

T.C.

İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

GIDA MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI

**KONYA KÜFLÜ PEYNİRİNDEN İZOLE EDİLEN KÜFLERİN  
MOLEKÜLER İDENTİFİKASYONU VE *PENICILLIUM*  
*ROQUEFORTI* İZOLATLARININ MORFOLOJİK  
KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Meryem SERİ**

**İstanbul**

**Şubat, 2020**

T.C.  
İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

KONYA KÜFLÜ PEYNİRİNDEN İZOLE EDİLEN KÜFLERİN  
MOLEKÜLER İDENTİFİKASYONU VE *PENİCİLLIUM*  
*ROQUEFORTİ* İZOLATLARININ MORFOLOJİK  
KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Meryem SERİ

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN

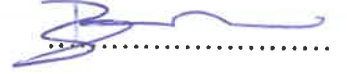
İstanbul

Şubat, 2020

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma, jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN



Üye Prof. Dr. Bülent NAZLI



Üye Dr. Öğr. Üyesi Halime PEHLİVANOĞLU



Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.



Prof. Dr. Ahmet Korhan BİNARK

Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım “Konya Küflü Peynirinden İzole Edilen Küflerin Moleküler İdentifikasyonu ve *Penicillium Roqueforti* İzolatlarının Morfolojik Karakterizasyonu” adlı çalışmanın öneri aşamasından sonuçlandığı aşamaya kadar geçen süreçte bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle uyduğumu, tez içindeki tüm bilgileri bilimsel ahlak ve gelenek çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığımı, bu çalışmamda doğrudan veya dolaylı olarak yaptığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu beyan ederim.

  
Meryem SERİ

## ÖNSÖZ

Araştırmamdaki her aşamada bana yardımcı olan değerli tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN'e, eğitim alanında dersleriyle ve tecrübeleriyle vizyon katan çok değerli hocamız Prof. Dr. Bülent NAZLI'ya, lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve birikiminden defalarca faydalandığım, maddi manevi desteklerini esirgemeyen değerli Dr. Öğr. Üyesi Halime PEHLİVANOĞLU'na, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her koşulda bana destek çıkan aileme ve laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

**Meryem SERİ**

**İstanbul – 2020**

## ÖZET

### Konya Küflü Peynirinden İzole Edilen Küflerin Moleküler İdentifikasyonu Ve *Penicillium roqueforti* İzolatlarının Morfolojik Karakterizasyonu

Meryem SERİ

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği

Tez danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN

Şubat-2020 ,100 Sayfa

Konya küflü tulum peyniri, Konya tulum peynirinin parçalara bölünerek yüzeyde küf oluşumunun sağlanması için bodrum, mahzen veya mağaraların serin ve nemli atmosferinde muhafaza edilerek olgunlaştırılmasıyla elde edilen, Türkiye'nin ünlü küflü peynir çeşitlerinden biridir. Bu çalışmada, Konya küflü tulum peynirinin küf çeşitliliğinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi ve *Penicillium roqueforti* izolatlarının morfolojik karakterizasyonunu amaçlanmıştır. Bunun için Konya'dan çeşitli pazarlardan 26 adet peynir örneği alınmıştır. Numuneler (10 g) 90 ml %2'lik sodyum sitrat tamponu ile homojenize edilmiş ve dilüsyonlar ringer çözeltisi içinde hazırlanmıştır. Potato dextrose agar (PDA) üzerinde geliştirilen toplam 54 küf, çizgi yöntemiyle saflaştırılmış ve DNA izolasyonuna tabi tutulmuştur. Küflerin Internal Transcribed Spacer (ITS) bölgesinin dizilim analizi, izole edilen küflerin 53'ünün *Penicillium roqueforti* ve birinin de *Cladosporium cladosporioides* olduğunu göstermiştir. PDA üzerinde yoğun şekilde üreyen mayalar da izole edilmiş ve *Pichia membranifaciens* (3 izolat), *Candida zeylanoides* (2 izolat), *Debaryomyces hansenii* (1 izolat), *Geotrichum candidum* (1 izolat) olarak tanımlanmıştır. *P. roqueforti* izolatlarının morfolojisi, üç nokta inokülasyonu ile dört farklı ortam, potato dextrose agar (PDA), yeast extract sucrose agar (YES), malt extract agar (MEA) ve oatmeal agar (OA) kullanılarak incelenmiştir. İzolatların morfolojik açıdan çeşitlilik arz ettiği gözlemlenmiştir. *P. roqueforti* izolatlarının genotipik benzerlikleri hakkında bilgi sahibi olmak için yapılan rep-PCR (GTG5) analizinde verdikleri bant patternleri birbirine çok benzer bulunmuştur. Bilindiği kadarıyla, bu çalışma Konya küflü tulum peyniri mikobiyotasını moleküler olarak belirleyen ilk çalışmadır.

**Anahtar Kelimeler:** Konya küflü tulum peyniri, *Penicillium roqueforti*, ITS sekans, morfotip



## **ABSTRACT**

### **Molecular Identification of Molds Isolated from Konya Mold-Ripened Cheese and Morphological Characterization of *Penicillium roqueforti* Isolates**

**Meryem SERİ**

**Master of Science, Food Engineering**

**Supervisor: Asist. Prof. Dr. Banu METİN**

**February-2020, 100 Pages**

Konya mold-ripened tulum cheese is a famous variety of Turkish mold-ripened cheeses, which is produced by cutting the mature Konya tulum cheese into pieces to let the molds grow on the surface in the cool and humid atmosphere of cellars or caves. In this study, it was aimed to determine the filamentous fungal diversity of Konya mold-ripened Tulum cheese by molecular methods and to characterize the *Penicillium roqueforti* isolates by morphological methods. To do this, 26 cheese samples were obtained from various bazaars and markets from Konya. The samples (10 g) were homogenized with 90 ml of 2% sodium citrate buffer and dilutions were prepared in Ringer solution. A total of 54 filamentous fungi grown on potato dextrose agar (PDA) were purified by streaking and subjected to DNA isolation. Sequencing of the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of the fungi showed that 53 isolates were *Penicillium roqueforti* and one was *Cladosporium cladosporioides*. Yeasts that grow extensively on PDA were also isolated and identified as *Pichia membranifaciens* (4 isolates), *Candida zeylanoides* (2 isolates), *Debaryomyces hansenii* (1 isolate) and *Geotrichum candidum* (1 isolate). The morphology of the *P. roqueforti* isolates were examined using four different media, potato dextrose agar (PDA), yeast extract sucrose agar (YES), malt extract agar (MEA) and oatmeal agar (OA), by three-point inoculations. The isolates, were observed to be morphologically diverse. The band patterns obtained in rep-PCR (GTG5) analysis, conducted to find out the genotypic similarities of *P. roqueforti* isolates were found very similar. To our knowledge, this is the first study determining the Konya mold-ripened Tulum cheese mycoflora molecularly.



**Keywords:** Konya mold-ripened Tulum cheese, *Penicillium roqueforti*, ITS sequencing, morphotypes



## İÇİNDEKİLER

ONAY FORMU .....	i
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ .....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER .....	xi
TABLolar.....	xii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiii
GİRİŞ .....	1
BİRİNCİ BÖLÜM .....	2
LİTERATÜR TARAMASI .....	2
1.1. Süt Bileşenleri ve Türkiye'nin Süt İstatistikleri.....	2
1.2. Fermente Ürünlerin Gruplandırılması ve Fermente Süt ürünleri.....	4
1.3. Peynir.....	7
1.4. Peynirin Besin Değeri.....	9
1.5. Peynir Üretimi.....	10
1.5.1. Sütün Seçimi .....	11
1.5.2. Ön Hazırlık İşlemleri .....	12
1.5.3. Ön Olgunlaştırma ve Sütün Sıcaklığının Ayarlanması.....	15
1.5.4. Katkı Maddeleri İlavesi .....	15
1.5.5. Peynir Mayası (Enzim) İlavesi ile Pıhtı Oluşumu .....	17
1.5.6. Pıhtının Kesim Kıvamının Belirlenmesi.....	18
1.5.7. Pıhtının Kesilmesi ve Kırılması .....	18

1.5.8. Kesilen Pıhtının Çökeltilmesi, Karıştırılması .....	18
1.5.9. Pıhtının Yıkanması .....	19
1.5.10. Pıhtının Isıtılması.....	19
1.5.11. Peynir Altı Suyunun Uzaklaştırılması (Süzme) .....	20
1.5.12. Tuzlama .....	20
1.5.13. Pıhtının Preslenmesi ve Kalıplanması .....	21
1.5.14. Paketleme .....	21
1.5.15. Peynirin Olgunlaşması.....	22
1.6. Konya Küflü Tulum Peyniri .....	22
1.6.1. Tulum peyniri üretimi .....	22
1.6.2. Konya küflü tulum peyniri üretimi .....	23
1.7. Dünyada Küflü Peynirler .....	25
1.8. Türkiye’de Küflü Peynirler.....	27
1.9. <i>Penicillium roqueforti</i> .....	29
1.10. Moleküler Tanımlama Metodları .....	32
1.10.1. Barkodlama.....	34
1.10.2. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyon) Metodu.....	35
1.10.2. REP-PCR (Tekrarlayan element sekansı temelli polimeraz zincir reaksiyonu) .....	38
<b>İKİNCİ BÖLÜM</b> .....	<b>39</b>
<b>MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>39</b>
2.1. Materyal .....	39
2.2. Metod.....	41
2.2.1. Kimyasal Analizler .....	41
2.2.2. Mikrobiyolojik Analizler.....	41
<b>ÜÇÜNCÜ BÖLÜM</b> .....	<b>50</b>
<b>BULGULAR VE TARTIŞMA</b> .....	<b>50</b>
3.1. Konya Küflü Peynir Örneklerinin pH Değerleri .....	50

3.2. Konya Küflü Peynir Örneklerinin Mikobiyotası.....	51
3.3. Konya Küflü Peynirlerinden İzole Edilen <i>Penicillium roqueforti</i> İzolatlarının Morfolojik Özellikleri .....	55
3.4. <i>Penicillium roqueforti</i> Suşlarının Genotipik Çeşitliliği.....	62
<b>DÖRDÜNCÜ BÖLÜM</b> .....	66
<b>SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b> .....	66
<b>EKLER</b> .....	68
EK1 .....	68
EK2.....	70
EK3.....	71
<b>KAYNAKÇA</b> .....	72

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1: Sütün bileşenleri ve sütte bulunma oranları .....	3
Şekil 1.2: Beyaz peynir üretim basamakları.....	10
Şekil 1.3: Kuru ve Salamuralı tulum peyniri üretimi akış şeması .....	23
Şekil 1.4: Geleneksel Konya küflü peynirinin ev yapımı aşamaları .....	24
Şekil 1.5: A: Bleu dauvergne, B: Brie de Meaux, C: Selles sur cher, D: Langres, E: Blue ya da Bleu, F: Stilton, G: Sainte Maure de Touraine, H: Gorgonzola, I: Cashel blue .....	27
Şekil 1.6: A: Rokfor peyniri B: <i>Penicillium roqueforti</i> mikroskopik görünümü .....	29
Şekil 1.7: <i>Penicillium roqueforti</i> ve yakın türlerin filogenetik sınıflandırılması .....	30
Şekil 1.8: A: Patulin, B: Penisilik asit, C: PR toksin.....	31
Şekil 1.9: <i>Penicillium roqueforti</i> türünün ürettiği metabolitler, mikofenolik asit, andrastin A, PR-toksin ve roquefortine C.....	32
Şekil 1.10: PCR reaksiyon döngüsü .....	36
Şekil 2.1: Üç çizgi ekim.....	42
Şekil 2.2: YPD broth içinde üretilmiş küflerin görüntüsü .....	44
Şekil 3.1: <i>Penicillium roqueforti</i> izolatlarının PDA, YES, MEA ve OA besiyerlerinde morfolojik görünümü .....	60
Şekil 3.2: Rep-PCR uygulanan <i>Penicillium roqueforti</i> izolatlarının jel görüntüleri ..	63
Şekil 3.3: Rep-PCR işlemi tekrarlanan izolatların jel görüntüleri.....	64

## TABLULAR

Tablo 1.2: Fermente süt ürünleri .....	6
Tablo 1.3: Peynirin sınıflandırılmasındaki kriterler .....	7
Tablo 1.4: Peynir yapılacak çiğ inek sütünün bileşiminin sahip olması gereken maksimum, minimum ve optimal değerleri .....	11
Tablo 1.5: Dünyada en bilinen küflü peynir örnekleri ve menşei .....	26
Tablo 1.6: Türkiye'nin bilinen geleneksel küflü peynirleri.....	28
Tablo 2.1: Materyal listesi.....	39
Tablo 2.2: PCR'da kullanılan bileşenler ve miktarları.....	45
Tablo 2.3: <i>Penicillium roqueforti</i> izolatlarına uygulanan Rep-PCR bileşenler ve miktarları.....	46
Tablo 2.4: ITS PCR ve Rep-PCR koşulları.....	46
Tablo 2.5: Trace elements stok solüsyon .....	49
Tablo 2.6: Yeast extract sucrose agar .....	49
Tablo 3.1: Konya küflü peynir örneklerinin pH değerleri .....	51
Tablo 3.2: Maya izolatlarının tür ve cins isimleri .....	52
Tablo 3.3: Küf izolatlarının BLAST analizi ile saptanan benzerlik oranları .....	52
Tablo 3.4: <i>Penicillium roqueforti</i> İzolatlarının PDA ön yüz görüntülerinin renk kodlarıyla eşleştirilmesi .....	60

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

$\mu\text{L}$	Mikrolitre
L	Litre
rpm	Revolution per minute
PCR	Polimerase chain reaction
RNA	Ribonükleik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
mg	Miligram
g	Gram
ml	Mililitre
kob	Koloni oluşturan birim

## GİRİŞ

Türkiye'de 50'den fazla çeşit peynir üretilmektedir. Bu peynirlerin büyük bir kısmı bulunduğu konumda küçük işletmeler tarafından üretilip satılmaktadır. Konya küflü tulum peyniri de Konya yöresine has tekniklerle üretilip olgunlaşma süresi tamamlandıktan sonra tulumun çeşitli yerlerinden kesilerek bodrum, mahzen ve mağara gibi ortamlarda küflendirilmesi ile elde edilmektedir. Bu peynirin kendine has kokusu ve tadı bölge halkı tarafından sevilip çokça tüketilmektedir. Dünyanın birçok yerinde farklı yöntemlerle üretilen çok çeşitli küflü peynirler bulunmaktadır. Genel itibariyle dünya literatüründe küflü peynirlerin mikrobiyotasını oluşturan mikroorganizma türleri, özellikle küf ve maya çeşitliliği göz önüne alınmıştır. Türkiye'de geleneksel küflü peynirler üzerine yapılmış moleküler çalışmalar bulunmakta fakat yetersizdir. Özellikle Konya küflü peynirine dair moleküler yöntemlerle yapılan bir identifikasyon çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu çalışmada geleneksel Konya küflü peynirimizdeki küf ve mayalar PDA (potato dextrose agar) üzerinde geliştirilmiş, DNA izolasyonuna tabi tutulmuş ve ITS gen bölgesinin diziliminin belirlenmesi ile identifiye edilmiştir. Ayrıca PDA, MEA (malt extract agar), YES (yeast extract sucrose agar) ve OA (oatmeal agar) kullanılarak dört farklı besiyeri üzerinde morfolojik farklılıkları gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, izole edilen *Penicillium roqueforti* suşları Rep-PCR Gtg5 parmak izi analizi ile suşların birbirlerinden ayırt edilip edilemediği değerlendirilmiştir. Küflü peynirlerin küf içeriği özellikle insan sağlığı açısından önem teşkil etmektedir. Moleküler yöntemlerle identifikasyon daha hızlı ve daha doğru yapılmaktadır. Bu çalışmada Konya küflü tulum peynirinin küf ve maya çeşitliliği moleküler yöntemlerle belirlenmiş ve izole edilen *Penicillium roqueforti* suşları morfolojik ve genotipik yöntemlerle incelenmiştir.

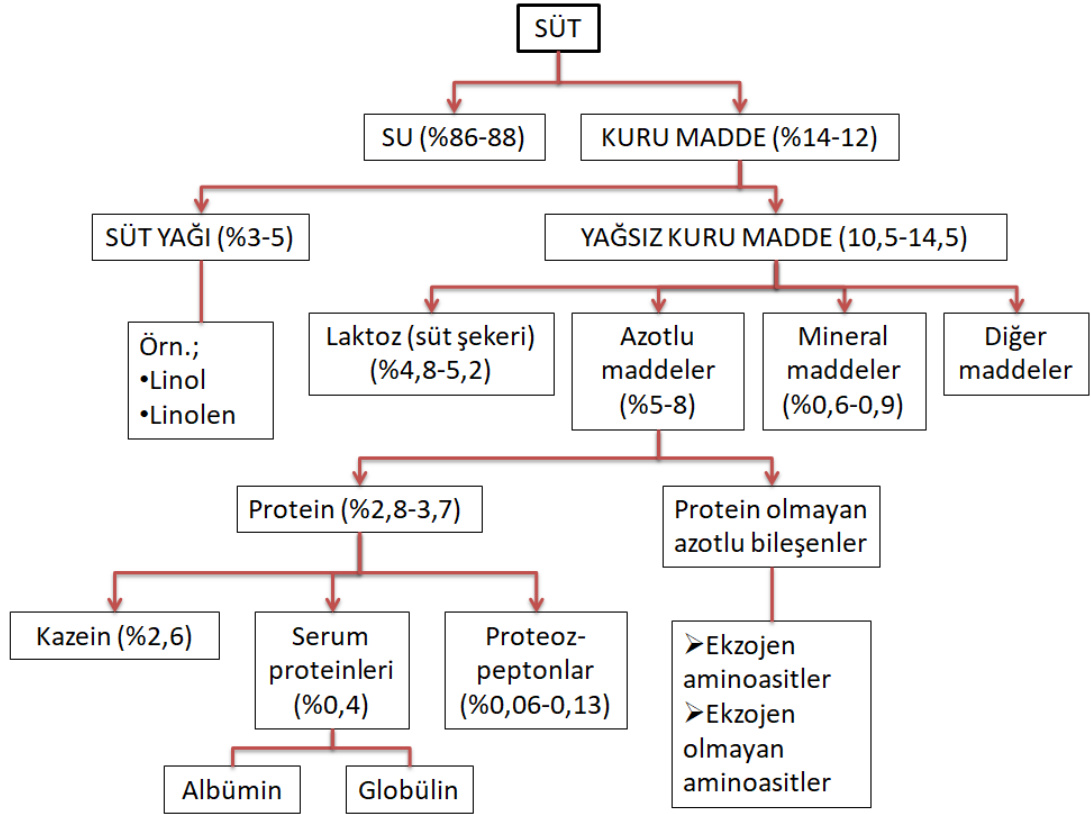


# BİRİNCİ BÖLÜM

## LİTERATÜR TARAMASI

### 1.1. Süt Bileşenleri ve Türkiye'nin Süt İstatistikleri

Geçmişten günümüze süt oldukça çok tüketilen, besleyici özelliğiyle ön plana çıkan hayvansal kaynaklı bir üründür. Süt, ısıtılma işlemi gördükten sonra içilerek tüketilmektedir. Bunun yanında farklı işlemlere tabi tutularak (genellikle fermentasyon) oluşan süt ürünleri de çok çeşitlidir ve dünya genelinde her yaş grubu tarafından çokça tüketilmektedir. Süt, %86-88 aralığında su içeriğine sahiptir ve geri kalan %14-12'lik kısmına kuru madde denilmektedir (Kılıç, 2010). Şekil 1.1'de görüldüğü üzere, süt kuru maddesi süt yağı ve yağsız kuru madde olarak ikiye ayrılmaktadır. Süt yağı vücut için elzem olan (esansiyel) yağ asitlerini ve yağda çözünebilen vitaminleri (A, D, E ve K) içermekte ve süt yağının neredeyse tamamı (%98-99) sindirilebilmektedir (Kılıç, 2010). Sütün en önemli karbonhidratı olan laktoz yalnızca sütte bulunan, glikoz ve galaktozun birleşimi ile meydana gelen bir disakkarittir (Demirci, 1998). Ayrıca süt; B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, niasin, folik asit ve pantotenik asit gibi vitaminleri ve kalsiyum, fosfor, potasyum, magnezyum, sodyum, kükürt ve klor gibi mineral maddeleri de içermektedir (Demirci, 1998).



**Şekil 1.1: Sütün bileşenleri ve sütte bulunma oranları**

(Demirci, 1998; Kılıç, 2010; Metin, 2009)

2017 itibariyle dünyada süt üretimi 849 milyon tona ulaşmıştır (Ulusal Süt Konseyi, 2018). 2018 verilerine göre ise Türkiye’de çiğ süt üretimi sığır, manda, koyun ve keçiden olmak üzere toplamda yaklaşık 22 milyon tondur (TÜİK, 2018). Türkiye’de içme sütü üretim miktarı 1,660,664 ton, peynir üretim miktarı 756,108 ton, yoğurt üretimi 1,198 ton, ayran üretimi 730 ton, süt tozu üretimi 109,384 ton, kaymak üretimi 32,877 ton ve peynir altı suyu tozu üretimi ise 31,857 tondur (TÜİK, 2018). Ulusal süt konseyinin hazırladığı rapora göre, 2018 yılı kişi başı içme sütü tüketiminin yaklaşık 41,5 kg, peynir tüketim miktarının 18,4 kg, yoğurt tüketiminin 30,6 kg, ayran tüketiminin 18,4 kg ve tereyağı tüketiminin 1,78 kg olduğu tahmin edilmektedir (TÜİK, 2018).

## 1.2. Fermente Ürünlerin Gruplandırılması ve Fermente Süt ürünleri

Geleneksel fermentasyon, dumanlama, kurutma ve tuzlama gibi gıdaların korunmasına yönelik çeşitli yöntemler geçmişten günümüze dünyanın pek çok yerinde uygulanmaktadır (Tamang ve Kailasapathy, 2010). Fermentasyon en genel tanımı ile bitkisel veya hayvansal ürünlerin başlatıcı kültür ilavesi ile veya kültürün doğal yollarla bulaşmasıyla birlikte gelişim gösteren, karbonhidrat ve ilgili bileşiklerin kısmi oksidasyona uğratılıp enerji açığa çıkmasıyla devam eden metabolik bir süreçtir (Karaçil ve Nilüfer, 2013). Fermentasyon, gıda maddelerinin özellikle mikroorganizma kaynaklı bozulmasının önlenmesine yardımcı olmakta ve fermentasyon işlemi sırasında esansiyel aminoasitlerin ve vitaminlerin senteziyle besin değerinin artmasında etkili olmaktadır (Kabak ve Dobson, 2011). Fermente gıdalar, çeşitli üretim teknikleri, hammaddeler ve mikroorganizmalar kullanılarak üretilmekte ve bu mikroorganizmaları ise genellikle substrat üzerinde bulunan mikrobiyota veya ilave edilen başlatıcı kültürler oluşturmaktadır (Blandino vd., 2003). Özellikle son yıllarda hem ulusal hem uluslararası fermente ürünlere artan ilgiyle beraber dünyanın her yanında 3.500'den fazla süt, meyve ve sebze bazlı fermente yiyecek ve içeceğin üretildiği tahmin edilmektedir (Kabak ve Dobson, 2011).

Türk Gıda Kodeksi'nde (2009) fermente süt ürünlerinden bazıları aşağıdaki gibi tanımlanmıştır.

- Fermente süt, sütün uygun mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu ile pH değerinin koagülasyona yol açacak veya açmayacak şekilde düşürülmesi sonucu oluşan ve içermesi gereken mikroorganizmaları yeterli sayıda, canlı ve aktif olarak bulunduran süt ürününü,
- Yoğurt, fermentasyonda spesifik olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbureckii* subsp. *bulgaricus*'un simbiyotik kültürlerinin kullanıldığı fermente süt ürününü,
- Asidofiluslu süt: fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus acidophilus* kültürünün kullanıldığı fermente süt ürününü,
- Kefir: fermentasyonda spesifik olarak *Lactobacillus kefir*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Acetobacter* cinslerinin değişik suşları ile laktozu fermente eden (*Kluyveromyces marxianus*) ve etmeyen mayaları (*Saccharomyces*

*unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces exiguus*) içeren starter kültürler ya da kefir tanelerinin kullanıldığı fermente süt ürünü,

- Kımız, kısrak sütünün *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Kluyveromyces marxianus* mikroorganizmalarının fermentasyonu ile elde edilen içilebilir kıvamdaki ürünü,
- Ayran, yoğurda su katılarak veya kuru maddesi ayarlanan süte yoğurt kültürü ilave edilerek, içilebilir kıvamda hazırlanan fermente ürünü,
- Kefir ise, laktik asit bakterileri, asetik asit bakteri ve *Torula* mayalarını içeren kefir danelerinin sütü fermentasyonu ile elde edilen içilebilir kıvamdaki ürünü ifade etmektedir.

Tablo 1.1’de dünya genelinde üretilmekte ve tüketilmekte olan fermente gıda ürünlerine örnekler verilmiştir.

**Tablo 1.1: Fermente gıda ürünleri**

<b>Fermente Ürün Kategorisi</b>	<b>Çeşitler</b>	<b>Referans</b>
<i>Et Ürünleri</i>	<i>Sucuk, pastırma, fermente sosisler,</i>	Karaçil ve Nilüfer, 2013; Lücke, 1994
<i>Süt Ürünleri</i>	<i>Kefir, kımız, yakult, yoğurt, koumiss, peynir, olgunlaştırılmış tereyağı</i>	Ender vd., 2006; Buttris, 1997; Kosikowski, 1982
<i>İçecekler</i>	<i>Çay, kahve, şarap, bira, sake, sirke</i>	Wood, 2012
<i>Soya, Baklagil ve Tahıl Ürünleri</i>	<i>Miso, soya sosu, tempe, tofu, boza, busaa, dhokla, tarhana</i>	Chai vd., 2012; Chen vd., 2012; Levent ve Cavuldak, 2017; Nout, 1980; Joshi, Godbole ve Kanekar, 1989; Karaçil ve Nilüfer, 2013
<i>Deniz Mahsulleri</i>	<i>Fermente balık ezmesi, balık sosu, tuzlanmış balık</i>	Wood, 2012
<i>Algler</i>	<i>Spirulina, Dunaliella salina (beta-karoten ürünü), Chlorella</i>	Wood, 2012
<i>Sebze Ürünleri</i>	<i>Turşu, kimchi, salamura zeytin, kakao</i>	Karaçil ve Nilüfer, 2013; Wood, 2012

Türk Gıda Kodeksi (2015) peynir tebliğinde,

- Peynir, hammaddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması ve pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılmasıyla ya da sütün permeatının ayrılmasından sonra pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, farklı sertliklerde ve yağ içeriklerinde, salamura ile ya da kuru tuzlama ile tuzlanarak ya da tuzlanmadan, starter kültür kullanarak ya da kullanmadan, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, çeşnili ya da çeşnisiz olarak, tekniğine uygun olarak üretilen, olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen, çeşidine özgü karakteristik özellikleri gösteren süt ürünleri şeklinde verilmiştir.

Bu ürünlere ilaveten Türk Gıda Kodeksi (2005) Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliğine göre diğer süt ürünlerinden olan

- Tereyağ, ağırlıkça en az %80, en fazla %90 oranında süt yağı, en fazla %2 oranında yağsız süt kuru maddesi ve en fazla %16 oranında su içeriğine sahip süt ürünü şeklinde ifade edilmiştir.

Özellikle Anadolu’da üretilen fermente süt ürünlerinin çoğu doğal olarak oluşan mikrobiyota veya önceki fermantasyonun bir kısmını aşılama maddesi olarak yeni fermantasyona katmak şeklindeki “back-slopping” yöntemi ile üretilmektedir (Kabak ve Dobson, 2011). Tablo 1.2’de fermente süt ürünlerine bazı örnekler verilmiştir.

**Tablo1.1: Fermente süt ürünleri**

ÜRÜN	REFERANS
Yoğurt (Süzme yoğurt, torba yoğurdu, kış yoğurdu, tuzlu yoğurt, kurut, yoğurt tozu, meyveli yoğurt vd.)	Türk Gıda Kodeksi, 2009
Kültürlü buttermilk	Akın, 2010
Ekşi krema	Akın, 2010
Fermente sütler (langfil, filmjölk, yimer)	Akın, 2010
Bulgar yayık ayranı	Akın, 2010
Probiyotik fermente sütler	Akın, 2010
Kefir	Ender vd., 2006
Kımız	Ender vd., 2006
Olgunlaştırılmış tereyağı	Kosikowski, 1982
Peynir (mozarella, ricotta, edam, emmental, cheddar, rokfor vs.)	Kosikowski, 1982
Ayran	Wood, 2012

### 1.3. Peynir

Ülkemizde ve dünya çapında en çok tüketilen süt ürünü, besleyici içeriği ve zengin çeşitliliği ile ön plana çıkan peynirdir. Dünyada 1000'den fazla peynir çeşidinin bulunduğu, hatta sadece Fransa'ya ait 400 çeşit peynirin olduğu bilinmektedir (Kaynar, 2011). Ülkemizde ise peynir çeşidi olarak en çok beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peyniri üretilmektedir (Kaynar, 2011). Peynir kısaca, sütün organik asitlerce pıhtılaştırılması, peynir mayası ve starter kültürler yardımıyla işlenmesi, tuzlanması, şekillendirilmesi ve yöreye göre çeşni maddeleri veya otlarla lezzetlendirilmesi, farklı süre ve sıcaklıklarda olgunlaştırılması yoluyla elde edilen bir üründür (Özkalp ve Durak, 1998). Sütün cinsi, peynirin olgunlaştırılma süresi, olgunlaştırıldığı ortam, telemin kırılma şekli, starter kültür, peynir içeriğine eklenen çeşni ve otlar, sıcaklık ve nem gibi bir çok unsur peynirin kendine özgü aroma, lezzet ve kıvamını şekillendirmektedir.

Peynir mayası, içeriğinde esas olarak ruminantlardan elde edilen hayvansal, bitkisel kaynaklardan elde edilen bitkisel veya mikrobiyal kaynaklardan elde edilen ve kullanımına izin verilen proteolitik enzimleri içeren pıhtılaştırıcılar olarak, starter kültür ise, peynir üretiminde esas olarak asitliği artırmak ve peynire kendine özgü tat, aroma gibi özellikleri kazandırmak amacıyla kullanılan, içeriğinde laktik asit bakterileri gibi belirli bakteriler, maya ve küfler bulunduran mikroorganizma kültürleri şeklinde tanımlanmıştır (Türk Gıda Kodeksi, 2015).

Peynir çeşitleri genel itibariyle Tablo 1.3'deki kriterlere göre sınıflandırılmaktadır.

**Tablo 1.2: Peynirin sınıflandırılmasındaki kriterler**

<b>KRİTERLER</b>	<b>Sınıflandırma biçimi</b>
<b>Kazeini pıhtılaştırma yöntemi ve üretim özelliklerine göre</b>	<i>-Peynirmayası (rennet) ile elde edilenler (Kaşar, Cheddar, Edam vd.) -Uygun asitlerle pıhtılaştırılarak üretilenler (Cottage, Quark, Quesco, Blanco vd.) -Isı/asit etkisiyle elde edilenler (Ricotta, Sapsago, Ziger vd.) -Konsantrasyon/kristalizasyon uygulamalarıyla üretilenler (Mysost vd.) -Eritme peynirleri</i>
<b>Konsistens özelliklerine göre</b>	<i>-Çok sert (rendelik) peynirler (Parmesan,</i>

	<p><i>olgun Asiago, Romano vd.)</i>  <i>-Sert peynirler (Cheddar, Emmantel, Gruyere vd.)</i>  <i>-Yarı sert peynirler (Trappist, Roquefort, Gorgonzola vd.)</i>  <i>-Yarı yumuşak peynirler (Münster, Limburg, Brick vd.)</i>  <i>-Yumuşak peynirler (Cottage, Camembert, Coulommier vd.)</i></p>
<b>Olgunlaşmada kullanılan mikroorganizmalara göre</b>	<p><i>-Laktik asit bakterileri ile olgunlaştırılanlar (Peynir çeşitlerinin büyük bölümü)</i>  <i>-Laktik asit bakterilerinin yanı sıra diğer bazı mikroorganizmalar yardımıyla özellikle yüzeyden olgunlaştırılanlar (Tilsit, Limburg vd.)</i>  <i>-Özel küflerle olgunlaştırılanlar (Roquefort, Gorgonzola vd.)</i></p>
<b>Peynirin tekstürüne göre</b>	<p><i>-Yuvarlak gözlü (Gouda vd.)</i>  <i>-Granüler (Tilsit vd.)</i>  <i>-Kapalı tekstür (Cheddar vd.)</i></p>
<b>Kurumadde yağ oranlarına göre</b>	<p><i>-Çok yağlı peynirler (Kurumaddede yağ oranı &gt;%60)</i>  <i>-Tam yağlı peynirler (K.m. yağ oranı %45-60)</i>  <i>-Yağlı peynirler (K.m. yağ oranı %25-45)</i>  <i>-Yarım yağlı peynirler (K.m. yağ oranı %10-15)</i>  <i>-Yavan peynirler (K.m. yağ oranı %10'dan az)</i></p>
<b>Yağsız peynir kitlesindeki su oranlarına (Wff) göre</b>	<p><i>-Ekstra sert (Yağsız peynir kitlesindeki su oranı &lt;%51)</i>  <i>-Sert (Y. p. k. su oranı %49-56)</i>  <i>-Yarı sert (Y. p. k. su oranı %54-63)</i>  <i>-Yarı yumuşak (Y. p. k. su oranı %61-69)</i>  <i>-Yumuşak (Y. p. k. su oranı &gt;%67)</i></p>
<b>Bileşimlerine göre</b>	<p><i>-Kurumadde oranlarına göre</i>  <i>-Su oranlarına göre</i>  <i>-Yağ oranlarına göre</i>  <i>-Kalsiyum oranlarına göre</i></p>
<p>K.m.: kurumadde  Y. p. k. : yağsız peynir kitlesi</p>	

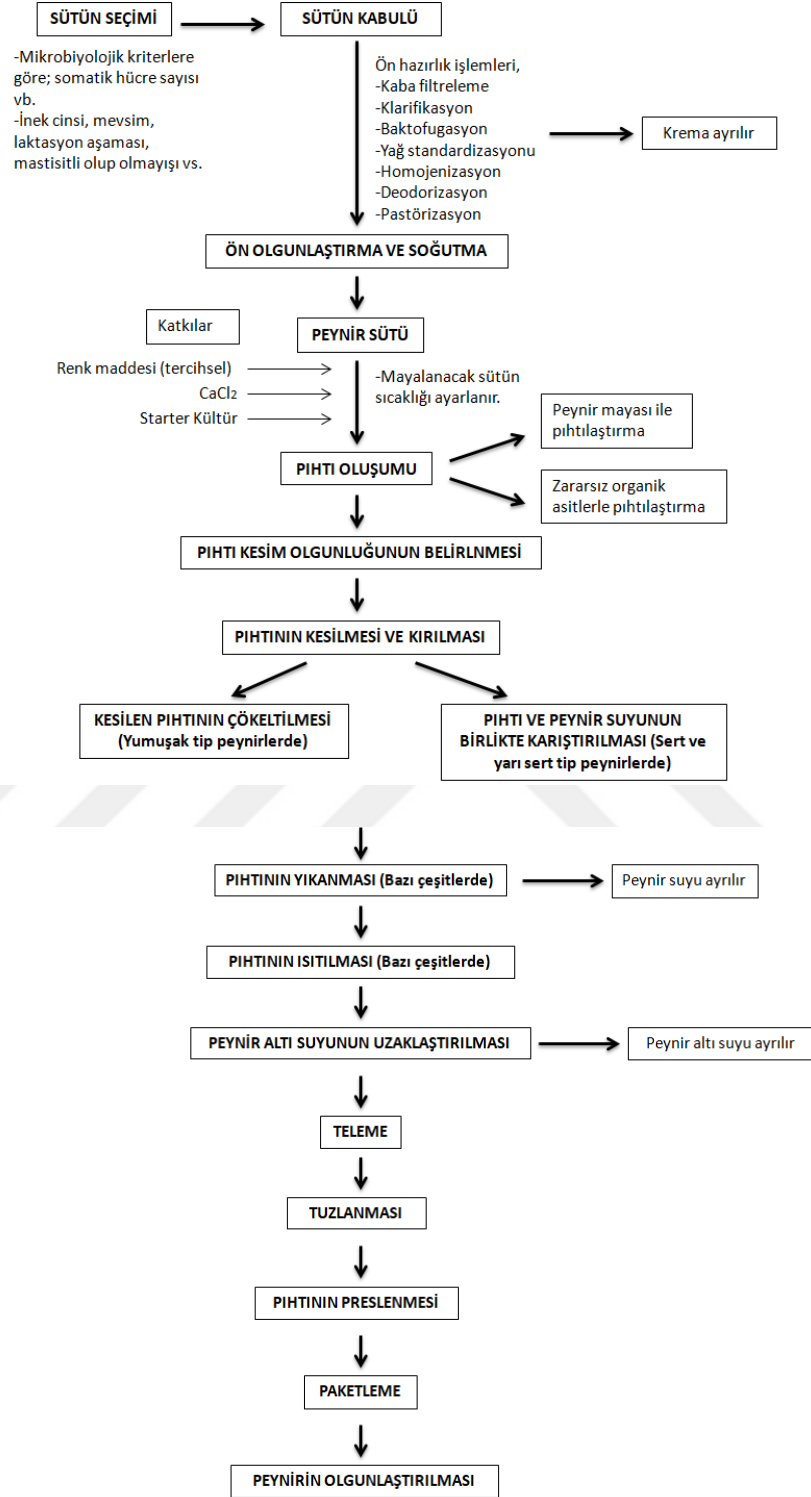
(Kaynak: Üçüncü, 2008)

#### 1.4. Peynirin Besin Değeri

Taze ve olgun peynirler üzerine yapılan çalışmalar, peynirin % 35,6 – 51,2 kuru madde, % 4,33 – 24 yağ, % 2,2 – 8,70 tuz ve % 6,21 – 9,98 kül (mineral madde) içerdiğini, ayrıca peynir pH'nın 4.50 ile 5.43 arasında değiştiğini göstermektedir (elik ve Uysal, 2009). Ayrıca % 20 – 35 oranında protein içeriğine sahip olan peynir, yağda çözünen vitaminler bakımından zengin iken, suda çözünen vitaminlerin büyük bölümünü peynir altı suyuna terk etmektedir. Özellikle sütteki A vitamininin % 80 – 85 kadarı peynire geçmekte, bununla birlikte peynir % 0,1 – 1,3 oranında kalsiyum ve % 0,25 – 0,60 oranında vitamin B<sub>2</sub> ihtiva etmektedir (Demirci, 1990).



## 1.5. Peynir Üretimi



Şekil 1.2: Beyaz peynir üretim basamakları

(Kaynak; Akın, 2010; Hayaloğlu ve Özer, 2011; Megep, 2016; Üçüncü, 2008)

Beyaz peynir üretiminin genel basamakları Şekil 1.2’de verilmiştir.

### 1.5.1. Sütün Seçimi

Seçilen sütün kalitesi son ürün olan peynirin kalitesini doğrudan etkilemektedir. Kaliteli peynir için başlangıç materyali olan sütün somatik hücre sayısının ve mikrobiyal sayımının düşük olması ve antibiyotik içermemesi gerekmektedir (Farkye, 2004). Sütte somatik hücre sayısı  $100 \times 10^3$  hücre/ml ile  $300 \times 10^3$  hücre/ml üzerine çıkarsa sütteki yağ ve kazein seviyelerinde bir azalma, bozuk sütün pıhtılaşması ve lor oluşturma, peynir veriminin düşmesi ve olgunlaşma sırasında birincil ve ikincil proteoliz oranlarında artış gibi olumsuz etkiler görülebilir (Fox ve Guinee, 2013).

İnek ırkı, mevsim, laktasyon aşaması ve inekten veya başka kaynaklardan geçebilecek hastalıklar gibi faktörler sütün kalitesine doğrudan etki etmektedir (Farkye, 2004). Çiğ sütün, peynir üretiminde olumsuz sonuçlara sebep olabilecek kimyasal kontaminasyonlar ve serbest yağ asitleri açısından da yeterli temizlikte olmalıdır (Fox vd., 2017). Sütün mikrobiyal ve kimyasal kalitesi, peynir kalitesinin yanı sıra tüketici sağlığı açısından tehdit oluşturmayacak düzeyde olmalıdır.

McSweeny (2007) peynir yapılacak inek sütünün bileşiminin sahip olması gereken maksimum, minimum ve optimal değerleri Tablo 1.4’deki gibi vermiştir.

**Tablo1.3: Peynir yapılacak çiğ inek sütünün bileşiminin sahip olması gereken maksimum, minimum ve optimal değerleri**

<i>Bileşen</i>	<i>Minimum – Maksimum değer (%)</i>	<i>Optimal Değer (%)</i>
<i>Laktoz</i>	4,0 – 5,0	4,8
<i>Protein</i>	3,0 – 3,5	3,3
<i>Kazein</i>	2,2 – 2,8	2,6
<i>Peynir altı suyu proteini</i>	0,5 – 0,8	0,65
<i>Yağ</i>	3,0 – 5,0	3,5
<i>Mineral</i>	0,6 – 0,9	0,7

### 1.5.2. Ön Hazırlık İşlemleri

Endüstriyel üretimde süt peynir üretiminden önce standardizasyon, pastörizasyon gibi bazı ön hazırlık işlemlerine tabi tutulmaktadır.

#### a) Kaba filtreleme

Sağım işleminden sonra üretim birimlerinden süt kabaca süzülüp gelmiş olsa da tekrardan temizlenmeye gerek duyulur ve bunun için peynir işletmesine gelen sütler yatay veya dikey biçimdeki boru filtrelerden veya krom-nikel alaşımli kazanlarda sık dokunmuş filtrelerden oluşan özel süt filtrelerinden geçirilerek çeşitli boyutlardaki kir tanelerinin ayrılması sağlanmaktadır (Üçüncü, 2008).

#### b) Klarifikasyon

Kaba filtreleme ile ayrılamayan sütteki epitel hücreler, kan pıhtıları, lökositler ve büyük bakteriler gibi diğer kirlilik etmenleri klarifikatör denilen santrifüj seperatörler ile temizlenir (Üçüncü, 2008).

#### c) Baktöfügasyon

Süt pastörize edildiğinde ortamdaki vejetatif hücrelerin çoğu ölür fakat bazı termofilik mikroorganizmalar ve bakteri sporları (özellikle *Bacillus* ve *Clostridium* gibi spor oluşturan, gram pozitif çubuk ve koklar) canlılıklarını koruyarak daha sonra uygun koşullar sağlandığında tekrar vejetatif hale geçebilirler (Üçüncü, 2013). Bu sebeple gelecekte peynirde oluşabilecek kusurları ve tüketici sağlığına olabilecek zararları önlemek amacıyla yüksek devirli özel seperatörler yardımıyla santrifügal güçle bu tür mikroorganizmaların uzaklaştırılması işlemi baktöfügasyon olarak adlandırılır (Üçüncü, 2013).

#### ***d) Sütün standardizasyonu***

Peynir çeşidine göre standart kuru maddede yağ oranı Türk Gıda Kodeksi peynir tebliğinde açıklanmıştır (Türk Gıda Kodeksi, 2015). Bu oranlara göre sütün yağ oranını standardize etmek amacıyla krema, susuz süt yağı, susuz krema, tereyağı gibi ilaveler yapılabilmektedir (Guinee, Carić ve Kalab, 2004). Ayrıca protein oranını standardize etmek için kazein, kazeinatlar, peynir altı suyu proteinleri, süt protein konsantreleri ve yağsız süt tozu, laktoz oranı için peyniraltı suyu tozu ve yağsız süt tozu gibi ilaveler yapılabilir (Guinee, Carić ve Kalab, 2004). Bunların yanı sıra sütün protein bileşimi ultrafiltrasyon gibi fizikokimyasal bir işlemle de ayarlanabilmektedir. Ultrafiltrasyon süt proteini ve yağın büyük ölçüde tutan fakat düşük molekül ağırlıklı bileşikler için geçirgen olan bir zardan sütün basınçlı suyla akışının sağlanması prensibine dayanan bir yöntemdir (Ratray ve Jelen, 1996). Zardan geçen kısım ultrafiltrat ya da permeat, sulu bir laktoz, tuz, vitamin ve diğer düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin bir çözeltisidir (Ratray ve Jelen, 1996).

#### ***e) Homojenizasyon***

Homojenizasyon işlemi ise sütün depolama esnasında yağın ayrılmasını önlemek amacıyla uygulanmaktadır (McCrae, 1994). Zamora vd. (2007)'nin makalesinde bahsedildiği üzere homojenizasyon Gaulin tarafından 1899 yılında geliştirilmiş olup genellikle 60°C'de gerçekleştirilmektedir ve sütün, yağ küreciklerinin ince lipit damlacıklarına parçalanması, krema ayrılmasının önlenmesi ve böylece süt emülsiyonunun stabilitesinin ve raf ömrünün artırılması esasına dayanmaktadır. Böylece peynir mayasının etkisi iyileştirilmiş ve yağın geri kazanımına bağlı olarak peynir verimi artırılmış olur (Zamora vd., 2007).

### **f) Deodorizasyon**

Deodorizasyon, serbest yağ asitleri ve uçucu kokulu bileşenlerin uzaklaştırılması ve yumuşak ve kokusuz yağ elde etme amacına yönelik, yüksek sıcaklıkta bir vakum-buhar damıtmadır (Mariod vd., 2010). Peynire işlenecek sütte deodorizasyon işlemine tabi tutularak süte işlenmiş olan kokular uzaklaştırılır.

### **g) Isıl işlem uygulanması**

FAO/WHO (2000) tarafından yayınlanan kodeksin 4.1. maddesine göre, sütün pastörizasyon koşulları, *Mycobacterium tuberculosis* organizmasını etkin bir şekilde yok etme üzere tasarlanmıştır. Ayrıca, sütün ve kremanın pastörizasyonu, negatif bir fosfataz reaksiyonu ile sonuçlanır (FAO/WHO, 2000). Türk Gıda Kodeksi Peyir Tebliğinde (2015) ise pastörizasyon, en az 72 °C'de 15 saniye uygulanan kısa süreli yüksek sıcaklık veya en az 63 °C'de 30 dakika uygulanan uzun süreli düşük sıcaklık veya eşdeğer etkiyi sağlayan diğer zaman-sıcaklık koşullarının kombinasyonunu içeren ve bu uygulamalardan hemen sonra alkali fosfataz testi yapıldığında ürünlerin negatif reaksiyon gösterdiği ısıl işlem olarak tanımlanmıştır. Çiğ süte en az 72°C'de 15 saniye uygulanan yüksek sıcaklıkta kısa süre veya en az 63°C'de 30 dakika uygulanan düşük sıcaklıkta uzun süre işlemi veya eşdeğer etkiyi sağlayan diğer zaman-sıcaklık koşullarının uygulanması gerekmektedir (Türk Gıda Kodeksi, 2015). Pastörizasyon işlemi temelde iki esasa dayanmaktadır. Bunlardan ilki, hijyenik açıdan sütteki patojen ve ürün kalitesini bozan mikroorganizmaları yok etmek ve diğeri ise teknolojik açıdan sütteki kazein ve serum proteinlerinde fiziksel ve kimyasal değişiklikler oluşturarak telemenin reolojik özelliklerini iyileştirmek ve standart kalitede peynir elde edilmesine olanak sağlamaktır (Yetişmeyen, Osmanlioğlu ve Kaptan, 1995).

### 1.5.3. Ön Olgunlaştırma ve Sütün Sıcaklığının Ayarlanması

Peynir türüne göre aşamalar değişiklik gösterse de genel olarak, pastörizasyon aşamasını tamamlamış olan süt tanklara alınarak yaklaşık 28-34°C olana kadar soğutulur ve önceden belirli koşullarda büyütülmüş olan starter kültür ya da kültürler eklenerek 30 dk kadar bekletilir (Hayaloğlu, Güven ve Fox, 2002; Govindasamy-Lucey, 2004; Üçüncü, 2013). Mayalanma işlemine geçmeden önce sütün olgunlaştırılması denilen bu işlemler gerçekleşir ve asitliğin oluşması ve pH'ın yaklaşık 6,5-6,3 olması sağlanır (Megep, 2016).

### 1.5.4. Katkı Maddeleri İlavesi

#### a) Kalsiyum ilavesi

Beyaz peynir üretiminde çeşitli nedenlerden ötürü arzu edilen düzeyde pıhtı oluşmayabilir ayrıca sütte çözünmüş, koloidal ve kompleks halde bulunan kalsiyumun dengesinin de bazı işlemler sonrası (ısıtma, soğutma vb.) bozulması ile pıhtının kesilmesi sırasında daha küçük boyutta pıhtı oluşumu ve bununla birlikte yağ ve protein kaybı görülebilir (Megep, 2016). Sütün peynir mayası ile pıhtılaşmasında para-k-kazein ile diğer kazein bileşenlerinin koagüle olabilmesi için ortamda yeterli düzeyde iyonize kalsiyum bulunmalıdır (Üçüncü, 2008). Kalsiyumun pıhtılaşmadaki en önemli görevleri,

- ✓ Sütün pıhtılaşmasını kolaylaştırmak,
- ✓ Daha sıkı ve esnek pıhtı oluşumunu sağlamak,
- ✓ Peynir suyunun daha kolay ayrılmasına yardımcı olmak
- ✓ Ve telemenin süzme bezine yapışmasını önleyerek randımanın bir miktar artmasını sağlamaktır (Üçüncü, 2008).

Kalsiyum ilavesi, sütün peynir mayası ile pıhtılaşmasında ve daha sonra telemenin işlenmesinde önemli rol oynadığından süte en fazla %0,02 oranında kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) eklenmesi yaygın bir uygulamadır (Fox ve Guinee, 2013; Üçüncü, 2013). PH'ın düşmesi ve koloidal kalsiyum fosfatın artması ile peynirin pıhtılaşma süresi kısalmakta ve jelin sıklığı artmaktadır (Fox ve Guinee,

2013). Süte ayrıca peynir mayası ile pıhtılaşmada pıhtı kalitesini iyileştirmek ve pıhtı işlemleri süresini kısaltabilmek amacıyla en çok %0,02 oranında kalsiyum fosfata eklenebilir (Üçüncü, 2008).

### ***b) Starter kültür ilavesi***

Hayaloğlu, Güven ve Fox (2002) çalışmalarında peynir çeşidine göre temel olarak iki tip başlatıcı (starter) kültür kullanıldığını ve bunların optimum sıcaklığı 30°C olan mezofilik ve optimum sıcaklığı 45°C olan termofilik mikroorganizmalar olduğunu ifade etmişlerdir. Bununla birlikte mezofilik kültürlerin Cheddar, Edam, Gouda, Blue ve Camembert gibi peynirlerde, termofilik kültürlerin ise daha yüksek sıcaklıklarda pişirilme işlemi görmesi sebebiyle İsviçre ve İtalyan çeşitlerinde kullanıldığını da belirtmişlerdir. Laktik asit bakterileri (LAB) içeren starter kültürlerin peynirde kullanımının temel amacı, laktik asit üretimini başlatmak ve dolayısıyla lor-peynir altı suyu karışımının ısıtılması ve karıştırılmasıyla da birlikte süttten daha düşük nem içerikli (%87'den %35-60) ve daha düşük pH'a (6,6'dan 4,6-5,2) sahip pıhtının oluşumunu sağlamaktır (Cogan ve Hill, 1993). Böylece süttten daha uzun raf ömrüne sahip peynirin üretimi sağlanmaktadır. LAB tarafından üretilen laktik asit ile yine laktik asit bakterileri, propiyonik asit bakterileri ve Bifidobakter türleri tarafından fermente olabilir karbonhidratlar kullanılarak üretilen asetik asit gibi zayıf organik asitler, süt kaynaklı fermente gıdalarda özellikle istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engellemeleri yönünden de çok önemli bir rol oynamaktadırlar (Çelikyurt ve Arıcı, 2008).

Fox vd. (2004) peynir starter kültüründe kullanılan başlıca türlerin *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc* sp., *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbureckii* subsp. *lactis*, *Lb. delbureckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lb. helveticus* olduğunu belirtmişlerdir. Fakat bu türlerin hepsi her peynirde aynı anda kullanılmamaktadır. Bunların dışında, peynir yapımında *Propionibacterium freudenreichii*, *Brevibacterium linens*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti* ve *P. camemberti* gibi sekonder kültürler de kullanılabilir (Fox vd., 2004).

### *c) Renk maddesi*

Peynir çeşidine göre istenirse karotenoidlerle sarıdan kırmızıya kadar farklı tonlarda renk ilavesi sağlanabilir (Fox vd., 2017)

#### **1.5.5. Peynir Mayası (Enzim) İlavesi ile Pıhtı Oluşumu**

Tüm peynirlerin temel üretim aşaması olan pıhtılaşma basitçe, protein fraksiyonlarının stabilizasyonunun bozulmasıyla birlikte sütün sıvı halden jel hale geçmesi işlemidir (Özcan ve Eroğlu, 2018). Pıhtılaşma işlemi organik asitlerle ve enzimle olmak üzere iki yolla gerçekleştirilebilir (Megep, 2016). Süt soğutulup gerekli görülen katkı maddeleri ilave edildikten sonra bu aşamada süte peynir mayası (rennet) ilavesi yapılmaktadır. Rennet buzağı, kuzu ya da oğlak şirdeninden elde edilen hayvansal kaynaklı bir pıhtılaştırıcı olmakla birlikte içerdiği başlıca proteinaz kimozindir (Dervişoğlu ve Aydemir, 2007). Peynir mayası ile pıhtılaşma işlemi üç aşamada gerçekleşmektedir; proteoliz (enzim etkisiyle kazeinin parçalanarak parakazein oluşması), agregasyon (misellerin  $Ca^{2+}$  varlığında birleşerek pıhtı oluşturması) ve jelasyon (misellerin birleşmeye devam etmesiyle sütün diğer unsurlarının da tutulduğu kesilebilir yapıdaki protein ağının oluşumu) (Koçak ve Devrim, 1989).

Bundan sonra sütün pıhtılaşmasına kadar geçen süre “pıhtı oluşma süresi” ve oluşan pıhtının katılaşp kesilebilir duruma gelmesine kadar geçen süre ise “pıhtının sıkılaşıma-sertleşme süresi” olarak ifade edilmektedir (Üçüncü, 2013). Belirtilen süreler ve mayalanma sıcaklığı peynir çeşidine göre değişiklik göstermektedir (Üçüncü, 2008). Koagülasyon işlemi olmadan peynir altı suyu ve yağsız süt, tam yağlı süt ve krema karışımından suyun termal evaporasyonla ayrılması ve laktoz kristalizasyonu gibi işlemlerle de peynirler üretilebilir (Akın, 2010). Mysost ve Gjetost gibi bu tip peynirler peynire benzerlik göstermezler hatta peynir altı suyu ürünleri olarak sınıflandırılırlar (Akın, 2010).



### **1.5.6. Pıhtının Kesim Kıvamının Belirlenmesi**

Pıhtının kesilmesi için belirli katılığa ulaşmış olması gerekmektedir. Eğer pıhtı erken kesilecek olursa, peynir suyuna fazla miktarda protein geçerek randımanın ve peynir kalitesinin düşmesine sebep olabilir (Üçüncü, 2008). Kesim kıvamının belirlenmesi için parmak, pıhtının teneke kenarından ayrılması ve asitlik belirleme gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır (Üçüncü, 2008).

### **1.5.7. Pıhtının Kesilmesi ve Kırılması**

Pıhtının boyutlarının küçültülmesindeki temel amaç, pıhtının yüzey alanını artırarak peynir suyu çıkışını kolaylaştırmaktır (Üçüncü, 2008). Cheddar ve Hollanda tipi peynirlerde koagulum dikey ya da yatay tel veya demir çubuklu bıçaklarla yaklaşık 1 cm küplere parçalanırken çoğu İtalya ve İsveç tipi peynirler özel bıçaklar yardımıyla kesilmektedir (Akın, 2010). Pıhtının kesimi, ısıtma/pişirme ve pıhtı-peynir altı suyunu karıştırma gibi işlemler için genellikle küresel kıvrımlı dönme hareketli veya konik yapılu pıhtılaştırma tekneleri kullanılmaktadır (Akın, 2010).

Çeşitli peynir tiplerinde (bazı sert ve yarı sert peynirler) pıhtının kırılmasının ardından belli bir ısıtma işlemi uygulanmaktadır. Bu işlemin amacı peynir altı suyunun pıhtıdan daha kolay ayrılmasını sağlayarak peynirin nem içeriğini istenen düzeye düşürmek, daha sıkı ve esnek pıhtı elde etmek, bazı çeşitlerde mikroorganizma seçiciliğine yardımcı olmak ve asitliği ayarlamaktır (Fox ve Guinee, 2013; Üçüncü, 2008). Slyke ve Price (1979) ısıtma sıcaklığının Camembert gibi yüksek nem içerikli çeşitlerde 31°C, Gouda ve Edam için 36°C, Cheddar için 38-40°C ve Emmental ve Parmesan için 52-55°C olduğunu belirtmişlerdir.

### **1.5.8. Kesilen Pıhtının Çökeltilmesi, Karıştırılması**

Yumuşak tip peynirlerde pıhtının alta çökmesiyle peynir suyunun da yüzeyde kalması sağlanırken sert ve yarı sert tip peynirlerde pıhtı taneleri kesildikten sonra elle veya makineler yardımıyla karıştırma işlemi uygulanmakta, bazı peynirlerde ise asitliği ayarlamak ve daha yumuşak bir tat eklemek amacıyla pıhtı ile aynı sıcaklıkta

su eklenerek yıkama işlemi yapılmaktadır (Üçüncü, 2008). Peynir üretim proseslerinin bazı aşamalarında (örneğin Camember peynirinde sütün pıhtılaşmasından hemen sonra, pıhtının ısıtılmasından sonra veya Cheddar'ın asitlendirilmesinden sonra) telemeler peynirin karakteristik şekil ve yapısı için kalıplanmaktadırlar (Akın, 2010).

### **1.5.9. Pıhtının Yıkınması**

Bu aşamada Gouda, Edam gibi bazı peynir çeşitlerinde öngörülen pH değerini aşmamak için asitliği ayarlamak ve daha yumuşak bir tat elde etmek amacıyla su katma işlemi uygulanmaktadır. Pıhtı-peynir suyu karışımından peynir suyunun bir bölümü ayrıldıktan sonra peynire işlenen süt miktarının %10-30'u kadar, yaklaşık pıhtı sıcaklığında su ilave edilir.

### **1.5.10. Pıhtının Isıtılması**

Çeşitli sert ve yarı sert peynirlerde pıhtı kesilip kırıldıktan sonra pıhtı-peynir suyu karışımına,

- ✓ Peynir suyunun daha kolay ayrılması,
- ✓ Mekanik yollarla uzaklaştırılamayan hidrat suyunun bir bölümünü uzaklaştırmak,
- ✓ Daha sıkı ve esnek pıhtı eldesi,
- ✓ Bazı çeşitlerde mikroorganizma seleksiyonuna yardımcı olmak
- ✓ Ve asitliği ayarlamak için ısısal işlem uygulanır (Üçüncü, 2008).

Pişirme sıcaklığı peynirin starter kültür içeriğine uyumlu olmalıdır, mezofilik *Lactococcus* sp. çeşitleri için 40°C'nin altında, termofilik *Lactobacillus* sp. çeşitleri için 40°C'nin üzerinde (Camembert 30°C, Gouda 35°C, Cheddar 40°C iken Emmental ve Grana peynirleri 55°C gibi) olmalıdır (Fox ve Guinee, 2013). Isıtma işlemi pıhtı-peynir suyu karışımının kazan cidarından direkt ısıtılması (direkt yol) ya da karışıma sıcak su (70-85°C) veya sıcak peynir suyu (63-65°C) eklenmesi (indirekt yol) olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilebilir (Üçüncü, 2008).

### 1.5.11. Peynir Altı Suyunun Uzaklaştırılması (Süzme)

Peynir çeşitlerine göre değişiklik gösteren süzdürme işlemi çoğunlukla cendere bezi denilen bir bez içerisinde yapılmakta ve bu işlem yaklaşık 30 dakika sürmektedir (Megep, 2016). Bazı peynirler kalıp içinde kendi kendine süzülürken bazılarının üzerine baskı uygulanmaktadır (Megep, 2016). Bu yöntemin yanı sıra peynir çeşidine göre,

- Yarım çembere gerdirilmiş olan süzme bezine pıhtıyı topladıktan sonra kazan üzerinde bir çengele asma,
- Delikli metal tenekeler ile,
- Telemeyi tekne kenarına toplayarak, eğimden faydalanarak süzme ve
- Titreşimli süzme bantları ve süzme silindirleri ile peynir suyunun ayrılması gibi farklı işlemlerde uygulanmaktadır (Üçüncü, 2008).

### 1.5.12. Tuzlama

Tuzlama işlemi,

- ✓ Peynirde mikrobiyal aktivitenin kontrolü,
- ✓ Peynirde ki çeşitli enzimlerin aktivitelerinin kontrolü,
- ✓ Pıhtıdan serum ayrılması ile peynirin su içeriğinin azaltılması ve
- ✓ Peynir tekstürünü, proteinin çözünürlüğünü ayarlamak gibi amaçlarla uygulanmaktadır (Akın, 2010).

Ayrıca peynire yapılan tuzlama işlemi pıhtıdaki nemin uzaklaştırılmasını, pıhtının sertleşmesini ve büzüşmesini, laktik asit oluşumunun yavaşlamasını, istenmeyen fermantasyon oluşumunu kontrol etmeyi sağlar (Slyke ve Price, 1979). Bunlarla birlikte tuz konsantrasyonu peynirin olgunlaşması esnasındaki enzimatik aktiviteyi de etkilemektedir (Farkye, 2004). Salamuradaki %2 ila %10 arasında değişen tuz konsantrasyonu peynirin olgunlaşmasında, kalitesinde, güvenliğinde ve lezzetinde etkilidir (Fox ve Guinee, 2013). Tuzlu salamura ile muamele edilen peynir bu şekilde olgunlaşmaya bırakılır ve olgunlaşma süresince salamuranın tuz

konsantrasyonu düzenli olarak kontrol edilir (Hayaloğlu, Güven ve Fox, 2002). Peynir, süte tuz katılması, pıhtı-peynir suyu karışımının tuzlanması, teleme tuzlama, kuru tuzlama ve salamurada tuzlama gibi farklı yollarla tuzlanabilmektedir (Üçüncü, 2008).

### **1.5.13. Pıhtının Preslenmesi ve Kalıplanması**

Yüksek nem içerikli peynirler kendi ağırlıklarıyla şekillenip bir araya gelirler fakar Cheddar gibi sert ve düşük nem içeriğine sahip peynirlerin düzgün şekilde kalıplanabilmesi için preslenmesi gerekmektedir. (Fox ve Guinee, 2013; Fox vd., 2017). Bunlarla birlikte son peynir suyu çıkışını sağlamak, tekstür oluşumu ve peynir şeklini oluşturmak gibi amaçlardada presleme işlemi yapılmaktadır (Megep, 2016).

Bunun için peynir altı suyu uzaklaştırıldıktan sonra teleme kendi ağırlığıyla veya kademeli artan basınçla baskılama işlemine abi tutulabilir (Megep, 2016). Ayrıca baskılama işlemi özel kalıplar yardımıyla uygulanarak telemenin istenilen biçimde sıkılaşması sağlanabilir (Megep, 2016). Peynir çeşidine göre süzme, baskılama ve kalıplama işlemleri sıralama ve yöntem açısından değişiklik gösterebilmektedir (Üçüncü, 2008).

### **1.5.14. Paketleme**

Peynir tüm bu aşamalardan sonra paketleme işlemine tabi tutulmaktadır. Peyniri fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kontaminasyona karşı korumak (özellikle maya gelişimini kontrol etmek üzere düşük oksijen geçirgenlikli plastik filmler gibi), yüzeydeki nem içeriğini düşük tutmak, özellikle yumuşak peynirde taşıma, istifleme vb. durumlarda fiziksel deformasyonu önlemek, etiketleme ve damgalama ile ürün bilgilerini üzerinde taşıyabilmek için paketleme gerekmektedir (Akın, 2010).

### **1.5.15. Peynirin Olgunlaşması**

Peynirin olgunlaşması her peynirin karakteristik tadı, aroması ve dokusunu oluşturan bir dizi biyokimyasal olaylar ile şekillenmektedir (Hayaloğlu, Güven ve Fox, 2002). Peynirin olgunlaşmasını sağlayan beş önemli faktör, rennet, starter kültür, sekonder ve yardımcı kültürler, nonstarter kültür ve süt enzimleridir (Hayaloğlu, Güven ve Fox, 2002). Olgunlaşma süreci (2 hafta-2 yıl) peynir sütüne maya ilavesi ile başlayarak (kazein hidrolizi), makro moleküllü peptitlerin aminoasitlere kadar parçalandığı proteoliz, lipidlerin serbest yağ asitlerine parçalandığı lipoliz ve laktozun pirüvik ve laktik aside dönüştüğü glikoliz olaylarının gerçekleşmesiyle meydana gelmektedir (Hayaloğlu ve Özer, 2011). Bu olayların sonucunda oluşan amino asitler, serbest yağ asitleri, organik asitler ve bir takım uçucu maddeler peynirin aromasını şekillendirmekte veya aromanın oluşumunda öncü maddeler olarak görev almaktadırlar (Hayaloğlu ve Özer, 2011).

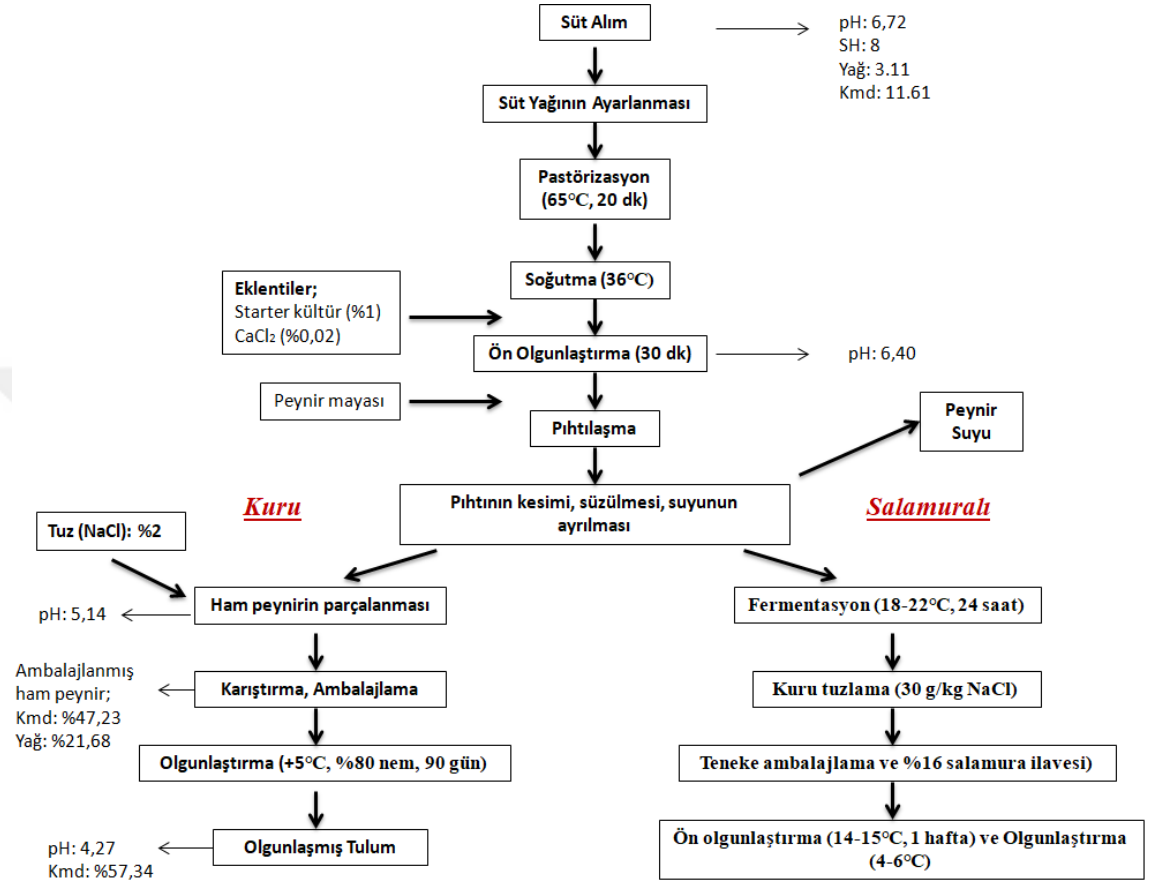
### **1.6. Konya Küflü Tulum Peyniri**

Türkiye'nin neredeyse her yöresine özgü geleneksel peynirleri bulunmaktadır. Tulum peyniri hemen tüketilmeyen, belli bir olgunlaşma sürecinden geçen, yapımında yağlı ya da yağsız koyun, keçi ve inek sütü kullanılan sert tipte bir peynir çeşididir (Durlu-Özkaya ve Gün, 2007). Türk Gıda Kodeksinde (2015) tulum peyniri, "hammaddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin fermantasyonunu takiben ufalanıp tuzlanması, daha sonra gıdaya temasa uygun bir ambalaj malzemesine veya deri tulumlara sıkıca basılarak üretilen ve olgunlaştırıldıktan sonra piyasaya arz edilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren peynir" olarak ifade edilmiştir.

#### **1.6.1. Tulum peyniri üretimi**

Neredeyse her yörede üretilmekte olan tulum peynirleri kuru ve salamuralı olmak üzere iki ana grup altında incelenir. Kuru tulum peynirlerine Erzincan Şavak tulum peyniri ve salamuralı tulum peynirlere de İzmir Tulum peyniri örnek verilebilir. Daha çok geleneksel metodların kullanıldığı tulum peynirleri, genellikle

köylerde, mandıralarda ya da yaylalarda, koyun, keçi ve inek sütünden, yağı alınmadan mayalanarak hazırlanan telemelerin toplanılması ile üretilmektedir. En önemli özelliği ise keçi derisine sıkıca doldurularak ambalajlanması ve bu şekilde olgunlaştırılmasının sağlanmasıdır.



Şekil 1.3: Kuru ve Salamuralı tulum peyniri üretimi akış şeması

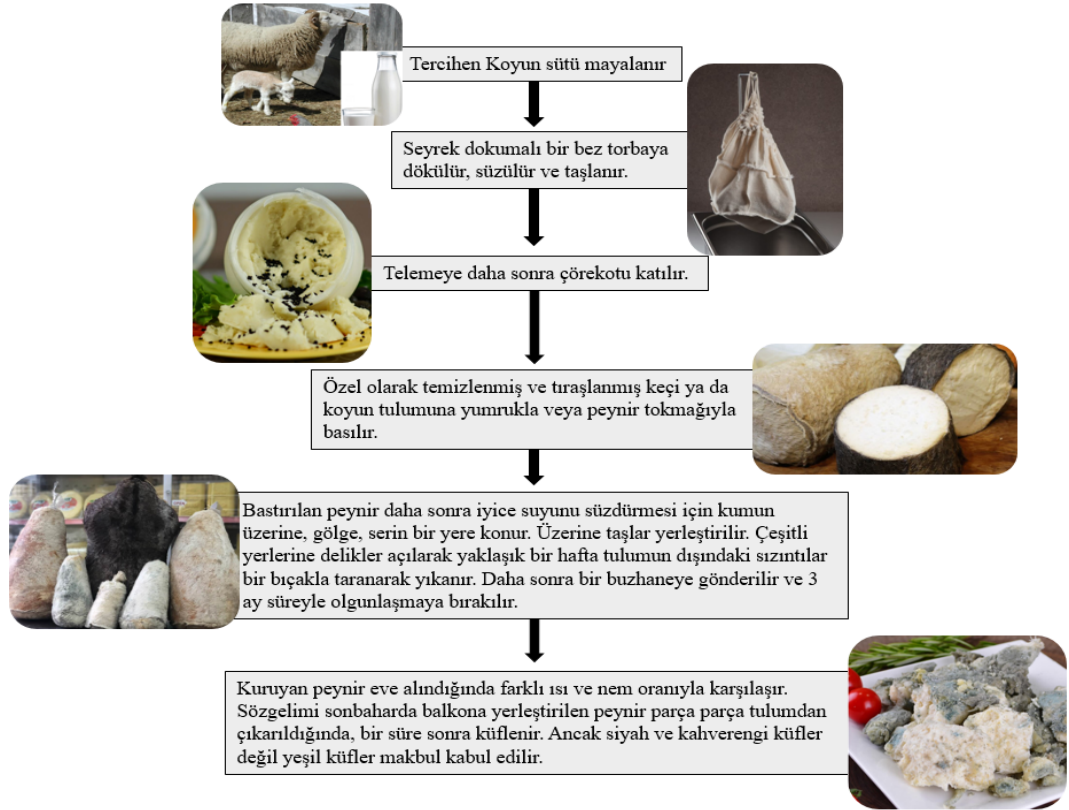
(Karabey vd., 2018; Üçüncü, 2008)

Şekil 1.3'teki üretim akış şemasında kuru tulum peynir üretimi için Erzincan tulum peynir ve salamura tulum peynir üretimi için ise İzmir tulum peynirinin üretim metodları verilmiştir.

### 1.6.2. Konya küflü tulum peyniri üretimi

Bu çalışmaya da konu olan Konya küflü tulum peyniri Konya yöresine has bir lezzettir. Yöre halkı, mavi ve yeşil küflerin peynire hoş bir aroma ve güzel tad

verdiğine ve sağlığa yararlı olduğuna inandıklarından bu peyniri çokça üretmekte ve tüketmektedirler (Özkalp ve Durak, 1998). Ünsal (1997)'de. Konya küflü peynirin geleneksel yollarla yapımı Konya'nın yerlisinden dinlenerek kaydedilmiştir. Bundan yola çıkılarak ev koşullarında Konya küflü peynir yapımı Şekil 1.4'teki gibi anlatılmıştır.



**Şekil 1.4: Geleneksel Konya küflü peynirinin ev yapımı aşamaları**

(Ünsal, 1997)

Pazarlarda satılan küflü tulum peynirlerinin yapımı ise daha farklıdır. Genelde yaylalardaki köylülerden toplanan telemeler (koyun, keçi ve az miktarda inek sütü kullanılarak, yağı alınmadan, rennet ile mayalanmış ve süzölmüş peynir) üreticiler tarafından toplanır (Üçüncü, 2008; Ünsal, 1997). Bu peynirler tuzlanarak bez keselerde suyunun iyice süzölməsi için 3-4 gün bekletildikten sonra makinelerde ufalanarak temiz keçi veya koyun tulumuna doldurulur (Ünsal, 1997; Yaman, Tepeli ve Zorba, 2016). Son aşamada, peynirler olgunlaşması için 3-4 ay serin ortamda depolanır (Yaman, Tepeli ve Zorba, 2016). Peynirler gerçek tulum içinde olgunlaştırıldığında deriye temas eden kısımda sarı bir kabuk oluşumu

gözlemlenirken, artık naylon torba yerleştirilmiş suni elyaf torbalara basıldığı için beyaz kalmaktadır (Durlu-Özkaya ve Gün, 2007; Ünsal, 1997). Tulum peynirinin olgunlaşmasından sonra, tulumun çeşitli yerlerinden kesilerek bodrum, mahzen ve mağaralara konulup küflendirilmesi sağlanmaktadır (Özkalp ve Durak, 1998). Kültürlü üretimde ise yağsız koyun peyniri %4 tuz ilavesiyle kurutulup ambalajlanır ve 0-4 °C'deki depoya alınarak 45 gün bekletildikten sonra peynirler ufalanarak üzerine 8-10 °C'de muhafaza edilen *Penicillium roqueforti* küf kültürü püskürtülür (Durlu-Özkaya ve Gün, 2007). Peynir 20-25 gün küflenmesi için bekletilir (Durlu-Özkaya ve Gün, 2007).

### 1.7. Dünyada Küflü Peynirler

Küflerle olgunlaşmış peynirler dünyadaki peynir üretiminin küçük bir bölümünü temsil etmesine karşın, bu türde peynirler artık tüketiciler arasında daha popüler bir hale gelmektedir (Gripon, 1993). Özellikle Avrupa ülkelerinde ve Kuzey Amerika'da oldukça popüler olan küflü peynirler, Rokfor, Gorgonzola ve Danish blue gibi mavi damarlı peynirler ve Camembert ve Brie gibi beyaz küflü peynirler olmak üzere iki grupta incelenmektedir (Hayaloğlu ve Özer, 2011). Mavi peynirler, beyaz küflerin aksine peynir içinde gelişen *Penicillium roqueforti* ile olgunlaştırılırken, beyaz küflü peynirler yüzeydeki *Penicillium camemberti* küfünün büyümesiyle karakterize edilir ve yüksek biyokimyasal aktivite ile tipik görünümlemlerini ve lezzetlerini kazanırlar (Cantor vd., 2004; Gripon, 1993; Hayaloğlu ve Özer, 2011). Ayrıca üretimde kullanılan suş peynirde farklı renkte küfler meydana getirebilmektedir. Örneğin; Gorgonzola peynirinde açık mavi ya da sarımsı renk geliştirebilen *P. roqueforti* suşu kullanılırken, Danablu, Roquefort ya da Stilton gibi peynirlerde koyu yeşil renk geliştiren suşlar tercih edilmektedir (Hayaloğlu ve Özer, 2011). Bunların yanı sıra küflü peynirlerde, olgunlaşma esnasında *Debarymyces hanseii* ise dominant maya türüdür (Dijksterhuis ve Samson, 2007).

Birçok ülke, farklı üretim yöntemleriyle ve farklı özelliklerde kendi Mavi-yeşil peynir türlerini geliştirmişlerdir ve bunlar arasında en bilinenleri ise Gorgonzola, Roquefort, Stilton ve Danablu peynirleridir (Cantor vd., 2004). Tablo 1.5'te küflü peynirlerin dünyadaki en bilinen örnekleri ve Şekil 1.4'de bunlardan bazılarının görselleri verilmiştir.



**Tablo1.4: Dünyada en bilinen küflü peynir örnekleri ve menşei**

<i>Peynir</i>	<i>Ülke</i>	<i>Referans</i>
<b>Beyaz küflü peynirler</b>		
<i>Brie de Meaux AOC</i>	Fransa	Harbutt, 2015
<i>Camembert</i>	Fransa	Hayaloğlu ve Özer, 2011
<i>Lymesworld</i>	İskoçya	Hayaloğlu ve Özer, 2011
<i>Langres</i>	Fransa	Harbutt, 2015
<b>Mavi-yeşil küflü peynirler</b>		
<i>Roquefort AOC</i>	Fransa	Harbutt, 2015
<i>Selles-sur-Cher AOC</i>	Fransa	Harbutt, 2015
<i>Sainte-Maure de Touraine AOC</i>	Fransa	Harbutt, 2015
<i>Gorgonzola PDO</i>	İtalya	Harbutt, 2015
<i>Stilton PDO</i>	İngiltere	Harbutt, 2015
<i>Bavaria Blue</i>	Almanya	Harbutt, 2015
<i>Blue ya da Bleu</i>	Fransa, Amerika, Arjantin	Kosikowski, 1977
<i>Danablu</i>	Danimarka	Van den Tempel & Jakobsen, 1998
<i>Barkham blue</i>	İngiltere	Harbutt, 2015
<i>Cashel blue</i>	İrlanda	Harbutt, 2015



**Şekil 1. 5: A: Bleu dauvergne, B: Brie de Meaux, C: Selles sur cher, D: Langres, E: Blue ya da Bleu, F: Stilton, G: Sainte Maure de Touraine, H: Gorgonzola, I: Cashel blue**

(Kaynak: [www.murrayscheese.com](http://www.murrayscheese.com), 2019; [www.blackwellsfarmproduce.co.uk](http://www.blackwellsfarmproduce.co.uk), 2019; [www.fromages-france.com/en/](http://www.fromages-france.com/en/), 2019; [cheese-etc.co.uk](http://cheese-etc.co.uk), 2019; [traiteur.auchan.fr/](http://traiteur.auchan.fr/), 2019; [www.cheeseshop.sg/](http://www.cheeseshop.sg/), 2019; [thelittlecheesemonger.co.uk/](http://thelittlecheesemonger.co.uk/), 2019)

### 1.8. Türkiye’de Küflü Peynirler

Türkiyede üretilen peynirlerin %96’sı inek sütünden, kalan kısmı ise koyun, keçi, manda ve karışık sütlerden elde edilmekte ve bu peynirler modern süt işleme tesisleri ya da küçük ölçekli mandıralarda üretilmektedir (Terin, 2014). Türkiye’de üretilen süt ürünlerinin %16’sını inek peyniri oluşturmaktadır (Turan vd., 2017). Türkiye’nin bilinen geleneksel bazı küflü peynirleri Tablo 1.6’de verilmiştir.

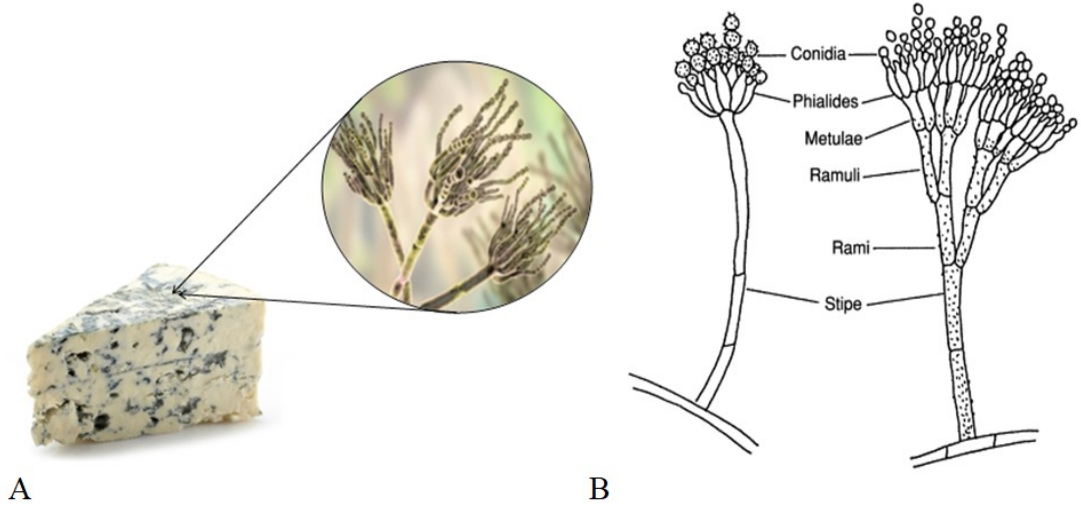
**Tablo1.5: Türkiye'nin bilinen geleneksel küflü peynirleri**

<b>Peynir</b>	<b>Yöre</b>	<b>Yapılışı</b>	<b>Referans</b>
<i>Yusufeli Küflü Köylü Peyniri</i>		Yağlı ya da yavan süttten yapıpı torbada süzüldükten sonra dışarıda kurutularak çatlaması sağlanır ve çatlaklar bir süre sonra küflenmektedir.	Ünsal, 1997
<i>Yağlıdere Küflü Tulum Peyniri</i>	Giresun	Yağlı koyun süttünden yapılmaktadır.	Ünsal, 1997
<i>Dorak (Tomas ya da Serto)</i>		Yoğurdun yayıklandıktan sonra kalan ayran kısmının ısıtılıp oluşın çökeleğe tereyağı, kaymak, yoğurt gibi ilaveler yapıpı yoğrulması ve tulumlara basılması ile oluşmakta ve bazen olgunlaşma döneminde <i>Penicillium roqueforti</i> gelişmesi gözlemlenebilmektedir.	Ünsal, 1997
<i>Erzurum Küflü Peyniri</i>	Erzurum	Erzurum ilinin çeşitli aromatik otlarla beslenen hayvanlarından elde edilen süttün yağı uzaklaştırılır, asitlendirilir, mayalanır ve elde edilen peynir plastik, ahşap veya deri materyallere basılarak olgunlaştırılır. Bu esnada spontane gelişen mavi-yeşil küfler peynire özel bir aroma ve lezzet katar.	Baran ve Topçu, 2018
<i>Geleneksel Isparta Küflü Çömlek Peyniri</i>	Isparta	Özellikle keçi veya koyun süttünden hazırlanan yağsız tulum peyniri ufalanıp, suyu süzdürülüp, çömlek, bidon veya tulumlara hava almayacak şekilde basılıp, bodrum, mahzen, mağaralarda veya toprak altına gömülerek küflenmesi ile hazırlanmaktadır.	Şengün vd., 2006
<i>Erzurum Civil Peyniri</i>	Erzurum	Özellikle Erzurum'da üretilen bu peynir; civil peynirinin ya da civil ve lor karışımının keçi derisine ya da plastik torbalara basılarak 3 ay yada daha uzun süre olgunlaştırılması ile meydana gelir. Peynirin yüzeyinde ve içinde oluşın mavimsi yeşil küfler peynire	Çakmakçı vd., 2012

		has aromasını ve tadını sağlamaktadır.	
Küflü Ardahan Deri Peyniri	Ardahan	-	Yalınız, 2019

### 1.9. *Penicillium roqueforti*

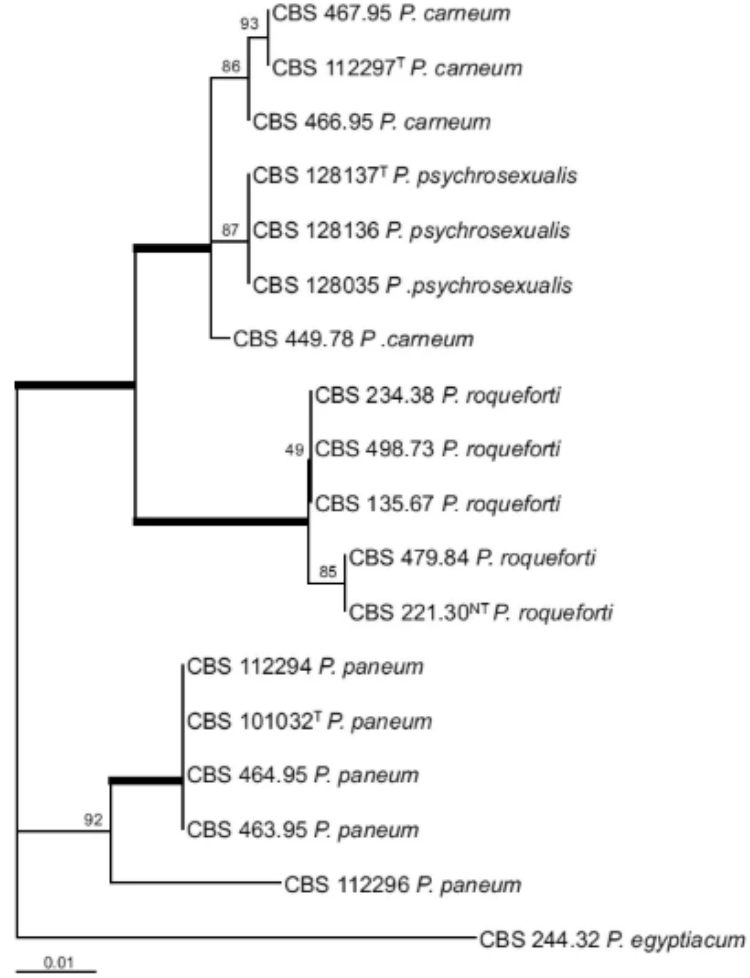
*Penicillium*'lar *Deuteromycotina* sınıfından, Şekil 1.6'daki gibi fırça şeklinde, beyaz, gri, mavi, sarı, portakal, kırmızı veya (büyük ölçekte) yeşil renkte kolonilere sahip, yüzeyde çoğalan, kadife yapıda ve büyük kısmı saprofit küflerdir (Tayar ve Hecer, 2013). Redondo, Cubero ve Melgarejo (2009) *Penicillium* cinsinin açıklanan tüm mantar türlerinin en büyük ve yaygın olarak dağılmış olanlarından biri olduğundan ve 1930'dan (*Penicillium* üzerine yapılan ilk taksonomik çalışmanın yayınlanması) 2004'teki en son sınıflandırmaya kadar geçen sürede 225 yeni *Penicillium* türünün tanımlandığından bahsetmişlerdir. *Penicillium roqueforti*'nin filogenetik analizlere göre *Aspergillaceae* ailesinden, *Pezizomycotina* alt şubesinden, *Eurotiomycetes* sınıfından *Eurotiales* takımı içerisinde yer aldığı bilinmektedir (Metin, 2018). Dünya çapında, 18 farklı ülkeden toplanan 120 mavi peynirden ve 21 peynir dışı substrattan izole edilmiş olan 164 izolattan oluşan bir *Penicillium roqueforti* koleksiyonu bulunmaktadır (Gillot vd., 2017).



Şekil 1.6: A: Rokfor peyniri B: *Penicillium roqueforti* mikroskopik görünümü

(Kaynak: [www.cocinista.es/web/es](http://www.cocinista.es/web/es), [www.istockphoto.com/tr](http://www.istockphoto.com/tr), Bullerman, 2003)

*P. roqueforti*, *P. carneum*, *P. paneum* ve *P. psychrosexualis* Şekil 1.7'deki filogramda da görüldüğü üzere birbirlerine yakın türlerdir (Houbraken, Frisvad ve Samson, 2010). *P. roqueforti* ile yüksek oranda benzerlik gösteren bu türleri birbirlerinden ayırmak ancak moleküler yöntemlerle (özellikle ITS,  $\beta$ -tubulin ve CaM) mümkündür (Boysen vd., 1996).

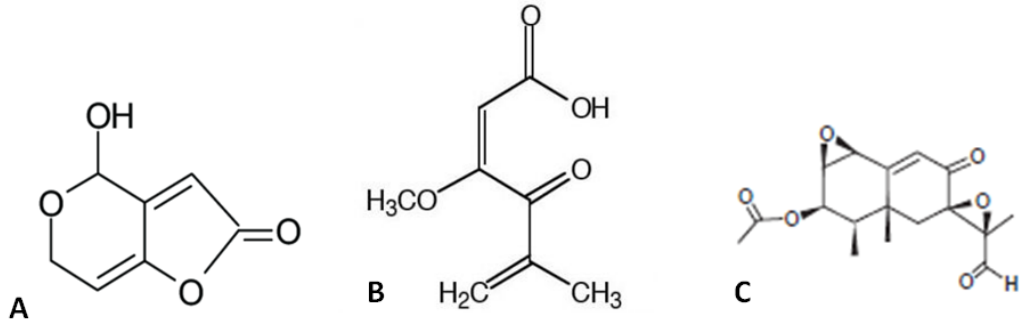


**Şekil 1.7: *Penicillium roqueforti* ve yakın türlerin filogenetik sınıflandırılması**

(Houbraken, Frisvad ve Samson, 2010)

*P. roqueforti* ve *P. camemberti* karakteristik lezzet ve aromaya sebep olduklarından peynir üretiminde kullanılmaktadırlar (Tayar ve Hecer, 2013). Özellikle *Penicillium roqueforti*, proteaz ve lipaz sistemlerinin etkisi ile doku ve lezzet oluşumuna katkıda bulunarak peynir ortamına iyi bir şekilde adapte olmakta ve Roquefort, Gorgonzola, Stilton ve Danish Blue gibi mavi damarlı peynirlerin

modern üretiminde başlangıç kültürü olarak kullanılmaktadır (Florez vd., 2007).



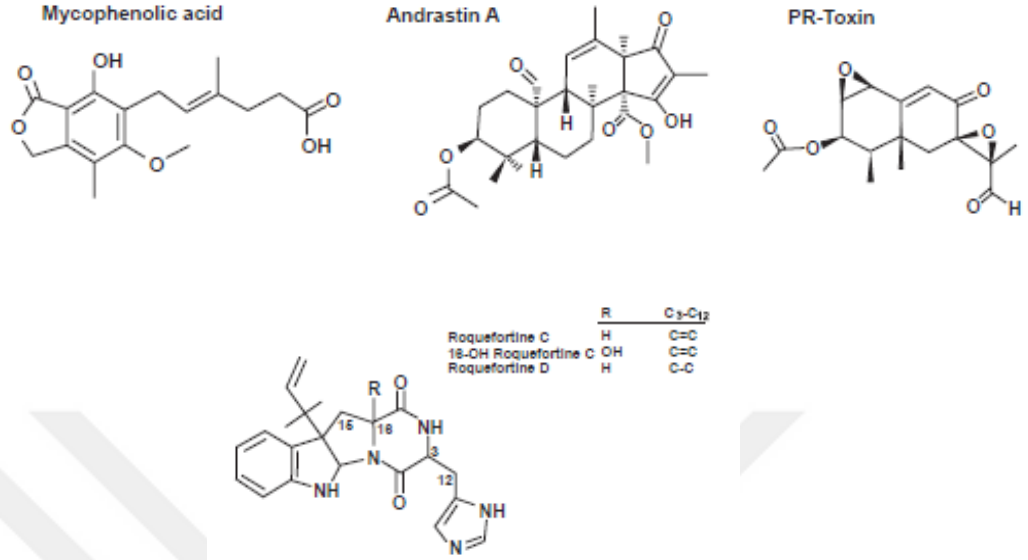
**Şekil 1.8: A: Patulin, B: Penisillik asit, C: PR toksin**

(Fathi-Achachlouei vd., 2007; Martin ve Coton, 2017; [www.scbt.com/p/penicilliacid-90-65-3](http://www.scbt.com/p/penicilliacid-90-65-3))

Peynirde bulunan en yaygın küf türü olan *Penicillium*, Şekil 1.8’de kimyasal yapıları verilmiş olan patulin, penisillik asit ve PR toksinlerini üretebilmektedir (Fox vd., 2017). *P. roqueforti*, *P. carneum* ve *P. paneum* türlerinin çok benzer fizyolojik ve fenotipik özelliklere sahip olmasından ötürü mikotoksin üretimi konusunda birçok farklı rapor bulunduğu belirtilmiştir (Nielsen vd., 2005). *P. paneum* suşları patulin üretir (Martin ve Coton, 2017).

*P. roqueforti* izolatları ise Şekil 1.9’da kimyasal yapıları verilmiş olan PR-toksin, roquefortine C, mikofenolik asit ve andrastin A üretebilir (Banjara vd., 2015). Özellikle gram-pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip ve peynir olgunlaşmasında rol alan bakteri popülasyonunu kontrol etmeye yardımcı olan roquefortine C mavi peynirlerde üretilebilir ve bazen bir mikotoksin olarak tarif edilebilir, ancak literatürde bu önermeyi destekleyen önemli bir toksikolojik veri yoktur ve insanlar için bir toksisite sorunu oluşturmadığına dair fikir birliği bulunmaktadır (Martin ve Coton, 2017; Nielsen vd., 2005). Antibakteriyel ve immünsüpresif bir metabolit olan mikofenolik asit ise, bazı mavi ve Manchego peynirlerinde doğal olarak ortaya çıkmıştır (Nielsen vd., 2005). Bunlarla birlikte PR-toksin peynirde kararsızdır ve diğer potansiyel mikotoksinlerin insan sağlığındaki toksisitesi ve rolü kesin olarak kanıtlanmamıştır (Banjara vd., 2015). Mavi peynirde, PR-toksin muhtemelen daha az toksik PR-amid veya PR-imine dönüştürülmektedir

(Martin ve Coton, 2017). Andrastinlerin ise insan sağlığı için yararlı olduğu düşünölmektedir, toksik etkisini destekleyen çalışma bulunmamaktadır (Martin ve Coton, 2017).



**şekil 1.9: *Penicillium roqueforti* türünün ürettiği metabolitler, mikofenolik asit, andrastin A, PR-toksin ve roquefortine C**

(Martin ve Coton, 2017)

### 1.10. Moleküler Tanımlama Metodları

Gıda biyoteknolojisinde mikroorganizmanın tanımlanması; klinik, gıda ve çevresel örneklerde bulunan patojen mikroorganizmaların en hızlı ve en duyarlı tekniklerle tespit edilmesi ya da yeni mikroorganizma ve metabolitlerin seçilmesi için önem teşkil etmektedir (Aran, 2013; Aras, 2011). Tanımlama işlemi kültür-temelli ve kültür-bağımsız yöntemler olmak üzere iki farklı yolla yapılmaktadır. Kültür temelli yöntemler geleneksel yöntemler olarak da adlandırılabilir ve bu yolla spesifik mikrobiyal türler (*Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* gibi),

- Organizmanın seçilerek üretilmesini sağlayan bir takım özel kültür ortamlarına ekilmesi ile,
- Gram boyama gibi fizyolojik özelliklerinin hedef alındığı boyama yöntemleriyle,
- Morfolojik koloni özelliklerine bakılarak,

- Farklı kültür ortamlarında üreme özellikleri ve
- Organizmanın oluşturduğu veya tükettiği metabolit özelliklerine bakılarak tanımlanabilmektedir (Aras, 2011; Gürsoy ve Otlu, 2017).

Bu yöntemler ucuz olmasına karşın zaman ve emek gerektirmekte aynı zamanda hata payı yüksek olmaktadır.

Bunların yanı sıra moleküler tanımlama yöntemleri sonuçların daha hızlı alınabildiği, mikrobiyoloji alanındaki en yeni teknolojik gelişmedir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012). Hızlı yöntemler,

- Farklı tiplerdeki minyatürize biyokimyasal kitler,
- Nükleik asit hibridizasyon kökenli yöntemler,
- Antikor temelli serolojik testler ve
- Biyosensörler gibi yöntemlerin manuel, yarı otomatik veya tam otomatik kullanımını kapsamaktadır (Aras, 2011).

Bu gibi yöntemler yüksek duyarlılıkta ve özgüllükte sonuçlar sunmalı, aynı zamanda ucuz ve hızlı olmalıdır (Aras, 2011).

- PCR-RFLP (Restriksiyon parçaları uzunluk polimorfizmi) analizleri (Karlı ve Balcıoğlu, 2011),
- PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu),
- RAPD-PCR (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA - Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi (Emenli ve Gündüz, 2019),
- REP-PCR (Tekrarlayan element sekansı temelli polimeraz zincir reaksiyonu) parmak izi yöntemi (Masco vd., 2003),
- MALDI-TOF MS (Matris destekli lazer desorpsiyonu / iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometresi) (Miguel vd., 2017),
- FT-IR (Fourier transform infrared) Kandpal ve Cho, 2014)
- ve DNA dizileme gibi moleküler yöntemler güncel olarak, mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılabilmektedir (Thieman ve Palladino, 2013).

PCR-RFLP metodu ile Atoui ve Khoury (2017) çalışmasında *Aspergillus* cinsi küfleri tanımlamışlar ve Liang vd. (2019) ise 13 farklı bölgeden topladıkları *Armillaria gallica* funguslarını tanımlamışlardır. André vd. (2017) 18 patojenik *Yersinia* türünü, Surzenko vd., (2017) çavdar ekmeğinden izole edilen *Aspergillus*,



*Penicillium* ve *Saccharomyces* gibi küf türlerini ve Muñoz vd. (2016) *Botrytis* türü patojenleri PCR temelli yöntemlerle tanımlamışlardır. Coloretti vd. (2017) Parmigiano reggiano peynirindeki mayaları ve Abdollahniya vd. (2018) geleneksel süt ürünlerinden izole edilmiş *Lactobacillus* türlerini tanımlamak için RAPD-PCR kullanmışlardır. Zhao vd. (2018) *Candida albicans* gibi klinik açıdan önemli 71 maya türünü REP-PCR ve MALDI-TOF MS kullanarak tanımlamışlardır.

Kültür bağımsız yöntemler ise canlı hücrelere ihtiyaç duymadan moleküler yöntemlerle mikroorganizmaların tanımlanması ve sınıflandırılmasında hücre içindeki DNA ve RNA gibi spesifik moleküllerin tespiti ile son derece yüksek özgüllük ve duyarlılıkta sonuçlar sunmaktadır (Gürsoy ve Otlu, 2017). Bu yöntemlerin sağladığı en büyük avantaj ise in vitro olarak geliştirilemeyen organizmaların ve patojenlerin doğal ortamlarında veya patolojik materyalde kısa sürede tespit edilebilmesidir (Gürsoy ve Otlu, 2017).

### **1.10.1. Barkodlama**

Blaxter (2003) bakteriyolojide sekans verilerinden yola çıkılarak taksonların tanımlanabilmesinden ve sekans farkına göre taksonları tanımlamaya yönelik kurallar geliştirilmekte olduğundan bahsetmiştir. Yani seçilmiş spesifik bir DNA dizisi, bir barkodun süpermarket ürünlerini tanımladığı gibi, bir organizmanın hem tanımlanması hem de sınıflandırılması için kullanılabilir (Blaxter, 2003). Burada 'barkodlama' terimi dikkat çekmektedir. Kaczmarek, Reid ve Moniz (2007) ise moleküler barkodlama şeklinde bu terimi ele almış ve türlerin hızlı ve tutarlı bir şekilde tanımlanması için potansiyel taşıdığını belirtmişlerdir. Böylece bir tek bilinen türlerin tanımlanmasında değil, aynı zamanda taksonomik araştırmalara da ön ayak olacak bir yöntem olduğundan bahsetmişlerdir. GenBank'ta, sadece 4-5 yıl içerisinde birikmiş olan diatomlar için listelenen yaklaşık 100.000 dizi bulunduğu bildirilmektedir (Kaczmarek, Reid ve Moniz, 2007). Özellikle İnternal Ara Bölgelerin (Internal Transcribed Spacer, ITS) küflerin filogenetik sınıflandırılması adına yararı bildirilmektedir (Emenli ve Gündüz, 2019). Drissner ve Freimoser (2017) fungusların tanımlanmasında, belirli bir izolatin kimliğini belirlemeye yönelik spesifik bir DNA zincirini esas alan ve çoğunlukla nükleer ribozomal ITS'in evrensel fungal kısa bir DNA zincirini (barkod) kullanan analizler uygulanmakta olduğunu

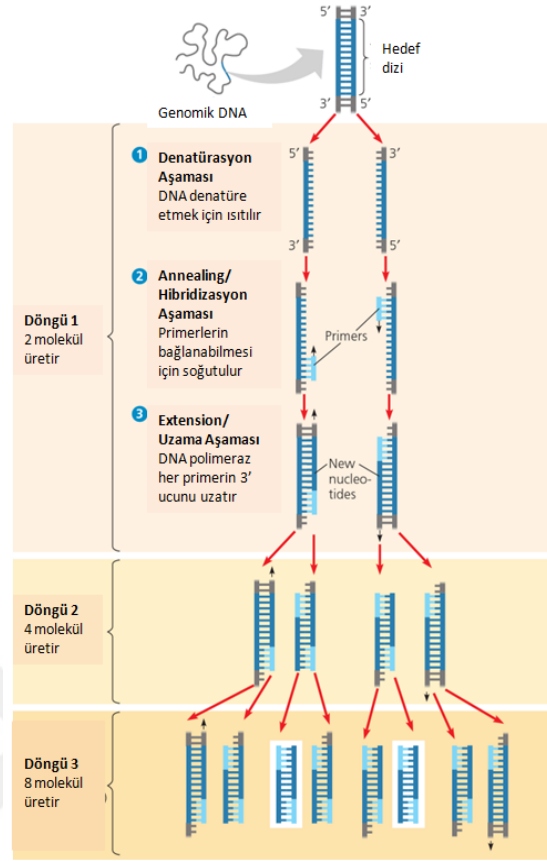
belirtmişlerdir. Panelli vd. (2012) Taleggio peynirindeki kontamine küf florasını belirlemek ve moleküler olarak küfleri tanımlamak üzere ribozomal (ITS1, ITS2 ve 26S rRNA geninin D1/D2 bölgeleri) ve ribozomal olmayan ( $\beta$ -tubulin ve EF1 $\alpha$  genleri) hedef bölgeleri çoğaltarak çalışmışlardır.

### 1.10.2. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyon) Metodu

PCR, 1980'lerin başında ortaya çıkmasıyla birlikte, mikroorganizmaların ve mikrobik etkenlerin teşhisinde oldukça önemli bir araç haline gelerek klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Gürsoy ve Otlu, 2017). PCR spesifik bir DNA dizisinin kısa sürede çoğaltılmasını ya da kopyalanmasını sağlamak ve bu DNA parçacıkları elektroforez yardımıyla görüntülenebilmektedir (Aras, 2011; Thieman ve Palladino, 2013). Gıdalardaki mikrobiyolojik analizlerde yaygın olarak kullanılan PCR reaksiyonu PCR tüpünde sıcaklık – zaman kontrolünün yapılabildiği bir cihaz yardımıyla gerçekleştirilmektedir (Aran, 2013). Reaksiyonun temel ilkesine göre;

- Çoğaltılacak hedef DNA,
- Deoksiribonükleotidler (dATP, dCTP, dGTP, dTTP),
- Tampon sıvı,
- DNA polimeraz ve
- Primer çifti (çoğaltılacak olan DNA'nın her iki ucuna komplementerdir)

ince duvarlı bir tüpün içine eklenir ve reaksiyon tüpü bir ısı döngüleyiciye yerleştirilir (Thieman ve Palladino, 2013).



**Şekil 1.10: PCR reaksiyon döngüsü**

(Kaynak: Giri, 2017)

PCR döngüsü ayrıntılarıyla birlikte Şekil 1.10'da verilmiştir. Buna göre ilk aşama denatürasyon olarak adlandırılır ve çift sarmallı DNA iplikçikleri yüksek sıcaklık (94 - 98°C) yardımıyla birbirinden ayrılır (Aran, 2013). Bağlanma (Hibridizasyon) adı verilen ikinci aşamada PCR tüpü soğutulur (55 – 65 °C) primerlerin hedef dizinin karşıt uçlarındaki tamamlayıcı bazlarla hidrojen bağı oluşturması sağlanır (Thieman ve Palladino, 2013). Üçüncü aşama uzama olarak adlandırılır ve yaklaşık 70 - 75°C'de polimeraz enzimi primerlerin ucuna nükleotidleri ekleyerek (tamamlayıcı zinciri üreterek) çift iplikli DNA'yı sentezler (Çetinkaya ve Ayhan, 2012; Thieman ve Palladino, 2013).

Kalıp (Genomik) DNA: Mikroorganizmadan izole edilmiş, çoğaltılacak olan, spesifik baz dizisine sahip genetik materyaldir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012).

dNTP: DNA molekülünün yapıtaşı ve aynı zamanda DNA polimerazın substratı olan deoksi nükleotid trifosfatlardır (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) ve DNA molekülünün çoğaltılması esnasında yeni zincir oluşumunda kullanılırlar (Aran, 2013).

DNA polimeraz (Taq): Taq sıcak kaynak sularında yaşayabilen *Thermus aquaticus* adlı bir bakteriden elde edilen ve dNTP'leri kullanarak yeni DNA zincirini oluşturan enzimdir (Thieman ve Palladino, 2013).

Primer: Hedef DNA'ya özgü ve başka DNA'lar ile çapraz reaksiyon vermeyen, 15 – 25 işaretlenmiş nükleotitten meydana gelen ve DNA'yı çoğaltmak amacıyla kullanılan kısa zincirli, tek sarmallı DNA molekülleridir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012).

Mevcut fenotipik yöntemlerin ayırt etmede yetersiz kalmasıyla birlikte küf izolatları ribozomal RNA (rRNA) ya da başka bölgelerin, örneğin; 5,8S, 18S, 28S, beta-tubulin ve CaM (calmodulin) protein kodlayıcı genlerinin DNA dizi analizi yardımıyla tanımlanabilmektedir (Frisvad ve Samson, 2004; Gillot vd., 2015; Gündüz ve Emenli, 2019, Rasmussen vd., 1990). DNA'nın PCR amplifikasyonu ve özellikle İnternal Ara Bölgelerinin (ITS), küflerin filogenetik sınıflandırılması için faydalı olduğu belirtilmektedir (Gündüz ve Emenli, 2019).

PCR ürünlerini gözlemlemek amacıyla agaroz jel elektroforezi kullanılır. Geleneksel jel elektroforez yöntemi DNA örneklerinin katı matrikse (jel veya poliakrilamid) yerleştirilerek statik elektrik alanı oluşturulup jeldeki moleküllerin göç ettirilmesi prensibinde göre gerçekleşmektedir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012). Negatif yüklü DNA molekülü bu elektrik alan içerisinde pozitif kutup olan anota doğru hareket etmekte ve bu hareket DNA molekülünün şekli ve büyüklüğü ile elektriksel kuvvetin büyüklüğünden etkilenmektedir (Aşçıoğlu vd., 2002). Bunların yanı sıra jelin yoğunluğu ve içeriği, tampon çözelti ve sıcaklık gibi parametreler de DNA molekülünün jelde göçüne etki eden diğer parametrelerdir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012).

### **1.10.2. REP-PCR (Tekrarlayan element sekansı temelli polimeraz zincir reaksiyonu)**

REP-PCR parmak izi metodu, farklı boyutta DNA fragmanlarının amplifikasyonunu sağlayan, serpiştirilmiş tekrarlayan sekansları tamamlayıcı oligonükleotit PCR primerleri kullanan genotipik bir tekniktir (Masco vd., 2003). Korunmuş tekrarlayan dizilere örnek olarak BOX, ERIC, REP ve (GTG)<sub>5</sub> verilebilir (Masco vd., 2003). Amplifiye edilmiş fragmanlar, rep-PCR genomik parmak izi olarak adlandırılan bir profil vererek bir jel matrisinde çözülebilir ve bilgisayar destekli desen analizi kullanılarak görüntülenip incelenebilir (Rademaker, Louws ve De Bruijn, 1998).



## İKİNCİ BÖLÜM

### MATERYAL VE METOD

#### 2.1. Materyal

Çalışma için Konya şehrinin halk pazarından, farklı esnaflardan 2018 Eylül-Ekim ayları arasında alınmış olan 26 adet Konya küflü peyniri kullanılmıştır. Kullanılan diğer tüm malzemeler Tablo 2.1’de kategorize edilmiş şekilde verilmiştir.

ITS1 (invitrogen), ITS2 (invitrogen), GTG5 (Macrogen), dTTP, dATP, dCTP ve dGTP (Thermo Scientific), 10xDream Buffer (20mM, Thermo Scientific), agaroz (Sigma),

**Tablo 2.1: Materyal listesi**

<i>Malzeme Kategorisi</i>	<i>Malzemeler</i>
<i>Kitler</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Invitrogen PureLink Genomic DNA Mini Kit</li><li>• GeneJet PCR saflaştırma kiti (Thermo Scientific)</li></ul>
<i>Besiyeri</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• PDA (Potato dextrose agar) (Biolife)</li><li>• OA (oatmeal agar) (Sigma Aldrich)</li></ul>
	<ul style="list-style-type: none"><li>• Bacto yeast extract (Sigma-Aldrich)</li><li>• Bactopepton (Merck)</li><li>• Malt extract (Merck)</li><li>• Yeast extract (Biolife)</li><li>• Agar-agar (Sigma Aldrich)</li><li>• Agaroz (Sigma)</li></ul>
<i>Kimyasal Malzeme</i>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Dekstroz (Sigma-Aldrich)</li><li>• Sucrose (Sigma-Aldrich)</li><li>• Sodyum sitrat (Sigma-Aldrich)</li><li>• Gliserol (40 Mm) (Sigma-Aldrich)</li><li>• Tris HCl (1 Mm)</li><li>• EDTA (150 Mm)</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NaCl (IsoLab)</li> <li>• SDS (Merck)</li> <li>• 50x TAE (Tris-EDTA-Asetik asit) (Bio-Rad)</li> <li>• Nükleik asit boyası Safe-Red (Intron)</li> <li>• Ladder (100 bp, Gene Direx)</li> <li>• <math>\lambda</math>HindIII (0.5 <math>\mu</math>g/<math>\mu</math>L, GeneDirex)</li> <li>• 6x DNA Loading Dye (GeneDirex)</li> <li>• İzopropanol (Sigma)</li> <li>• CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich)</li> <li>• ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich)</li> <li>• MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich)</li> </ul>
<i>Enzim</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteinaz K</li> <li>• RNase A (Invitrogen)</li> <li>• Dream Taq polimeraz (5 U/<math>\mu</math>L, Thermo Scientific)</li> </ul>
<i>Laboratuvar Malzemeleri</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cryo tüp (IsoLab, 2 ml, steril)</li> <li>• Santrifüj tüp (IsoLab 1,5 ml, 2 ml)</li> <li>• PCR tüp (IsoLab)</li> <li>• Cam boncuk (NextAdvance Gp01)</li> <li>• Pipet (Eppendorf (10 <math>\mu</math>l, 100 <math>\mu</math>l, 1000 <math>\mu</math>l), Axygen (20-200 <math>\mu</math>l))</li> <li>• Pipet ucu (Sarstedt 2-200 <math>\mu</math>l filtreli, IsoLab (10 <math>\mu</math>l, 200 <math>\mu</math>l, 1000 <math>\mu</math>l) filtersiz)</li> <li>• Parafilm (Bemis)</li> <li>• Petri kabı (IsoLab)</li> </ul>
<i>Cihazlar</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cam elektrotlu pH metre (Hanna)</li> <li>• Stomacher (Interscience, 400 P &amp; BagMixer)</li> <li>• Otoklav (Selecta)</li> <li>• Vortex (Scientific Industries Vortex-Genie2)</li> <li>• Shaker (SI - 300R)</li> <li>• Tissue Lyser (Qiagen)</li> <li>• Thermo Shaker Incubator (Hangzhou Miu, MTH-100)</li> <li>• Santrifüj (BeckmanCoulter Microfuge 20R)</li> <li>• Biospec Nano nanodrop (Shimadzu Biotech)</li> <li>• PCR ThermalCycler (Bio-Rad, T100)</li> <li>• Jel elektroforez (Bio-Rad)</li> <li>• Hassas terazi (Radwag, AS 220.R2)</li> <li>• Yatay elektroforez tankı (Major Science Mini-300)</li> <li>• Jel görüntüleme cihazı (Bio-Rad Gel Doc EZ Imager)</li> </ul>

## 2.2. Metod

Küflü peynirlerden 10'ar gram alınarak %2'lik sodyum sitrat çözeltisinde seyreltilmiştir. Dilüsyonlar haline getirilen örneklerden PDA (Potato dextrose agar) besiyerine ekimler yapılmıştır. Besiyerleri üzerinden seçilen küf ve mayalar KP ve numara ile kodlanarak YPD broth besiyerine ekim yapılarak izolasyon için hazırlanmıştır. Küf ve mayalar cam boncuk ve Invitrogen PureLink Genomic DNA Mini Kit'in birlikte kullanıldığı bir metot ile izolasyona tabi tutulmuştur. Elde edilen izolatlar ITS PCR ve Rep-PCR (Gtg5) uygulanmıştır. PCR örnekleri agaroz jelde yürütülerek parlama verip vermediğine bakılmıştır. Ardından ITS PCR örnekleri sekansa gönderilerek gen dizilimleri elde edilmiştir. Bu dizilimler BLAST ile NCBI veritabanında bulunan dizilimlerle karşılaştırma analizine tabi tutularak küf ve mayaların tür ve cinsleri öğrenilmiştir.

### 2.2.1. Kimyasal Analizler

#### a) pH Analizi

26 peynir örneğinden 10'ar g tartıldı ve 90 ml %2'lik sodyum sitrat (Sigma-Aldrich) çözeltisine (2 g/L hazırlanıp 121°C'de 15 dk otoklavlanır, pH: 7,5) eklenmiştir. Ardından steril filtrelili poşetler içerisinde Stomacher'da el kitabında yazan talimatlara göre homojenize edilmiştir (Anonim, Interscience, 400 P & BagMixer, Quick user guide). Cam elektrotlu pH metre (Hanna) poşetler içerisindeki homojen örnekler daldırılarak 2 paralel ölçüm yapılmıştır (Çalım, 2007). Ölçümlerin ortalaması alınarak bulgular kısmında tablo haline getirilmiştir.

### 2.2.2. Mikrobiyolojik Analizler

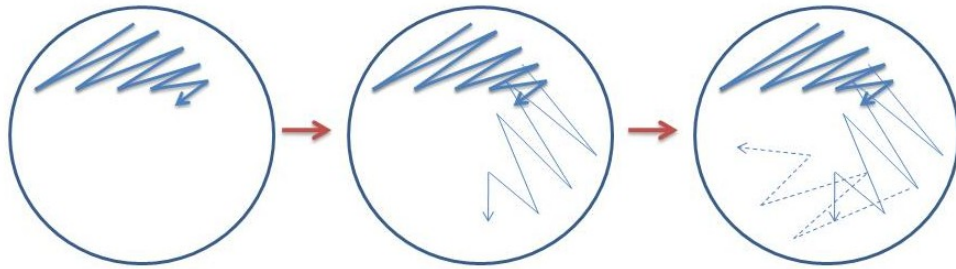
#### a) Mikrobiyolojik Ekimler

pH analizinde anlatıldığı şekilde hazırlanan peynir homojenizatlarından Ringer çözeltisi kullanılarak Tomar ve Akarca (2018)'in çalışmasında belirtildiği şekilde dilüsyonlar hazırlanmış ve inokülasyon için  $10^{-2}$  ile  $10^{-5}$  arası dilüsyonlar kullanılmıştır.



Ekim için PDA (Potato dextrose agar) (Biolife) kutunun üzerindeki talimatlara uygun şekilde (39 g/L) hazırlanarak 121°C'de 15 dk otoklavlanmıştır (Selecta). Ardından aseptik ortamda petrilere aktarılmış ve oda sıcaklığında (20 - 25°C) soğumaya bırakılmıştır. Petrilerin katılaşması için en az 4 saat bekletilmiştir. Hazırlanan dilüsyonlardan PDA katı besiyerine 0,1 ml damlatılarak drigalski ile yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır (Megep, 2011). Her dilüsyondan 2 paralel olacak şekilde çalışılmıştır. Besiyerleri 25°C'de 4-5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Turgut ve ark., 2012). Daha sonra besi yerlerinde oluşan küf ve maya kolonilerinden seçilerek, öze ile yeni bir besiyerine Şekil 2.1'deki gibi 3 çizgi ekim yapılmıştır (Megep, 2011). Her peynirden en az bir olmak üzere farklı morfoloji gösteren türler seçilmiştir. Seçilen türler K ve P harfleri ve birer numara ile kodlanmıştır. K, P harfleri Konya peynirinin kısaltması şeklinde düşünülmüş ve numaralar ise kolonilerin seçildiği sıraya göre 1'den başlayarak sıralanıp 63'te sonlanmıştır.

Katı besiyerindeki izolatlar buzdolabında (+4°C'de) en fazla 5 gün olacak şekilde muhafaza edilmiştir. 5 günde bir olmak üzere izolatlardan yeni besiyerlerine ekim yapılarak tazelenmiştir. Uzun süreli muhafaza için gliserol stok (10g/L Bacto yeast extract (Sigma-Aldrich), 20g/L Bactopepton (Merck), 20g/L Dekstroz (Sigma-Aldrich) homojen şekilde karıştırılarak karışımın %20'si kadar gliserol eklenmiş ve 121°C'de 15 dk otoklavlandı) hazırlanarak 1,5 ml'lik önceden otoklavlanmış cryo tüplere aktarılmıştır. Katı besiyerindeki izolatlardan öze yardımcı ile tüplere ekim yapıldıktan sonra etüvde 25°C'de 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. Ardından tüpler vorteksle birkaç saniye karıştırılarak -80°C dondurucuya konulmuştur.



**Şekil 2.1: Üç çizgi ekim**

### 2.2.3. Peynir Örneklerinden Elde Edilen Küf ve Mayaların Tanımlanması

#### a) DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için küf ve maya örnekleri YPD broth (10 g/L Bacto yeast extract (Sigma-Aldrich), 20 g/L Bacto pepton (Merck) ve 20 g/L dekstroz (Sigma-Aldrich)) besiyerinde üretilmiştir. Küfler için 50 ml'lik erlenlere yaklaşık 20 ml hazırlanan YPD broth'a öze ile katı besiyerindeki küflerden ekim yapılmıştır. Ardından erlenler Shaker (SI - 300R) cihazına dizilerek 25°C'de, 115-120 rpm hızında sallanarak 1 - 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. Mayalar ise her tüpte 10 ml YPD broth olacak şekilde cam tüplerde hazırlanan besiyerlerine inoküle edilerek 1 gün 25°C'de etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Küflerin ve mayaların DNA izolasyonu Invitrogen PureLink Genomic DNA Mini Kit ile kitin prosedüründeki adımlar doğrultusunda gerçekleştirilmiştir (Anonim, Invitrogen PureLink Genomic DNA Kits, User guide). İlk etapta hücrelerin parçalanması aşaması için 0.1 mm cam boncuklardan (NextAdvance Gp01) yaklaşık 200 mg (1,5 spatül miktarı) alınarak 2 ml'lik steril santrifüj tüplere eklenmiştir (Van Burik vd., 1998). Ardından erlenlerde Şekil 2.2.'deki gibi üremiş olan küfler filtre kağıtlarından süzülerek yine yaklaşık 200 mg kadar küf alınıp, cam boncuk eklenmiş olan tüplere eklenmiştir. Tüplere 400 µl TEN buffer (400µl (40Mm) Tris HCl, 20µl (1Mm) EDTA, 1500µl (150Mm) NaCl karıştırılıp distile su ile 10 ml'ye tamamlandı) pipetle çekilerek eklenmiş ve yaklaşık 1 dk vortekslenmiştir (Scientific Industries Vortex-Genie2). Tüpler Tissue Lyser (Qiagen) cihazına yerleştirilmiş ve cihazın el kitabındaki yönergelere göre 50 Hz hızında toplamda 8-10 dk homojen bir görüntü oluşana dek karıştırılmıştır (Anonim, Qiagen, TissueLyser, 2010). Her 2 dk'da bir defa yine 2 dk olacak şekilde tüpler buzda bekletilmiştir. Ardından 10 µl proteinaz K ve 100 µl %10'luk SDS eklenerek birkaç saniye vortekslenmiştir. Önceden 55°C'ye ayarlanmış Thermo Shaker Incubator (Hangzhou Miu, MTH-100) cihazında 60 dk bekletilmiştir. Bu işlemin ardından tüplere 20 µl RNase A (Invitrogen) eklenerek tekrar birkaç saniye vortekslenmiş ve oda sıcaklığında (yaklaşık 24°C) 20 dk bekletilmiştir. Sonra tüpler santrifüj cihazında (BeckmanCoulter Microfuge 20R) max hızda (150000 rpm) 10 dk

santrifüj edilmiş ve süpernatantın (üstte kalan sıvı kısım) tamamı (yaklaşık 500 µl) pipetle dikkatlice çekilip yeni steril santrifüj tüplere alınarak kalan kısım atılmıştır. Kit içerisinde bulunan Binding bufferdan aynı miktarda (500µl) ve %96-100'lük etanolden de 500µl tüplere ilave edilerek yeniden vortekslenmiştir. Bu karışım kit içerisinde bulunan kolonlara aktarılmış ve kolonlar 10.000 g'de 1 dk santrifüj edilmiştir (karışım kolonlara sığmadığı için işlem iki kere tekrarlandı). Kolonun içindeki filtre kısımları yeni kolon altlıklarına alındı ve süzülen sıvı kısımlar atılmıştır. Yine kit içerisinde bulunan Wash buffer 1'den 500µl kolonlara ilave edilerek 10.000g'de 1 dk santrifüj edildikten sonra alt kısım atılarak yeni kolon altlıklarına aktarılmıştır. Kit içerisinde bulunan Wash buffer 2'den 500µl kolonlara ilave edilmiş ve max hızda 3 dk santrifüj edildikten sonra alt kısım atılarak filtre kısımları yeni steril santrifüj tüplere alınmıştır. Filtrelere kit içerisinde bulunan Elution buffer'dan 70µl ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 1 dk bekletilmiştir. Ardından tüpler max hızda 1 dk santrifüj edilerek saf genomik DNA elde edilmiştir. İzolasyondan sonra elde edilen izolatlardaki nükleik asit konsantrasyonunun ölçülmesi için Biospec Nano nanodrop (Shimadzu Biotech) cihazın el kitabındaki talimatlara uyularak çalışılmıştır (Anonim, Shimadzu Spectrophotometer, Instruction manual). Öncelikle DNA izolatının son aşamada çözündürüldüğü çözücü ile (Elution buffer) kör analiz yapılmış, ardından izolatlardan 2 µL cihaza koyularak ölçüm yapılmıştır.



**Şekil 2.2: YPD broth içinde üretilmiş küflerin görüntüsü**

### b) PCR ve Rep-PCR

Küf ve mayaların identifikasyonu için ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primerleri kullanılarak PCR yapılmıştır (Glass ve Donaldson, 1995). Primerler ITS1 (Invitrogen) ve ITS2 (Invitrogen) 100µM'den 10µM'e seyreltilerek kullanılmıştır. *Penicillium roqueforti*'lere uygulanan Rep-PCR'da primer olarak GTG5 (Macrogen) (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') 10 µM olarak seyreltilmiştir. DNTP; dTTP, dATP, dCTP ve dGTP (Thermo Scientific) her birinden 2,5 µL ve 90 µL dH<sub>2</sub>O karıştırılarak hazırlanmıştır. DNA amplifikasyonu PCR ThermalCycler'da (Bio-Rad, T100) ITS PCR'ı için Tablo 2.2'de, rep-PCR için Tablo 2.3'de belirtilen miktarlarda bileşenler kullanılarak 25 µl PCR karışımı içinde gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol olarak DNA yerine distile su kullanılmıştır. Her bir PCR döngüsü; Tablo 2.4'de belirtildiği üzere gerçekleştirilmiştir. Yalnızca mayalar için yapışma (annealing) sıcaklığı 48°C kullanılmıştır.

**Tablo 2.2: PCR'da kullanılan bileşenler ve miktarları**

Bileşenler	Küf için hazırlanan karışım miktarları	Maya için hazırlanan karışım miktarları
10xDream Buffer (20 mM, Thermo Scientific)	2,5 µL	2,5 µL
dNTP	2 µL	2 µL
İleri Primer (10 µM)	1 µL	1 µL
Geri Primer (10 µM)	1 µL	1 µL
DNA	1,5 µL	1 µL
Dream Taq polimeraz (5 U/µL, Thermo Scientific)	0,125 µL	0,25 µL
dH <sub>2</sub> O	16,875 µL	17,25 µL

**Tablo 2.3: *Penicillium roqueforti* izolatlarına uygulanan Rep-PCR bileşenler ve miktarları**

Bileşenler	Miktar
10xDream Buffer (20 mM, Thermo Scientific)	2,5 µL
dNTP	2 µL
GTG5 primeri	2 µL
DNA	1,5 µL
Dream Taq polimeraz (5U/µL, Thermo Scientific)	0,125 µL
dH <sub>2</sub> O	16,875 µL

**Tablo 2.4: ITS PCR ve Rep-PCR koşulları**

PCR aşamaları	ITS PCR		Rep-PCR	
	Sıcaklık	Süre	Sıcaklık	Süre
İlk denatürasyon	94°C	1 dk	95°C	7 dk
Denatürasyon	94°C	30 sn	90°C	30 sn
Yapışma	52°C	30 sn	40°C	1 dk
Uzama	72°C	1,5 dk	65°C	8 dk
Son uzama	72°C	10 dk	65°C	16 dk
Döngü sayısı	34		30	

### *c) Agaroz Jel Elektroforezi*

PCR ile çoğaltılan DNA bölgelerinin boyutlarına göre ayrılması işlemi agaroz jel elektroforezi (Bio-Rad) ile gerçekleştirilmiştir. Jel elektroforez aşamaları Lee vd. (2012) belirttiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Buna göre agaroz jel (%0,8) hazırlanması için 0,8 g agaroz (Sigma) hassas terazide tartılarak üzerine 50x TAE (Tris-EDTA-Asetik asit) (Bio-Rad) den seyreltilerek hazırlanmış olan 100 ml 1x TAE çözeltisi ilave edilmiştir. Mikrodalga fırında şeffaf ve homojen hale gelene kadar (yaklaşık 2 dk) ısıtılan karışım 55-60°C'ye soğuyana kadar bekletildi ve içine 5 µL nükleik asit boyası Safe-Red (Intron) eklenmiştir. Soğuyan jel katılaşmadan evvel elektroforez kalıbına dökülerek kuyucukların oluşmasını sağlayan tarak da üzerine yerleştirilmiştir. En az 30 dk jelin katılaşması beklenmiştir. Oluşan jel yatay elektroforez tankına (Major Science Mini-300) alınmış ve tank 1x TAE çözeltisi ile doldurulmuştur. Bir yanda parafilm üzerinde PCR örneklerinin her birinden 10'ar µL

alınarak üzerlerine ilave edilen 2'şer  $\mu\text{L}$  boya çözeltisi ile karıştırılmış ve mikropipet kullanılarak örnekler kuyucuklara aktarılmıştır. Markör olarak Ladder'dan (100bp, Gene Direx) 6  $\mu\text{L}$  başta ki kuyucuğa ve 1  $\mu\text{L}$   $\lambda/\text{HindIII}$  (0.5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , GeneDirex), 1  $\mu\text{L}$  6x DNA Loading Dye (1mL, GeneDirex) ve 4  $\mu\text{L}$   $\text{dH}_2\text{O}$  karıştırılarak son kuyucuğa eklenmiştir. Elektroforez 26S PCR'ları için 80 - 95 voltta çalıştırılarak yaklaşık 45 - 60 dk DNA'ların yürümesi beklenmiştir. Rep-PCR için 45 voltta 2 saat yürümesi beklenmiştir. İşlem sonunda jel görüntüleme cihazında (Bio-Rad Gel Doc EZ Imager) etidium bromür tablada jel görüntüleme yapılmıştır.

#### ***d) PCR Ürünlerinin Saflaştırılması***

Jel görüntüleme sonucunda alınan örneklerden tekrardan aynı koşullarda 50  $\mu\text{L}$  miktarında PCR hazırlanmıştır. PCR ürünlerinin saflaştırılması için GeneJet PCR saflaştırma kiti (ThermoScientific), kitin kullanım kılavuzundaki yönergelere göre kullanılmıştır (Anonim, ThermoScientific, User guide, 2016). Her örnek için toplamda 65  $\mu\text{L}$  PCR ürünü elde edilmiştir. Bu ürünler 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine alınmıştır. Daha sonra üzerlerine aynı miktarda, kit içerisinde bulunan Binding Buffer eklenmiştir. Bu aşamada sarı renk gözlemlenmiş olan örneklerin üzerine yine 65  $\mu\text{L}$  izopropanol (Sigma) eklenerek vortekslenmiştir. Bu karışım kit içerisinde bulunan kolonlara aktarılmış ve 13.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiştir. Altta kalan sıvı dököldükten sonra kolon içine kit içinde bulunan Wash Buffer'dan 700  $\mu\text{L}$  eklenmiştir. Tekrar 13.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş ve altta kalan sıvı dökölmüştür. Ardından yine 13.000 rpm'de 1 dk boş santrifüj yapılmıştır. Kolonlar yeni santrifüj tüplerine alınarak üzerlerine kit içerisinde bulunan Elution Buffer'dan 50  $\mu\text{L}$  ilave edilmiş ve 13.000 rpm'de 1 dk yeniden santrifüj edilmiştir. Kolonlar atılarak altta kalan sıvı sekansa gönderilmek üzere  $-20^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Bu işlemin doğruluğunu teyit etmek için tekrar bir jel elektroforez yapılmıştır. Bu defa örneklerden 5  $\mu\text{L}$  alınarak 1  $\mu\text{L}$  boya ile karıştırılıp kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez tankına alınan jel yine 80 - 95 voltta yaklaşık 45 - 60 dk yürütülerek etidium bromür tablada jel görüntüleme yapılmıştır (Lee vd., 2012).

### ***e) Dizi Analizi***

Sekanslama, saflaştırılan PCR örneklerinden 20 µL ve örnek başına geri primerden (ITS4) 2 µL alınarak Sanger sekans yöntemiyle MedSantek firmasından hizmet alımı vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. Armani vd. (2015)'in çalışmasında belirtildiği şekilde elde edilen kromatogramlar CLC Main Workbench 8 programı kullanılarak görüntülenmiş, DNA dizilimleri BLAST benzerlik programı ([blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)) ile incelenmiştir. Birkaç mikroorganizmaya aynı anda %100 benzerlik verdiği durumda sonuçlarda tip suş dizilimleri Clustal Omega karşılaştırma programında karşılaştırılarak en benzer olanı kabul edilmiştir.

### ***f) Morfolojik Analizler***

*Penicillium roqueforti* olduğu tespit edilen izolatlardan PDA, YES (yeast extract sucrose agar), MEA (malt extract agar) ve oatmeal agar'a (OA) 3 nokta ekimleri yapılarak görüntülenmiştir (Frisvad ve Samson, 2004). PDA besiyeri 2.2.2'de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. PDA besiyerindeki görüntüler Tiwari vd. (2011)'in çalışmasına göre değerlendirilmiştir. YES besiyeri Visagie vd. (2014)'nin çalışmasında belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Trace elements stock solution ve Yeast Extract Sucrose agar Tablo 2.5'de ve Tablo 2.6'da belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. MEA ise 30 g/L Malt extract (Merck), 3 g/L Peptone from soymeal (Merck), 15 g/L Agar-agar (SigmaAldrich) ve 1 Litre distile su homojen bir şekilde karıştırılıp 121°C'de 15 dk otoklavlanarak hazırlanmıştır. OA (Sigma Aldrich) ise üzerinde belirtilen tarife göre 72.5 g/L olacak şekilde hazırlanmış, kaynatılmış ve 121°C'de 15 dk otoklavlanmıştır. Makromorfolojik olarak incelenen ve fotoğraflanan besiyerlerindeki koloniler Frisvad ve Samson (2004)'un çalışmasından yola çıkılarak kadifemsi, yünsü, damarlı gibi farklı özellikleriyle nitelendirilmiştir. Bunların yanı sıra kolonilerin şekli, tekstürü (homojen, heterojen), rengi ve bazı kolonilerin merkezinde bulunan bombelenme de dâhil olmak üzere farklı açılardan incelemeler yapılmıştır.

**Tablo 2.5: Trace elements stok solüsyon**

<b>Malzemeler</b>	<b>Kullanılan miktar</b>
<b>CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O</b>	0.5 g
<b>ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0.1 g
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	100 mL
*4-10°C'de saklandı.	

**Tablo 2.6: Yeast extract sucrose agar**

<b>Malzemeler</b>	<b>Kullanılan miktar</b>
<b>Yeast extract (Biolife)</b>	20 g
<b>Sucrose (Sigma-Aldrich)</b>	150 g
<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich)</b>	0.5 g
<b>Trace elements stock solution</b>	1 mL
<b>Agar (Sigma-Aldrich)</b>	20 g
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	885 mL
*Homojen olana kadar karıştırılıp 121°C'de 15 dk otoklavlandı. PH yaklaşık 6.5 olarak ayarlandı.	



## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. Konya Küflü Peynir Örneklerinin pH Değerleri

Peynir örneklerinin ortalama pH değeri 7.18, minimum 6.39, maksimum 7.99 olarak ölçülmüştür. Her bir peynir örneğinin 2 paralel şekilde analiz edilen pH değerlerinin ortalaması alınarak Tablo 3.1 oluşturulmuştur.

Çalın, 2007 yılında Konya tulum peynirleri üzerine yaptığı çalışmada peynirlerin pH değerlerini minimum 4.34, maksimum 6.24 (ortalama 5.22) ölçmüştür. Başka bir çalışmada Şengün vd. (2006) 14 adet küflü çömlek peynirlerinin pH değerlerini minimum 5.40, maksimum 7.47 (ortalama 6.56) ölçmüşlerdir. Bu çalışmada kullanılan peynirlerin pH değerleri yapılan önceki çalışmalara göre daha yüksek görünmektedir. Bunun nedeni kullanılan peynirlerin küf yoğunluğu, üretildiği ortam ve üretim şekli olabilir.

**Tablo 3.1: Konya küflü peynir örneklerinin pH değerleri**

<b>Peynir Örneği</b>	<b>pH Değeri</b>
1	7.30
2	7.02
3	6.91
4	6.65
5	6.67
6	6.39
7	6.52
8	7.07
9	6.70
10	6.69
11	6.56
12	7.32
13	7.52
14	7.99
15	7.42
16	7.48
17	7.48
18	7.16
19	7.74
20	7.72
21	7.87
22	7.58
23	7.35
24	7.88
25	7.10
26	6.69
Minimum pH	6.39
Maksimum pH	7.99
Ortalama pH	7.18

### **3.2. Konya Küflü Peynir Örneklerinin Mikobiyotası**

26 peynir örneğinin her birinden en az bir tane olmak üzere farklı morfolojik yapılaraya sahip 54 tane küf izole edilmiştir. Bunun yanı sıra PDA besiyerinde küfler kadar yoğun gözlenen ve maya olduğu düşünülen 8 koloni de izole edilmiştir. İzolatların 8 tanesinin, KP8, KP21, KP24, KP29, KP35, KP36, KP46 ve KP60 maya olduğu, geri kalan 54 izolatın küf olduğu ve bunlardan 53'ünün de *Penicillium roqueforti* olduğu yapılan analizler sonucunda doğrulanmıştır. Dizilim analizi sonucunda belirlenen maya izolatlarının tür ve cins isimleri ve benzerlik oranları

Tablo 3.2’de verilmiştir. KP57 ise *Cladosporium cladosporioides* olarak tespit edilmiştir. Küf izolatlarının benzerlik oranları Tablo 3.3’de verilmiştir.

**Tablo 3.2: Maya izolatlarının tür ve cins isimleri**

<i>Maya İzolatı Kod Adı</i>	<i>Tespit Edilen Tür ve Cins İsmi</i>	<i>Benzerlik Oranı (%)</i>
KP8	<i>Pichia membranifaciens</i>	74
KP21	<i>Pichia membranifaciens</i>	99
KP24	<i>Pichia membranifaciens</i>	99
KP29	<i>Debaryomyces hansenii</i>	100
KP35	<i>Candida zeylanoides</i>	75
KP36	<i>Candida zeylanoides</i>	99
KP46	<i>Geotrichum candidum</i>	100
KP60	<i>Pichia membranifaciens</i>	99

**Tablo 3.3: Küf izolatlarının BLAST analizi ile saptanan benzerlik oranları**

<i>Örnek No</i>	<i>Örnek</i>	<i>Benzerlik Oranı (%)</i>	<i>Örnek No</i>	<i>Örnek</i>	<i>Benzerlik Oranı (%)</i>
1	KP1	100	28	KP33	99
2	KP2	100	29	KP34	100
3	KP3	100	30	KP37	100
4	KP4	99	31	KP38	100
5	KP5	99	32	KP39	99
6	KP6	100	33	KP40	100
7	KP7	99	34	KP41	95
8	KP9	100	35	KP42	99
9	KP10	100	36	KP43	99
10	KP11	100	37	KP44	99
11	KP12	93	38	KP45	100
12	KP13	100	39	KP47	100
13	KP14	99	40	KP48	100
14	KP15	93	41	KP49	100
15	KP16	100	42	KP50	100
16	KP17	100	43	KP51	100
17	KP18	100	44	KP52	100
18	KP19	95	45	KP53	99
19	KP20	99	46	KP54	100
20	KP22	99	47	KP55	100
21	KP25	100	48	KP56	100
22	KP26	99	49	KP57	100
23	KP27	100	50	KP58	100
24	KP28	100	51	KP59	100
25	KP30	99	52	KP61	100
26	KP31	99	53	KP62	100
27	KP32	99	54	KP63	100

PCR ürünlerinin jelde yürütüldükten sonra elde edilen görüntüler EK1’de ve her bir örneğin Marker’a bakılarak ölçülen DNA boyutu (bp) tablo haline getirilerek EK2’de verilmiştir.

Demirer (1974) yaptığı çalışmada 91 adet Konya küflü tulum peynirinden izole ettiği küflerin arasında baskın türün *P. roqueforti* (%87,83) olduğunu gözlemlemiştir. Özkalp ve Durak (1998) 140 adet Konya küflü peynirinde baskın küf mikroflorasını *Penicillium*’un (%87,16) oluşturduğunu ve tüm peynir örneklerinde baskın türün ise *P. roqueforti* (%42,91) olduğunu görmüşlerdir. Karaman, Konya, Mersin, Nevşehir ve Niğde Küflü Peynirlerinden 21 adet örnek üzerinde yaptıkları çalışmada Sağdıç vd. (2008) küfler arasında baskın türün *P. roqueforti* (%28,6) olduğunu görmüşlerdir. Konya küflü peynirleri üzerine yapılan bir başka çalışmada izole edilen küflerin %100’ü *Penicillium* sp. bulunmuştur (Güley vd., 2013). Geçmiş çalışmalar ele alındığında Konya küflü peyniri üzerinde daha önce hiç moleküler yöntemlerle mikrobiyolojik çeşitliliğin araştırılmadığı görülmektedir. Yani yapılan çalışma, bu peynir çeşidi üzerinde, bu alanda bir ilki temsil etmektedir. Bunun yanı sıra, önceki çalışmalar ve bu çalışma, *P. roqueforti* türünün Konya küflü peynirinde baskın tür olarak görüldüğünü göstermektedir.

Divle küflü peynirinde yapılan çalışmada moleküler yöntemlerle (ITS PCR) izole edilen küflerden baskın türler arasında yine *P. roqueforti* (%8,6) gelmektedir (Budak vd., 2016). Çakmakçı vd. (2012) 41 adet küflü civil peynirinden moleküler yöntemlerle izole ve tanımladıkları küflerden baskın olan türün yine *P. roqueforti* (%92,5) olduğu görülmektedir. Hayaloğlu ve Kırbağ (2007) 30 küflü peynir üzerinde morfolojik yöntemle yaptıkları çalışmada en baskın türlerin *P. commune* (%10,1) ve *P. roqueforti* (%8,9) olduğunu görmüşlerdir. Bunun yanı sıra aynı çalışmada 3 adet de *Cladosporium cladosporioides* izole edilmiştir. Isparta ili ve yöresine ait geleneksel çömlük peynirleri üzerine yapılan bir çalışmada stereo mikroskop ile incelendiğinde baskın küf türü *P. roqueforti* (%57,8) olmuş; ayrıca yüksek oranda *Geotrichum* (%10,5) türüne de rastlanılmıştır (Şengün vd., 2006). Pekel ve Korukoğlu (2009) Sivas ve yöresinde üretilen küp peynirleri üzerinde yaptıkları çalışmada elde ettikleri 31 izolatin %93,5’inin *Penicillium* cinsine ait türler olduğunu ve bu türlerden 5 tanesinin de *P. roqueforti* olduğunu bulmuşlardır. Sert, 1992’de Erzurum ve Erzincan’dan elde ettiği toplamda 51 peynir örneği üzerine yaptığı çalışmada toplamda 136 küf suşu izole etmiştir. Aynı çalışmada Sert, izole

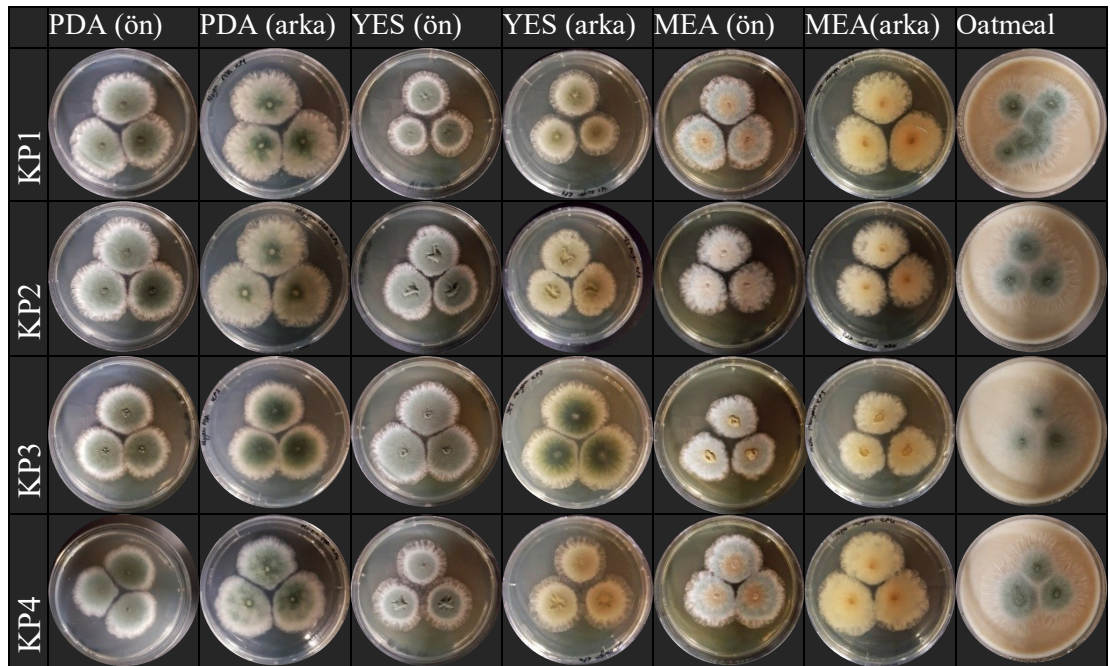
ettiği küf suşlarının %25,71'inin *P. roqueforti* (en dominant tür), %8,57'sinde *G. candidum* olduğunu bulmuştur. Gündüz (1982) 20 tomas peyniri üzerine yaptığı çalışmada izole ettiği tüm küflerin *P. roqueforti* türüne ait olduğunu saptamıştır. Bostan vd. (1992) 20 adet ticari tulum peyniri ile yaptıkları çalışmada izole ettikleri küfler arasında %43,13 ile *Geotrichum candidum* ve %35,29 ile *P. roqueforti* türlerinin dominant olduğunu görmüşlerdir. İstanbul ve Adapazarı'ndan temin edilen 49 kaşar peyniri örneğinde yapılan çalışmada Topal (1987), izole edilen küflerin %86,1'inin *Penicillium* spp. olduğunu gözlemlemiştir. Erdoğan, Gürses ve Sert (2003) Erzurum'dan topladıkları 12 adet mavi küflü tulum peyniri üzerine yaptıkları çalışmada izole ettikleri küflerin %75'inin *P. roqueforti*, %25'inin *G. candidum* olduğunu saptamışlardır. Türkiye'deki diğer geleneksel küflü peynirler üzerinde yapılan çalışmalar da göstermektedir ki, *P. roqueforti* geleneksel küflü peynir çeşitlerinde en çok rastlanılan türdür.

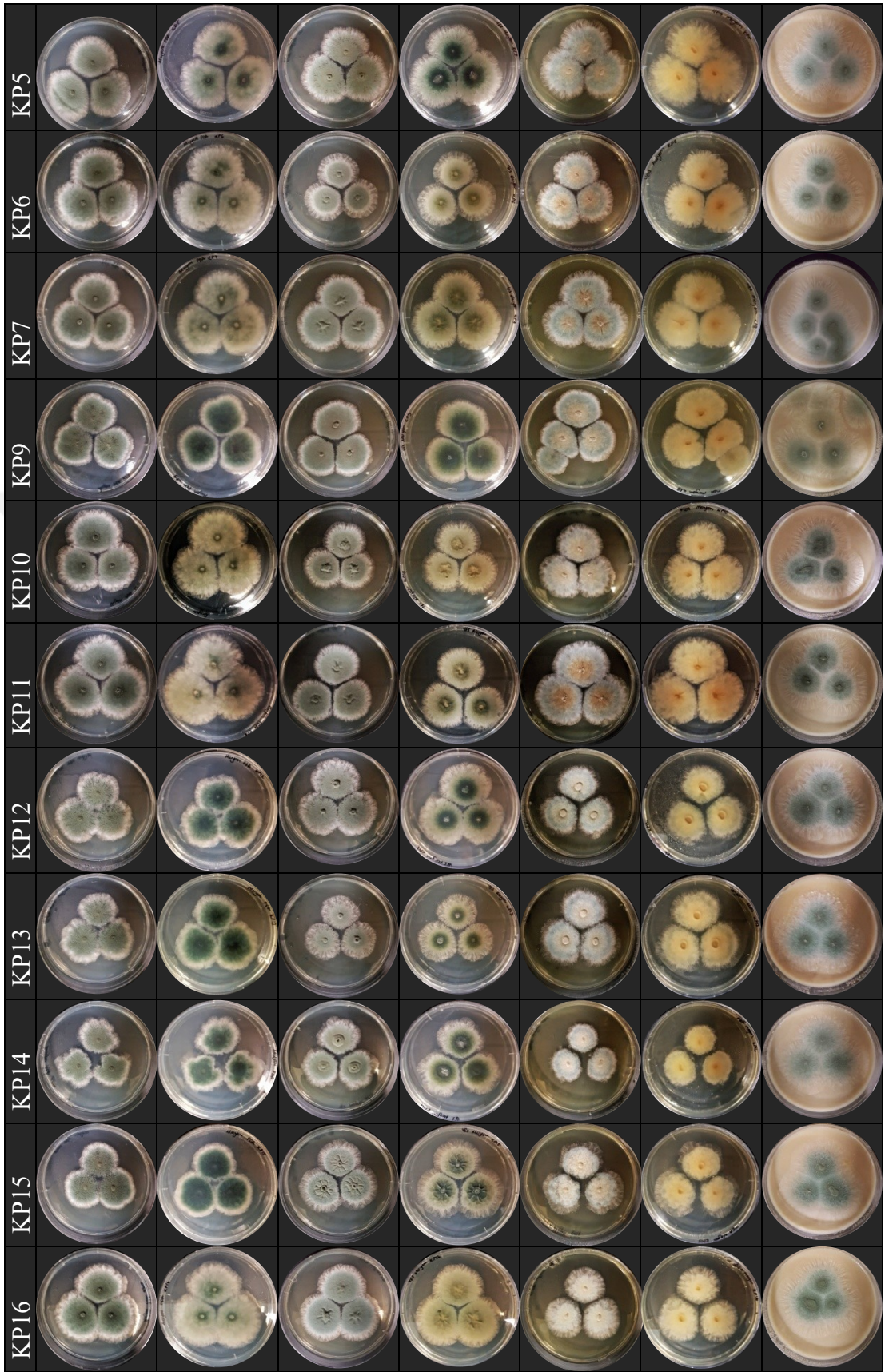
Flórez vd. (2007) İspanyol cabrales peynirinde baskın olan otuz beş beyaz ve mavi-yeşilimsi filamentli mantarı morfolitik ve genotipik olarak tanımlamış ve *P. roqueforti* ve *G. candidum*'un baskın türler olduğunu gözlemlemiştir. Martin ve Coton'un (2017) çalışmasında belirtildiği üzere *G. candidum* gibi bazı mayalar peynirin olgunlaşmasında, özellikle camember peynirinde, önemli rol oynayabilir. Roostita ve Fleet (1996) camember ve mavi damarlı peynirler üzerinde yaptıkları çalışmada özellikle camember peynirinde en baskın maya türünün *Debaryomyces hansenii* olduğunu gözlemlemiştir. İspanyol mavi damarlı cabrales peynirinde yapılan çalışmada moleküler yöntemle maya türlerinin karakterizasyonu sağlanmış ve izolasyonu gerçekleştirilen 74 mayadan 14'ünün *D. hansenii*, 5'inin de *Pichia membranifaciens* olduğu görülmüştür (A'lvarez-Martí'n vd., 2007). Torkar ve Vengust (2008) 60 adet çiğ süt ve 40 adet farklı çeşitlerde peynir örnekleri üzerine yaptıkları çalışmada *Geotrichum*'un (%51,5 sütte, %91,9 peynirde) tüm örneklerde en baskın tür olduğunu, bununla birlikte *Penicillium* cinsi suşlarında izole edildiğini bildirmişlerdir. Bullerman ve Olivigni (1974) cheddar peynirleri üzerine yaptıkları çalışmada izole ettikleri 349 suştan %82,2'sinin *Penicillium* türü küfler olduğunu belirtmişlerdir. González de Llano vd. (1992) gamonede mavi peyniri üzerine yaptıkları çalışmada peynirin mikrobiyolojik çeşitliliğini oluşturan mayalarda baskın türün *D. hansenii*, küflerde ise *P. roqueforti* olduğunu saptamışlardır. Banjara, Suhr

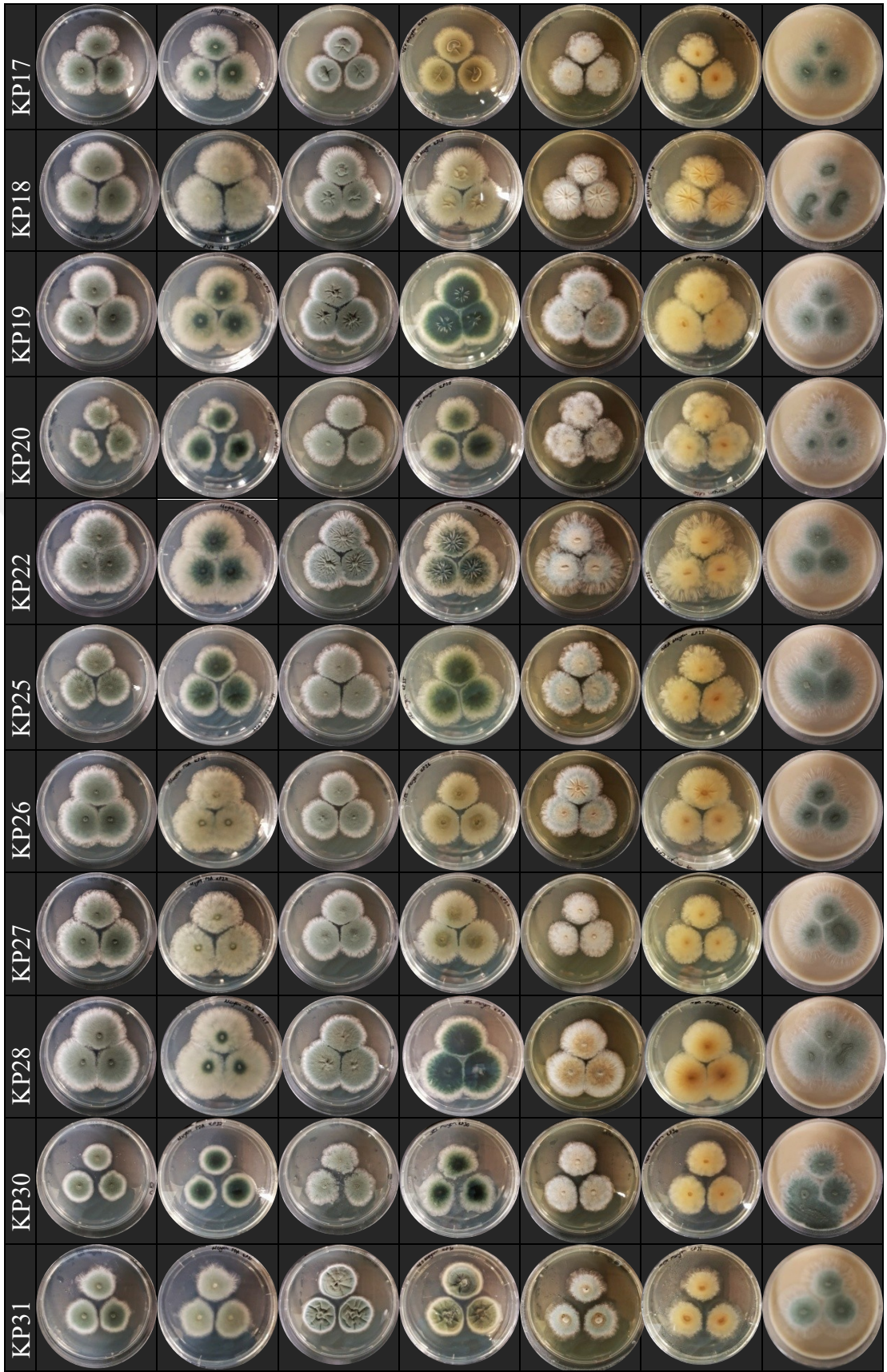
ve Hallen-Adams (2015) Lincoln, Nebraska, ABD'deki perakendecilerden topladıkları asiago, gravyer, parmesan, cheddar, jarlsberg, gouda, romano, mavi peynir, gorgonzola vb. farklı peynir çeşitlerinden oluşan toplamda 44 peynir üzerinde yaptıkları moleküler analizler sonucunda örneklerin %79'unda *D. hansenii* türü mayaya rastlamışlardır. Aynı çalışmada tür küf izolatlarının %50'sini *Penicillium* cinsi küfler oluştururken, *P. roqueforti*'nin de tüm mavi peynir örneklerinde ve tüm örneklerin %23'ünde baskın tür olduğu görülmüştür. Yukarıda bahsi geçen kaynaklardaki çalışmalar göstermiştir ki, *P. roqueforti* küflü peynir örneklerinde en sık rastlanılan baskın küf türü iken *G. candidum* ve *D. hansenii* gibi maya türleri de küflü peynirler üzerine yapılan çalışmalarda baskın maya türü olarak görülmektedir. Bu sonuçlar ışığında yapılan bu çalışmadan elde edilen bulgular birçok çalışma ile benzer görülmekte ve tutarlılık sergilemektedir.

### 3.3. Konya Küflü Peynirlerinden İzole Edilen *Penicillium roqueforti* İzolatlarının Morfolojik Özellikleri

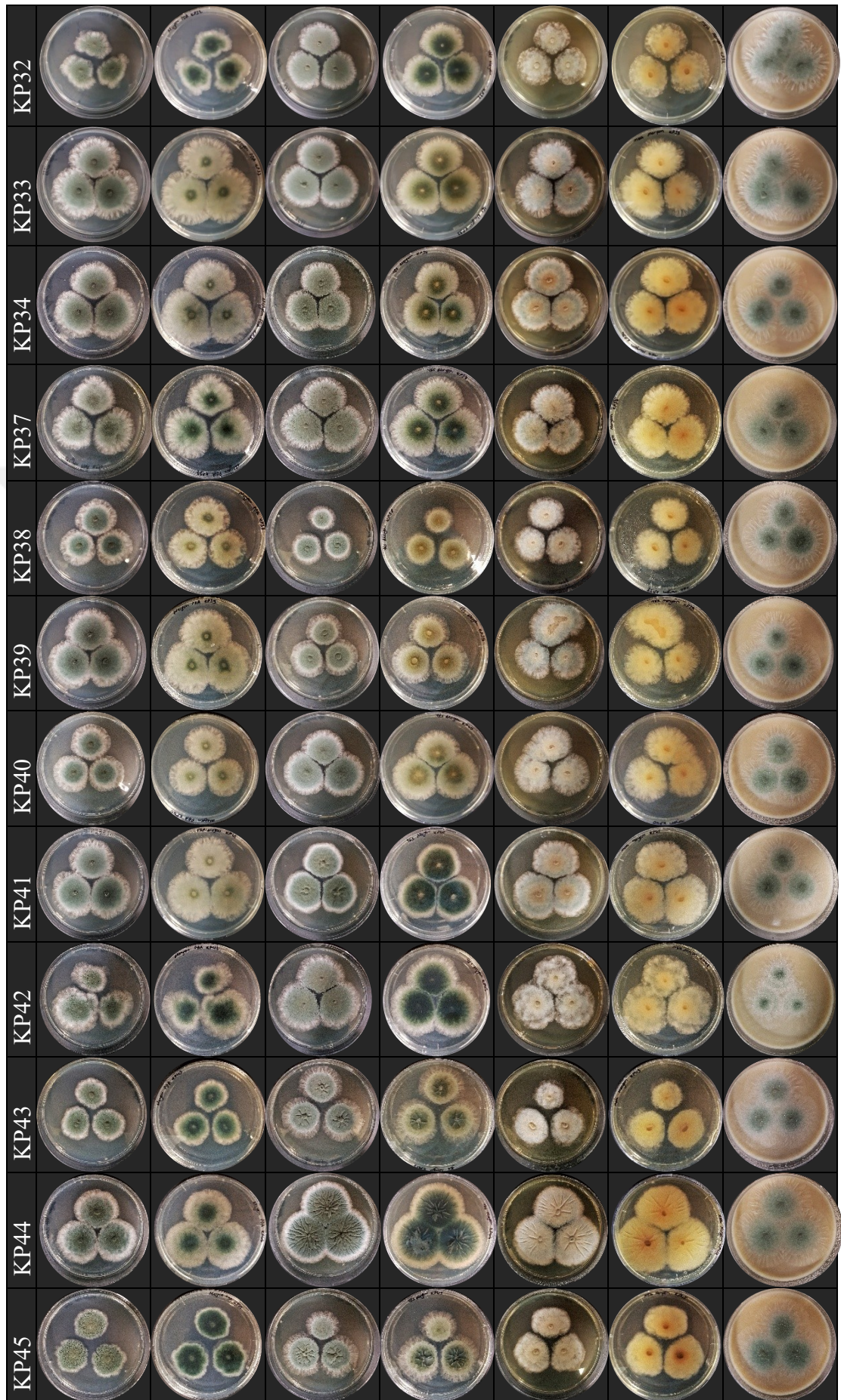
Şekil 3.1'de, *P. roqueforti* izolatlarının PDA (ön ve arka), YES (ön ve arka), MEA (ön ve arka) ve Oatmeal ön yüzeyinin görüntüleri verilmiştir.

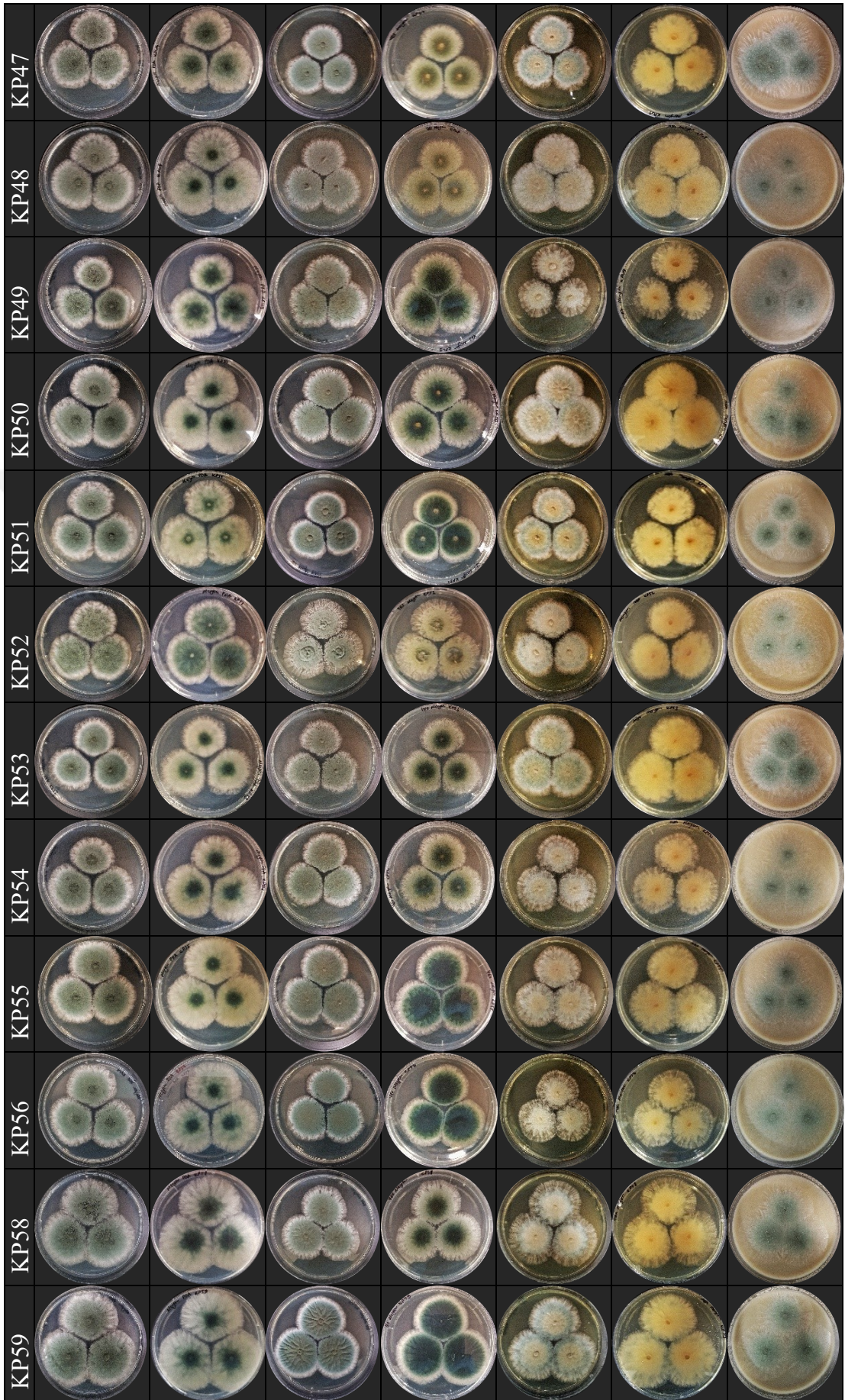


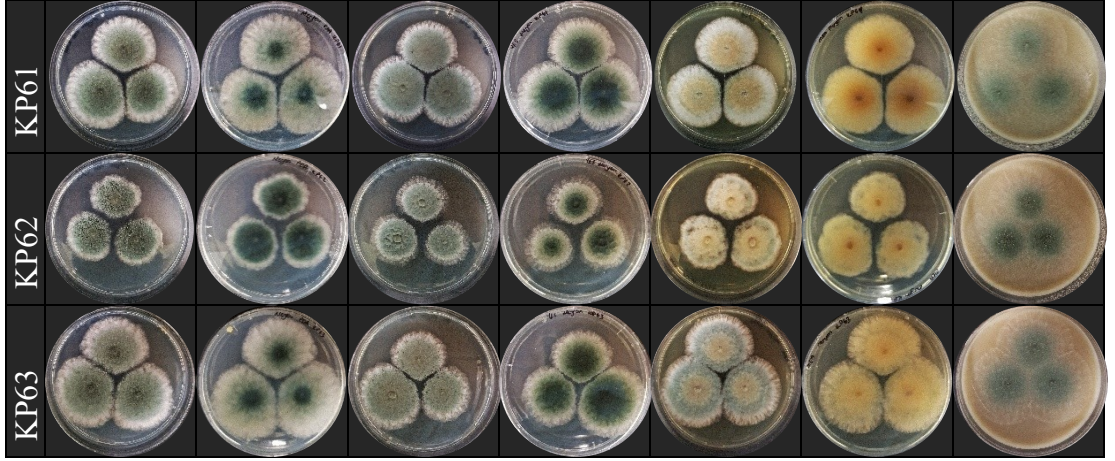











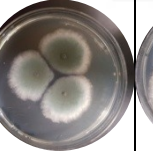
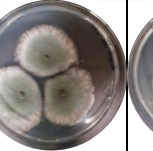



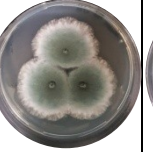




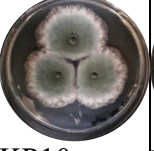

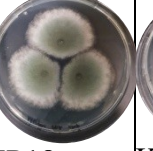




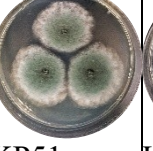



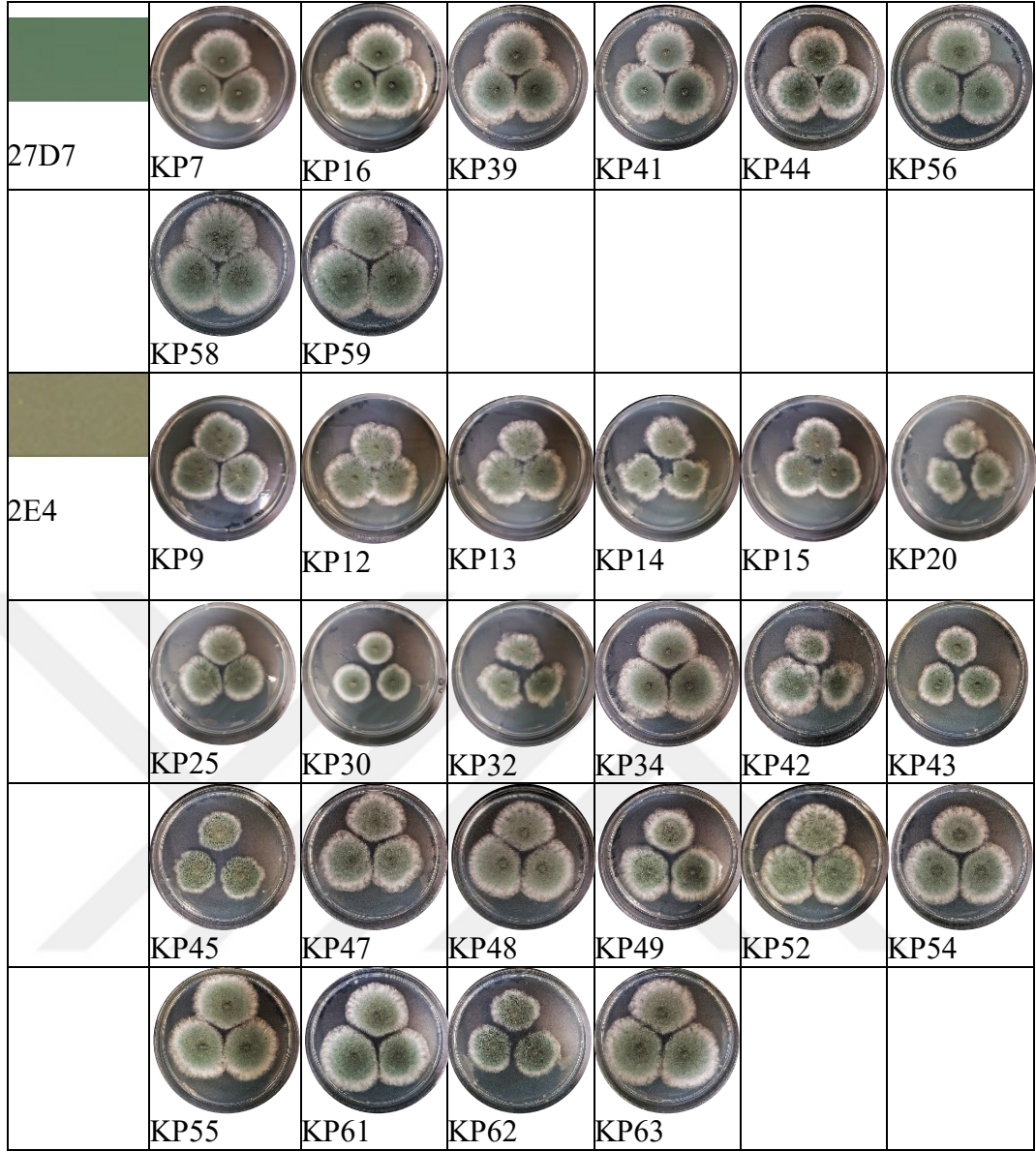


**Şekil 3.1: Penicillium roqueforti izolatlarının PDA, YES, MEA ve OA besiyerlerinde morfolojik görünümü**

Tablo 3.4'deki renk kodlamaları Methuen renk çizelgesi (Plate 2 ve 27) kullanılarak göz kararı eşleştirilmiştir (Wisniowski, 2012). Küf görüntüleri PDA ön yüzünden elde edilmiştir.

**Tablo 3. 4: Penicillium roqueforti İzolatlarının PDA ön yüz görüntülerinin renk kodlarıyla eşleştirilmesi**

27C4						
						
27C7						
						



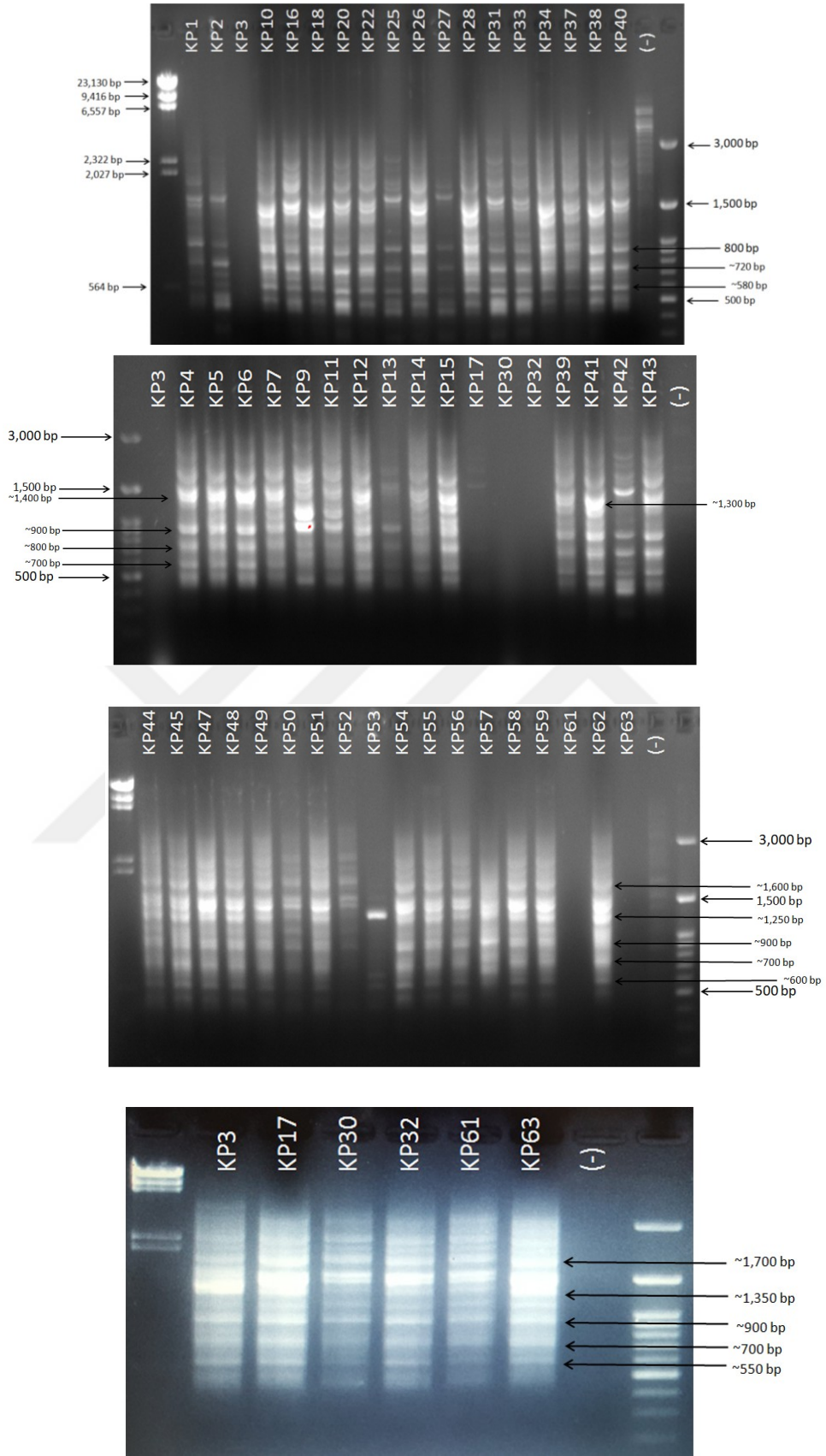
Morfolojik analiz sonuçlarına bakıldığında *P. roqueforti* türleri arasında farklılıklar gözlemlenmiştir. Özellikle PDA besiyerindeki renk farklılıklarını daha net görebilmek adına oluşturulan Tablo 3.4'e göre gri, mavi ve yeşilin farklı birçok tonundaki renklerde küf gözlemlenmiştir. Ve 4 farklı grup altında sınıflandırma sağlanmıştır. Şekil 3.1'deki görüntüler değerlendirildiğinde PDA besiyerinde açık ve koyu zeytin yeşili ve mavimsi yeşil olacak şekilde üç farklı renk tonu temel alınmıştır (Tiwari vd., 2011). Düzgün yuvarlak kolonilerin yanında daha amorf yapıda üreme göstermiş koloniler de gözlemlendi. Tekstürüne bakıldığında pürüzsüz (homojen) koloniler ile pürüzlü (delikli) heterojen koloniler gözlemlendi. Kolonilerin etrafında oluşan beyaz yünsü yapıların seyrek, yoğun ve kalın, ince oluşumlarına rastlandı. YES besiyerine bakıldığında küçük farklılıklarla açık ve koyu zeytin yeşili

renginde kolonilerin yanı sıra bazı kolonilerde yeşil rengin etrafında mavimsi halka görünümüne de rastlandı. Tekstürel yapısında pürüzsüz (homojen), pürüzlü (heterojen) ve kolonilerin orta noktasından başlayarak dış halkaya doğru farklı oranlarda damarlı (buruşuk) yapılar görüldü. Düzgün yuvarlak ve amorf yapıda kolonilere rastlandı. Kolonilerin dış çeperindeki beyaz yünsü yapının daha az ve yoğun ya da daha çok ve seyrek olduğu görüldü. MEA besiyerine bakıldığında dış kısmı mavimsi gri – orta kısmı turuncu veya sarı, dış kısmı beyaz – ortası turuncu veya sarı ve tamamen beyaza yakın olmak üzere 5 farklı renk görünümü gözlemlendi. Tekstürel yapısı pürüzsüz (homojen), pürüzlü (heterojen), damarlı ve bunlardan farklı olarak bazı kolonilerin merkez noktalarında küçük top şeklinde kabartılar olduğu gözlemlendi. Kolonilerin dış çeperini saran beyaz yünsü yapının düzgün uzantılara sahip olduğu veya daha karışık ve yoğun olduğu gözlemlendi. Oatmeal besiyerinde ise açık ve koyu grimsi yeşil ile dış kısmı çok açık yeşil olup orta noktası koyu grimsi yeşil renkte koloniler gözlemlendi. Kolonilerin tekstürel yapısında, boyutlarında ve dış çeperlerinde çok küçük detaylarda farklılıklar gözlemlendi.

Gillot vd. 2015’de yaptıkları çalışmada 18 farklı ülkeden 120 mavi damarlı peynir toplayarak bunlardan izole edilmiş bir *P. roqueforti* koleksiyonu oluşturmuşlardır. Bu çalışmada yüksek morfolojik çeşitlilik gözlemlenmiş (9 morfortip) ve en ayırt edici ortam olan PDA’da açık ile koyu yeşilimsi gri arasında renk farklılıkları ve kadifemsi ile fasiküler dokuya sahip örnekler görülmüştür. O’Brien vd. (2008) *P. roqueforti* ile yaptıkları çalışmalarda YES besiyerinde merkezde zeytin yeşilinden başlayıp dışa doğru donuk yeşile dönen ve buruşuk görünümlü kolonilere rastladıklarını bildirmişlerdir.

### **3.4. *Penicillium roqueforti* Suşlarının Genotipik Çeşitliliği**

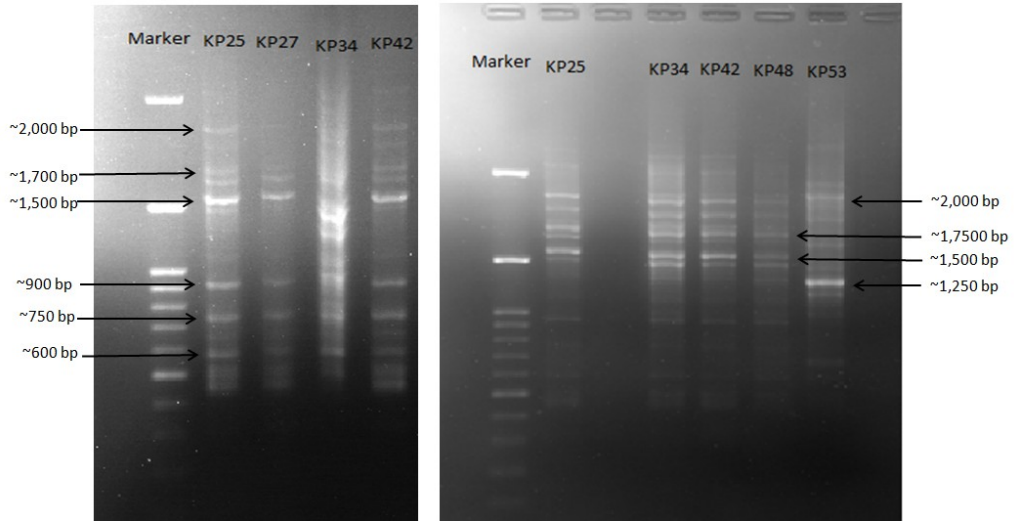
*Penicillium roqueforti* olduğu doğrulanan izolatlar Rep-PCR (GTG 5) analizine tabi tutulmuştur. Ardından ikinci bölümde belirtildiği şekilde agaroz jel elektroforezi yapılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Rep-PCR uygulanan *Penicillium roqueforti* izolatlarının jel görüntüleri

İzolatların hepsi ~1,500 bp büyüklüğünde bant vermiştir. Bununla birlikte diğer bantlar yaklaşık 700, 800, 900 ve 500 bp civarlarında gözlemlenmektedir. İzolatlardan KP9 ve KP41'in yaklaşık 1,300 bp büyüklüğünde bir bant verdiği görülmüştür.

Diğer izolatlardan farklı bantlar verdiği gözlemlenen örnekler (KP25, KP27, KP42 ve KP53) tekrar PCR ve jelde yürütme işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 3.3). Daha iyi ayırım yapılabilmesi için daha uzun bir elektroforez işlemine tabi tutulan örneklerden yalnızca KP53'ün diğerlerinden farklı boyutlarda bantlar verdiği gözlemlenmiştir.



**Şekil 3.3: Rep-PCR işlemi tekrarlanan izolatların jel görüntüleri**

Tekrarlanan işlem sonucunda diğer izolatlardan farklı olarak KP53 1,250 bp büyüklüğünde bant vermiştir.

Redondo, Cubero ve Melgarejo (2009) *Penicillium* cinsi küf türlerinin DNA'sını analiz etmek ve bu türleri karakterize etmek için rep-PCR kullanmışlardır. REP 1R (5'-III ICG ICG ICA TCI GGC-3') ve REP 2R (5'- ICG ICT TAT CIG GCC TAC -3') primerlerini kullanarak yaptıkları analiz sonucunda rep-PCR parmak izinin *Penicillium* türlerini ayırt etmek için de kullanılabileceğini, fenotipik özellikler kullanılarak ayırt edilemeyen türlerin ayırt edilmesini sağlayacak kadar hassas olduğunu ve bu yöntemin ITS'lerin nükleotit sekanslarının sonuçları kullanılarak ayırt edilemeyen yakından ilişkili türler arasında bir ayrımcılığı mümkün kıldığını söylemişlerdir. Ayrıca rep-PCR'ın *Penicillium* cinsinin üyelerini

karakterize etmek için pratik, hızlı ve doğru bir yöntem olduğunu da belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada ise RAPD parmak izi yöntemi ve evrensel primerler olan NS2, 3, 5 ve 7 kullanılarak 10 tanesinin *P. roqueforti* olduğu 20 izolatu karakterize etmişlerdir (Boysen vd., 1996).





## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

### SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Uygulanan pH analizi sonucunda peynir örneklerinin ortalama pH'ı 7,18 bulunmuştur. Diğer çalışmalara oranla pH'ın yüksek değerde bulunmasının sebebi, peynir örneklerinin üretiminin belli standartlar olmaksızın küçük çaplı işletmelerde gerçekleşmesi durumuyla küf üremesinin üst düzeyde olması olabilir.

Yapılan moleküler analizler sonucunda elde edilen 54 küf izolatından 53'ü *P. roqueforti*, 1'i *Cladosporium cladosporioides* ve 8 maya izolatının 4'ü *Pichia membranifaciens*, 2'si *Candida zeylanoides*, 1'i *Debaryomyces hansenii* ve 1'i *Geotrichum candidum* bulunmuştur. Konya küflü peyniri ve diğer geleneksel Türk peynirleri üzerine daha fazla çalışmalarla bu bulgular desteklenmelidir.

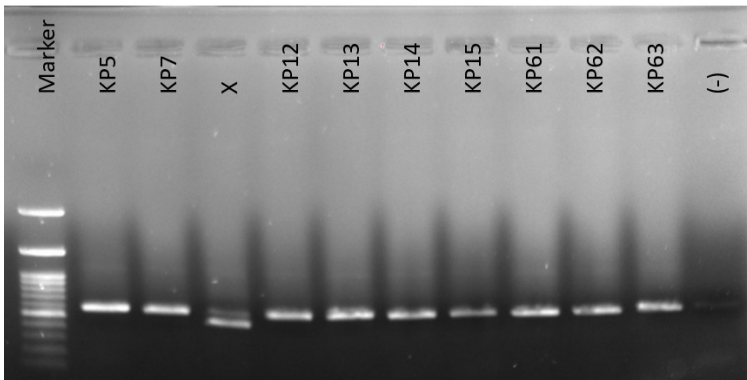
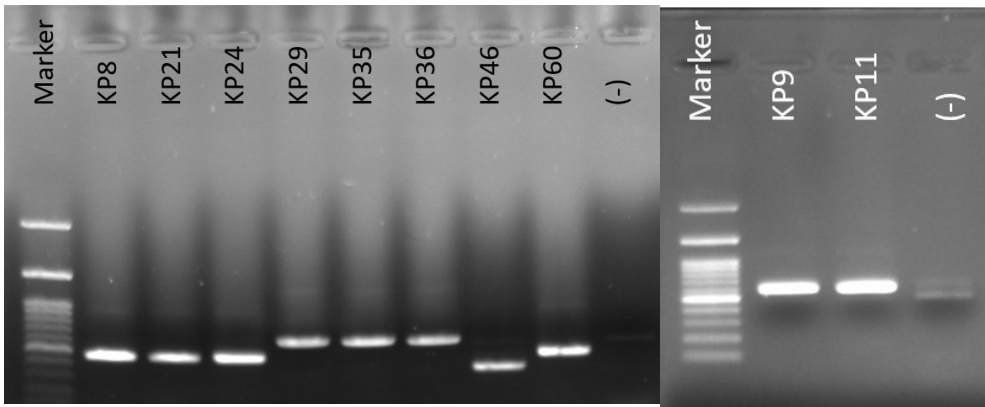
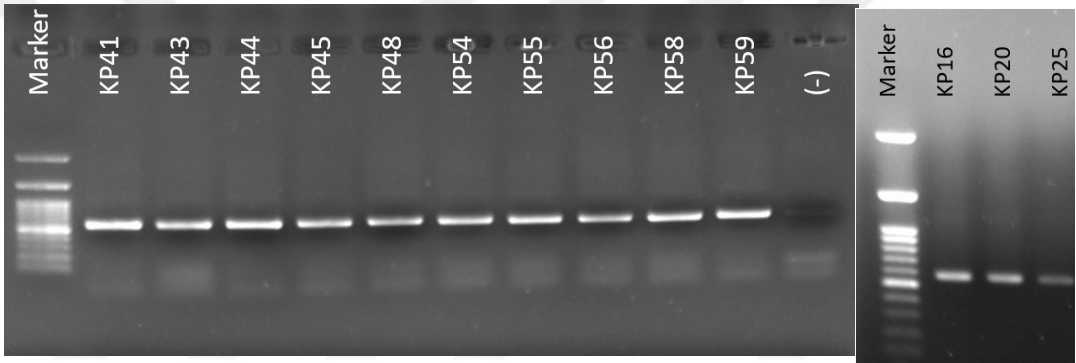
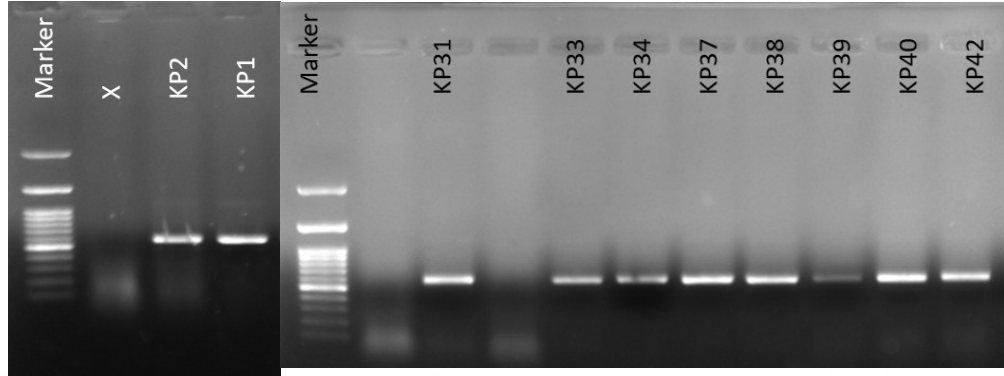
*P. roqueforti* izolatlarına yapılan morfolojik analizlerin sonucunda dört medyada farklı görüntülerde kolonilere rastlanmıştır. PDA üzerinde özellikle mavi ve yeşilin tonlarında çeşitli renklerde koloniler gözlemlenmiş ve bunlar renk kodlarıyla eşleştirilerek desteklenmiştir. Bu sayede izole edilen suşlar arasında morfolojik gruplandırma yapmak söz konusu olabilir. YES üzerinde zeytin yeşili, bazıları damarlı görünümde farklı boyutlarda ve OA üzerinde açık ve koyu yeşil, etrafında beyaz ipliksi görünümde dokular bulunan koloniler gözlemlenmiştir. MEA ise morfolojik olarak en fazla çeşidin bulunduğu besiyeridir. MEA üzerinde dış kısmı mavimsi gri, orta kısmı turuncu veya sarı, dış kısmı beyaz, ortası turuncu veya sarı ve tamamen beyaza yakın olmak üzere 5 farklı renk görünümü, bazıları damarlı, homojen veya heterojen dokuda ve bazılarının merkezinde sarı renkte bombe bulunan koloniler gözlemlenmiştir. Farklı morfolojik özellikler gösteren bu suşların peynir lezzetine etkisi ileriki çalışmalarda belirlenebilir.

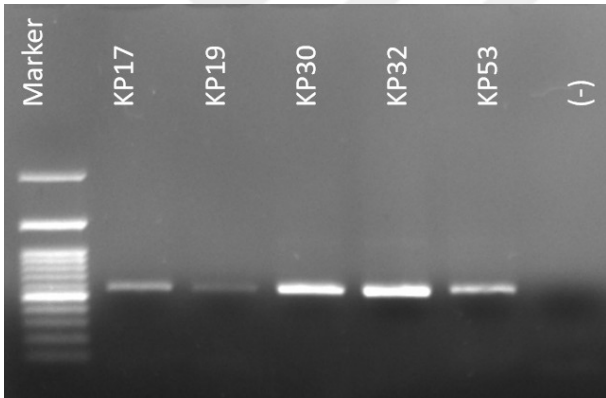
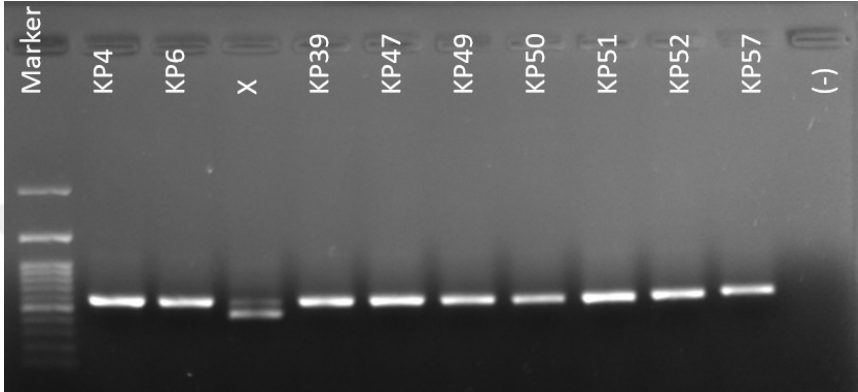
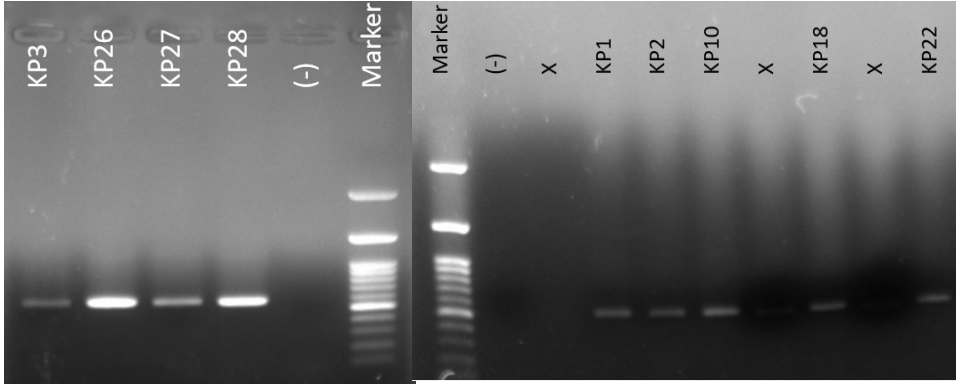
*P. roqueforti* izolatlarına yapılan Rep-PCR sonucunda elde edilen patternler suşlararası ayırım sağlayamasa da KP57 örneğinin diğerlerinden farklı bantlar verdiği gözlemlenmiştir. Kullanılan GTG5 primeri *P. roqueforti* üzerinde yeterli etkiye sahip olamamış olabilir. Daha sonra yapılacak olan çalışmalarda farklı primerler örneğin, REP 1R, REP 2R veya NS2, 3, 5 ve 7 kullanılarak yeni analizler yapılabilir. Bu şekilde *P. roqueforti*'nin suş bazında çeşitliliği bu yolla da incelenebilir.

Bu çalışmalarla moleküler tanımlama yöntemlerinden PCR metodunun etkili kullanımını sağlanmış ve sonuç alınmıştır. Bu sonuçlar gelecekteki birçok çalışmaya ışık tutacaktır. Ayrıca suşlar arasında bulunacak farklılıkların peynir kalite ve lezzetine etkisi değerlendirilerek daha lezzetli ve örneğin mikotoksijenik açıdan daha sağlıklı peynirlerin üretiminde kullanılabilmesi söz konusudur.

# EKLER

## EK1

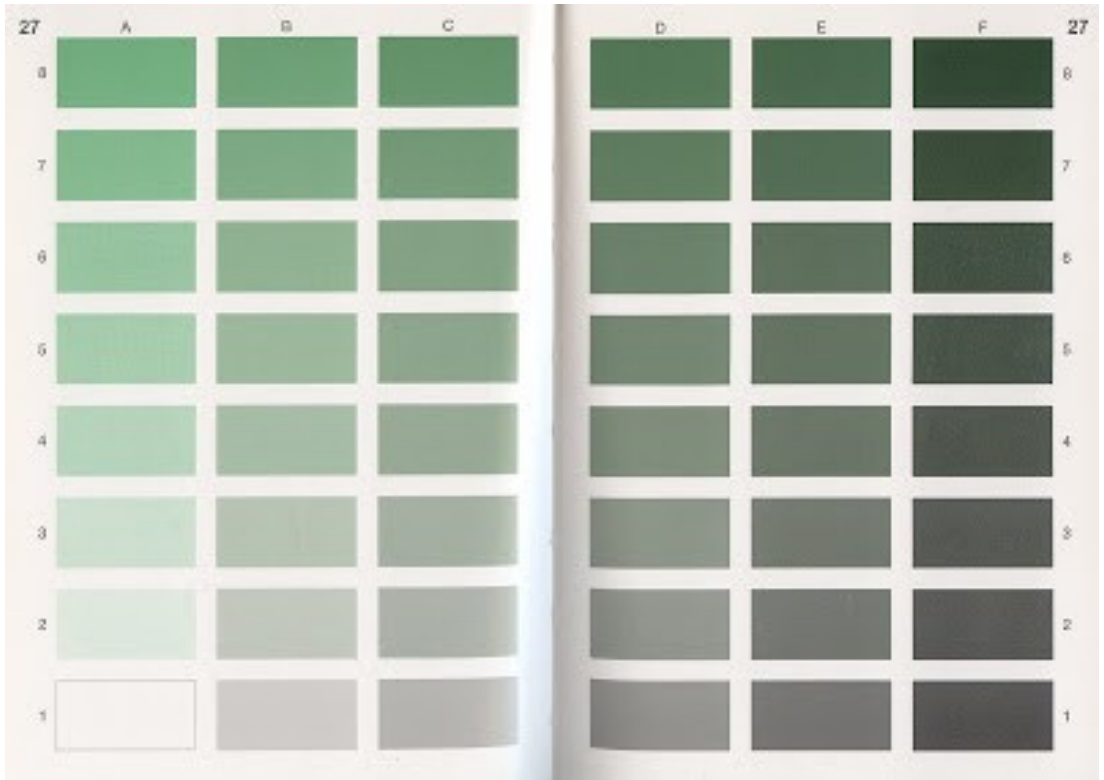
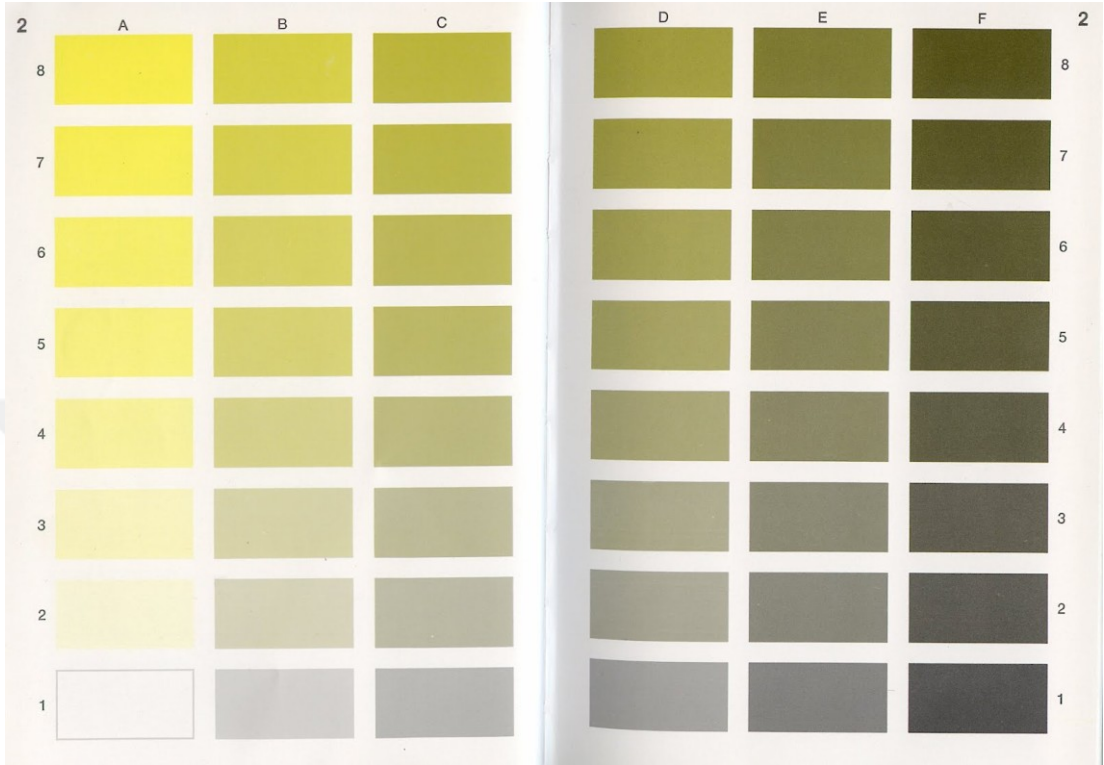




## EK2

<b>Örnek</b>	<b>DNA Boyutu (bp)</b>	<b>Örnek</b>	<b>DNA Boyutu (bp)</b>	<b>Örnek</b>	<b>DNA Boyutu (bp)</b>	<b>Örnek</b>	<b>DNA Boyutu (bp)</b>
<b>KP1</b>	~600	<b>KP17</b>	~600	<b>KP34</b>	~600	<b>KP50</b>	~600
<b>KP2</b>	~600	<b>KP18</b>	~600	<b>KP35</b>	~550	<b>KP51</b>	~600
<b>KP3</b>	~600	<b>KP19</b>	~600	<b>KP36</b>	550	<b>KP52</b>	~600
<b>KP4</b>	~600	<b>KP20</b>	540	<b>KP37</b>	~600	<b>KP53</b>	~600
<b>KP5</b>	~600	<b>KP21</b>	~450	<b>KP38</b>	~600	<b>KP54</b>	~600
<b>KP6</b>	~600	<b>KP22</b>	~600	<b>KP39</b>	~600	<b>KP55</b>	~600
<b>KP7</b>	~600	<b>KP24</b>	~450	<b>KP40</b>	~600	<b>KP56</b>	~600
<b>KP8</b>	~450	<b>KP25</b>	~600	<b>KP41</b>	~600	<b>KP57</b>	650
<b>KP9</b>	~600	<b>KP26</b>	~600	<b>KP42</b>	~600	<b>KP58</b>	~600
<b>KP10</b>	~600	<b>KP27</b>	~600	<b>KP43</b>	~600	<b>KP59</b>	~600
<b>KP11</b>	~600	<b>KP28</b>	~600	<b>KP44</b>	~600	<b>KP60</b>	~450
<b>KP12</b>	~600	<b>KP29</b>	~550	<b>KP45</b>	~600	<b>KP61</b>	~600
<b>KP13</b>	~600	<b>KP30</b>	~600	<b>KP46</b>	~350	<b>KP62</b>	~600
<b>KP14</b>	~600	<b>KP31</b>	~600	<b>KP47</b>	~600	<b>KP63</b>	~600
<b>KP15</b>	~600	<b>KP32</b>	~600	<b>KP48</b>	~600		
<b>KP16</b>	~600	<b>KP33</b>	~600	<b>KP49</b>	~600		

EK3



## KAYNAKÇA

- Abdollahniya, D., Hosseini, S. M., Baghbaderani, B. K., Mordadi, A., & Arabestani, M. R. (2018). Identification of *Lactobacillus* species isolated from traditional dairy products using RAPD-PCR. *Avicenna J Clin Microbiol Infect*, 5, 7-13.
- Álvarez-Martín, P., Flórez, A. B., López-Díaz, T. M., & Mayo, B. (2007). Phenotypic and molecular identification of yeast species associated with Spanish blue-veined Cabrales cheese. *International Dairy Journal*, 17(8), 961-967.
- André, E., De Sany, P., Darricades, M., Goeminne, L., Michiels, T., Janssens, M., ... & Delmée, M. (2017). Novel real-time multiplex PCR for rapid identification of pathogenic *Yersinia* species. In *ECCMID 2017*.
- Anonim, Interscience, 400 P & BagMixer, Quick user guide.
- Anonim, Invitrogen PureLink Genomic DNA Kits, User guide, Catalog Numbers K1820-01, K1820-02, K1821-04, Publication Number MAN0000601.
- Anonim, Shimadzu Spectrophotometer, BioSpec-nano, Instruction manual.
- Anonim, ThermoScientific, User guide, Pub. No. MAN0012663, Rev. Date 12 October 2016.
- Anonim, Qiagen, TissueLyser Handbook, October 2010.
- Armani, A., Tinacci, L., Xiong, X., Castigliero, L., Gianfaldoni, D., & Guidi, A. (2015). Fish species identification in canned pet food by BLAST and Forensically Informative Nucleotide Sequencing (FINS) analysis of short fragments of the mitochondrial 16s ribosomal RNA gene (16S rRNA). *Food control*, 50, 821-830.
- Atoui, A., & El Khoury, A. (2017). PCR-RFLP for *Aspergillus* species. In *Mycotoxigenic Fungi* (pp. 313-320). Humana Press, New York, NY.
- Akın, N. (2010). *Modern Süt Ürünleri Teknolojisi*, Konya, Damla Ofset, 360-368.
- Akın, N., (2010). *Temel Peynir Bilimi – I*, Konya, Meta Basım, 333-355
- Aran, N., (2010). *Gıda Biyoteknolojisi*, Ankara, Nobel Yayın Dağıtım, 49-65.
- Aras, Z. (2011). Mikrobiyolojide kullanılan hızlı tanı yöntemleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68(2), 97-104.

- Aşcıoğlu, F., Koluvaçık, T., Çetinkaya, Ü., & Akyüz, F. (2002). Kapiller elektroforez teknolojisinin klinik ve adli amaçlı DNA analizlerinde kullanımı: geleneksel jel elektroforez yöntemi ile karşılaştırma. *Adli Tıp Dergisi*, 16(2-4), 88-93.
- Banjara, N., Suhr, M. J., & Hallen-Adams, H. E. (2015). Diversity of yeast and mold species from a variety of cheese types. *Current Microbiology*, 70(6), 792-800.
- Baran, D., & Topçu, Y. (2018). Coğrafi İşaretli Erzurum Küflü Peyniri'nin Tüketici Tercihlerine Dayalı Pazarlama Taktik ve Stratejileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(2), 191-202.
- Blandino, A., Al-Aseeri, M. E., Pandiella, S. S., Cantero, D., & Webb, C. (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36(6), 527-543.
- Blaxter, M. (2003). Molecular systematics: counting angels with DNA. *Nature*, 421(6919), 122.
- Bostan, M., Ugur, M., & Ciftcioglu, G. (1992). Tulum peynirinde laktik asit bakterileri ve kuf florasi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17, 111-118.
- Boysen, M., Skouboe, P., Frisvad, J., & Rossen, L. (1996). Reclassification of the *Penicillium roqueforti* group into three species on the basis of molecular genetic and biochemical profiles. *Microbiology*, 142(3), 541-549.
- Budak, S. O., Figge, M. J., Houbraken, J., & de Vries, R. P. (2016). The diversity and evolution of microbiota in traditional Turkish Divle Cave cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 58, 50-53.
- Bullerman, L. B., & Olivigni, F. J. (1974). Mycotoxin producing-potential of molds isolated from cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 39(6), 1166-1168.
- Bullerman, L. B. (2003). Spoilage | Fungi in Food – An Overview. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 5511-5522.
- Buttriss, J. (1997). Nutritional properties of fermented milk products. *International Journal of Dairy Technology*, 50(1), 21-27.
- Cantor, M. D., Van Den Tempel, T., Hansen, T. K., & Ardö, Y. (2004). Blue cheese. *In Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (Vol. 2, pp. 175-198). Academic Press.
- Chai, C., Ju, H. K., Kim, S. C., Park, J. H., Lim, J., Kwon, S. W., & Lee, J. (2012).



- Determination of bioactive compounds in fermented soybean products using GC/MS and further investigation of correlation of their bioactivities. *Journal of Chromatography B*, 880, 42-49.
- Champe, P. C., Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. (2007). *Biyokimya*. Çeviri Editörü: Ulukaya E., Lippincott's Illustrated Reviews, 450-451
- Chen, K. I., Erh, M. H., Su, N. W., Liu, W. H., Chou, C. C., & Cheng, K. C. (2012). Soyfoods and soybean products: from traditional use to modern applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(1), 9-22.
- Codex Committee On Milk And Milk Products, *Joint FAO/WHO Food Standards Programme*, CX/MMP 00/15, 28 Şubat - 3 Mart 2000.
- Coloretti, F., Chiavari, C., Luise, D., Tofalo, R., Fasoli, G., Suzzi, G., & Grazia, L. (2017). Detection and identification of yeasts in natural whey starter for Parmigiano Reggiano cheese-making. *International Dairy Journal*, 66, 13-17.
- Çakmakçı, S., Çetin, B., Gürses, M., Dağdemir, E., & Hayaloglu, A. A. (2012). Morphological, molecular, and mycotoxigenic identification of dominant filamentous fungi from moldy civil cheese. *Journal of Food Protection*, 75(11), 2045-2049.
- Çalım, H. D. (2007). *Konya ve çevresinde farklı tip ambalajlarda tüketime sunulan tulum peynirlerinin kalite nitelikleri* (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Çelik, Ş., & Uysal, Ş. (2009). Beyaz peynirin bileşim, kalite, mikroflora ve olgunlaşması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(1), 141-151.
- Çelikyurt, G., & Arıcı, M. (2008). Gıda Koruyucusu Olarak Mikrobiyal Kaynaklı Organik Asitler ve Önemi. *Türkiye*, 10, 21-23.
- Çetinkaya, E., & Ayhan, K. (2012). Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler. *Karaelmas Science and Engineering Journal*, 2(1), 53-62.
- De Llano, D. G., Ramos, M., Rodriguez, A., Montilla, A., & Juárez, M. (1992). Microbiological and physicochemical characteristics of Gamonedo blue cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 2(2), 121-135.

- Demirer, M. A. (1974). Bazı peynirlerimizden izole ettiğimiz küfler ve bunların aflatoksin yeteneklerinin araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(1-2), 180-198.
- Demirci, M. (1990). Peynirin beslenmedeki yeri ve önemi. *GIDA*, 15(5).
- Demirci, M. (1998). *İçme Sütü*, Tekirdağ, İhlas matbaacılık gazetecilik yayıncılık san. ve Tic. A.ş., 31-39.
- Dervişoğlu, M., & Aydemir, O. (2007). Peynir Yapımında Kullanılan Pıhtılaştırıcı Enzimler ve Kazein Fraksiyonları Üzerine Etkileri. *GIDA*, 32(5), 241-249.
- Dijksterhuis, J., & Samson, R. A. (Eds.). (2007). *Food mycology: a multifaceted approach to fungi and food*. CRC Press.
- Drissner, D., & Freimoser, F. M. (2017). MALDI-TOF mass spectroscopy of yeasts and filamentous fungi for research and diagnostics in the agricultural value chain. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4(1), 13.
- Durlu-Özkaya, F., & Gün, İ. (2007). *Anadolu'da peynir kültürü*. ICANAS, 38, 10-15.
- Ender, G., Karagözlü, C., Yerlikaya, O., & Akbulut, N. (2006). Dünyada ve Türkiye'de Tüketimi Artan Fermente Süt İçecekleri. *Türkiye*, 9, 24-26.
- Erdogan, A., Gurses, M., & Sert, S. (2003). Isolation of moulds capable of producing mycotoxins from blue mouldy Tulum cheeses produced in Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 83-85.
- Farkye, N. Y. (2004). Cheese technology. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 91-98.
- Fathi-Achachlouei, B., Ahmadi-Zenouz, A., Assadi, Y., & Hesari, J. (2007). Reduction of patulin content in apple juice concentrate using activated carbon and its effects on several chemical constituents. *Journal Of Food Agriculture And Environment*, 5(1), 12.
- Flórez, A. B., Álvarez-Martín, P., López-Díaz, T. M., & Mayo, B. (2007). Morphotypic and molecular identification of filamentous fungi from Spanish blue-veined Cabrales cheese, and typing of *Penicillium roqueforti* and *Geotrichum candidum* isolates. *International Dairy Journal*, 17(4), 350-357.

- Fox, P. F., & Guinee, T. P. (2013). Cheese science and technology. *Milk and dairy products in human nutrition: production, composition and health*, John Wiley & Sons Ltd., 357-389.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). *Fundamentals of cheese science* (pp. 185-229). Boston, MA, USA:: Springer.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (Eds.). (2004). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 1: General Aspects*. Elsevier.
- Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in mycology*, 49(1), 1-174.
- Gillot, G., Jany, J. L., Coton, M., Le Floch, G., Debaets, S., Ropars, J., ... & Coton, E. (2015). Insights into *Penicillium roqueforti* morphological and genetic diversity. *Plos One*, 10(6), e0129849.
- Gillot, G., Jany, J. L., Poirier, E., Maillard, M. B., Debaets, S., Thierry, A., ... & Coton, M. (2017). Functional diversity within the *Penicillium roqueforti* species. *International journal of food microbiology*, 241, 141-150.
- Giri, D. (2017). Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle, Procedure, Components, Types and Applications. *Laboratory Info*.
- Glass, N. L., & Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(4), 1323-1330.
- Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J. J., Bostley, A. L., Johnson, M. E., & Lucey, J. A. (2004). Standardization of milk using cold ultrafiltration retentates for the manufacture of Parmesan cheese. *Journal of Dairy Science*, 87(9), 2789-2799.
- Gripon, J. C. (1993). Mould-ripened cheeses. In *Cheese: chemistry, physics and microbiology* (pp. 111-136). Springer, Boston, MA.
- Guinee, T. P., Carić, M., & Kalab, M. (2004). Pasteurized processed cheese and substitute/imitation cheese products. In *Cheese: chemistry, physics and microbiology* (Vol. 2, pp. 349-394). Academic Press.

- Güley, Z., Uysal, H. R., & Kılıç, S. (2013). Doğal Yolla Küflendirilen Bazı Geleneksel Peynirlerde Aflatoksin M1, Aflatoksin B1 Ve Aflatoksin Üreten Küflerin Varlığının Araştırılması. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(2), 145-152.
- Gündüz, H. H. (1982). Tomas Peyniri I. Tomas Peyniri Doğal Mikroflorası. *Gıda*, 7(5).
- Gündüz, G., & Emenli, İ. (2019). Gıdalarda bulunan küflerin tanımlanmasında kullanılan yöntemler. *Gıda*, 44(4), 692-706.
- Gürsoy, N. C., & Otlu, B. (2017). Mikrobiyota Çalışmalarında Moleküler Tanı Yöntemleri. *Journal Of Biotechnology And Strategic Health Research*, 1, 56-67.
- Harbutt, J., (2015). *World Cheese Book*, Dorling Kindersley Penguin Random House Company, Büyük Britanya.
- Hayaloglu, A. A., Guven, M., & Fox, P. F. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. *International Dairy Journal*, 12(8), 635-648.
- Hayaloglu, A. A., & Kirbag, S. (2007). Microbial quality and presence of moulds in Kuflu cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 115(3), 376-380.
- Hayaloglu, A. A., & Ozer, B. H. (2011). Peynirde olgunlaşma (Ripening in cheese). *Peynir Biliminin Temelleri (Principles of Cheese Sciences)*. Sidaş Medya, Izmir, Turkey, 173-209.
- Houbraken, J., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2010). Sex in *Penicillium series roqueforti*. *IMA fungus*, 1(2), 171.
- Joshi, N., Godbole, S. H., & KANEKAR, P. (1989). Microbial and biochemical changes during dhokla fermentation with special reference to flavour compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 26(2), 113-115.
- Kabak, B., & Dobson, A. D. (2011). An introduction to the traditional fermented foods and beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(3), 248-260.
- Kaczmarska, I., Reid, C., & Moniz, M. (2007). Diatom taxonomy: morphology, molecules and barcodes. In *Proceedings of the 1st Central-European Diatom meeting* (pp. 69-72). FU-Berlin: Botanic Garden and Botanical Museum Berlin-Dahlem.

- Karabey, B., Eroglu, D., Vural, C., Ozdemir, G., Yerlikaya, O., & Kinik, O. (2018). Determination of the microbial flora in traditional İzmir Tulum cheeses by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Journal of food science and technology*, 55(3), 956-963, 17.02.20.
- Karaçıl, M. Ş., & Acar, N. (2013). Dünyada üretilen fermente ürünler: tarihsel süreç ve sağlık ile ilişkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2), 163-174.
- Karslı, T., & Balcıoğlu, M. S. (2011). Türkiye'de Yetiştirilen Altı Yerli Koyun Irkında BMPR-IB (Booroola) Geninde FecB Allel Varlığının PCR-RFLP Yöntemiyle Araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(5).
- Kaynar, P. (2011). Ülkemiz peynirleri üzerine mikrobiyolojik araştırmalar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 41, 1-8.
- Kılıç, S. (2010). *Süt Mikrobiyolojisi*, Sıdaş, İzmir, 67-73.
- Koçak, C., & Devrim, H. (1989). Isıl işlemin inek ve koyun sütlerinin peynir mayası ile pıhtılaşma yeteneği üzerine etkisi. *Gıda*, 14(1).
- Kosikowski, F. V., (1982). *Cheese and Fermented Milk Foods*, FV Kosikowaski and Associates Publ, New York, 317.
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (62), e3923.
- Levent, H., & Cavuldak, Ö. A. (2017). Geleneksel Fermente Bir İçecek: Boza. *Akademik Gıda*, 15(3), 300-307.
- Liang, Y. T., Jiang, C., Zhou, J. H., Hu, Q. T., & Yuan, Y. (2019). Molecular identification of *Armillaria gallica* by PCR-RFLP analysis. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, 44(17), 3622-3626.
- Lücke, F. K. (1994). Fermented meat products. *Food Research International*, 27(3), 299-307.
- Mariod, A., Matthäus, B., Eichner, K., Hussein, I. H., & Bustamam, A. (2010). Effects of deodorization on the quality and stability of three unconventional Sudanese oils. *African Journal of Biotechnology*, 37, 8, 17.02.20.

- Martín, J. F., & Coton, M. (2017). Blue cheese: microbiota and fungal metabolites. In *Fermented Foods in Health and Disease Prevention* (pp. 275-303). Academic Press.
- Masco, L., Huys, G., Gevers, D., Verbruggen, L., & Swings, J. (2003). Identification of Bifidobacterium species using rep-PCR fingerprinting. *Systematic and Applied Microbiology*, 26(4), 557-563.
- McCrae, C. H. (1994). Homogenization of milk emulsions: use of microfluidizer. *International Journal of Dairy Technology*, 47(1), 28-31.
- McSweeney, P. L. (Ed.). (2007). *Cheese Problems Solved*. Elsevier, England.
- Megep, (2016). Gıda teknolojisi, Beyaz peynir üretimi, Ankara.
- Megep, (2011). Laboratuvar, Katı besiyerine ekim, Ankara.
- Metin, B. (2018). Filamentous fungi in cheese production. In *Microbial Cultures and Enzymes in Dairy Technology* (pp. 257-275). IGI Global.
- Metin, M. (2009). *Sütün Yapısı ve Özellikleri*, İzmir, Ege Üniversitesi basımevi, 7-10.
- Miguel, M. G. D. C. P., de Castro Reis, L. V., Efraim, P., Santos, C., Lima, N., & Schwan, R. F. (2017). Cocoa fermentation: Microbial identification by MALDI-TOF MS, and sensory evaluation of produced chocolate. *LWT – Food Science and Technology*, 77, 362-369.
- Muñoz, G., Campos, F., Salgado, D., Galdames, R., Gilchrist, L., Chahin, G., & Andrade, O. (2016). Molecular identification of Botrytis cinerea, Botrytis paeoniae and Botrytis pseudocinerea associated with gray mould disease in peonies (Paeonia lactiflora Pall.) in Southern Chile. *Revista iberoamericana de micologia*, 33(1), 43-47.
- Nielsen, K. F., Dalsgaard, P. W., Smedsgaard, J., & Larsen, T. O. (2005). Andrastins A– D, Penicillium roqueforti metabolites consistently produced in blue-mold-ripened cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 2908-2913.
- Nout, M. J. R. (1980). Process development and preservation of Busaa, a Kenyan traditional opaque maize beer. *Chemische Mikrobiologie Technologie Lebensmittel*, 175, 182.
- O'brien, M., Egan, D., O'kiely, P., Forristal, P. D., Doohan, F. M., & Fuller, H. T. (2008). Morphological and molecular characterisation of Penicillium roqueforti and P. paneum isolated from baled grass silage. *Mycological Research*, 112(8), 921-932.

- Oliveira, M. M. E., Santos, C., Sampaio, P., Romeo, O., Almeida-Paes, R., Pais, C., ... & Zancopé-Oliveira, R. M. (2015). Development and optimization of a new MALDI-TOF protocol for identification of the *Sporothrix* species complex. *Research in Microbiology*, 166(2), 102-110.
- Özcan, T., & Eroğlu, E. (2018). Sütün Enzimatik Koagülasyonu ve Peynir Üretiminde Bitkisel Pıhtılaştırıcılar. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32(2), 201-214.
- Özkalp, B., & Durak, Y. (1998). Konya ve civarı küflü peynirlerinde küf florasının araştırılması. *Turkish Journal of Biology*, 22, 341-346.
- Panelli, S., Buffoni, J. N., Bonacina, C., & Feligini, M. (2012). Identification of moulds from the Taleggio cheese environment by the use of DNA barcodes. *Food Control*, 28(2), 385-391.
- Pekel, M., & Korukluoğlu, M. (2009). Sivas yöresinde üretilen küp peynirinin mikrobiyolojik, kimyasal kalitesi ve küf florasının belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 24(1), 1-7.
- Rademaker, J. L. W., Louws, F. J., & De Bruijn, F. J. (1998). Characterization of the diversity of ecologically important microbes by rep-PCR genomic fingerprinting. *Molecular Microbial Ecology Manual*, 3(3), 1-27.
- Rasmussen, C. D., Means, R. L., Lu, K. P., May, G. S., & Means, A. R. (1990). Characterization and expression of the unique calmodulin gene of *Aspergillus nidulans*. *Journal of Biological Chemistry*, 265(23), 13767-13775.
- Ratray, W., & Jelen, P. (1996). Protein standardization of milk and dairy products. *Trends in Food Science & Technology*, 7(7), 227-234.
- Redondo, C., Cubero, J., & Melgarejo, P. (2009). Characterization of *Penicillium* species by ribosomal DNA sequencing and BOX, ERIC and REP-PCR analysis. *Mycopathologia*, 168(1), 11.
- Roostita, R., & Fleet, G. H. (1996). The occurrence and growth of yeasts in Camembert and blue-veined cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 28(3), 393-404.
- Sağdıç, O., Özçelik, S., Şimşek, B., & Özdemir, C. (2008). Geleneksel yöntemle üretilen küflü peynirlerin mikrobiyolojik nitelikleri ve küf florası. *Türkiye*, 10, 21-23.

- Sandhu, G. S., Kline, B. C., Stockman, L., & Roberts, G. D. (1995). Molecular probes for diagnosis of fungal infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(11), 2913-2919.
- Sert, S. (1992). Bazı Peynir Çeşitlerinde Küf Florası Ve Aflatoksin İçerikleri İle Aflatoksin Potansiyellerinin Araştırılması: I. Küf Florası. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2).
- Slyke, L.L.V., & Price, W.V., (1979). *Cheese*, United States of America, Ridgeview Publishing Company P.O. 686, 165-202.
- Surženko, M., Kontram, K., & Sarand, I. (2017). PCR-based fingerprinting and identification of contaminative fungi isolated from rye breads. *Agronomy Research*, 15(1), 288-297.
- Şengün, İ. Y., Karapınar, M., Yaman, D. B., & Yenice, E. (2006). Isparta ili ve yöresine ait geleneksel küflü çömlük peynirinin mikroflorası üzerine bir araştırma. *Türkiye*, 9, 24-26.
- Tamang, J. P., & Kailasapathy, K. (Eds.). (2010). *Fermented Foods and Beverages of the World*. CRC pres, vii.
- Tayar, M. & Hecer, C., (2013). *Gıda Mikrobiyolojisi*, Bursa, Dora Basım Yayın Dağıtım Ltd. Şti., 39.
- Terin, M. (2014). *Avrupa Birliği'ne Tam Üyeliğin Türkiye Sütçülük Sektörüne Muhtemel Bölgesel Etkilerinin Analizi* (Doctoral dissertation), Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Tiwari, K. L., Jadhav, S. K., & Kumar, A. (2011). Morphological and molecular study of different *Penicillium* species. *Middle-East J Sci Res*, 7(1), 203-10.
- Tomar, O., & Akarca, G. (2018). Afyonkarahisar'da Satışa Sunulan Afyon Kaymaklarının Mikrobiyolojik Özellikleri. *European Journal of Science and Technology*, (14), 102-109.
- Topal, Ş. (1987). Kaşar peyniri olgunlaşma evresinde gelişen yüzey küfleri ve mikotoksin riskleri. *Gıda*, 12(3).
- Torkar, K. G., & Vengušt, A. (2008). The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M1 in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control*, 19(6), 570-577.



- Turan, Z., Şanver, D., & Öztürk, K. (2017). Türkiye’de hayvancılık sektöründen süt inekçiliğinin önemi ve yurt içi hasılaya katkısı ve de dış ülkelerle karşılaştırılması. *Ömer Halisdemir Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 10(3), 60-74.
- Turgut, T., Erdoğan, A., & Atasever, M. (2012). Karın Kaymağı peynirinden izole edilen laktobasillerin tanımlanması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(2).
- Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, *T.C. Resmi Gazete*, 27143, 16 Şubat 2009.
- Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği, *T.C. Resmi Gazete*, 29261, 8 Şubat 2015.
- Türk Gıda Kodeksi Tereyağı, Diğer Süt Yağı Esaslı Sürülebilir Ürünler ve Sadeyağ Tebliği, *T.C. Resmi Gazete*, Tebliğ no: 2005/19.
- Türkiye İstatistik Kurumu, 2018, Süt Ürünleri İstatistikleri, 03.02.2020.
- Ulusal Süt Konseyi, 2018 Süt Raporu, *Dünya ve Türkiye’de Süt İstatistikleri*.
- Üçüncü, M., (2008). *A’dan Z’ye Peynir Teknolojisi*, Cilt I, İzmir, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Meta Basım Matbaacılık, 344-519.
- Üçüncü, M., (2013). *Süt ve Mamülleri Teknolojisi*, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Meta basım, İzmir.
- Ünsal, A., (1997). *Süt Uyuyunca – Türkiye Peynirleri*, İstanbul, Yapı Kredi Yayınları, 103-104.
- Van Burik, J. A., Schreckhise, R. W., White, T. C., Bowden, R. A., & Myerson, D. (1998). Comparison of six extraction techniques for isolation of DNA from filamentous fungi. *Medical mycology*, 36(5), 299-303.
- van den Tempel, T., & Jakobsen, M. (1998). Yeasts associated with Danablu. *International Dairy Journal*, 8(1), 25-31.
- Visagie, C. M., Houbraeken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., ... & Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78, 343-371.
- Wisniowski, M. T., (2012). *Methuen Color Index and Classification System*[1] *Art Resource*, artquill.blogspot.com, erişim tarihi: 24.02.20.

- Wood, B. J. B. (2012). *Microbiology of Fermented Foods*. Springer Science & Business Media, Glasgow/UK,
- Yalınız, F. A. (2019). Gaziantep mutfağında antep peynirinin kullanım alanları. *Avrasya Sosyal ve Ekonomi Araştırmaları Dergisi*, 6(6), 655-666.
- Yetişmeyen, A., Osmanlıoğlu, M. A., & Kaptan, B. (1995). Beyaz peynir sütüne uygulanan pastörizasyon normlarının teleme ve peyniraltı suyu niteliklerine etkisi. *Gıda*, 20(6).
- Zamora, A., Ferragut, V., Jaramillo, P. D., Guamis, B., & Trujillo, A. J. (2007). Effects of ultra-high pressure homogenization on the cheese-making properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 90(1), 13-23.
- Zhao, Y., Tsang, C. C., Xiao, M., Chan, J. F., Lau, S. K., Kong, F., ... & Woo, P. C. (2018). Yeast identification by sequencing, biochemical kits, MALDI–TOF MS and rep-PCR DNA fingerprinting. *Medical mycology*, 56(7), 816-827.

**CV**

**MERYEM SERİ**

## **KİŞİSEL BİLGİLER**

**Ad Soyad:** Meryem SERİ

**Doğum Tarihi:** 30.03.1995

**Doğum Yeri:** İstanbul (Avr.)/Türkiye

**Medeni Durumu:** Bekâr

**Ehliyet:** B sınıfı (aktif sürücü)

**Sigara Kullanımı:** Yok

**Seyahat:** Seyahat engeli yok

## **İLETİŞİM BİLGİLERİ**

**Adres:** Hürriyet Mah. Bahadırhan caddesi Denizyıldızı sokak No: 3 Daire:1  
Büyüçekmece/İstanbul

**Cep Telefonu:** 0542 627 30 97

**E-posta:** mrym.seri@gmail.com

## **EĞİTİM BİLGİLERİ**

**2009 - 2013 :** Özel İhlas Koleji (Lise)

**2013 - 2017 :** İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi / Matematik ve Doğa Bilimleri  
Fakültesi / Gıda Mühendisliği bölümü (Lisans eğitimi)

**2017 - 2019 :** İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi / Matematik ve Doğa Bilimleri  
Fakültesi / Gıda Mühendisliği bölümü (Yüksek Lisans eğitimi)

## **PROJELER**

### **Lisans Tezi**

Proje Adı: Pikan Cevizi Ezmeli Pikan Cevizi Parçalı Çikolatalı Gofret

Yazarlar: Meryem SERİ, Emine Sena KAFKASKIRAY

Proje Tarihi: Mart - Haziran, 2017

## **Poster**

Proje Adı: Ottoman Sherbets and Their Importance in Terms of Health

Yazarlar: Meryem SERİ, Emine Sena KAFKASKIRAY

Yayınlandığı yer: IV. International Symposium on Traditional Foods From Adriatic to Caucasus (KKTC)

Yayın Tarihi: Nisan, 2018

## **Poster ve Makale**

Poje Adı: Sourdough Isolate A2 as *Lactobacillus crustorum* using the Molecular Markers *DnaK* and *RpoA* In Addition to 16S rRNA

Yazarlar: Meryem SERİ, Banu METİN

Yayınlandığı yer: FoodMicro Conference Berlin

Yayın Tarihi: Eylül, 2018

Çalışılan Analiz ve Cihazlar: Bakteride DNA izolasyonu, BioRad PCR, BioRad Jel Elektroforez, Nanodropt

## **Makale/Yüksek lisans tezi**

Proje Adı: Konya Küflü Peynirinden İzole Edilen Küflerin Moleküler İdentifikasyonu Ve *Penicillium roqueforti* İzolatlarının Morfolojik Karakterizasyonu

Yayın Tarihi: Proje yürütme devam etmekte.

Çalışılan Analiz ve Cihazlar: Küf ve Mayada DNA izolasyonu, BioRad PCR ve Rep-PCR, BioRad Jel Elektroforez, Nanodropt

## **Poster**

Proje Adı: Characterization of the filamentous fungal flora of Konya mold-ripened tulum cheese

Yazarlar: Meryem SERİ, Banu METİN

Yayınlandığı Yer: 2'nd International Eurasia Mycology Congress, Konya

Yayın Tarihi: 04-6 Eylül, 2019

### **Poster**

Proje Adı: Characterization of the filamentous fungal flora of Konya mold-ripened tulum cheese

Yazarlar: Meryem SERİ, Banu METİN

Yayınlandığı Yer: 11. Ulusal/ 1. Uluslararası Gıda Mühendisliği Kongresi, Antalya

Yayın Tarihi: 7-9 Kasım, 2019

### **YABANCI DİL**

**İngilizce:** Yazma: iyi, Konuşma: orta

### **İŞ DENEYİMİ**

**Temmuz 2016 - Ağustos 2016 :** Koska Gıda Sanayi (Merter), Pozisyon: Stajyer

**Kasım 2017 :** İstanbul Halk Ekmek, Pozisyon: Gönüllü Stajyer

### **YETKİNLİKLER**

**Bilgisayar:** Microsoft Office

**Sertifikalar:** 18001 İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetimi, 22000 Gıda Güvenliği Yönetimi, 9001 Kalite Yönetimi, Temel Hijyen Eğitimi, İç Denetçi (2017).

Sertifikaları veren kurum: İstanbul Sanahattin Zaim Üniversitesi