hampikyan, 2006; Wagner ve Mclauchlin, 2008).

2.3.3. Kaynağı ve yayılması

Günümüze kadar *L. monocytogenes* ilgili yapılan birçok çalışmada bu patojenin geniş çaplı bulaşma kaynağı olduğu gösterilmiştir. Bulaşma kaynağı toprak, su, hava, bitki, yem, gübre, hayvan, insan, işleme ekipmanları, katkı maddeleri ve ambalaj materyalleri olarak sayılabilir (Banwart, 1983).

Ekstrem sıcaklık, pH ve su aktivitelerine oldukça dirençli olan bu bakteri kolaylıkla yemlere, yemlerden hayvanlara, hayvanlardan et veya süt ürünlerine kontamine olabilir ve bu şekilde insanlara bulaşabilmektedir (Johnson ve ark., 1990).

Bundan başka mezbahalarda hayvan derileri veya dışkılarından personellerin kıyafetine veya kullanılan aletleriyle et ürünlerine bulaşabilmektedir. Ayrıca bu patojenin yayılmasında üretimde kullanılan alet ve ekipman, personel, transport, satış

yada depolama gibi ikincil kontaminasyon kaynakları da önemli faktörler arasında yer almaktadır (Luke ve ark., 2010).

2.3.4. Gelişme koşulları

L. monocytogenes yüksek ve düşük sıcaklıklara dayanıklı olduğu, nemli ortamda birkaç ay, tuzlu ve kuru ortamda iki yıla kadar yaşayabildiği bilinmektedir (Sergelidis ve ark., 2009).

L. monocytogenes suşları su aktivitesi $a_w < 0,93$ ve pH $< 4,3$ olan ortamlarda da üreme yeteneği olduğu tespit edilmiş (Vermeulen ve ark., 2007).

Yapılan bir çalışmada *L. monocytogenes*'nin 0-45°C arasında, optimum 30-37°C arasındaki sıcaklıklarda üreyebildiği ancak 60°C ısıda 30 dakikada öldükleri bildirilmiştir. Üreme hızı düşük sıcaklıklarda yavaşladığı ve 0°C altındaki sıcaklıklarda uzun süre canlı kaldığı, bunun sebebinin *ltrA*, *ltrB* ve *ltrC* genleri tarafından elde edilen proteinler olduğu kanıtlanmıştır (Jay, 2000; Erol, 2007).

L. monocytogenes, aerob ve anaerob koşullarda üreyebilir ancak modifiye atmosfer paketlemede yüksek oranda CO₂ kullanarak düşük sıcaklıklarda bu patojenin üremesi baskılanmaktadır (Fernandez ve ark., 1997).

2.3.5. Kontaminasyonu

Gıda kaynaklı patojenlerden birisi olan *L. monocytogenes* farklı yollarıyla gıda ürünlerdeki kontaminasyonlara sebep olmaktadır.

Liu ve arkadaşları yaptıkları bir araştırma sonucunda endüstriyel, tarımsal, nehir ve kanalizasyon sularındaki *Listeria* türlerinin deniz suyundan daha fazla olduğunu göstermişlerdir (Liu ve ark., 2006). Kuzey İtalyada yapılan bir çalışmada 50 nehir suyu örneğinin 11'inde *Listeria* türlerinin olduğu ve bunun 6'sının *L. monocytogenes* suşu olduğu rapor edilmiştir (Luppi ve ark., 1988; Liu ve ark., 2006).

Süt ürünlerinde ham maddenin yetersiz veya yanlış pastörizasyonu *L. monocytogenes*'in kontaminasyonuna yol açmaktadır. İsviçre'de 1990 yıllarında 9 senelik bir araştırma sonucunda 76271 adet süt örneğinin yaklaşık %5'inde *L. monocytogenes* rastlanmıştır. Silva ve arkadaşlarının 1998 yılında Brezilya'da yaptıkları bir çalışmada 103 peynir örneğinin % 10,6' sının *L. monocytogenes* içerdiği tespit edilmiştir (Silva ve ark., 1998; Pak ve ark., 2002).

2.4. Bakterilerde Adaptasyon

2.4.1. Adaptasyonun tanımı

Mikroorganizmaların gelişimine olumsuz etkisi olan herhangi bir zararlı faktör veya durum “stres” olarak adlandırılır. Mikroorganizmalar herhangi bir strese maruz bırakıldığında hücre aktivitelerini olumsuz etkileyen çeşitli değişmeler ortaya çıkabilmektedir (Dikici, 2009).

Adaptasyon, mikroorganizmaların strese karşı gösterdikleri önemli bir yanıt biçimidir. Mikroorganizmalar ölümcül olmayan stres altında hayatta kalma toleranslarını artırır. Bu uyum genellikle adaptif yanıt veya ortama alışma gibi kelimelerle tanımlanmaktadır (Yousef ve ark., 2003).

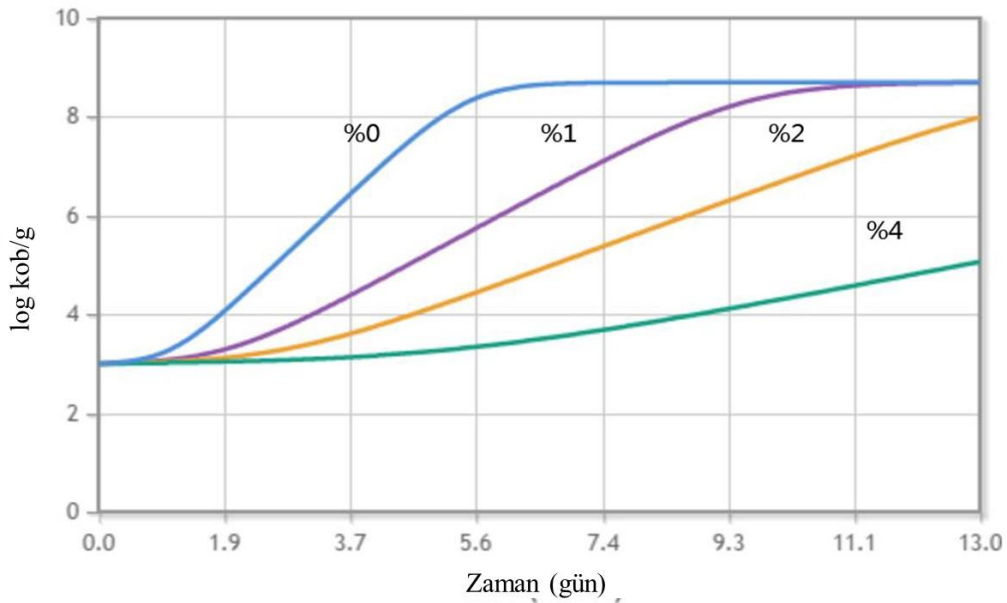
2.4.2. Adaptasyon ve gıda güvenliği

Mikroorganizmalar streslere karşı olan adaptif yanıtları, gıda güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır. Stres faktörleri stresin türüne ve uygulanma yöntemlerine göre sıcaklık, asitlik, ozmotik veya oksidatif gibi hücrel yanıtlara neden olmaktadır. Gıda üretiminde, ısı, basınç ve radyasyon gibi fiziksel uygulamalar, asitler, tuzlar gibi kimyasal uygulamalar, rekabetçi flora, mikrobiyal antagonizm gibi biyolojik stresler bakterilerin gelişmesini etkilemektedir. Strese adapte olan mikroorganizmalar ise bu streslere karşı direnç gösterme yetenekleriyle birçok zararlı hatta ölümcül koşullarda bile yaşayabilmektedir. Örneğin, Lou ve arkadaşları 1997 yılında yaptıkları bir çalışmada 45°C'de 1 saat ısı stresi uygulanmasından sonra *L. monocytogenes*'in etanol ve hidrojen peroksit karşı direnç gösterdiğini rapor etmişlerdir (Lou ve Yousef, 1997). Benzer şekilde, Yousef ve arkadaşlarının yaptığı sucuk üretimi ile ilgili bir çalışmada, fermantasyon sırasında gelişen asit ortamında *L. monocytogenes* gibi adapte olan bazı patojenlerin ısıtma ve tütüleme işlemlerine de direnç kazanarak tüketici için risk teşkil edebildiği rapor edilmiştir (Yousef ve ark., 2003).

2.4.3. Adaptasyon çeşitleri

2.4.3.1. Tuz adaptasyonu

Tuz gıda üretiminde doğal koruyucu madde olarak yaygın kullanılmaktadır. Birçok gıda tuz veya tuzlu salamura içerisinde muhafaza edilmektedir. Mikroorganizmaların genel olarak tuzlu ortamda gelişmeleri engellenir. Bir prediktif mikrobiyoloji sitesine göre (<http://www.combase.cc>) *E.coli*'nin gelişme hızı artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak azalma göstermiştir (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Combace program tarafından belirlenen *E.coli*'nin farklı tuz konsantrasyonundaki gelişmesi

Şekil 2.1.'de Combace program tarafından belirlenen *E.coli*'nin farklı tuz konsantrasyonundaki gelişme eğrileri görülmektedir (T:35°C, pH:7, inokülasyon başlangıç sayısı: 3 log kob/g, tuz oranı sırasıyla % 0, %1, %2 ve %4 dür).

Yüksek tuz konsantrasyonu ortam su aktivitesinin düşmesine ve mikroorganizmalarda ozmotik stres oluşmasına sebep olurlar (Russel ve ark.,1995). Fakat, öldürmeyen dozda tuz stresi altında kalmış *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* gibi bazı patojenler adaptasyon yeteneğiyle zor durumlarda da gelişebilir ve zehirlenmelere neden olabilir (Russel ve ark.,1995).

2.4.3.1.1. *E. coli* O157:H7 de tuz adaptasyonu

Günümüze kadar tuz adaptasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda *E.coli* O157:H7 suşunun birçok gıda ürünlerinde canlılığını sürdürülebilmeleri rapor edilmiştir. Bu *E.coli* O157:H7'nin betain gibi ozmotik koşullara karşı koruyucu maddeleri biriktirme yeteneğine sahip olduğundandır (Abee ve Wouters, 1999).

Glass ve arkadaşları 1992 yılında fermente bir et ürününde *E.coli* O157:H7'nin davranışı üzerine pH ve NaCl'nin etkileri araştırmışlardır. Çalışmada *E. coli* O157:H7 suşu pH 4,8 ve % 6,5 NaCl olan 4°C'lik depolama sırasında canlılığını sürdürebildiği ve lag fazın normalden daha uzun olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Goh ve arkadaşları *E. coli* ATTC 8739 suşu üzerinde yaptıkları diğer bir çalışmada ardışık 80 pasajlama yaparak kültürü tuza adapta etmişlerdir (Goh ve ark., 2013). Bu pasajlama sırasında %4 tuz içeren besiyerinde en iyi geliştiği tespit edilmiştir. Adapta edilmiş bu kültürün %11 tuz konsantrasyonunda bile geliştiği rapor edilmiştir (Glass ve ark., 1992).

2.4.3.1.2. *L. monocytogenes* de tuz adaptasyonu

L. monocytogenes'in tuza adaptasyonu, betain ve aminoasit biriktirme yeteneğine bağlıdır. Betain, bitki kökenli gıdalarda yüksek oranlarda bulunan bir maddedir. *L. monocytogenes*'in betain alımı; enerji bağımlı, tuz ya da soğuk stres uyarımlı taşıma sistemi aracılığıyla gerçekleşmektedir (Gutierrez ve ark., 1995).

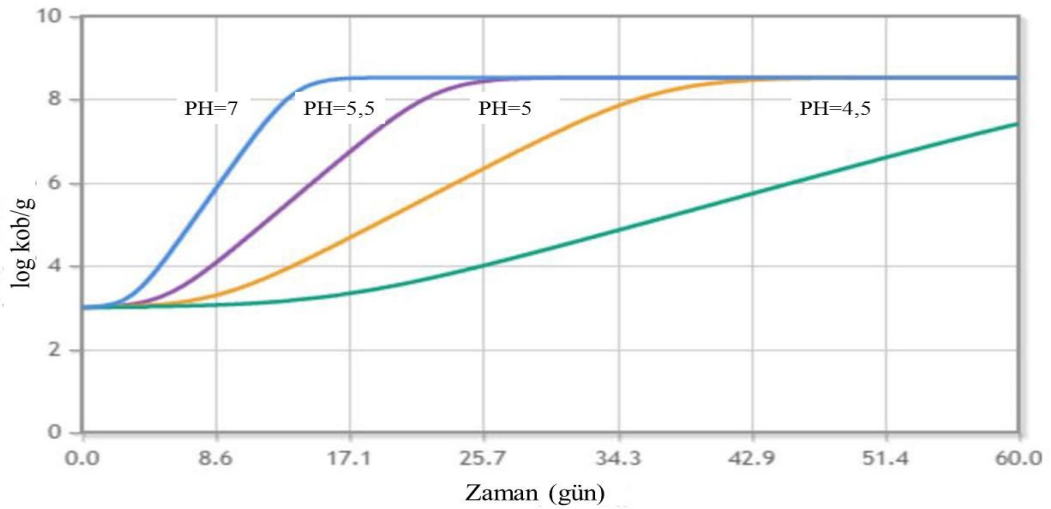
Faleiro ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptığı bir araştırmada *L. monocytogenes*'in farklı suşlarını %3,5 NaCl içeren besiyerinde 2 saat inkübe ederek tuza adaptasyon kazanmasını sağlamışlardır. Adapte olan suşların %20 NaCl ortamındaki yaşama yeteneği incelenmiş. Sonuç olarak incelenen 9 suşdan sadece ikisinde tuza karşı direnç arttığı tespit edilmiştir (Faleiro ve ark., 2003).

Yüksek tuz konsantrasyonu stresi *L. monocytogenes*'daki bazı proteinlerin sentezlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Esvan tarafından yapılan bir çalışmada izotonik koşullarda (5 g/L NaCl) geliştirilen *L. monocytogenes*'lerde çok sayıda proteinin sentezlendiği, tuz konsantrasyonunun 35 g/L olduğunda 5 proteinin

baskılandığı tespit edilmiştir. Tuz konsantrasyonunun 65 g/L'ye yükseltildiğinde 21 proteinin baskılandığı ve 11'nin kaybolduğu kanıtlanmıştır. *L. monocytogenes*'nin ozmotik stres altında gelişme sırasında hücre içerisinde glisin ve betain artması sonucunda tuza olan direnci artmaktadır (Ko ve ark., 1994). Örneğin, Patchett ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 75 g/L NaCl düzeyinde geliştirilen *L. monocytogenes*'nin betain, glisin ve prolin gibi maddelerin NaCl yokluğundan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Patchett ve ark., 1992).

2.4.3.2. Asit adaptasyonu

Geleneksel gıda güvenliği fikri ile gıdaların üretiminden tüketimlerine kadar patojen bakterilerin sayılarının kontrol edilmesi ile güvenli gıda sağlayacağı kabul edilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmaların raporlarında işlem sonrasında hayatta kalan bakterilerin mide asidi gibi yüksek asitli ortamlarda daha dirençli olduğu ve dolayısıyla daha düşük sayıda alınsa bile enfeksiyon oluşturabilecekleri söz konusu olmuştur. Bir prediktif mikrobiyoloji sitesine göre (<http://www.combase.cc>) *L. monocytogenes*'nin gelişme hızı azalan pH değerine paralel olarak azalma göstermiştir (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Combase program tarafından belirlenen *L. monocytogenes*'nin farklı asit ortamında gelişmesi

Şekil 2.2.'de Combase program tarafından belirlenen *L. monocytogenes*'nin farklı asit ortamında gelişme değerleri gösterilmiştir (T: 35°C, A_w : 0,997 inokülasyon başlangıç sayısı 3 log kob/g, pH'sı sırasıyla 7, 5,5, 5, 4,5)

Asit adaptasyonu bakterilerde birkaç değişikliğe yol açarlar. Bunlar: hücre membranında meydana gelen değişimler, sitoplazma pH'sının korunması için meydana gelen enzimatik ve fizyolojik değişimler ile asidik ortamda hücresel bileşenlerde bozulmalar veya tamirinin gerçekleştirilmesidir. Yapılan çalışmalarda sitoplazmanın tampon kapasitesi, düşük proton geçirgenliği ve hücre membranındaki proton pompasının asit direnç mekanizmasında önemli bir yer aldığı belirlenmiştir (Foster ve Hall, 1991)

2.4.3.2.1. *E.coli* O157:H7 de asit adaptasyonu

Son yıllarda *E. coli* O157:H7 ile ilgili yapılan çalışmalarda bu patojenin asitlik ortamlarda direnç mekanizmalarının olduğu ortaya konmuştur. Bu bakteriler orta düzeydeki asitlik ortamlarda kaldığında spesifik genler tarafından kontrol edilen asit şok proteinleri sentezleyerek daha yüksek konsantrasyondaki asitlik ortamlarda canlı kalabilmektedirler. Yüksek asitliklere karşı kazanan bu direnç ATY (Asit Tolerans Yanıtı) olarak ifade edilmiştir. *E. coli* O157:H7'nin ATY mekanizmasını kullanarak, asitli ve fermente gıdalarda direnç kazanır. Ayrıca ATY bu patojenin enfeksiyon dozunun çok düşük olmasından sorumlu olan önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir (Foster ve ark.,1990; Tosun ve ark., 2003) .

Patojenin aside direnç kazandığında mayonez ve ketçap gibi asidik gıdalarda da gelişmeleri arttırdığı tespit edilmiştir (Weagant ve ark., 1994; Tsai ve Ingham, 1997). Örneğin, Tosun ve arkadaşları 2003 yılında adaptasyon süresi ve farklı pH düzeylerinin asit toleransı üzerine yaptıkları bir çalışmada *E. coli* O157:H7'nin 2

saat pH 4,5 olan asitlik ortamına maruz bırakıldıktan sonra bu suşun pH 3'de asit artışına direnç göstererek ürediği gözlemlenmiştir (Tosun ve Gönül, 2003). Benzer şekilde Öztürk 2010 yılında asit adaptasyonun *E. coli* O157:H7'nin Türk sucuklarındaki yaşama düzeyleri üzerindeki bir çalışmada bakteriyi pH 4,5, 5,0 ve 5,5'te 1, 2, 3 ve 4 saat süreyle aside adapte ederek pH 3,0 ve 3,5'ta yaşama yeteneği incelenmiştir. Sonuç olarak *E. coli* O157:H7'nin daha düşük asitlik ortamında yaşayabildiği saptanmıştır (Öztürk, 2010).

2.4.3.2.2. *Listeria monocytogenes* de asit adaptasyonu

L. monocytogenes'in yaşamaları zor olan düşük pH'larda yaşayabilmesi stres adaptasyon mekanizması tarafından sağlanmaktadır. Bu mekanizmalardan biri pH homeostasis sistemidir. Asit strese maruz kaldığında hücreler asit tolerans yanıtı ile bazı değişimler meydana getirirler. *L. monocytogenes*, ATPaz, ATP olarak adlandırılan sistemi kullanarak hücre membranında proton taşımını gerçekleştirmektedir (Phan-Thanh ve Mahouin, 1999).

L. monocytogenes ölümcül (asit stres) ve ölümcül olmayan (asit adaptasyon) koşullarında geliştirildiğinde asit şok proteinleri sentezlerler. Ayrıca ölümcül pH'ya maruz kalan hücrelerde ölümcül olmayan pH'ya göre daha az protein sentezlendiği ve bu proteinlerin çoğunluğunun her iki pH koşulunda da ortak olduğu tespit edilmiştir (Gandhi ve Chikindas, 2007).

Gahan ve arkadaşları 1996 yılında yaptıkları çalışmada, aside adapte kazanmış ve kazanmamış *L. monocytogenes*'in farklı asidik gıdalarda yaşama oranlarını karşılaştırmışlardır. Aside adapte olmuş *L. monocytogenes* ve aside dayanıklı mutant suşu ticari yoğurt ve laboratuvar koşullarında üretilen peynirlerde daha yüksek yaşama oranı göstermiştir. Aside dayanıklı sert peynirlerin olgunlaşması sırasında

daha yüksek direnç göstermiş ve 70 güne kadar canlılığını sürdürdüğü rapor edilmiştir. Ayrıca aside adapte edilen *L. monocytogenes*'in aside adapte edilmeyen kültüre göre daha yüksek yaşama oranına sahip olduğu görülmüştür (Gahan ve ark., 2007).



BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Materyal ve kimyasallar

Süt proteini tozu (SPT 85) ve yağsız süt tozu (YST 35): Bu çalışmada peynir üretim materyali olarak Sakarya Güneşoğlu Süt Ürünleri ve Gıda Maddeleri Sanayinden sağlayan SPT 85 süt tozu (%85 protein, %5,5 laktoz, %2,5 yağ, %8,5 kül, %6 nem) ve YST süt tozu (%34-37 protein, %51-56 laktoz, % 1,25 yağ, %7,2-8,2 kül, %5 nem) kullanılmıştır.

Mikroorganizma kültürleri: Çalışmada kullanan *Escherichia coli* O157:H7 ve *Listeria monocytogenes* liyofilize suş olarak Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nün kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

Starter kültürü: Ticari kültür olarak *Lactococcus lactis subsp. lactis* ve *L. lactis subsp. cremoris* %0,1 oranında kullanmıştır (R-704 CHR HANES's Hungerford).

3.1.2. Kullanılan ekipmanlar

Otoklav; HIRAYAMA® marka HV-85L model

İnkübatör; Elektro-mag® marka M420p model

Ultrasonik su banyosu; Elektro-mag® marka M96 kpk model

pH-metre; Hanna marka pH 211 model

Tekstür cihazı; Kohesifliği TA. XT Plus

Fırın; Elektro-mag® marka M5040 model

Su aktivite cihazı; AQUA Lab marka Series 3 model

Koloni sayım cihazı; ColonyStar marka 12105 model

Vorteks cihazı; DragonLab marka MX-S model

Hassas terazi; AND marka GR-200 model

Isıticılı manyetik karıştırıcı; IKA C-MAG marka HS7 model

Homojenizatör; BagMixer® marka 400 model

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Analizlerde, aşağıda belirtilen analitik saflıktaki kimyasallar ve distile saf su kullanılmıştır.

Tryptic Soy Broth (TSB), Merck

Yeast Extract Granulated, Merck

Peptonlu Dilüsyon Sıvısı, Merck

Plate Count Agar (PCA), Merck

Oxytetracyclin-Glucose-Yeast Extract Agar (OGYE), Merck

M17 Agar, Merck

Lactobacillus Agar acc. to De Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRS), Merck

Sorbitol-MacConkey Agar (SMAC), Merck

Modified Oxford Listeria Selective Agar, Merck

NaCl, Sigma-Aldrich

Laktik asit, Sigma-Aldrich

CaCl₂, Sigma-Aldrich

3.2. Metot

3.2.1. Peynir yapımı

Yaptığımız çalışmada rekombine peynir üretimi için standart bir yapım yöntemi olmadığı için çalışmada daha önce yapılmış çalışmalardan yararlanarak üretim gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2010).

Laboratuvarında süt hazırlanması için süt tozunu SPT 85: YST 35=3:1 (MPC 85 = 2310 g, SMP=770 g) olarak saf suda (12320 g, 50°C) tamamen çözüldükten sonra karıştırılıp 4°C'lik ortamda 24 saat bekletilmiştir. Süt hazırlandıktan sonra sürekli karıştırmak sureti ile 78°C'de 2 dakikalık pastörizasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra 35°C'ye kadar soğutulmuştur. Sütün pH 'sı %30'luk laktik asit kullanılarak 6,3 ayarlandıktan sonra %0,1 oranında *Lactococcus lactis subsp. lactis* ve *L. lactis subsp. cremoris* içeren starter kültür (3,2 g) ve %0,2 w/w CaCl₂ (25 g) ilave edilerek 60 dk süre ön olgunlaşmasına olanak verilmiştir. Ön olgunlaştırmadan sonra süt, her biri 6 litre olarak A ve B gruplarına ayrılmıştır. A grubu kimyasal ve tekstür analizleri için, B grubu ise mikrobiyolojik analizler için kullanılmıştır. A ve B grubu süt örnekleri 350±2 g olarak kalıplara aktarılmıştır (Şekil 3.1).

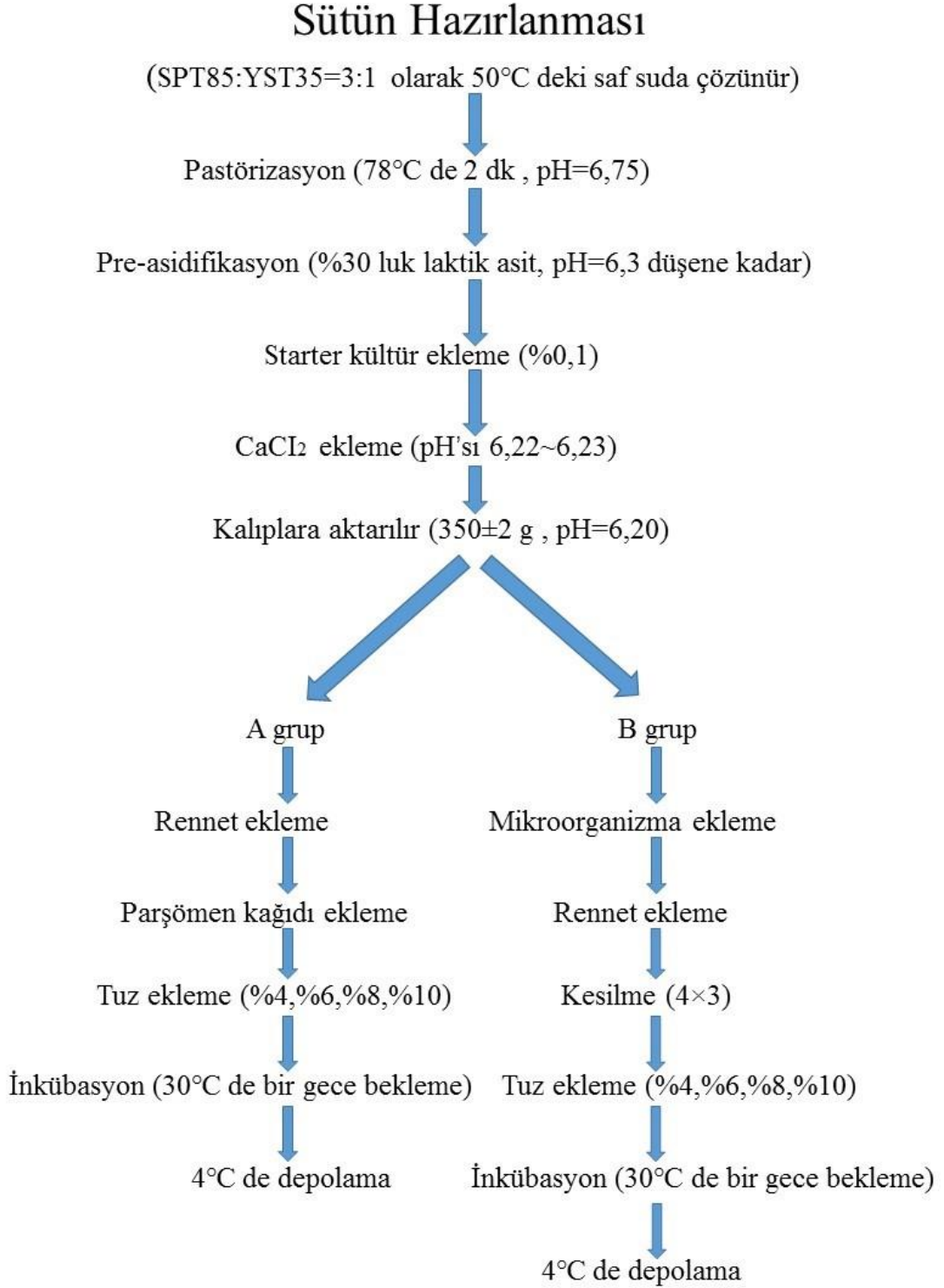
A grubu 4 kalıp süt örneğini bir grup olarak A₁, A₂, A₃, A₄ olarak adlandırılmıştır. 3,125 mL renneti 110 mL saf su ile karıştırıldıktan sonra her kalıba 5 mL eklenip 15 dk bekletilmiştir. Katılama görülen her grup örnekte parşömen kâğıdı yüzeye yerleştirilmiş ve üstlerine farklı konsantrasyonlarda (%4, %6, %8 veya %10) tuz eklenmiştir. Peynirler 30°C'de bir gece inkübasyon aşamasından sonra 4°C'de depolanmışlardır. Hazırlanan bu beyaz peynir örneklerine Tablo 3.1.'de gösterilen kimyasal ve tekstür analizleri yapılmıştır.

Tablo 3.1. Beyaz peynir örneklerinde yapılan analizler

	1 Hafta	2 Hafta	4 Hafta	8 Hafta
	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄
pH	√	√	√	√
Toplam kuru madde	√			
Su aktivitesi	√	√	√	√
Protein	√			
Yağ	√			
Tuz	√			
Kül	√			

Mikrobiyolojik analizler için B grubundaki örnekler kullanılmıştır. Bu örneklerin hazırlanması için *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* aktif kültüründen 5 µL alınıp 50 mL TSB besiyerine aktarılıp, 37°C’da 14-15 saat inkübasyona bırakılmıştır. Aynı zamanda 1 M laktik asit (%99,5; Merck) çözeltisi ve NaCl kullanılarak pH’sı 5,4 ve %3,5 orandaki tuz içeren 10 mL TSB besiyerleri ayarlanmıştır. Sonra hazır olan aktif kültürü pH ve tuz oranları ayarlanmış TSB besiyerlerine aktarılıp 2 saat inkübasyona bırakılarak asite ve tuza adapte kültür hazırlanmıştır.

B grup süt örnekleri B₁ ve B₂ gruba ayrılıp ayrı ayrı 1×10³ kob/g oranda hazırlanmış adapte *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* inokule edilmiştir. Sonraki aşamada 3,125 mL renneti 110mL saf su ile karıştırıldıktan sonra her kalıba 5 mL eklenip 15 dk beklenmiştir. Her grup örnekte katılaşma gerçekleştirildikten sonra 12’ye (4×3) bölünmüştür ve farklı konsantrasyonla (%4, %6, %8 veya %10) tuz eklenmiştir. Peynirlerin 30°C’de bir gece inkübasyon aşamasından sonra 4°C’de depolanmıştır.



Şekil 3.1. Beyaz peynir üretim aşamaları

3.2.2. Kimyasal analizler

3.2.2.1. Kuru madde oranı

Peynir örneklerinde kuru madde oranları, 3-5 g örneğin $105 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması ile gravimetrik olarak belirlenmiştir (IDF, 1982).

3.2.2.2. Yağ oranı

Peynirlerin yağ oranları, 0-40 taksimatlı özel peynir bütirometreleri ile Gerber yöntemine göre yapılmıştır. Peynirlerden 3 g numune alınıp 1,55 yoğunluklu sülfürik asitle $65-70^\circ\text{C}$ 'de muamele edilip 5 dk süreyle santrifüj edilerek bütirometre skalasından yağ değeri okunup kaydedilmiştir (Kotterer ve Münch, 1978).

3.2.2.3. Tuz oranı

Örneklerin tuz içerikleri Mohr yöntemi ile belirlenmiştir (Denklem 3.1). Yaklaşık 5 g tartılan örnek üzerine 250 mL sıcaklığı 65°C olan saf su ilave edilerek 30 dk süreyle bekletilmiştir. Süzüntüden 25 mL alarak 0,5 mL potasyum kroma varlığında 0,1 N gümüş nitrat (AgNO_3) ile titre edilerek örneklere ait % tuz oranları hesaplanmıştır (Bradley ve ark., 1993).

$$\% \text{ Tuz} = \frac{(V1-V0) \times 0.0585 \times N}{\text{Örnek miktarı(g)}} \times 100 \quad (\text{Denklem 3.1})$$

V1: Titrasyonda örnek için harcanan AgNO_3 miktarı (mL)

V0: Şahit için harcanan AgNO_3 miktarı (mL)

N : Titrasyonda kullanılan AgNO_3 'ın normalitesi

3.2.2.4. Kül oranı

Tekniğine uygun olarak 2-3 g örnek kül fırınında 550°C’de yakılarak değişmez değere ulaşınca değeri kaydedilip miktar hesaplanmıştır (Kurt, 1984).

3.2.2.5. pH

Peynirlerin pH değerleri Hanna marka pH 211 model pH metre ile belirlenmiştir. pH metrenin elektrodu peynir örneği içerisine daldırılarak ölçüm yapılmıştır.

3.2.2.6. Su aktivitesi

Peynirlerin a_w değerleri AQUA Lab marka Series 3 model ile belirlenmiştir. a_w değerleri 20,8°C’de okunmuştur.

3.2.2.7. Protein oranı

Protein oranları, yaş yakmaya tabi tutulan örneklerin Mikro-Kjeldahl yöntemi ile bulunan azot miktarınının 6,38 faktörü ile çarpılması sonucu hesaplanmış ve % olarak ifade edilmiştir (IDF, 1993).

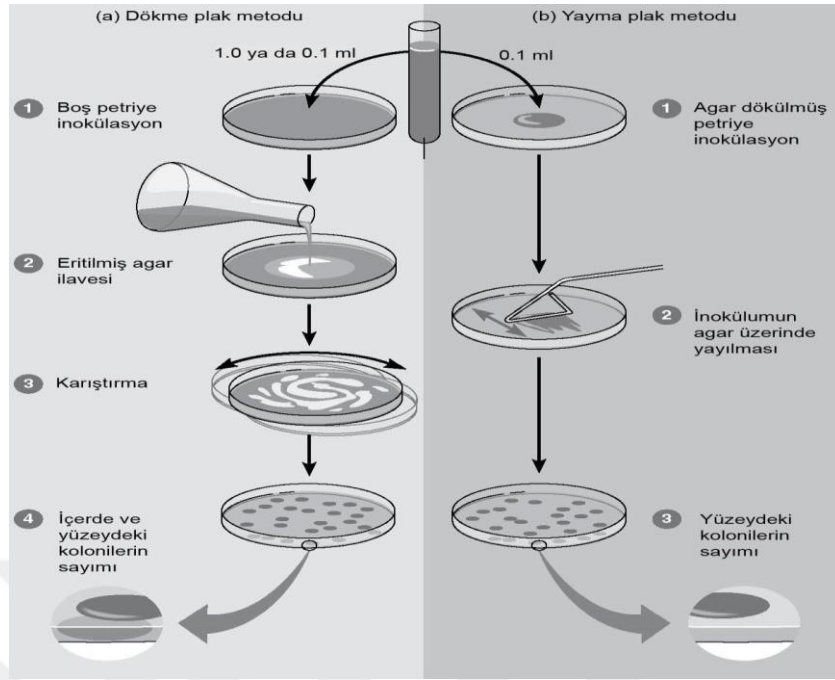
3.2.3. Mikrobiyolojik analizler

Peynirlerdeki bakteri sayımında Tablo 3.2.’de gösterilen besiyerleri farklı sıcaklıklarda inkübasyona bırakılarak belirlenmiştir. Besiyerlerini gerekli hacimlerde hazırlandıktan sonra 121°C’de 15 dk steril edilmiştir. Mikrobiyolojik ekimler başlanmadan önce dilüsyonlar hazırlanmıştır. Steril poşete 10 g peynir alınıp 90 mL peptonlu su eklenip homojen edilmiştir. Daha sonra deney tüplerindeki 9 mL

peptonlu su üzerine steril poşetteki karşımdan 1mL ilave edilmiş ve bu işlem ardışık bir şekilde yapılarak dilüsyonlar hazırlanmıştır. Laktik asit bakterilerin hariç diğer mikroorganizmaların analizleri yayma plak metodu ile yapılmıştır. M17 ve MRS agarların ekiminde Petri kutularına 1 mL dilüsyon çözeltisinden ilave ettikten sonra üzerine 50°C'deki besiyerinden 10 mL ilave edilerek ekimler yapılmıştır. Petri kutusundaki besiyeler soğuduktan sonra inkübatörlere konularak, gerekli sürelerde inkübe edilmiştir (Tablo 3.2). Toplam bakteri, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, küf-maya, *lactococcus* ve *lactobacillus* sayıları Tablo 3.2.'de görülen besiyerleri ve inkübasyon şartları kullanılarak belirlenmiştir (Gobbetti ve ark., 2002).

Tablo.3.2. Farklı besiyerleri kullanılması ve inkübasyon bilgileri

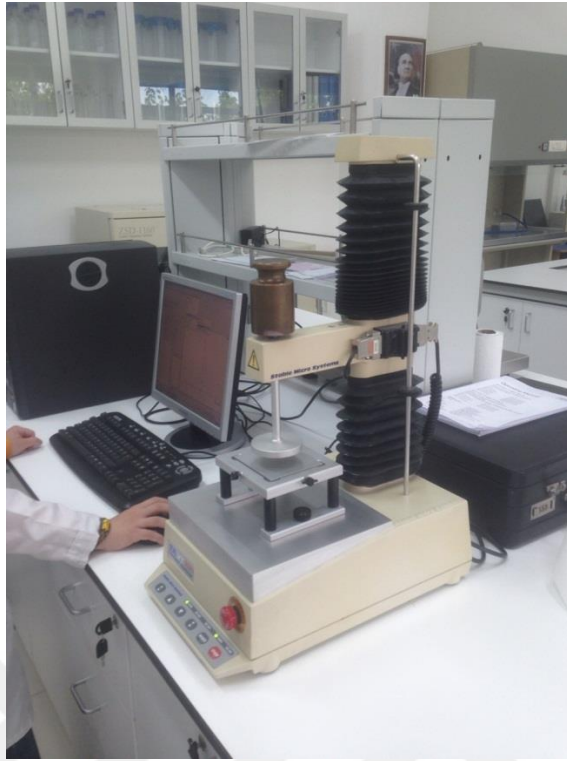
Agar	Sayım türü	Sıcaklık(°C)	İnkübasyon süresi
PCA	Toplam bakteri	30	24 h
SMAC	<i>E.coli</i> O157:H7	35	24 h
OXFORD	<i>L.monocytogenes</i>	30	48 h
OGYE	Küf-maya	Oda sıcaklığı	24 h
M17	<i>Lactococcus spp.</i>	42	24 h
MRS	<i>Lactobacillus spp.</i>	42	24 h



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan farklı ekim metodu yöntemleri (Gündüz, 2010)

3.2.4. Tekstür analizi

Peynir örnekleri 20×20×20 mm ebatlarında kesilerek örneklerin sertliği TA. XTPlus (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY, USA) tekstür analiz cihazı (Şekil 3.3) yardımıyla 70 mm çaplı silindirik disk prob kullanılarak 2 mm/s hızda %50 gerinim (strain) ile ölçülmüştür. Peynirlerin kırılma gerinim (fracture strain) tek açılı baskı (uniaxialcompression) yöntemiyle tek seferde %50 gerinim ile ölçülmüştür.



Şekil 3.3. Kohesifliği TA. XTPlus cihazı (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY, USA)

3.2.5. İstatistiksel analizi

Çalışmada her analiz 3 pareler olarak yapılmıştır. Elde edilen bakteri sayısı \log_{10} kob/g'a çevrilmiştir. Her bakteriye ait veriler Office Excel'de ANOVA tek etken testine tabi tutulmuştur ve değişkenler arası istatistiksel analiz gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kimyasal Özellikleri

4.1.1. Kimyasal bileşikler

Deneysel rekombine peynir örneklerindeki kimyasal özellikleri Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Farklı tuz konsantrasyonunda üretilen peynir örneklerin kimyasal özellikleri

Kimyasal Özellikleri*					
Tuz konsantrasyon (%)	Protein (%)	Kül (%)	Kuru madde (%)	Yağ (%)	Kuru maddede tuz (%)
4	15,05±0,24 ^a	3,96±0,62 ^a	20,5±0,31 ^a	0±0 ^a	3,80±0,10 ^a
6	14,98±0,34 ^a	3,06±0,46 ^b	21,5±0,87 ^b	0,01±0,04 ^a	5,38±0,54 ^b
8	14,85±0,21 ^a	3,46±0,17 ^b	22,2±0,17 ^c	0,07±0,08 ^a	7,38±0,70 ^c
10	14,9±0,14 ^a	3,61±0,13 ^b	23,3±0,38 ^d	0,05±0,08 ^a	9,88±0,42 ^d

* n (3) ± SS: Sonuçlar üç pareler üç tekerrürün ortalamasıdır.

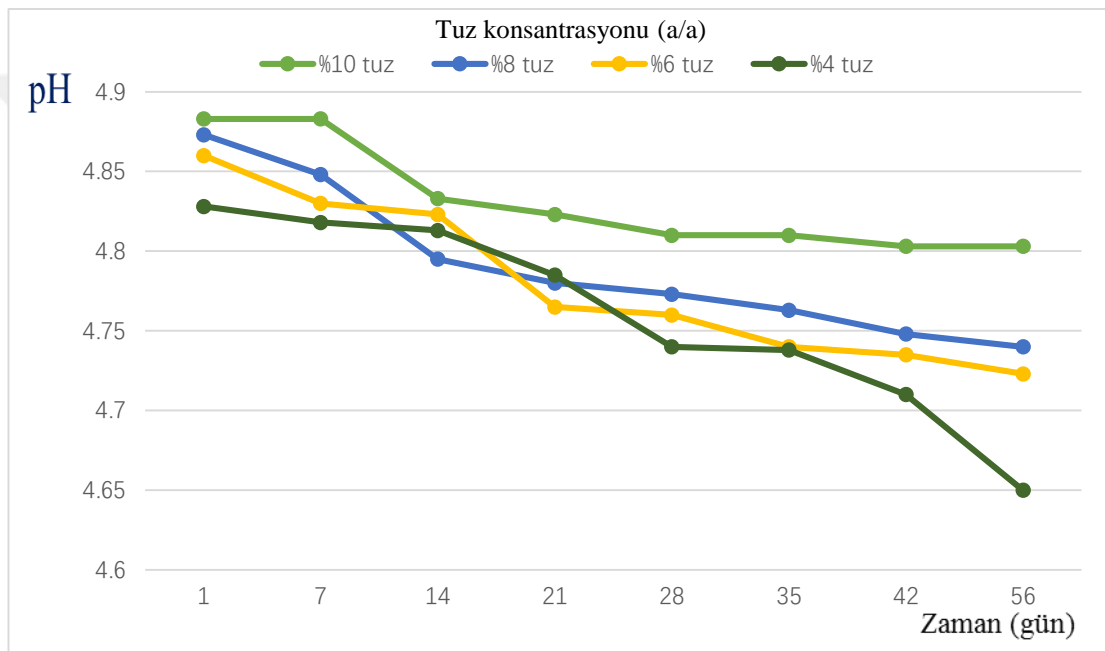
a-d: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Tablo 4.1.'da görüldüğü gibi üretilen rekombine peynir örneklerindeki protein ve yağ oranlarında birbirine yakın değerler alınmıştır. Sadece %4 tuz içeren peynir örneklerinin kül miktarları diğer örneklere göre istatistiksel olarak daha fazla bulunmuştur (p<0,05). Peynir üretimi sırasında yağsız süt tozu kullandığı için yağ miktarı 0'a yakın değerlerde bulunmuştur.

Deneysel rekombine peynirlerdeki tuz dağılımını belirleme amacıyla yapılan tuz tayini sonucunda dağılımın hedeflenen oranlara yakın olduğu bulunmuştur.

4.1.2. pH değerleri

Depolama süresinin farklı oranlarda tuz içeren deneysel rekombine peynirin pH değeri üzerine etkisi Şekil 4.1.'de verilmiştir.



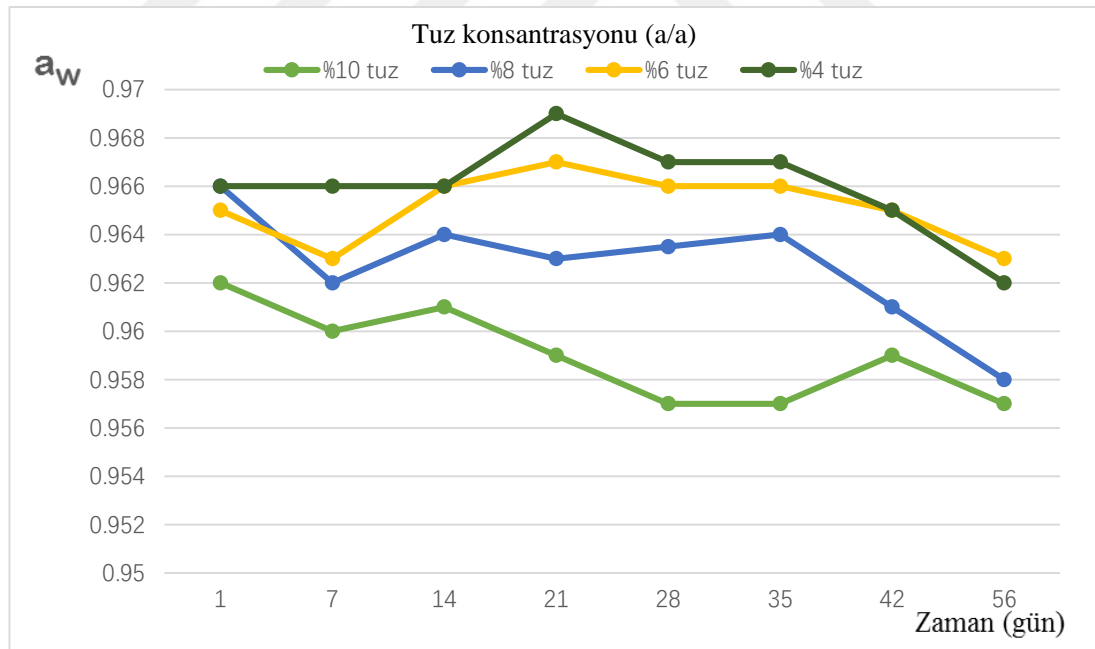
Şekil 4.1. Depolama süresinin farklı tuz konsantrasyonundaki örneklerin pH değeri üzerine etkisi

Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi, depolama süresince peynir örneklerinin pH değerleri azalmıştır, ayrıca 56 günlük depolama süresi sonucunda %4 ile %10 tuz içeren peynir örneklerinin pH değerlerinde sırasıyla sadece 0,01 ile 0,16 arasında bir düşüş görülmüştür. Yapılan istatistiksel analizde farklı tuz konsantrasyonunda üretilen peynir örneklerinde depolama süresinin pH değerleri üzerine önemli düzeyde etkisi olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Peynir örneklerindeki bu pH düşüşünün depolama sırasındaki laktik asit bakterilerinin ürettiği laktik asitlerden kaynaklı olduğunu düşünebiliriz. Yaptığımız çalışma sonuçlarına benzer olarak, Yaygın ve arkadaşları, 1989 yılında kaşar peynir üzerine yaptığı çalışmada pH değerleri 5,57-5,60 olan kaşar peynirlerinde 180. günde 4,87-4,89'a düştüğü gösterilmiştir (Yaygın ve ark.,1989). Benzer çalışmalardan, Akbulut ve ark. (1996) tuzlama yöntemleri ile ilgili olarak beyaz peynirde pH değerlerinin olgunlaşma süresince düştüğünü bildirmiştir (Akbulut ve ark., 1996).

4.1.3. Su aktiviteleri

Depolama süresinin farklı tuz konsantrasyonlarında üretilen deneysel rekombine peynirin su aktivitesi değeri üzerindeki etkisi Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Depolama süresinin farklı tuz konsantrasyonundaki örneklerin su aktivitesi üzerine etkisi

Şekil 4.2.'de görüldüğü gibi, peynir örneklerindeki su aktivitesinde tuz konsantrasyonunun artışıyla birlikte azalma görülmüştür. Bu fazla görülen azalma %8

lik peynirlerde 0,966 dan 0,958'e düşüşte görüşmüştür. Yapılan istatistiksel analizde su aktivitesindeki bu azalma önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Peynirde tuz, su aktivitesinin (a_w) düşmesinde hızlandırıcı bir etkiye sahiptir. Dolayısıyla peynirin su aktivitesi NaCl'ün konsantrasyonun ayarlanması ile gerçekleşmektedir. Daha önce yapılan çalışmalara göre, peynirlerin su aktivitesi tiplerine göre farklılık göstermekle beraber, genel olarak 0,87 ile 0,98 arasında değişmektedir (Kaya ve ark., 1999; Uraz ve Cencer, 2000).

4.2. Mikrobiyolojik Analizler

Deneyisel rekombine peynir örneklerinde depolama esnasındaki mikrobiyolojik değişimler Tablolarda verilmiştir.

4.2.1. *Escherichia coli* O157:H7 Sayısı

Yapıtığımız adaptasyon test analizlerinde adapte edilen kültür ile kontrol grubunun farkını öğrenebilmek amacıyla *E. coli* O157:H7 kültürü 3 log kob/g düzeyde peynir örneklerine bulaştırılmıştır.

4.2.1.1. Asit adapte edilmiş *E. coli* O157:H7 ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki yaşama yeteneklerinin karşılaştırılması

Laktik asit kullanılarak pH 5,4'te 2 saat süreyle aside tolerans kazandırılan *E. coli* O157:H7 kültürü ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki canlılığı üzerine ilişkin sonuçları Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Tuzun asit ve tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7'nin rekombine peynirdeki sayıları (log₁₀ kob/g)

Depolama Süresi(Gün)		Tuz Konsantrasyonu (% a/a)*			
		4	6	8	10
1		3,28±0,23 ^{Aa}	3,18±0,27 ^{Aa}	2,93±0,55 ^{Aa}	3,03±0,41 ^{Aa}
3		3,30±0,25 ^{Ab}	3,01±0,01 ^{Ab}	2,60±0,38 ^{Ab}	2,82±0,07 ^{Ab}
7	Kontrol	2,89±0,17 ^{Ac}	2,10±0,17 ^{Ac}	2,57±0,17 ^{Ac}	2,46±0,40 ^{Ac}
14		1,90±0,17 ^{Ad}	1,40±0,34 ^{Ad}	1,87±0,23 ^{Ad}	1,77±0,21 ^{Ad}
21		<1	<1	<1	<1
1		4,62±0,10 ^{Aa}	4,13±0,18 ^{Aa}	3,96±0,64 ^{Aa}	3,71±0,80 ^{Aa}
3		4,99±0,66 ^{Ab}	4,40±0,34 ^{Ab}	4,34±0,24 ^{Ab}	4,28±0,72 ^{Ab}
7	Asit	3,68±0,35 ^{Ac}	3,55±0,23 ^{Ac}	2,68±0,93 ^{Ac}	3,68±0,59 ^{Ac}
14	Adapte	2,50±0,20 ^{Ad}	2,10±0,17 ^{Ad}	2,17±0,29 ^{Ad}	2,27±0,25 ^{Ad}
21		1,33±0,57 ^{Ac}	1,66±0,57 ^{Ac}	1,00±0,01 ^{Ac}	1,33±0,57 ^{Ac}
28		<1	<1	<1	<1
1		4,07±0,71 ^{Aa}	3,36±0,30 ^{Aa}	3,37±0,23 ^{Aa}	3,32±0,35 ^{Aa}
3		3,73±0,78 ^{Ab}	3,07±0,32 ^{Ab}	3,12±0,48 ^{Ab}	3,27±0,13 ^{Ab}
7	Tuz	3,08±0,19 ^{Ac}	3,16±0,22 ^{Ac}	3,13±0,13 ^{Ac}	2,92±0,28 ^{Ac}
14	Adape	2,89±0,39 ^{Ad}	2,52±0,66 ^{Ad}	2,15±0,13 ^{Ad}	2,45±0,59 ^{Ad}
21		1,67±0,57 ^{Ac}	1,66±0,57 ^{Ac}	1,33±0,57 ^{Ac}	1,33±0,57 ^{Ac}
28		<1	<1	<1	<1

* n (3) ± SS: Sonuçlar üç pareler üç tekrürün ortalamasıdır.

a-d: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

A,B,C,D: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Yapılan istatistiksel analizlerde depolama süresinin deneysel rekombine peynir örneklerindeki aside adapte *E. coli* O157:H7 üzerine etkisi önemli bulunmuştur (p<0,01). Bakteri sayısı % 4'lük tuz içeren peynir örneklerinde daha fazla tuz içeren örneklere göre daha yüksek düzeyde olduğu fakat grup içerisindeki bakteri sayıları arasında önemli bir fark olmadığı saptanmıştır (p>0,05). Farklı tuz içeren aside

adapte gruptaki hücreler kontrol grubundan daha uzun süre canlılığını sürdürmüştür ve depolamanın 28. gününde tespit edilebilecek düzeyin altına düşmüştür. Ayrıca her deneme gününde aynı tuz konsantrasyonlarındaki örneklerde aside adapte edilmiş grup ile kontrol grubu arasında yaklaşık 0,3 ile 1,7 log kob/g düzeyinde bir fark olduğu görülmüştür.

Aside adapte olan *E. coli* O157:H7 grubundaki bakteri sayısı kontrol grubundan farklı olarak depolamanın 3. gününde farklı tuz konsantrasyonuna sahip peynir örneklerinde 1,28 ile 1,99 log kob/g değerinde artmış ve 7. günün sonunda bakteri sayısında azalma başlamıştır. Aside adapte olmuş hücreler peynir asitliğinden kontrol grubuna göre daha az etkilenmişlerdir.

Çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak, Mazuy ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan çalışmada, keçi sütünden üretilen peynir örneklerinde (pH 4,3-4,6) ayarlanan 4 log kob/g düzeydeki *E. coli* O157:H7 hücrelerin 28. günlük 4°C depolama sonunda 1log kob/g altına düştüğü rapor edilmiştir. Yine başka bir çalışmada, Leyer ve arkadaşları, *E. coli* O157:H7 1-2 jenerasyon süresince pH 5,0 olan asitlik ortamında geliştirilerek aside adapte edilmiş ve aside adapte edilen bu kültürün pH 3,85 olan ortamda aside olan dirençlerinin arttığı tespit edilmiştir (Leyer ve ark., 1995).

Farklı sonuçlara ulaşan diğer bir benzer çalışma olan Reitsma ve Henning 1996 yılındaki çalışmasında, standart çedar peynirin (pH 4,95-5.2) üretim aşamasındaki tuzlama işleminde *E. coli* O157:H7'nin canlı kalma yeteneğini belirleme amacıyla çalışmalar yapmıştır. *E. coli* O157:H7 suşları 10^3 kob/mL olacak şekilde peynir yapılacak sütlere eklenmiştir. Tuz oranlarının yakın değerlerde olmasına rağmen, *E. coli* O157:H7'nin 158. güne kadar sürdürürken analizlerde hala canlı kaldıkları rapor edilmiştir.

4.2.1.2. Tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7 ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki yaşama yeteneklerinin karşılaştırılması

Yapılan analizlerde aktif kültür %3,5'luk NaCl TSB besiyerinde 2 saat süreyle inkübe edilerek tuza tolerans kazandırılmıştır. Tuza adapte olan *E. coli* O157:H7 kültürü ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonuna sahip peynir örneklerindeki canlılık düzeylerine ilişkin sonuçları Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Peynir örneklerindeki tuza adapte olmuş *E. coli* O157:H7 ve kontrol grubunun hücre sayılarında depolama süresince önemli bir azalma görülmüştür ($p<0,01$). Aynı zamanda peynirlerdeki tuz artışı deneme gruplarındaki bakteri sayılarının azalmasına sebep olmuştur fakat bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Tuza adapte ettirilmiş kültürlerin kontrol grubuna göre sayıları depolama boyunca daha da yüksek olduğu ve yaklaşık 1 hafta daha uzun süre canlılığını sürdürdüğü gözlenmiştir. Örneğin, depolamanın 14. günde tuza adapte ettirilmiş *E. coli* O157:H7 hücreleri %4 ve %6 peynir örneklerinde kontrol grubundaki hücrelere göre yaklaşık 1 log kob/g daha fazla sayılmıştır.

Yaptığımız çalışmamızdan farklı sonuçlar alan Schlessler ve arkadaşları (2006) farklı düzeyde *E. coli* O157:H7 (10^1 - 10^5 kob/mL) içeren sütlerden üretilen kaşar peynirlerin (pH 5.07-5.5) 7°C 'de yaşama yeteneğini incelemiştir. Çalışmamıza yakın düzeyde *E. coli* O157:H7 (10^3 kob/mL) içeren kaşar peynirlerinde fermantasyon sonrası ilk analizde yaklaşık 1 log kob/g artışı, 28. günde ise 2,5 log kob/g düzeye düştüğü rapor edilmiştir. Patojenin bizim sonuçlarımızdan farklı olarak daha uzun süre canlı kalmasının nedeni depolama sıcaklığının ve peynir pH'sının daha yüksek olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızın peynir fermantasyon sırasında (30°C’da 24 saat) sonrası tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7 suşunun tuza karşı daha fazla direnç kazandığı söylenebilir. Fermantasyon sırasında aside adapte olan kültürlerde kontrole göre yaklaşık 0,30 ile 1 log kob/g arasında bir artış gözlemiştir. Benzer olarak, Uğuz (2015) tarafından yapılan tez çalışmasında %5’lik tuz kullanarak tuza adapte edilmiş *E. coli* O157:H7 kültürünün gelişme hızının %0-7 tuz içeren TSB besiyerinde (25°C) tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı, Ayrıca gelişme hızlarının tuza adapte edilmeyen gruplardan daha hızlı olduğu saptanmıştır (Uğuz, 2015). Çalışmamızın peynir fermantasyonundan (30°C’da 24 saat) sonraki bir günlük analiz sonuçlarına göre kullandığımız *E. coli* O157:H7 suşunun tuza karşı daha dirençli olduğu söylenebilir.

4.2.2. *Listeria monocytogenes* sayısı

Yaptığımız adaptasyon test analizlerinde adapte edilen kültür ile kontrol grubunun farkını öğrenebilmek amacıyla *L. monocytogenes* kültürü 3 log kob/g düzeyinde peynir örneklerine inkübe edilmiştir.

4.2.2.1. Aside adapte edilmiş *L. monocytogenes* ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki yaşama yeteneklerinin karşılaştırılması

Laktik asit kullanılarak pH 5,4’te 2 saat süreyle aside tolerans kazandırılan *L. monocytogenes* kültürü ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonlarındaki canlılık düzeyine ilişkin sonuçları Tablo 4.3.’de verilmiştir.

Yapılan analizlerin sonuçlarını incelediğimizde her deneme günlerinde, aside adapte edilen *L. monocytogenes* sayısı kontrol grubuna göre daha yüksek düzeyde olduğu ve %10 tuz içeren peynir örneği hariç diğer konsantrasyonlardaki örneklerde

30 °C'deki 24 saat fermantasyon sırasında bakteri sayısında 0,15 ile 1,15 log kob/g arasında bir artış olduğu fakat bu artışın sonraki analiz günlerinde görülmediği belirlenmiştir. Aside adapte ettirilmiş gruptaki hücre sayısının farklı tuz konsantrasyonu içeren peynir grupları arasında ilk günkü analizlerde istatistiksel olarak fark görülürken, sonraki günlerde tespit edilen bakteri sayısındaki azalmada tuz artışının etkili olmadığı görülmüştür ($p < 0,01$). Depolamanın 28. gününde her iki gruptaki bakteri sayıları tespit edebileceğimiz düzeyin altına düşmüştür fakat aside adapte ettirilmiş grubun %4 ve %6 tuz içeren peynir örneklerindeki bakteri sayıları 1,66 log kob/g düzeyinde canlılığını sürdürmüştür. Ayrıca 21. günde peynir örneklerinde bulunan kontrol ve aside adapte hücre sayıları arasında önemli bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu fark yaklaşık 0,5 log kob/g kontrol grubundan daha fazladır. Benzer şekilde, Gahan ve arkadaşları (1996) çalışmada laktik aside tolerans kazandırdığı *L. monocytogenes*'in laktik asit içeren yoğurt ve sitrik asit içeren portakal suyu gibi asitli gıda ürünlerinde yaşama oranını arttırdığını rapor etmişlerdir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda gıda sanayisinde çeşitli asitlerin *L. monocytogenes* 'in aside tolerans kazanma yanıtının indüklenmesine neden olduğu ve asitli gıdalarda yaşama oranını arttırdığını ortaya koymuşlardır. Örneğin, Cataldo ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yaptığı çalışmada pH değerleri 5,4 ile 6,0 arasında olan mozzarella peynirlerin aside adapte edilen (pH 3,5'de 2 saat) *L. monocytogenes*'in 14 günlük depolama boyunca kontrol gurubundan yaklaşık 0,5 log kob/mL düzeyinde yüksek olduğu rapor edilmiştir. Yaptığımız çalışmalarda üretilen rekombine peynir ile çok yakın tuz değerleri olan mozzarella peynirlerinde *L. monocytogenes*'in inhibisyonu benzer şekilde gözlenmiştir.

4.2.2.2. Tuza adapte edilmiş *L. monocytogenes* ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonundaki yaşama yeteneklerinin karşılaştırılması

Yapılan analizde aktif kültür %3,5'lik NaCl TSB besiyerinde 2 saat süreyle tuza tolerans kazandırılmıştır. Tuza adapte olan *L. monocytogenes* kültürü ve kontrol grubunun farklı tuz konsantrasyonlarında üretilmiş peynirlerde canlılık düzeyine ilişkin sonuçlar Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Tuzun asit ve tuza adapte edilmiş *Listeria monocytogenes*'in rekombine peynirdeki sayıları (\log_{10} kob/g)

Depolama Süresi (gün)		Tuz Konsantrasyonu (% a/a)*			
		4	6	8	10
1	Kontrol	2,94±0,40 ^{Aa}	2,63±0,55 ^{Aa}	2,62±0,54 ^{Aa}	2,15±0,26 ^{Aa}
3		2,16±0,19 ^{Ab}	2,24±0,21 ^{Ab}	2,11±0,17 ^{Ab}	2,16±0,49 ^{Ab}
7		2,10±0,46 ^{Ac}	2,07±0,19 ^{Ac}	2,00±0,34 ^{Ac}	1,96±0,58 ^{Ac}
14		1,99±0,45 ^{Ad}	1,72±0,12 ^{Ad}	1,50±0,17 ^{Ad}	1,71±0,30 ^{Ad}
21		1,56±0,49 ^{Ae}	1,50±0,17 ^{Ae}	1,10±0,17 ^{Ae}	1,33±0,51 ^{Ae}
28		<1	<1	<1	<1
1		Asit Adapte	4,15±0,53 ^{Da}	3,24±0,26 ^{Ca}	3,14±0,15 ^{Ba}
3	3,14±0,39 ^{Ab}		2,54±0,06 ^{Ab}	2,34±0,37 ^{Ab}	2,45±0,39 ^{Ab}
7	2,28±0,18 ^{Ac}		2,25±0,33 ^{Ac}	2,23±0,30 ^{Ac}	2,22±0,19 ^{Ac}
14	2,29±0,25 ^{Ad}		1,99±0,20 ^{Ad}	1,89±0,29 ^{Ad}	2,02±0,43 ^{Ad}
21	2,04±0,48 ^{Ae}		2,11±0,10 ^{Ae}	1,88±0,17 ^{Ae}	1,69±0,60 ^{Ae}
28	1,66±0,57 ^{Af}		1,66±0,57 ^{Af}	<1	<1
35	<1		<1	<1	<1

* n (3) ± SS: Sonuçlar üç pareler üç tekrerin ortalamasıdır.

a-e: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

A,B,C,D: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Tablo 4.3. (Devamı)

Depolama Süresi (gün)	Tuz Konsantrasyonu (% a/a)*			
	4	6	8	10
1	2,82±0,19 ^{Aa}	2,60±0,29 ^{Aa}	2,55±0,49 ^{Aa}	2,05±0,77 ^{Aa}
3	2,23±0,20 ^{Ab}	2,47±0,08 ^{Ab}	1,89±0,52 ^{Ab}	2,32±0,15 ^{Ab}
7	1,59±0,51 ^{Ac}	1,70±0,17 ^{Ac}	1,79±0,08 ^{Ac}	1,63±0,35 ^{Ac}
14	1,52±0,45 ^{Ad}	1,30±0,30 ^{Ad}	1,30±0,30 ^{Ad}	1,48±0,01 ^{Ad}
21	1,48±0,01 ^{Ac}	1,20±0,17 ^{Ac}	1,57±0,23 ^{Ac}	1,48±0,01 ^{Ac}
28	<1	<1	<1	<1

* n (3) ± SS: Sonuçlar üç pareler üç tekrerrün ortalamasıdır.

a-e: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

A,B,C,D: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Tuza adapte edilmiş *L. monocytogenes* 'lerin depolamanın ilk günündeki analizlerde farklı oranlarda tuz içeren peynir örneklerinde sayıları aside adapte edilmiş hücreler gibi bir artış göstermemiştir. Tuza adapte olmuş ve kontrol grubu hücreleri depolama boyunca önemli bir şekilde azalma göstermiştir (p<0,01). Fakat peynir örneklerindeki artan tuz konsantrasyonlarının hem kontrol hem de tuz adapte edilmiş hücrelerin sayılarına önemli bir şekilde etkilemediği de gözlenmiştir (p>0,05).

Tuza adapte gruplarda bakteri sayılarının tespit edebildiğimiz son gün (21. gün) ve ilk günler arasındaki farklara baktığımızda, depolama süresinde 0,57 ile 1,38 log kob/g arasında bir fark görülmüştür. Ayrıca bu fark kontrol grubunda da bulunmuştur. Benzer şekilde her deneme günleri arasındaki farklılıklar incelenirken aradaki fark kontrol grubunda da mevcut olduğu saptanmış. Bu durum çalışmada kullandığımız *L. monocytogenes* suşlarından kaynaklı veya 2 saatlik tuz adaptasyonda kullanılan tuz miktarının (%3,5) *L. monocytogenes* kültürü için yeterli olmadığı düşünülmektedir. Aynı adaptasyon metodu kullanan Faleiro ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yapılan bir çalışmada, *L. monocytogenes*'in 9 suşundan 2'sinin tuza tolerans

kazandığı ve %20 NaCl i çeren ortamda dirençli olduğu gösterilmiştir (Faleiro ve ark., 2003).

Yaptığımız çalışma sonuçlarına göre *L. monocytogenes*'in farklı oranlarda tuz içeren rekombine peynirlerdeki yaşama yeteneğinin *E. coli* O157:H7 kültüründen güçlü olduğu söylenilebilir. Ayrıca her iki patojen bakteri depolamanın 30 günden daha az zamanda tespit edilebilecek düzeyin altına düşmüştür. Bunun sebebinin tuz ve laktik asidin yanı sıra starter kültür olarak kullandığımız *L. lactis* bakterisinin ürettiği bakteriyosinlerden kaynaklı olabileceği de düşünülmektedir. Örneğin, Battal tarafından 2012 yılında yapılan *L. lactis spp.* tarafından sentezlenen laktokoksinin BZ 'in et örneklerine inoküle edilmiş *L. monocytogenes*'in azalmalarına sebep olduğu rapor edilmiştir. Yine benzer şekilde Sakin tarafından 2014 yılında yapılan tez çalışmasında, *L. lactis spp. lactis* BZ 'nin taze ette *E. coli* O157:H7'nin gelişimi üzerine etkisi araştırılmış. Bu çalışmada *L. lactis spp. lactis* BZ ve *E. coli* O157:H7 farklı şekillerde et örneklerine ilave edildiği *E. coli* O157:H7 sayısında azalma meydana getirdiği tespit edilmiştir.

4.2.3. Maya sayısı

Tablo 4.4.'de farklı tuz konsantrasyonunda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki maya sayım sonuçları verilmiştir.

Farklı tuz içeren peynir örneklerinde artan tuz miktarının sadece ilk haftada maya sayısı üzerine önemli bir etkisi görülmüştür ($p < 0,05$). Tuz oranı arttıkça bakteri sayıları azalmıştır. Sonraki 49 günlük depolama sırasındaki analiz günlerinde bu istatistiksel fark sadece depolama süresinin maya sayılarına etkisinde görülmüştür ($p > 0,05$). Ayrıca 56 güne kadar bu depolama süresi içinde farklı tuz içeren tüm örneklerde yaklaşık 6 log kob/g gibi bir artış görülmüştür.

Tablo 4.4. Farklı tuz konsantrasyonunda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki maya sayım sonuçları (\log_{10} kob/g)

Depolama Süresi(Gün)	Tuz Konsantrasyonu (% a/a)*			
	4	6	8	10
1	2,73±0,33 ^{Da}	2,73±0,25 ^{Ca}	2,16±0,25 ^{Ba}	1,86±0,51 ^{Aa}
3	4,70±0,41 ^{Db}	3,67±0,02 ^{Cb}	3,52±0,17 ^{Bb}	3,34±0,06 ^{Ab}
7	6,39±0,41 ^{Dc}	6,00±0,05 ^{Cc}	5,80±0,14 ^{Bc}	5,50±0,15 ^{Ac}
14	6,92±0,07 ^{Ad}	6,88±0,04 ^{Ad}	6,84±0,05 ^{Ad}	6,69±0,15 ^{Ad}
21	7,09±0,17 ^{Ae}	7,18±0,15 ^{Ae}	7,17±0,14 ^{Ae}	7,26±0,01 ^{Ae}
28	7,46±0,29 ^{Af}	7,25±0,04 ^{Af}	7,16±0,08 ^{Af}	7,10±0,07 ^{Af}
35	8,33±0,27 ^{Ag}	8,18±0,15 ^{Ag}	8,12±0,17 ^{Ag}	8,08±0,13 ^{Ag}
42	8,48±0,24 ^{Ah}	8,65±0,12 ^{Ah}	7,92±0,26 ^{Ah}	7,89±0,16 ^{Ah}
56	8,58±0,36 ^{Ai}	8,23±0,25 ^{Ai}	8,15±0,08 ^{Ai}	8,23±0,03 ^{Ai}

* n (3) ± SS: Sonuçlar üç pareler üç tekrürün ortalamasıdır.

a-i: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır.

A,B,D,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p < 0,05$ düzeyinde farklıdır.

Benzer olarak Danish beyaz peynirinde yaptığı bir çalışmada yaklaşık %4 tuz içeren peynirlerde 8 haftada 2°C de 4 log kob/g gibi bir maya artışı görüldüğü rapor edilmiştir (Westall ve ark., 1998). Sonuç olarak bu tür peynirlerde eklenen tuz ve asidin mayanın üremesini engelleyemediği söylenebilir.

4.2.4. Laktik asit bakterilerin sayısı

4.2.4.1. *Lactobacillus* spp. sayısı

Yapığımız çalışmada *Lactobacillus* türünden laktik asit bakterilerin 56 gün boyunca üremesi görülmemiştir.

4.2.4.2. *Lactococcus* spp. sayısı

Tablo 4.5.'de farklı tuz konsantrasyonunda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki *Lactococcus* suşlarının sayım sonuçları ve standart sapmaları verilmiştir.

Lactococcus hücre sayıları ilk haftadaki analizlerde arttığı fakat bu farkın istatistiksel olarak sadece ilk günde görüldüğü saptanmıştır ($p<0,05$). Çalışmamızda 56 günlük depolama sırasında farklı tuz içeren peynirlerdeki bakteri sayılarındaki azalma incelediğinde %10 tuz içeren peynir örneklerinde azalmanın en yüksek olduğu (2,10 log kob/g) bulunmuştur. Böylece peynire eklenen tuz miktarındaki artışın starter kültür sayısındaki azalmayı hızlandıracağı söylenebilir. Benzer olarak, Şimşek ve arkadaşları yaptığı çalışmada *L. lactis subsp. lactis* suşlarının sayısının NaCl konsantrasyonu arttıkça düştüğünü rapor etmişlerdir (Şimşek ve ark., 2009).

Tablo 4.5. Farklı tuz konsantrasyonunda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki *Lactococcus* suşlarının sayım sonuçları (\log_{10} kob/g)

Depolama Süresi(Gün)	Tuz Konsantrasyonu (% a/a)*			
	4	6	8	10
1	8,51±0,11 ^{Da}	8,36±0,30 ^{Ca}	8,23±0,06 ^{Ba}	7,96±0,20 ^{Aa}
3	8,62±0,34 ^{Ab}	8,61±0,16 ^{Ab}	8,30±0,25 ^{Ab}	8,21±0,18 ^{Ab}
7	8,77±0,56 ^{Ac}	8,67±0,36 ^{Ac}	8,25±0,10 ^{Ac}	8,40±0,32 ^{Ac}
14	8,39±0,25 ^{Ad}	8,42±0,40 ^{Ad}	8,15±0,15 ^{Ad}	8,14±0,38 ^{Ad}
21	8,42±0,24 ^{De}	8,29±0,46 ^{Ce}	7,85±0,30 ^{Be}	7,83±0,14 ^{Ae}
28	7,91±0,07 ^{Df}	7,84±0,21 ^{Cf}	7,88±0,02 ^{Bf}	7,33±0,04 ^{Af}
35	7,58±0,16 ^{Ag}	7,52±0,42 ^{Ag}	7,25±0,21 ^{Ag}	7,01±0,10 ^{Ag}
42	7,29±0,15 ^{Dh}	6,88±0,18 ^{Ch}	6,84±0,26 ^{Bh}	6,77±0,16 ^{Ah}
56	6,89±0,12 ^{Di}	6,87±0,22 ^{Ci}	6,42±0,28 ^{Bi}	6,30±0,41 ^{Ai}

* n (3) ± SS: Sonuçlar üç pareler üç tekrerrün ortalamasıdır.

a-i: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır

A,B,D,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır

Starter kültür sayılarında gözlemlenen bu azalma peynir örneklerinde maya veya diğer bakteri gruplarının yüksek bir hızda üremesi neticesinde geniş bir popülasyon meydana gelmiştir. Oluşan bakteri topluluğunun besin maddesi gereksinimi amacıyla yarışma halinde olmaları ve oluşturdukları muhtemel metabolitler ile buzdolabı sıcaklığının optimum sıcaklık aralığından uzak olan *Lactococcus* suşları üzerinde bir stres yaratmıştır.

4.2.3 Toplam aerobik bakteri Sayısı

Tablo 4.6.'de farklı tuz konsantrasyonunda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki aerobik bakteri sayım sonuçları ve standart sapmaları verilmiştir.

Tablo 4.6. Farklı tuz konsantrasyonda üretilen rekombine peynirlerin depolama sırasındaki aerobik bakteri sayım sonuçları

Depolama Süresi(Gün)	Tuz Konsantrasyon (% a/a)*			
	4	6	8	10
1	5,30±0,57 ^{Da}	5,09±0,41 ^{Ca}	4,71±0,89 ^{Ba}	4,84±0,29 ^{Aa}
3	6,70±0,39 ^{Ab}	6,65±0,25 ^{Ab}	7,20±0,35 ^{Ab}	6,58±0,67 ^{Ab}
7	9,81±0,06 ^{Ac}	8,83±0,22 ^{Ac}	8,85±0,03 ^{Ac}	8,94±0,11 ^{Ac}
14	10,89±0,76 ^{Ad}	9,84±0,34 ^{Ad}	9,42±0,68 ^{Ad}	9,49±0,12 ^{Ad}
21	12,12±0,53 ^{Ae}	11,07±0,49 ^{Ae}	10,57±0,62 ^{Ae}	10,18±0,13 ^{Ae}
28	12,64±0,74 ^{Af}	12,27±0,64 ^{Af}	11,64±0,80 ^{Af}	11,09±0,45 ^{Af}
35	14,46±0,48 ^{Ag}	12,50±1,04 ^{Ag}	12,37±1,29 ^{Ag}	12,14±1,65 ^{Ag}
42	15,99±0,26 ^{Ah}	13,01±0,70 ^{Ah}	12,49±1,15 ^{Ah}	12,41±0,57 ^{Ah}
56	16,16±0,67 ^{Ai}	13,96±0,64 ^{Ai}	11,56±1,26 ^{Ai}	12,03±0,48 ^{Ai}

n (3) ± SS: Sonuçlar üç pareler üç tekerrürün ortalamasıdır.

a-i: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

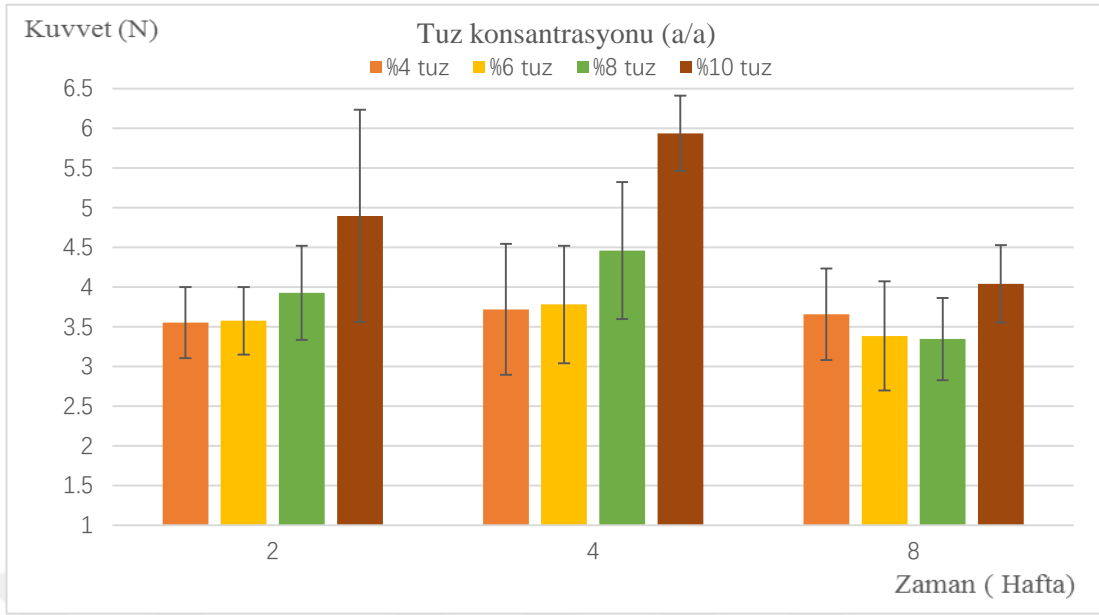
A,B,D,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Toplam bakteri sayılarını incelediğimizde 24 saatlik fermantasyon sırasında tuzun etkisi önemli görülmüştür (p<0,05). Eklenen tuz miktarlarındaki artış peynir

örneklerindeki aerobik bakteri sayılarının artmasını önemli derecede azaltmıştır ($p<0,05$). Depolamanın sonunda bakteri sayıları değişen tuz konsantrasyonları içeren peynirlerde 11 ile 16 log kob/g arasında sayılmıştır. En düşük tuz (%4) içeren peynir örnekleri kötü koku ve sararma gibi bozulma belirtileri göstermeye başlamışlardır. Yapıtığımız çalışmamızda çıkan sonuçlara benzer şekilde, %7 oranında tuz içeren, beyaz peynir örneklerindeki toplam bakteri sayılarında 5° C’de 16 günlük depolama sonunda yaklaşık 4 log kob/g gibi bir artış görüldüğünü rapor etmişlerdir (Kourkoutas ve ark., 2006).

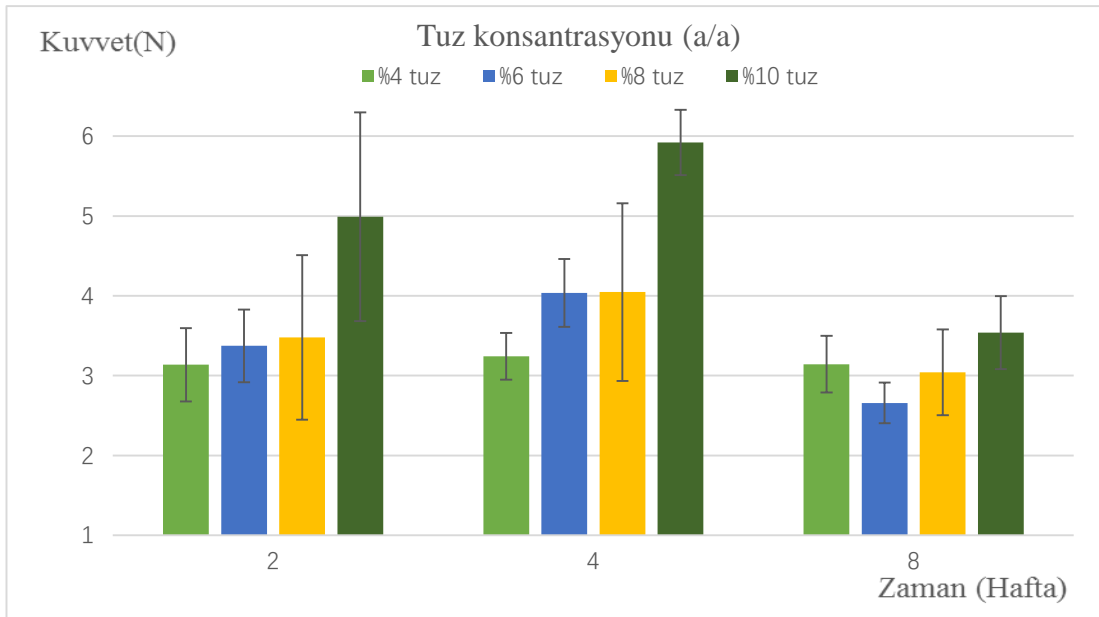
4.3 Tekstür analizler

Çalışmamızda peynirlerin kırılma gerinim (fracture strain) tek açılı baskı (uniaxial compression) yöntemiyle tek seferde %50 gerinim ile ölçülmüştür. Şekil 4.3.’de farklı orandaki tuz içeren deneysel rekombine peynir örneklerinin depolama süresince peynirlerin %50 gerinim kuvvetleri (N) verilmiştir. Depolama süresindeki tekstür analiz sonuçlarını incelediğimizde, tuz konsantrasyonu arttıkça peynirin sertliğinde önemli derecede artış görülmüştür ($p<0,05$). İlk aylık olgunlaştırma süresinde, farklı miktarlarda tuz içeren peynir örneklerinde sertleşmenin arttığı ve daha sonraki analiz gününde yumuşamanın başladığı görülmüştür. Bu yumuşamanın depolama süresindeki maya ve diğer bozulmaya neden olan bakteri gruplarının sayılarının artarak yapıda yumuşamaya neden olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.3. Farklı oranlarda tuz içeren rekombine peynir örneklerinin %50'lik gerinim kuvveti (N) ve standart sapmaları

Peynirin tek baskı sırasındaki ilk kırılma noktaları üzerindeki incelemeler Şekil 4.4.'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Farklı oranlarda tuz içeren rekombine peynir örneklerinin ilk kırılma gerinim kuvveti (N) ve standart sapmaları

Peynir örneklerinin %50'lik tek açılı baskı sırasında peynir yapısında kırılmalar meydana gelecektir. Fakat bu kırılma noktaları peynirin sertliğine bağlı olarak değişmektedir. Çalışmamızda depolama sırasında farklı oranlarda tuz içeren peynir örneklerinde kırılma gerinim kuvveti sertlik değerlerimize benzer şekilde değişmiştir. Ayrıca %4 tuz içeren peynir örneğinden hariç diğer örneklerde olgunlaştırma süresinin kırılma gerinim kuvveti üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Benzer tekstür metodu kullanan Cervantes ve arkadaşlarının (1983) çalışmasında tuz oranı yüksek olan (%2,4) Mozzarella peynirinin daha düşük tuz içeren örneklere göre daha sert yapı oluşturduğu rapor edilmiştir. Diğer bir benzer çalışmada, farklı üç konsantrasyon (%1,3, %1,7 ve %2) kullanarak üretilen Çedar peynirinde yüksek tuzlu örneklerin daha sert yapıda olduğu ve 5°C'de 24 haftalık depolama süresince önce sertleşme daha sonra yumuşama görüldüğü tespit edilmiştir (Mistry ve ark., 1998).

BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı tuz konsantrasyonlarında üretilen deneysel rekombine peynir örneklerinin depolanma sırasındaki asit ve tuza adapte patojen bakterilerin yaşama yeteneği incelenmiştir. Ayrıca tuzun diğer bakteri gruplarına olan anti-bakteriyel etkisi ve peynirin tekstür özelliklerine etkisi de incelenmiştir.

Çalışmamızda sonuç olarak depolama sırasında *E. coli* O157:H7'nin 21. güne, *L. monocytogenes*'in ise 28. güne kadar canlılığını sürdürdüğü ve *L. monocytogenes* 'in asitli ve tuzlu ortama daha dayanıklı olduğu saptanmıştır. Bu nedenle peynir üretiminde bu tür bakterilerin 1 aya kadar olan depolama sürelerinde risk yaratabilecekleri söylenebilmektedir.

Farklı oranlarda tuz içeren orta asitli (pH 4,65-4,80) rekombine peynir örneklerinde aside adapte edilen patojen grupların kontrol gruplarından daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Tuza adapte edilen *E. coli* O157:H7'nin kontrol grubuna göre peynir örneklerinde daha uzun süre canlılığını sürdürmesine rağmen tuza adapte edilen *L. monocytogenes*'in kontrol grubuna göre canlılığında bir farklılık görülmemiştir. Kullanılan suşun tuza adapte yeteneğinin olduğuna karar verilmiştir.

Tuzun anti-bakteriyel etkisi üzerindeki incelemelerde, %4 ve %6 tuz içeren peynir örneklerindeki maya ve diğer bakteri grupları daha hızlı bir şekilde geliştiği ortaya koyulmuştur. Mikrobiyal analizin son günlerinde düşük tuz içeren peynir örneklerinin mikrobiyal bozulmanın belirtisi olan kötü kokuya ve sarımsı renge sahip olduğu gözlenmiştir.

Tuzun peynir sertliği üzerindeki etkilerinde tuz oranları arttıkça peynirin daha sert bir yapı oluşturduğu ve depolamanın ilk aylarında bu yapısal sertleşmenin devam ettiği tespit edilmiştir. Fakat depolamanın son haftalarında peynirde hızlı bir yumuşama olduğu ortaya koyulmuştur. Daha sonra yapılacak çalışmalar için yapısal değişmeleri daha iyi görebilmek için depolama süresinin uzatılması ve 2 haftada bir tekstür analizi yapılması önerilebilir.

Mikroorganizmaların inhibe ve inaktive edici faktörlere karşı adaptasyonunun ve peynirlerde canlılıklarının incelenmesi oldukça önemli bir konudur. Patojen bakterilerde adaptasyon üzerinde daha çok çalışma yapılması gerekmektedir. Gıda üretim aşamalarında kullanılan gıda muhafaza yöntemlerinin bu sonuçlara göre yeniden gözden geçirilmesi ve gıda güvenliği sistemlerinde kritik limitler belirlenirken, patojenlerde meydana gelebilecek adaptasyon kazanımlarının dikkate alınması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abee, T. and Wouters, J.A. 1999. Microbial stress response in minimal processing. International Journal of Food Microbiology, 50: 65-91.
- Akbulut, N., Gönç, S., Kınık, Ö., Uysal, H., Akalın, S., Kavas, G. 1996. Bazı tuzlama yöntemlerinin beyaz peynir üretiminde uygulanabilirliği ve peynir kalitesine etkileri üzerinde bir araştırma 1-duyusal ve mikrobiyolojik özelliklere etkileri. E.Ü.Z.F. 33 (1): 9-15.
- Akgün, S., Anar, Ş. 1991. Vakum paketlenmiş beyaz peynirlerde difüzyon üzerine araştırmalar. Gıda-Yem, 1:14-19.
- Aksu, H., Özgen-Arun, Ö., Aydın, A., Ugur, M. 1999. *E. coli* O157:H7'nin hayvansal kökenli çeşitli gıda maddelerinde varlığı. Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 30(2) : 77-81
- Anonim. 2004 Süt Ürünlerine Ait Mikrobiyolojik Değerler. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. Resmi Gazete, Sayı: 24511, 02 Eylül 2004:43.2.
- Anonim. 2011 Türkiye Aşırı Tuz Tüketiminin Azaltılması Programı 2011-2015. T.C Sağlık Bakanlığı. Temle Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Kasım 2011 Ankara Yayın No; 835
- Banwart, GJ. 1983 Basic Food Microbiology. Third Edition. Connecticut, Avi Publishing Company
- Baştürk, S. 2005. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *pseudomonas aeruginosa* ve *acinetobacter baumannii* suşlarında çeşitli kinolon grubu antibiyotiklerin duyarlılıklarının araştırılması. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Yüksek Lisans Tezi
- Battal, S. 2012. *Laktokoksin BZ*'nin taze sığır etinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisi. G.O.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tokat, 1-61.

- Bradley, R. L., Arnold, E., Barbano, D. M., Semerad, R.G., Smith, D.E. and Vines, B.K. 1993. Chemical and physical methods (R.T. Marshall, Editor), Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 16th ed., American Public Health Association, Washington DC, pp: 433-531.
- Cervantes, M.A., Lund, D.B., Olson, N.F. 1983. Effects of salt concentration and freezing on mozzarella cheese texture. Influence of Salting Procedure on the Composition of Muenster-Type Cheese. *J.Dairy Sci.*, 66:204-213.
- Da Silva, MC., Hofer, E., Tibana, A. 1998. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. *J Food Prot.* 61:354-356.
- Denis, F., Ramet, J.P. 1989. Antibacterial activity of the lactoperoxidase system on *Listeria monocytogenes* in trypticase soy broth, UHT Milk And Soft Cheese *J.Food,Prot* 52:706
- Dikici, A. 2009. Çevresel stres faktörlerine karşı bakteriyel adaptasyonlar ve mekanizmaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4 (3): 59-68.
- Duche, O., Tremoulet, F., Glaser, P. and Labadie, J. 2002. Salt stress proteins induced in *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology.*, 68(4): 1491-1498.
- Erol, İ. 2007. *Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi*. Ankara, Pozitif matbaacılık.
- Esvan, H., Minet, J., Lacle, C. and Cormier, M. 2000. Proteins variations in *Listeria monocytogenes* exposed to high salinities. *International Journal of Food Microbiology*, 55; 151-155.
- Evans, MR., Swaminathan, B., Graves, LM., Altermann, E., Klaenhammer, TR., Fink, RC., Kernodle, S., Kathariou, S. 2004. Genetic markers unique to *Listeria monocytogenes* serotype 4b differentiate epidemic clone II (hot dog outbreak strains) from other lineages. *Appl Environ Microbiol.*, 70:2383-2390.
- Faleiro, M.L., Andrew, P.W. and Power, D. 2003. Stress response of *Listeria monocytogenes* isolated from cheese and other foods. *International Journal of Food Microbiology.*, 84: 207- 216.
- Fernández, P.S., George, S.M., Sills, C.C. and Peck, M.W. 1997. Predictive model of the effect of CO₂, pH, temperature and NaCl on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 37:37-45.

- Foster, J.W. and Hall, H.K. 1990. Adaptive acidification tolerance response of *Salmonella Typhimurium*. Journal of Bacteriology, 172 (2); 771-778.
- Foster, J.W. and Hall, H.K. 1991. Inducible pH homeostasis and the acid tolerance response of *Salmonella Typhimurium*. Journal of Bacteriology, 5129-5153.
- Gahan, C.G.M., O'Driscoll B and Hill, C. 1996. Acid adaptation of *Listeria monocytogenes* can enhance survival in acidic foods and during milk fermentation. Appl Environ Microbiol, 62: 3128-3132.
- Gahan, C.G.M. and Hill, C. 1999. The relationship between acid stress responses and virulence in *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology, 50: 93-100.
- Gandhi, M. and Chikindas, M.L. 2007. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. International Journal of Food Microbiology, 113(1); 1-15
- Glass, R., Bowen, DA., Henning, D. 1992 Coliform bacteria in retail cheeses. Food Protect: 57
- Glass, K. A., Loeffelholz, J. M., Ford, J. P., Doyle, M. P. 1992. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented, dry sausage. Applied and Environmental Microbiology, 58: 2513-2516.
- Gobetti, M., Morea, M., Baruzzi, F., Corbo, M.R., Matarante, A., Considine, T., Di Cagno, R., Guinee, T. and Fox, B.F. 2002, Microbiological, compositional, biochemical and textural characterisation of caciocavallo Pugliese cheese during ripening, Int. Dairy J. (12) 511-523.
- Govaris, A., Papageorgiou, DK. 2002. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of feta and telemes cheese. J Food Protect; 65(1): 609-615
- Gray, ML., Killinger, AH. 1996. *Listeria monocytogenes* and Listeric Infections. Bacteriol Rev. 2: 309-71.
- Guinee, T.P, Fox, P.F. 1987. Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 1 Chapter 7 Elsevier Applied Science, London, p. 251-297.
- Gündüz, A. 2010. Model sistemlerde laktik asit bakterileri (*Lactobacillus bulgaricus* ve *Lactococcus lactis*) üzerine stresfaktörlerin etkisinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Gıda Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi.

- Gutierrez, C., Abee, T. and Booth, I.R. 1995. Physiology of the osmotic stress response in microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 233-244.
- Gürgün, V., Ayhan, K. 1996. Gıdalar ve Mikrobiyolojik Riskler I. *Gıda* 21(1)23-29.
- Halkman, A.K., Noveir, M.R. ve Doğan, H.B. 2001. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi. Orkim Ltd. Yayını, Sim Matbaacılık Ltd, 44 s., Ankara.
- Hampikyan, H. 2006. Fermente sucuklarda Nisin kullanımının *Listeria monocytogenes* üzerine etkileri. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Hill, C., O'Driscoll, B. and Booth, I. 1995. Acid adaptation and food poisoning microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 245-254.
- How, J. A., Lim, J. Z. R., Goh, D. J. W., Jack, S. H., Lee, K. C., Lee, C. H., Ling, M. H. T., 2013. Adaptation of *Escherichia coli* ATCC 8739 to 11% NaCl. *Dataset Papers in Biology* Volume, 7 pages.
- IDF, 1982, Determination of the Total Content (Cheese and Processed Cheese), IDF Standard 4A, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- IDF, 1993, Milk, Determination of Nitrogen Content, FIL-IDF 20B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium
- İnal, T.1990 Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. Final Ofset, istanbul, 1108s.
- Jay, J.M. 2000. *Modern Food Microbiology*. Sixth Edition, Maryland. pp: 485-510
- Johnson, J.L., Doyle, M.P., Cassens, R.G. 1990. *L. monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products. *J. Food Pro.* 53(1): 81-9.
- Kamber, U. 2005. Geleneksel Anadolu Peynirleri. Miki Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. . Matbaacılar Sitesi 560. Sk. No. 27 _vedik. Ankara.
- Kathariou, S. 2000. Pathogenesis determinants of *Listeria monocytogenes*. In *Microbial Foodborne Diseases* Ed: J. W . Cary, J.E.Linz D.Bhatagar ISBN No:1-56676-787-3 USA p 265-314
- Kaya, S., Kaya, A., Öner, M.D. 1999. The effect of salt concentration on rancidity in gaziantep cheese. *J. of Sci. of Food and Agr.*, 79: 213- 219.

- Keven, F.A., Hayaloğlu, A. 1998. Malatya ilinde tüketilen tulumlarda olgunlaştırılmış çökeleklerin bazı özellikleri. Geleneksel Süt Ürünleri. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tekirdağ. Milli Prodüktivite Yayınları No: 621, P.185-194
- Ko, R., Smith, L.T. and Smith, G.M. 1994. Glycine betaine confers enhanced osmotolerance and cryotolerance on *L. monocytogenes*. Journal of Bacteriology, 176: 426-431.
- Kotterer, R. and Münch, S. 1978. Untersuchungsverfahren für das milchwirtschaftliche laboratorium, Volkswirtschaftliche Verlag GmbH, Munchen, 201 s.
- Kurt, A. 1984. Süt ve mamülleri muayene ve analiz metotları rehberi, Atatürk Üniversitesi. Yayınları No:252/d, Zir. Fak. Yayınları No:18, Ders Kitapları Serisi No:252/d, Atatürk Üniversitesi. Basımevi, Erzurum.
- Lawrence, R.C., Creamer, L.K., Gilles, J. 1987. Texture development during cheese ripening. J. Dairy Sci., 70:1748-1760.
- Levinson, W. 2008. Tibbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Ankara: Öncü Basımevi, 136-140.
- Leyer, GJ., Wang, LL., Johnson, EA. 1995. Acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 increases survival in acidic foods. Appl Envr Micr. 61(10): 3752-3755
- Lin, CM., Preston, JF., Wei, CI. 2000. Antibacterial Mechanism of Allyl Isothiocyanate. J Food Prot. 63(6): 727-734.
- Liu, D., Lawrence, ML., Wiedmann, M., Gorski, L., Mandrell, RE. 2006. *Listeria monocytogenes* subgroups IIIA, IIIB, and IIIC delineate genetically distinct populations with varied virulence potential. J Clin Microbiol.44: 4229-4233.
- Lou, Y., Yousef, A. E. 1997. Adaptation to Sublethal Environmental Stresses Protects *Listeria monocytogenes* against Lethal Preservation Factors. Applied and Environmental Microbiology. 63 (4): 1252–1255.
- Luke, F., Laborde, P.H.D. 2010. Control of *Listeria monocytogenes* in mushroom growing and packing environments.
- M.A., Lund, D.B., Olson, N.F. 1983. Effects of salt concentration and freezing on mozzarella cheese texture. Influence of Salting Procedure on the Composition of Muenster-Type Cheese. J.Dairy Sci., 66:204-213.

- Meng, J., Doyle, MP. 1998. Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. Bulletin Institute of Pasteur. 96: 151-154.
- Mistry, V.V., Kasperson, K.M. 1998. Influence of salt on the quality of reduced fat cheddar cheese. J. Dairy Sci., 81:1214-1221.
- Murinda, SE., Nguyen, LT., Ivey, J., Gillespie, BE. 2002. Prevalence and molecular characterization of *E. coli* O157:H7 in bulk tank milk and samples from cull cows: a 12-month survey of dairy farms in east Tennessee. J Food Prot. 65(5):752-759
- Özalp, E., Kaymaz, S.1992. Süt Ürünleri Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.184-232
- Öztürk, F. Y. 2010. Asit ve tuza adapte edilmiş *escherichia coli* o157:h7 ve *listeria monocytogenes*'in türk sucuklarında yaşama düzeylerinin belirlenmesi. AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Dışkapı, Ankara.
- Pak, SL., Spahr, U., Jemmi, T., Salman, M. 2002. Risk factors for *L. monocytogenes* contamination of dairy products in Switzerland, 1990–1999. Prev Vet Med. 53:55-65.
- Patchett, R.A., Kelly, A.F. and Kroll, R.G. 1992. Effect of sodium chloride on the intracellular solute pools of *L. monocytogenes*. Applied and Environmental Microbiology. 58: 3959-3963.
- Phan-Thanh, L. and Mahouin, F. 1999. A proteomic approach to study the acid response in *Listeria monocytogenes*. Electrophoresis.20: 2214-2224.
- Riordan, DC., Duffy, G., Sheridan, JJ., Whiting, RC., Blair, IS., McDowell, DA . 2000. Effect of acid adaptation, product pH and heating on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in Pepperoni. Appl Envr Micr. 66(4)1726-1729.
- Rocourt, J., Buchrieser, C. 2007. The Genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic Position, Taxonomy and Identification. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety. Third Edition. New York: CRC Pres; p. 1-20.
- Rogga, KJ., Samelis, J., Kakouri, A., Katsiari, MC., Savvaidis, IN and Kontominas MG. 2005. Survival of *Listeria monocytogenes* in Galotyri, a traditional Greek soft acid-curd cheese, stored aerobically at 4°C and 12°C. Int Dairy J. 15: 59-67.

- Russell, N.J., Evans, R.I., Steeg, P.F., Hellemons, J., Verheul, A.V. and Abee, T. 1995. Membrane as a targeted for stress adaptation. *International Journal of Food Microbiology*. 28: 255-261.
- Ryu, J.H. and Beuchat, L.R. 1998. Influence of acid tolerance responses on survival, growth, and thermal cross-protection of *Escherichia coli* O157:H7 in acidified media and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*. 45: 185-193.
- Sergelidis, D., Abraham, A. 2009. Adaptive response of *Listeria monocytogenes* to heat and its impact on food safety. *Food Control*. 20: 1–10.
- Shabala, L., Budde, B., Ross, T., Siegumfeldt, H. and Mcmeekin, T. 2002. Response of *Listeria monocytogenes* to acid stress and glucose availability monitored by measurement of intracellular pH and viable counts. *International Journal of Food Microbiology*. 75: 89-97.
- Söyletir, G., Topçu, AW. 1996. Akut Bakteriyel shaller, Enfeksiyon Hastalıkları, Nobel Tıp Kitapevleri: 605-608.
- Tan, S., Ertürk, YE. 2002. Peynir. TEAE Bakış Dergisi; 1(11): 1-4 Cervantes.
- Tekinşen, C. and Nizamoğlu, M. 1993. Selçuklu Tulum Peyniri. *Türk Veteriner Hekimler Dergisi*. 5(5): 34
- Tosun, H. 2003. Bazı patojen bakterilerin aside tolerans kazanmasının tanımlanması ve gıda sanayindeki önemi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Tsai, Y. and Ingham, S.C. 1997. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in acidic condiments. *Journal of Food Protection*. 60 (7): 751-755.
- Tunailö N. 1999. Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. İn :Akçelik M, Aydar LY, Ayhan K, Çakır, Dogan HB ve ark., Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Armoni Matbaacılık Ltd Sti, Ankara: 59-90.
- Uraz, T., Gencer, N. 2000. Beyaz peynirlerde kalıp büyüklüğü ve salamura miktarının tuz alımı üzerine etkisi. *Tr. J. Agric. For.*,24:621-628.
- Ustaçelebi, Ş. 1999. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Öncü Basımevi.470-485.

- Vatan, T. 1996. Bursa il merkezinde satısa sunulan kasar peynirlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine araştırmalar. Uludag Üniversitesi,Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Yüksek Lisans Tezi
- Vermeulen, A., Gysemans, K.P.M. ve Bernaerts, K. 2007. Influence of pH, water activity and acetic acid concentration on *Listeria monocytogenes* at 7°C: Data collection for the development of a growth/no growth model. Int. J. Food Microbiol. 114:332-341.
- Wagner, M., McLauchlin, J. 2008. Biology and Pathogenicity, Biology. In: Liu D, editors. Handbook of *Listeria monocytogenes*. 1st ed. New York: CRC Pres. p. 3-25.
- Walker, CE. 2008 *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle: prevalence in gut ontents at slaughterand the effect of neomycin supplementation in feed on fecal shedding in experimentally inoculated cattle. Master’s Thesis, Kankas State University, Kansas.
- Waltner, B. A., Schmid, R., Sieber, K., Wehremüller. 2008. Cheese İn Nutrition and Health. Dairy Science And Technology. 88:389–405.
- Weagant, S.D., Bryant, J.L. and Bark D.H. 1994. Survival of *Escherichia coli* O157 H7 in mayonnaise and mayonnaise- based sauces at room and refrigerated temperatures. Journal of Food Protection. 57(7): 629-631.
- Yaygin, H., Dabiri, K. 1989. Inek, koyun, keçi sütleriyle yapılan ve farklı sıcaklıklarda olgunlaştırılan kaşar peynirlerinin özellikleri üzerinde araştırmalar. E.Ü.Z.F. Dergisi. 26(1):333-346.
- Yousef, A.E., Courtney, P.D. 2003. Basics of stres adaptation and implications in new generation foods. “Microbial Stres Adaptation and Food Safety” (Editor: AE Yousef and VK Juneja). CRC Pres, New York.1–25.

ÖZGEÇMİŞ

Paerhati WUSIMANJIANG, 30.06.1989'da Çin'de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Xinjiang'da tamamladı. 2007 yılında Xinjiang 3. lisesinden mezun oldu. 2008 yılında başladığı Shanghai Jiao tong Üniversitesi Biyoloji Mühendisliği Bölümü'nü 2014 yılında bitirdi. 2014 yılında Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı.