

**SÜRK PEYNİRİNİN BAZI ÖZELLİKLERİNİN  
BELİRLENMESİ VE İZOLE EDİLEN LAKTİK  
ASİT BAKTERİLERİNİN PCR YÖNTEMİYLE  
TANIMLANMASI  
Gölnaz ÇELİK YURT  
Yüksek Lisans Tezi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
Prof. Dr. Muhammet ARICI**

**2008**

T.C.  
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SÜRK PEYNİRİNİN BAZI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE İZOLE EDİLEN  
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN PCR YÖNTEMİYLE TANIMLANMASI

Gülnaz ÇELİK YURT

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Muhammet ARICI

TEKİRDAĞ-2008

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Muhammet ARICI danışmanlığında, Gülnaz ÇELİKYURT tarafından hazırlanan bu çalışma 12/08/08 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Muhammet ARICI *İmza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Bilal BİLGİN *İmza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Serdar POLAT *İmza :*

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### SÜRK PEYNİRİNİN BAZI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN PCR YÖNTEMİ İLE TANIMLANMASI

Gülnaz ÇELİKİYURT

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Muhammet ARICI

Bu çalışmada Hatay ve çevresine özgü bir süt ürünü olan Sürk peynirinden laktik asit bakterileri izole edilmiş ve tanımlaması yapılmıştır. Tesadüfi olarak 15 farklı kaynaktan seçilen Sürk örneklerinin ayrıca bazı özellikleri de incelenmiştir. İncelenen Sürk örneklerinin Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) sayısı ortalama  $6,42 \pm 0,41$  log kob/g, maya- küf sayısı ortalama  $3,94 \pm 0,55$  log kob/g, koliform grubu bakteri sayısı  $< 1$  log kob/g, ortalama MRS agarda gelişen laktik asit bakterileri sayısı  $5,79 \pm 0,43$  log kob/g ve M17 agarda gelişen laktik asit bakterileri sayısı ise  $3,13 \pm 0,32$  log kob/g olarak belirlenmiştir. Örneklerin kimyasal sonuçlarının ortalama değerleri ise kurumadde %  $43,36 \pm 1,85$ , yağ %  $7,24 \pm 1,02$ , tuz %  $5,52 \pm 0,71$ , kül  $6,54 \pm 0,71$ , asitlik %  $2,33 \pm 0,24$ , protein %  $17,14 \pm 1,02$  ve son olarak pH sonuçları  $4,16 \pm 0,66$  olarak belirlenmiştir. Sürk örneklerinden 17 adet çubuk ve 29 adet kok şeklinde laktik asit bakterisi izole edilmiştir. 16S rDNA yöntemine göre DNA izolasyonu gerçekleştirilen ve PCR’da DNA örnekleri çoğaltılan bu bakterilerin dizi analizi yöntemi ile tanımlaması yapılmıştır. Dizi analizi sonuçlarına göre toplam 23 izolat *Pediococcus acidilactici* olarak, 5 izolat *Enterococcus durans* olarak, bir izolat *Enterococcus faecium* olarak, 7 izolat *Lactobacillus brevis* olarak, 10 izolat *Lactobacillus paracasei* olarak tanımlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Sürk, Laktik asit bakterileri, PCR

**2008, 30 sayfa**

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### DETERMINATION OF SOME PROPERTIES OF SÜRK CHEESE AND IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA BY USING PCR METHOD

Gölnaz ÇELIKYURT

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Main Science Division of Food Engineering

Supervisor : Prof. Dr. Muhammet ARICI

In this research isolation and identification of lactic acid bacteria from Sürk, a dairy product special to Hatay province. Also some properties of the sürk samples taken from fifteen different origin were determined. According to the analysis of the sürk samples, the average values of Total Mesophilic Aerobic Bacteria (TMAB), mold & yeast, total coliform, lactic acid bacteria in MRS agar and in M17 agar were as  $6.42 \pm 0.41$  log cfu/g,  $3.94 \pm 0.55$  log cfu/g,  $< 1$  log cfu/g,  $5.79 \pm 0.43$  log cfu/g and  $3.13 \pm 0.32$  log cfu/g respectively. The average values of the ratio of dry matter, fat, NaCl, ash, titratable acidity, protein and pH value were determined as  $43.36 \pm 1.85$  %,  $7.24 \pm 1.02$ %,  $5.52 \pm 0.71$ %,  $6.54 \pm 0.71$ ,  $2.33 \pm 0.24$ %,  $17.14 \pm 1.02$ % and  $4.16 \pm 0.66$  respectively. 17 different bacilli ve 29 different cocci were isolated from sürk samples. The DNA isolation was performed according to 16S rDNA method, and these bacteria were identified using a PCR-based technique. PCR and DNA sequence analysis data show that 23 *Pediococcus acidilactici* isolates, 5 *Enterococcus durans* isolates, 1 *Enterococcus faecium* isolates, 7 *Lactobacillus brevis* isolates, 9 *Lactobacillus paracasei* isolates were determined.

**Keywords:** Sürk, Lactic acid bacteria, PCR

**2008, 30 pages**

## TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın planlanma, gerçekleőtirme ve değerlendirme aőamaları boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gősteren Saygıdeğer hocam Prof. Dr. Muhammet ARICI'ya teőekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim süresince, sağladığı yüksek lisans bursu ile destek olup, bölümümde daimi olarak çalışma ve tecrübe edinme imkanı sağlayan TÜBİTAK-BİDEB kurumuna ve çalıőanlarına teşekkür ederim.

Çalıőmamızın bir kısmını gerçekleőtirebilmemiz için bölümümde beni misafir eden ve her türlü yardım ve bilgiyi paylaşan Sayın Prof. Dr. Mustafa AKÇELİK başta olmak üzere, Araő. Gör. Ömer ŞİMŞEK, Araő. Gör. Nefise AKKOÇ, Duygu ABBASOğLU, Selcan KASAPLAR ve Meral KAYA'ya teőekkürlerimi sunarım.

Çalıőmam esnasında ve tez yazım aőamamda karőılaőtığım her sorunda yardım ve desteklerini hiç esirgemeyen Saygıdeğer hocalarım Yrd. Doç Dr. Bilal BİLGİN, Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŐ, Araő. Gör. Dr. Mustafa MİRİK, Araő. Gör. Serap DURAKLI VELİOğLU'na içtenlikle teşekkür ederim.

Laboratuar çalıőmalarımnda yardımlarından dolayı Mehmet ÇELİKTAŐ, Őafak YILDIRIM, Duygu KORUCU, Özge BOSTANCI ve Özkan ATALAY'a teşekkür ederim.

Son olarak manevi desteklerinden dolayı sevgili aileme teőekkürümü borç bilirim.

Gülnaz ÇELİKYURT

Ağustos 2008

|   | <b>Sayfa No</b> |
|---|-----------------|
| <b>İÇİNDEKİLER</b>  |                 |
| ÖZET  | iv              |
| ABSTRCT   | v               |
| TEŞEKKÜR  | vi              |
| İÇİNDEKİLER   | vii             |
| SİMGELER DİZİNİ ve KISALTMALAR DİZİNİ   | viii            |
| ŞEKİLLER DİZİNİ   | ix              |
| ÇİZELGELER DİZİNİ   | ix              |
| <b>1. GİRİŞ</b>   | <b>1</b>        |
| <b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b>   | <b>3</b>        |
| <b>3. MATERYAL ve METOT</b>   | <b>8</b>        |
| 3.1. Materyal   | 8               |
| 3.2. Metot  | 9               |
| 3.2.1. Sürk Örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri  | 9               |
| 3.2.1.1. Kurumadde Tayini   | 9               |
| 3.2.1.2. Yağ Tayini   | 9               |
| 3.2.1.3. Kül Tayini   | 9               |
| 3.2.1.4. Tuz Oranının Belirlenmesi  | 9               |
| 3.2.1.5. Asitlik Tayini   | 10              |
| 3.2.1.6. Toplam Azot Değerinin Belirlenmesi   | 10              |
| 3.2.1.7. pH Değerlerinin Belirlenmesi   | 10              |
| 3.2.2. Sürk Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizleri  | 10              |
| 3.2.2.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı  | 10              |
| 3.2.2.2. Koliform Bakteri Sayımı  | 11              |
| 3.2.2.3. Maya- küf Sayımı   | 11              |
| 3.2.2.4. LAB'lerinin Sayılarının Belirlenmesi   | 11              |
| 3.2.3. LAB'lerinin İzolasyonu, Tanımlanması ve Muhafazası   | 11              |
| 3.2.3.1. Gram Boyama  | 12              |
| 3.2.3.2. Katalaz Testi  | 12              |
| 3.2.4. 16S rDNA Yöntemi ile DNA İzolasyonu ve PCR'da Çoğaltılması                                     | 12              |
| 3.2.5. İzolatların Agaroz Jelde Analizi   | 14              |
| 3.2.6. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması ve Tanımlanması  | 14              |
| 3.2.7. BLAST Tarama   | 15              |
| <b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA</b>   | <b>16</b>       |
| 4.1. Sürk Örneklerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri  | 16              |
| 4.2. Sürk Örneklerinin Bazı Mikrobiyolojik Özellikleri  | 18              |
| 4.3. LAB'lerinin İzolasyonu ve Tanımlama Sonuçları  | 19              |
| 4.4. 16S rDNA Yöntemi ile İzole Edilen ve PCR'da Çoğaltılan DNA Örneklerinin Agaroz Jelde Görüntüleri | 20              |
| 4.5. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması ve Dizi Analiz Sonuçları   | 23              |
| <b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>   | <b>26</b>       |
| <b>KAYNAKLAR</b>  | <b>27</b>       |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>   | <b>30</b>       |

## SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR DİZİNİ

|       |                                  |
|-------|----------------------------------|
| BLAST | Basic Alingment Search Tool      |
| bp    | Baz çifti                        |
| d ATP | Deoksiadenintrifosfat            |
| d CTP | Deoksisitozintrifosfat           |
| d GTP | Deoksiguanintrifosfat            |
| dk    | Dakika                           |
| d NTP | Deoksinükleotidtrifosfat         |
| DNA   | Deoksinükleik Asit               |
| d TTP | Deoksitimintrifosfat             |
| EDTA  | Etilendiamin Tetraasetiksit      |
| g     | Gram                             |
| kob   | Koloni Oluşturan Birim           |
| LAB   | Laktik Asit Bakterisi            |
| log   | Logaritma                        |
| mA    | Miliamper                        |
| mg    | Miligram                         |
| µg    | Mikrogram                        |
| MIS   | Moleculer Identification System  |
| ml    | Mililitre                        |
| µl    | Mikrolitre                       |
| µm    | Mikrometre                       |
| MRS   | Man Ragosa Sharpe                |
| N     | Normal                           |
| nm    | Nanometre                        |
| PCA   | Plate Count Agar                 |
| PCR   | Polymerase Chain Reaction        |
| PDA   | Potato Dextrose Agar             |
| rDNA  | Ribozomal DNA                    |
| TMAB  | Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri |
| TSE   | Türk Standartları Enstitüsü      |
| VRBA  | Violet Red Bile Agar             |
| °C    | Degree Celsius                   |



## RESİM ve ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

**Resim 3.1.** Yumru şeklinde satışı sunulmuş sürk örnekleri

8

**Şekil 4.4.1.** Marker açılımı

20

**Şekil 4.4.3.** Agaroz jelde DNA görüntüleri

21

**Şekil 4.4.3.** Agaroz jelde DNA görüntüleri

22

**Şekil 4.4.3.** Agaroz jelde DNA görüntüleri

22

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

**Çizelge 4.1** Sürk örneklerinin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları

16

**Çizelge 4.1** Sürk örneklerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları

18

**Çizelge 4.5.1** İzolatların sekans analiz sonuçları

23

## 1. GİRİŞ

Günümüzde tüketicilerin gıda güvenliği bilincinde önemli artış görülmektedir. Bu sebeple fonksiyonel gıdalar olarak isimlendirilen, sağlıklı yaşama destek veren gıdaların üretiminde önemli bir artış gözlemlenmektedir. Özellikle fermente gıdaların doğal bileşenlerini oluşturan starter kültür bakterilerinin ya da metabolitlerinin gıda üretimi ve korunmasında kullanımı fonksiyonel gıdaların üretimi ve gıda güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır.

Süt ürünleri fonksiyonel besin maddesi olarak bilinmektedir. Fonksiyonel besinler, doğal olarak içerdikleri bileşenleri ile besin gereksinimini karşılamalarının yanı sıra, sağlık açısından yarar sağlayan biyolojik öğeleri içeren, hastalıklardan korunmada etkili olabilen, yaşam fonksiyonları üzerinde olumsuz etkili olabilecek öğelerden arındırılmış ve yaşam kalitesini yükselten besinler olarak tanımlanmaktadır (Hasler 1998). Bu grup içinde yer alan fermente süt ürünlerinin önemli özelliği, fermentasyon sırasında laktik starter kültür tarafından sütün bazı bileşenlerinin bir ön hidrolizasyona uğrayarak sindirimin kolaylaştırılıp kullanılabilirliğinin artmasıdır (Lee ve ark.1988).

Ülkemizde doğal fermente süt ürünleri yöresel olarak oldukça çeşitlidir. Hatay'a özgü bir süt ürünü olan Sürk peyniri de buna örnek olarak verilebilir. Sürk, asitliği ilerlemiş sütün veya yayık altı ayranının kaynatılması sonucunda elde edilen çökeleğin baharatla karıştırılması ve olgunlaşmaya bırakılması ile elde edilir. Olgunlaşmada starter olarak ilave edilmiş mikroorganizmalardan ziyade bulaşan mikroorganizmalar etkilidir. Bu mikroorganizmaların başında laktik asit bakterileri (LAB) gelir.

LAB'leri doğada oldukça yaygın bulunur. Düşük O/R potansiyeline sahip gıdalarda, parçalanmış proteinli ürünlerde ve karbonhidratlarca zengin gıdaların mikrobiyotalarında baskın olarak bulunurlar (Lopez-Diaz ve ark.2000). Bu bakteriler asitlendirici yetenekleri ile yalnızca gıdaları bozulmalardan korumalarıyla değil, aynı zamanda fermente gıda ürünlerinin tekstür, tat ve aroma gelişimlerine ve sağlıklı beslenme konusunda katkı sağlamalarıyla da gıda endüstrisinde oldukça önemlidirler (Vuyst ve ark. 2003).

Laktik starter kültürler, fermentasyonun başlatılması, fermente gıdaların tipik yapısal ve aromatik özelliklerinin gelişmesi amacı doğrultusunda hammaddeye belirli miktarlarda ilave edilen mikroorganizma kültürleridir.

LAB'leri yoğurt, peynir gibi süt ürünlerinde yaygın bir Şekilde bulunur. Süt Őekerini kullanarak esas son ürünleri olan laktik asiti üreten LAB'leri peynirin asidifikasyonundan ve yeterli miktarda sütün koaglasyonundan sorumlu olan ana organizma rolünü üstlenirler (Lopez-Diaz ve ark. 2000).

Süte starter kültür olarak katılan veya sütte doğal kontaminant olarak bulunan LAB'lerinin peynirlerin yapım ve olgunlaŐtırılmasında temel rolleri vardır. Bu bakterilerin peynir üretiminde en önemli iŐlevi laktozu fermente ederek laktik asit oluŐturmalarıdır. OluŐan laktik asidin, sütün peynir mayası ile pıhtılaŐması, peynir altı suyunun ayrılması, doku ve lezzetin gelişmesi, patojenlere karŐı ürünün korunması ve ürün dayanımının artırılması üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Diğer bir ifadeyle, laktik asit bakterilerinin faaliyeti sonucu asitliğin gelişmesi peynir yapımını her yönden etkilemekte ve dolayısıyla peynirin bileŐimi ve kalitesi üzerine belirleyici olmaktadır (Fox ve ark. 1990).

Bu çalışmada mikrobiyolojik gen kaynaklarımızın oluŐturulmasına katkıda bulunmak amacıyla, Sürk'ten izole edilmiş olan LAB'lerinin PCR yöntemi kullanılarak tanımlaması amaçlanmıŐtır. Aynı zamanda Sürk peynirinin bazı özellikleri de incelenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

LAB'leri peynirin olgunlaşmasında önemli rol oynamaktadır. Bu bilgi doğal yolla dünya genelinde yapılan pek çok peynirin mikrobiyolojik durumları ile ilgili çalışmalar ile desteklenmektedir (Lopez-Diaz ve ark. 2000).

Sürk, Hatay'da mahalli olarak üretilen bir süt ürünüdür. Üretimi genellikle köylerde veya yöredeki küçük işletmelerde gerçekleştirilmektedir. Arapça'da "çökelek" anlamına gelen Sürk, asitliği ilerlemiş sütün veya yayık altı ayranının kaynatılması sonucunda elde edilen çökelektir. Çökelek elde edildikten sonra içerisine çeşitli baharatlar (çörekotu, karabiber, karanfil, kekik, kırmızı biber, kimyon, kişniş, küçük hindistan cevizi, mahlep, nane, tarçın, yeni bahar, sarımsak) ve tuz katılarak iyice karıştırılır hazırlanan bu karışıma armut (konik) şekli verildikten sonra üzerine tülbent örtülerek 3- 4 gün gölge bir yerde kurutulur. Bu şekilde hazırlanan Sürk taze olarak veya 20- 25 gün bekletilip küflendirildikten sonra tüketilir (Ünsal 1997, Güler 1999, Masatçıoğlu ve ark. 2003).

Karakuş ve ark. (1992) üç farklı işletmeden sağladıkları ve starter kültür kullanılmaksızın üretilen Beyaz peynirlerden 3 aylık olgunlaşma döneminin başında ve sonunda izole ettikleri toplam 348 adet LAB'sinin 111'ini *E. faecalis*, 73'ünü *E. faecium*, 55'ini *L. lactis* subsp. *lactis*, 9'unu *L. lactis* subsp. *cremoris*, 2'sini *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, 5'ini *Streptococcus thermophilus*, 38'ini *Lb. casei*, 33'ünü *Lb. plantarum*, 9'unu *Lb. brevis*, 1'ini *Lb. fermentum*, 5'ini *Leu. lactis* ve 7'sini *Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum* olarak tanımlamışlardır.

Kalogridou- Vassiliadou ve ark. (1994) piyasadan toplamış oldukları 50 adet Anthotyro peynir örneğinden izole ettikleri LAB'lerinin %44,3'ünün enterokok (*E. faecalis*, %38,5 ve *E. faecium*, %5,8), % 13,5'inin laktokok (*L. lactis* subsp. *lactis*) ve %27,9'unun leukonostok olarak (*Leu. paramesenteoides*) tanımlamışlardır.

Centeno ve ark. (1996a) çiğ süttten starter kültür kullanılmaksızın elde edilen Arzua-Ulloa peynirlerinden izole edilip biyokimyasal testlerle tanımlanan LAB'lerinin çoğunluğunu laktokokların teşkil ettiğini, ayrıca Menendez ve ark. (2001) çiğ süttten elde edilen Tetilla peynirlerinde laktokok popülasyonunun laktobasil popülasyonundan daha fazla olduğunu

rapor etmiştir. Bu iki çalışmada da ortamdan izole edilen enterokoklar diğer LAB izolatlarına oranla toplamda (% 15,23 ve % 24,8) daha önemli yer tutmaktadır.

Centeno ve ark. (1996b) 1993 yılında 15 farklı mandıradan topladığı çiğ süttten üretilen 30 Cebreiro peynirde (enterokok izolasyonu için spesifik olmayan ortam içeren) LAB'leri arasında enterokokların (59/126) baskın özelliğini tespit etmiştir.

Zarate ve ark. (1997) çiğ süttten kültür kullanmaksızın ürettikleri Tenerife peynirinin doğal mikrobiyotasından izole ettikleri 179 adet LAB'sinin 38'ini laktokok (*L. lactis* subsp. *lactis*, 30), 68'ini enterokok (*E. faecalis*, 31 ve *E. faecium*, 24), 51'ini laktobasil (*Lb. plantarum*, 29 ve *Lb. paracasei*, 19) ve 22'sini leukonostok (*Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 18) olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar, bu peynirin ticari boyutta üretimi için uygun kültür kombinasyonlarının belirlenmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Lopez- Diaz ve ark. (2000) starter kültür kullanmaksızın üretmiş oldukları Valdeon peynirinden izole ettikleri 500 izolatın %42,2'sinin laktokok, %40,4'ünün enterokok %5'inin leukonostok ve %4,1'inin ise laktobasillerden oluştuğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar olgunlaşmanın ilk safhalarında laktokoklar (*L. lactis* subsp. *lactis*, %31,1) ve enterokokların (*E. faecalis*) ortama hakim olduğunu, ancak olgunlaşmanın ilerlemesiyle laktobasillerin ve leukonostokların sayısının arttığını ifade etmişlerdir. Sonuç olarak, Valdeon peynirinin endüstriyel boyutta üretimde *L. lactis* subsp. *lactis*'in yanı sıra *Lb. plantarum* ve *Leu. mesenteroides*'in de kültür olarak kullanılabilceğini belirtmiştir.

San Simon da Costa peynirlerinden muhtemel 21 LAB izolatları arasında 14 adeti *Lactococcus* (*Lc. lactis*) 13 adeti *Lactobacillus* türü içermektedir. Neredeyse *Lactobacillus*'ların tamamı (% 92,30) mezofilik ve fakültatif heterofermentatif olarak karakterize edilmiştir. Bu peynirlerden izole edilen LAB'lerinin M17 agara oranla Rogosa agarda daha yüksek sayıda bulunduğunu rapor etmiştir. Ayrıca bu peynir çeşitlerinde laktobasillerin daha yüksek oranda olduğu doğrulanmıştır (Garcia Fontan ve ark. 2001).

Prodromou ve ark. (2001) Yunanistan'da koyun sütünden geleneksel yöntemle üretilen Orinotyri peynirlerinden izole ettikleri 129 suşun 52'sini enterokok (*E. faecalis*, 34), 29'unu laktokok (*L. lactis* subsp. *lactis*, 27), 28'ini laktobasil (*Lb. paracasei*, 7), 16'sını pediokok (*Pediococcus pentosaceus*, 16) ve 4'ünü *Weisella paramesenteroides* olarak tanımlamışlardır.

Ayrıca 27 adet *L. lactis* subsp. *lactis* izolatının asit üretimi ile proteolitik aktiviteleri gibi bazı biyokimyasal özelliklerini incelemişler, sonuç olarak bu izolatların bazılarının fermente edilmiş süt ürünleri özellikle de peynir üretiminde starter kültür kullanımının faydalı olacağını bildirmişlerdir.

Durlu -Özkaya (2001) Türkiye'nin çeşitli illerinden topladığı 30 adet salamura Beyaz peynir örneklerinden izole ettiği toplam 85 adet LAB'sinden 13 tanesini *L.lactis* subsp. *lactis*, 14 tanesini *Lb. plantarum*, 3 tanesini *Lb. casei*, 1 tanesini *Lb. lactis*, 18 tanesini *E. durans*, 29 tanesini *E. faecium*, 7 tanesini de *E. faecalis* olarak tanımlamıştır.

Şengül (2001) 40 adet Erzincan Tulum peynirinden izole ettiği 240 adet LAB'sinin Molecular Identification System (MIS) sistemiyle tanısını yapmış ve LAB'lerinin % 92,08'ini *Lactobacillus*, % 7,08'ini *Pediococcus* ve % 0,83'ünü ise *Leuconostoc* cinsi içinde yer alan türler olduğunu belirlemiştir.

Antonsson ve ark. (2003) Danimarka'da üretilen Danbo peynirinden izole edilen 33 adet *Lactobacillus* izolatının büyük bir kısmının *Lb. paracasei*'den (25) oluştuğu, aynı zamanda izolatlar arasında *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum* ve *Lb. rhamnosus*'un da olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, Danbo peynirinin üretimde *Lb. paracasei*'inin de kültür kombinasyonlarında yer almasının peynirin duyuşal özellikleri üzerinde olumlu etkide bulunabileceği ifade edilmiştir.

Çıtak ve ark. (2004) salamura Beyaz peynirden izole ettikleri 101 enterokok suşunun 62'sini *E. faecalis*, 25'ini *E. faecium*, 7'sini *E. durans*, 5'ini *E.mundtii* ve 2'sini *E. hirae* olarak tanımlamışlardır.

Ouadghiri ve ark.. (2005) Fas'ın 8 farklı bölgesinde geleneksel yöntemlerle üretilen yumuşak Beyaz peynirlerden izole ettikleri 164 LAB'sinin 56'sını *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, 36, *Lb.rhamnosus*, 8, *Lb. paracasei*, 6, *Lb. brevis*, 5, *Lb. buchneri*,1), 44'ünü *Lactococcus* (*L. lactis*, 42, *L. garviae*, 1, *L. raffinolactis*, 1) 442'sini *Leuconostoc* (*Leu. pseudomesenteroides*, 22, *Leu. mesenteroides*, 17, *Leu. citreum*,5), 16'sını *Enterococcus* (*E. durans*, 9, *E. faecalis*, 4, *E. faecium*, 1, *E. saccharominimus*, 2) ve 2'sini *Streptococcus* subsp. olarak tanımlamışlardır.

Güler- Akın (2002) İncelenen 36 adet Sürk örneğinde ortalama kurumadde % 44,32, yağ % 8,99, protein % 19,02, tuz % 8,32, kül % 7,96, asitlik % 1,14, pH 4,94 olarak tespit edilmiştir.

Biçer ve ark (2002) yaptıkları araştırmada Sürk örneklerinde kurumaddenin % 45,6, yağın % 18,6, proteinin % 17,0, tuzun % 8,2 ve külün % 1,9 olduğunu rapor etmişlerdir.

Durmaz ve ark. (2004) Sürk'ün kimyasal ve duyuşsal nitelikleri üzerine yaptıkları bir çalışmada incelenen 25 adet Sürk örneğinde, ortalama kurumadde oranını % 49,82, yağ oranını % 14,66, tuz oranını % 5,36, protein oranını % 26,43, titrasyon asitliğini % 1,44 ve pH değerini 5,81 olarak belirlemişlerdir.

Sağdıç ve ark. (2005) beyaz peynirden elde ettikleri Sürk örneklerini içerdikleri baharat çeşidi ve oranlarına 3 kategoriye ayırmışlardır. Buna göre; A örneği % 7,4 kekik, B örneği % 10,7 kırmızı biber ve C örneği ise % 10,7 kırmızı biber ve % 7,4 kekik içermektedir. 20 °C'de bir hafta bekletilen bu örnekler +4 °C'de depolanmış ve kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan incelenmiştir. Sürk örneklerinin kimyasal analiz sonuçları; pH  $4,32 \pm 0,01$ , titrasyon asitliği %  $1,36 \pm 0,02$ , tuz %  $52,63 \pm 0,01$ , yağ %  $7,75 \pm 0,35$ , protein %  $1,78 \pm 0,01$ , mikrobiyolojik analiz sonuçları ise Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) sayıları sırasıyla A, B ve C örneklerinde  $4,88 \pm 0,04$ ,  $5,78 \pm 0,11$  ve  $4,38 \pm 0,03$  log kob/g, enterokok sayıları sırasıyla  $3,24 \pm 0,02$ ,  $4,90 \pm 0,04$  ve  $3,16 \pm 0,03$  log kob/g, maya-küf sayıları sırasıyla  $4,30 \pm 0,09$ ,  $5,44 \pm 0,08$  ve  $4,50 \pm 0,05$  olarak belirlenmiştir. MRS agarda gelişen LAB sayıları sırasıyla A, B ve C örneklerinde  $4,61 \pm 0,06$ ,  $4,70 \pm 0,01$  ve  $4,21 \pm 0,02$  log kob/g, M17 agarda gelişen LAB sayıları ise  $4,56 \pm 0,04$ ,  $4,89 \pm 0,04$  ve  $3,94 \pm 0,04$  log kob/g olarak belirlemiştir. Koliform grubu bakteri sayımı  $\leq 1$  log kob/g olarak bulunmuştur.

Masatçıoğlu ve Avşar (2005) Sürk'te bulunan TMAB sayısının oda sıcaklığında, oksijenli ve oksijensiz ortamda 30 gün depolama süresi ile değişimini incelediklerinde, oksijensiz ortamda (pH'nın da düşmesi ile) TMAB miktarında değişim meydana gelmediği ancak oksijenli ortamda (pH'nın da yükselmesi ile) bu bakterilerde artış olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Yapılan bu çalışmada oksijensiz ortamda depolanan peynirlerdeki TMAB sayısı 4-6 log kob/g arasında değişim gösterip depolama ile herhangi bir artış gözlenmez iken, oksijenli ortamda depolanan peynirlerde bu sayı 4- 8 log kob/g arasında tespit edilmiş ve depolama süresi boyunca artış göstermiştir. Aynı çalışmada maya-küf sayısının oda sıcaklığında, oksijenli ve oksijensiz ortamda 30 gün depolama süresi ile değişimi incelediklerinde, oksijensiz ortamda

maya-küf sayısının 3-5 log kob/g, oksijenli ortamda ise 3-8 log kob/g arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Öksüz (1996) 4 farklı peynir partisinin depolama süresi boyunca pH değişimlerine bağlı olarak koliform bakteri sayılarını incelediğinde, pH değeri en düşükçe koliform bakteri sayısının azaldığını belirlemiştir.

Gaya ve ark. (1983) Manchego peynirine laktik kültür ilavesi ile koliform grubu mikroorganizma sayılarının ölme oranını hızlandırdığını tespit etmişlerdir.



### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada Hatay ve çevresine özgü bir süt ürünü olan sürk kullanılmıştır. Tesadüfi olarak farklı kaynaklardan alınan Resim 3.1 'de görüldüğü gibi 15 adet sürk rneği yumru şeklinde steril poşetlerle laboratuara getirilip, analizler bitene kadar buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir.



**Resim 3.1.** Yumru şeklinde satışa sunulmuş sürk örneklere (Sağdıç ve ark. 2005)

## **3.2. Metot**

### **3.2.1. Sürk Örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri**

#### **3.2.1.1. Kurumadde Tayini**

Sabit tartıma gelmiş ve darası alınmış kurutma kaplarına paralel çalışılarak yaklaşık 5 g peynir tartılıp  $100 \pm 2$  °C'de 4 saat kurutulmuştur. Daha sonra desikatörde soğutulmuş ve tartımı alınmıştır. Bulunan değerlerle % kurumadde oranı hesaplanmıştır (Anonymous 1987).

#### **3.2.1.2 Yağ Tayini**

Bütirometrenin alt tıpasına yerleştirilen beherciğe paralel çalışılarak 3 g peynir yerleştirilmiştir. Açık ağzından 10 ml sülfirik asit konulmuştur. 7 °C'lik su banyosunda peynirin erimesi sağlanır. Daha sonra 1 ml amil alkol ilave edilerek çalkalanmıştır. Bütirometrenin ağzı tıpayla kapatılarak 10 dk santrifüj edilmiştir. Bütirometrenin skalasından yüzde olarak yağ miktarı okunmuştur (Kurt ve ark. 1996).

#### **3.2.1.3 Kül Tayini**

Yaklaşık 1 g peynir paralel olarak daha önceden sabit tartıma getirilip darası alınmış porselen krozelere konulmuştur. Kül fırınında 550 °C'de kül rengi beyazlaşınca kadar yakılmıştır. Daha sonra desikatörde soğutulmuş ve tartımı alınarak % kül oranı hesaplanmıştır (Kurt ve ark. 1996).

#### **3.2.1.4 Tuz Oranının Belirlenmesi**

Paralelli çalışılarak tartılan 5 g peynir örneği havanda sıcak saf su ile ezilerek 500 ml'lik balon jojeye saf su ile tamamlanmıştır. Daha sonra fitre kağıdından süzölmüş ve süzüntüden alınan 25 ml bir erlene aktarılmıştır. Birkaç damla  $K_2CrO_4$  çözeltisi ilave edilmiş ve 0,1 N  $AgNO_3$  çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon sonucunda pembe renk oluşumu gözlemlendiği noktada sarf edilen  $AgNO_3$  miktarından % tuz oranı hesaplanmıştır (Anonymous 1989b).

### **3.2.1.5 Asitlik Tayini**

Peynir örneklerinden paralelli çalışılarak 10 g tartılmış ve sıcak su ile ezilerek 100 ml balona tamamlanmıştır. Buradan alınan 25 ml karışıma birkaç damla fenolftalein ilave edilmiş ve 0,1 N NaOH ile titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarı ile % asitlik hesaplanmıştır (Anonymous 1989b).

### **3.2.1.6 Toplam Azot Değerinin Belirlenmesi**

Peynir örneklerinden 2 g alınarak kjeldahl balonuna konulmuştur. Üzerine 0,75 g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 g CuSO<sub>4</sub>, 10 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tozu ve 20 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilave edilmiştir. Balon mavi berrak bir renk alana kadar yakılmıştır. Daha sonra soğutulmuştur ve üzerine 200 ml su ve 80 ml potasyum sülfütlü NaOH çözeltisi karışmayacak şekilde ilave edilmiştir. Bu şekilde destilasyon düzeneğine bağlanmıştır. Destilasyon işlemi bittikten sonra 0,1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon mavi rengin kırmızıya dönmesi ile sona ermiştir. Bulunan değer ile % azot miktarı hesaplanmıştır (Gripon ve ark. 1975).

### **3.2.1.7 pH Değerlerinin Belirlenmesi**

Peynir örneklerinde pH ölçümü için 10 g peynir 15 ml saf su içerisinde iyice homojenize edilmiş ve birleşik elektrotlu pH-metre (Hanna Instruments pH 211 microprocessor pH meter) kullanılarak pH'sı belirlenmiştir.

## **3.2.2. Sürk Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizleri**

### **3.2.2.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı**

Peynir örneklerinin TMAB sayımı için, Plate Count agar (PCA) (Oxoid Ltd.) besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına yüzeye ekim yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra 30 ± 1 °C'de 48 saat inkübe edilmiş ve koloni içeren petriyer sayılmıştır (Marshall 1992).

### **3.2.2.2. Koliform Grubu Bakteri Sayımı**

Peynir örneklerinde koliform grubu bakteri sayımı için Violet Red Bile agar (VRBA) (Merck) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına 1 ml ilave edilmiş, üzerine 45 °C'ye kadar soğutulmuş VRBA'dan 13-15 ml kadar ilave edilerek ters çevrilmiş ve 35 ± 2 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda çapı 0,5 mm'den daha büyük olan koloniler sayılmıştır (Marshall 1992).

### **3.2.2.3. Maya – Küf Sayımı**

Maya ve küf sayımı Potato Dextrose agar (PDA) (Merck) kullanılmıştır. PDA otoklavda steril edildikten sonra % 10'luk steril tartarik asit ile pH'sı 3,5 ± 0,1'e ayarlanmış ve yüzey ekim yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan plaklar 25 °C'de 5- 7 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyondan sonra koloniler sayılarak maya ve küf sayısı bulunmuştur (Marshall 1992).

### **3.2.2.4. LAB'lerinin Sayılarının Belirlenmesi**

MRS agarda gelişen LAB'leri sayımı için Man Ragosa Sharpe agar (MRS agar) (Merck) kullanılmıştır. Steril edilmiş MRS agar ile uygun dilüsyonlardan 0,1 ml ilave edilerek yüzeye ekim yöntemi yapılmıştır. Petri kutuları 30 ± 1 °C'de 3 gün inkübe edilmiş ve koloni içeren petriler sayılmıştır (Baumgart ve ark. 1986).

M17 agarda gelişen LAB'leri sayımı için steril edilmiş M-17 agara (Merck) uygun dilüsyonlardan 0,1 ml ilave edilerek yüzeye ekim yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petri kutuları 30 ± 1 °C'de 48 saat inkübe edilmiş ve koloni içeren petriler sayılmıştır (Gilliand ve ark. 1984).

### **3.2.3. LAB'lerinin İzolasyonu, Tanımlanması ve Muhafazası**

Peynir örneklerinden LAB'leri izolasyonu için, hazırlanan uygun dilüsyonlardan MRS agar ve M17 agara yüzeye yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. MRS agara ekim yapılan plaklar 30 °C'de 72 saat, M17 agar'a ekim yapılan plaklar ise 30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Collins ve Layne 1984; Centeno ve ark. 1996a). İnkübasyon sonucu her iki

besiyerinde gelişen tipik görünüşlü kolonilerin (1-2 mm çaplı konveks, yuvarlak ya da buğday tanesi şekilli, beyaz veya krem renkli koloniler) mikroskopik morfolojileri incelenmiş ve ayrıca katalaz testi ile Gram boyama deneyine tabi tutulmuştur. Gram pozitif, katalaz negatif, kok veya çubuk şekilli bakterilerden alınmış, MRS ve M17 broth'a ekim yapılmış ve 30 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra tekrar MRS ve M17 agara çizim usulü ekim yapılmış ve 30 °C'de 24- 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda Gram boyama, mikroskopik görünüm, katalaz testi tekrar edilmiş ve homojen görünümlü Gram pozitif, katalaz negatif kok veya basil şeklindeki muhtemel laktik asit bakterileri seçilmiştir.

Daha sonra bakteri kültürlerinin hepsi, uygun besiyerinde geliştirildikten sonra %15 gliserol ortamında -86 °C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.3.1 Gram Boyama**

İzolaların 24 saatlik genç kültürlerinden Gram boyama yapılmış ve menekşe renkli koloniler Gram pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.3.2 Katalaz Testi**

Katalaz testi için MRS ve M17 agarlarda geliştirilmiş olan koloniler üzerine % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılmış ve kolonilerin etrafında gaz kabarcıklarının görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.4 16S rDNA Yöntemi İle DNA İzolasyonu ve PCR'da Çoğaltılması**

DNA izolasyonu; bakterilerin lize edilmesi, proteinlerinin uzaklaştırılması, DNA'nın çöktürülmesi ve temizlenmesi aşamalarından oluşmaktadır. İzolasyonu gerçekleştirmek için Genomic DNA Purification KIT (Fermentas) kullanılmıştır. Saf bakteri kültürü sıvı besiyerinde (18 saat) geliştirilmiştir. Daha sonra 5 ml sıvı besiyerine 500 µl aşıl原因arak 16 saat inkübasyona bırakılmıştır. (DNA izolasyonunda 5 ml sıvı besiyerine 500 µl kültür aşıl原因arak (%10'luk) 3-4 saatlik taze kültür en uygunudur). 1000 µl örnek alınıp ve santrifuj edilmiştir. (10.000 devirde 10 dk ) Çıkan tüplerden süpernatant atılarak 500 µl Tris- EDTA buffer ilave

edilerek tüp yıkanmıştır ve 10.000 devirde 15 dk santrifuj edilmiştir. Çıkan ependorflardan buffer dökülüp ve içerisine 200 µl lizozim ilave edilmiştir. 38 °C’de 30- 45 dk su banyosunda bekletilmiştir. (Bu aşamada artık hücre parçalanmaya başlamaktadır). Su banyosundan çıkarılıp 400 µl lysis solusyonu ilave edilmiştir. El ile çalkalama yapılmıştır. (Hücre parçalandığı için vortex yapılmamalıdır). 65 °C’de 10 dk su banyosunda bekletilmiştir. Su banyosundan çıkarılıp acele bir şekilde 600 µl kloroform ilave edilmiştir. 1-2 dk bekletilip 10.000 devirde 2-4 dk santrifuj edilmiştir. Yeni ependorfların içerisine 720 µl steril su ve üzerine 80 µl precipitation çözeltisi ilave edilmiştir. Santrifujdan sonra çıkan tüplerden üst faz yani DNA alınmıştır. Ara fazda hücre kalıntıları vardır alınmamaya özen gösterilmelidir. Lizozim kullanılmışsa yaklaşık 600 µl, kullanılmamışsa 200 µl DNA alınabilmektedir. Hazırlanan yeni ependorflara aktarılmıştır. 10.000 devirde 2 dk santrifuj edilmiştir. Üst taraftaki çözelti akıtılarak 100 µl NaCl çözeltisi ilave edilmiştir ve dipteki DNA çözündürülmüştür. Üzerine 300 µl soğuk saf etanol ilave edilmiştir. Ependorflar – 20 °C’de bir gece depolanmıştır. -20 °C’de çıkarılan ependorflar 10.000 devirde 10 dk santrifuj edilmiştir. Daha sonra içerisindeki alkolün steril kabinde iyice uzaklaştırılması sağlanmıştır. Alkol tamamen uzaklaştığında 50 µl steril saf su ile yıkanmış ve iyice çözündürülmüştür.

16S rDNA yöntemi ile bakterilerin tanımlanmasında genel bakteriyel primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonları (PCR) ile çoğaltılan 16S rDNA bölgesinin homolojisinden yararlanılmıştır. Çalışmalarda ileri primer olarak 5’ AGAGTTTGATCCCTGGCTCAG- 3’ ve geri primer olarak 5’- CCGTCAATTCCTTTGAGTTT – 3’ kullanılmıştır (Beasley ve Saris 2004).

Çalışmada 500 µl’lik PCR tüplerine toplam hacim 50 µl olacak şekilde sırasıyla 17,5 µl moleküler çalışmalar için üretilmiş steril su, 2,5 µl Buffer (MgCl<sub>2</sub> içermez), 0,5 µl (deoksinükleotidtrifosfat) dNTP miks (dATP, dCTP, dGTP, dTTP’lerden her birinin konsantrasyonu 200 µM olacak şekilde hazırlanan karışım), 0,5 µl 16S ileri ve 0,5 µl 16S geri primerleri, 2 µl MgCl<sub>2</sub> ve 0,5 µl Taq DNA polimeraz enzimi ve son olarak 1 µl DNA ilave edilmiş ve (negatif kontrol için 1 µl çalışmada kullanılan sterli su kullanılır) tüpler PCR haznesine yerleştirildikten sonra PCR reaksiyon parametreleri 94 °C’de 5 dk Initial Denaturation (denaturasyonun başlaması) , 94 °C’de 45 sn Denaturation (çift zincirin açılması), 53 °C’de 1 dk Annealing (primerlerin bağlanması), ve 72 °C’de 1 dk Extension (zincir uzaması) olarak programlanmıştır ve bu işlem 30 defa tekrarlanmıştır. İşlem tamamlandıktan sonra bu reaksiyonun sonuna, son zincir uzama aşaması için 72 °C’de 10 dk

Final Extension (son uzama) eklenmiştir (Blaiotta ve ark. 2002) ve 4 °C'ye soğutulmuştur. PCR'dan çıkarılan tüpler – 40 °C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.5 İzolatların Agaroz Jelde Analizi**

DNA örneklerinin elektroforezi, % 1 agaroz içeren jellerde yapılmıştır (Meyers ve ark. 1976). Yatay jel sistemleri için agaroz, 100 ml tris-asetat elektroforez tamponu içerisinde ve kaynar su banyosunda çözülmüştür. 45 °C'ye kadar soğutulan ortam elektroforez plakalarına 30 – 50 ml olacak şekilde aktarılmıştır ve jel tarakları yerleştirilerek 60 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda tampon çözelti, jeli kapatacak şekilde elektroforez tanklarına dökülmüş ve jellerin zedelenmemesine dikkat edilerek, taraklar çıkartılmıştır. - 40 °C'den çıkartılan PCR'lanmış DNA örneklerinden 1 µl alınarak temiz bir parafilm üzerinde 2 µl boya çözeltisi (Gene Ruler 1 kb DNA Ladder) ile karıştırılmış ve mikropipet aracılığı ile jel kuyucuklarına yüklenmiştir. DNA'nın büyüklüğünü belirlemek amacıyla jelin bir kuyucuğuna da 5 µl marker (6x Loading Dye Solution) yüklenmiştir. Yükleme işlemi bittikten sonra tank kapatılarak güç kaynağına bağlanmıştır. Elektroforez, 100 voltta – 325 mA'de 30- 60 dakika süre ile yapılmıştır. Yükleme boyası jelin ¾ ve 4/5'lik kısmını geçtikten sonra elektroforez işlemi sona erdirilmiştir. Ortamdan alınan jel, kullanılan elektroforez tamponunun yeni hazırlanmış 0,2 µg/ml etidyum bromit içeren çözeltisinde 30 dakika boya işlemine tabi tutulmuştur. Boyama işlemi biten jel 366 nm dalga boyunda ultraviyole ışıktaki incelenerek Kodak Gel Logic 200 Imaging System (Kodak, USA) kullanılarak fotoğrafları alınmıştır (Macrina ve ark. 1982).

### **3.2.6 PCR Ürünlerinin Saflaştırılması ve Tanımlanması**

PCR'da çoğaltılan ve agaroz jelde görüntülenen DNA örnekleri Qiagen saflaştırma kiti (Cat. No. 28104) kullanılarak agaroz jelden saflaştırılmış ve DNA dizi analizi REFGEN (ODTÜ Teknokent, Ankara) firması tarafından yapılmıştır.

### 3.2.7 BLAST Tarama

BLAST (Basic Alingment Search Tool), aranan dizi sırasını (nükleotid veya amino asit) veri tabanında bulunan mikroorganizmalara ait baz dizileri ile karşılaştırarak aynı veya en yakın olan dizi sırasının ait olduğu mikroorganizmayı, % yaklaşımla veren bir bilgisayar programıdır. BLAST, moleküler biyoloji ile bilgileri bir kaynakta toplamayı ve genom verilerinin bilgisayar ortamında analiz edilmesi için bilgisayar programları geliştirmeyi amaçlayarak, 1988 yılında kurulan National Center for Biotechnological Information adlı kuruluş tarafından geliştirilmiş bir veri tabanıdır (Ely ve Chen 2001). Baz sırası belirlendikten sonra, bu sıra (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) adlı internet sayfasında bulunan program kullanılarak veri tabanı ile karşılaştırılır. Tarama sonucu, aranan dizi sırasının hangi mikroorganizmaya ait olabileceği, benzerlik yüzdesi ile birlikte belirlenir (Altschul ve ark. 1997).



#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

##### 4.1. Sürk Örneklerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

Sürk örneklerinde kurumadde, yağ, tuz, kül, protein, asitlik ve pH analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Sürk örneklerinin bazı fizikokimyasal analiz sonuçları

| Örnek No | Kurumadde (%) | Yağ (%)     | Tuz (%)     | Kül (%)     | Protein (%)  | Asitlik (%) | pH         |
|----------|---------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|------------|
| 1        | 42,51 ± 0,10  | 7,70 ± 0,10 | 5,06 ± 0,25 | 5,30 ± 0,03 | 18,79 ± 0,43 | 2,3 ± 0,05  | 3,3 ± 0,10 |
| 2        | 44,26 ± 0,10  | 8,35 ± 0,15 | 4,46 ± 0,18 | 7,40 ± 0,04 | 16,56 ± 0,22 | 2,3 ± 0,10  | 4,1 ± 0,05 |
| 3        | 43,26 ± 0,09  | 7,10 ± 0,20 | 5,98 ± 0,16 | 7,17 ± 0,02 | 16,10 ± 0,14 | 2,7 ± 0,05  | 4,5 ± 0,01 |
| 4        | 43,49 ± 0,03  | 7,25 ± 0,15 | 6,15 ± 0,07 | 7,23 ± 0,04 | 17,70 ± 0,14 | 2,6 ± 0,10  | 4,7 ± 0,10 |
| 5        | 42,39 ± 0,08  | 8,85 ± 0,15 | 5,95 ± 0,21 | 7,08 ± 0,05 | 18,63 ± 0,21 | 2,4 ± 0,10  | 3,4 ± 0,05 |
| 6        | 41,70 ± 0,07  | 6,05 ± 0,25 | 5,32 ± 0,21 | 6,73 ± 0,11 | 16,49 ± 0,07 | 2,3 ± 0,05  | 3,7 ± 0,01 |
| 7        | 41,22 ± 0,04  | 7,35 ± 0,15 | 5,83 ± 0,16 | 7,11 ± 0,01 | 15,98 ± 0,10 | 2,1 ± 0,15  | 3,5 ± 0,05 |
| 8        | 42,56 ± 0,31  | 6,40 ± 0,10 | 6,60 ± 0,15 | 6,34 ± 0,06 | 16,59 ± 0,14 | 2,3 ± 0,05  | 4,2 ± 0,10 |
| 9        | 44,70 ± 0,24  | 7,40 ± 0,20 | 5,28 ± 0,03 | 6,14 ± 0,04 | 18,40 ± 0,07 | 2,4 ± 0,05  | 3,2 ± 0,05 |
| 10       | 41,89 ± 0,03  | 5,95 ± 0,05 | 6,84 ± 0,09 | 7,27 ± 0,09 | 16,93 ± 0,19 | 2,7 ± 0,15  | 4,7 ± 0,05 |
| 11       | 45,57 ± 0,05  | 6,95 ± 0,15 | 4,75 ± 0,08 | 5,73 ± 0,01 | 15,78 ± 0,09 | 2,0 ± 0,10  | 4,8 ± 0,05 |
| 12       | 40,79 ± 0,12  | 8,95 ± 0,15 | 5,29 ± 0,10 | 6,80 ± 0,11 | 18,34 ± 0,07 | 1,9 ± 0,01  | 4,7 ± 0,15 |
| 13       | 41,77 ± 0,15  | 6,75 ± 0,15 | 4,60 ± 0,07 | 5,80 ± 0,07 | 16,60 ± 0,13 | 2,1 ± 0,10  | 5,1 ± 0,01 |
| 14       | 47,22 ± 0,04  | 8,05 ± 0,15 | 4,93 ± 0,21 | 5,42 ± 0,19 | 17,70 ± 0,14 | 2,2 ± 0,05  | 3,3 ± 0,15 |
| 15       | 46,07 ± 0,19  | 5,50 ± 0,10 | 5,72 ± 0,15 | 6,64 ± 0,22 | 16,58 ± 0,13 | 2,3 ± 0,05  | 4,8 ± 0,10 |

İncelenen örneklerin kurumadde değerleri % 41,70 ± 0,07 ile % 47,22 ± 0,04 (ortalama % 43,36 ± 1,85), yağ oranları incelendiğinde en düşük % 5,50 ± 0,10, en yüksek % 8,95 ± 0,15 ve ortalama % 7,24 ± 1,02 tespit edilmiştir.

Sürk örneklerinin tuz değerleri % 4,46 ± 0,18 ile % 6,84 ± 0,09 arasında değişmekte ve ortalama % 5,52 ± 0,71 olarak belirlenmiştir. Protein değerleri ise en düşük 15,78 ± 0,09, en yüksek 18,79 ± 0,43 (ortalama % 17,14 ± 1,02) olarak belirlenmiştir.

Örneklerin asitlik değerleri  $1,9 \pm 0,01$  ile  $2,7 \pm 0,05$ , (ortalama  $\% 2,33 \pm 0,24$ ) kül değerleri  $5,30 \pm 0,03$  ile  $7,40 \pm 0,04$  (ortalama  $6,54 \pm 0,71$ ) ve pH değerleri  $3,2 \pm 0,05$  ile  $5,1 \pm 0,01$  (ortalama  $4,16 \pm 0,66$ ) arasında bulunmuştur.

Sürk örneklerinin kurumadde sonuçları Güler-Akın ve Konar (2002) ve Biçer ve ark. (2002) belirlemiş oldukları değerler ile benzer, Durmaz ve ark. (2004) belirledikleri değerden düşük tespit edilmiştir. Örneklerin kurumadde oranlarındaki farklılıkların, muhtemelen incelenen örneklerin üretiminde farklı özellikte ayran çökeleği kullanılmasından ve üretim sırasında uygulanan işlemlerin farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Örneklerin yağ oranları Güler-Akın ve Konar (2002) ile benzer değer aralığında bulunmuş ancak Biçer ve ark. (2002) ve Durmaz ve ark. (2002) belirledikleri değerlerden daha düşük tespit edilmiştir. Yağ oranlarının ise geniş bir aralıkta değişim göstermesi, kurumadde miktarlarının farklı olmasından ve üretimde farklı miktarlarda yağ içeren (asitliği ilerlemiş süttten ve ayrandan elde edilen) çökeleklerin kullanılmasından kaynaklanabilir. Ayrıca taze olarak tüketilen sürklerin zeytinyağı içerisinde muhafaza edilmesi veya dışına zeytinyağı sürülerek jelatine sarılmak suretiyle satışa sunulması ve olgunlaşmış sürklerin üzerine zeytinyağı dökülerek tüketilmesinin de etkisi olabilir.

Tuz oranı daha önce yapılmış çalışmalardan farklı daha düşük değerde tespit edilmiştir. Bu farklılığın sebebi örneklere değişik oranlarda tuz katılmasına ve rutubet oranlarının farklı olmasına bağlanabilir.

Örneklerin protein değerleri Güler- Akın ve Konar (2002) ve Biçer ve ark. (2002) ile benzerlik göstermektedir. Ancak Durmaz ve ark. (2004) buldukları değerlerden daha düşük tespit edilmiştir. Bu farklılığın sebebi rutubet ve yağ oranlarındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Asitlik ve pH değerleri, diğer çalışmalara oranla daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın sebebi de peynirlerin depolama süreleri ve hammaddenin durumu ile ilişkilendirilebilir.

## 4.2 Sürk Örneklerinin Bazı Mikrobiyolojik Özellikleri

Sürk örneklerinde Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri, maya-küf, koliform bakteri ve LAB'leri sayımı gibi bazı mikrobiyolojik analizler yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

**Çizelge 4.2** Sürk örneklerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)

| Örnek No | TMAB        | Maya-küf    | Koliform Bakteri | MRS agarda gelişen LAB | M17 agarda gelişen LAB |
|----------|-------------|-------------|------------------|------------------------|------------------------|
| 1        | 6,06 ± 0,01 | 3,38 ± 0,08 | <1               | 5,73 ± 0,10            | 3,17 ± 0,12            |
| 2        | 6,57 ± 0,57 | 3,45 ± 0,15 | <1               | 6,20 ± 0,03            | 2,95 ± 0,04            |
| 3        | 6,90 ± 0,60 | 3,15 ± 0,15 | <1               | 6,02 ± 0,49            | 2,84 ± 0,06            |
| 4        | 6,60 ± 0,30 | 3,53 ± 0,53 | <1               | 5,93 ± 0,02            | 3,40 ± 0,29            |
| 5        | 6,69 ± 0,38 | 3,53 ± 0,20 | <1               | 6,06 ± 0,01            | 3,40 ± 0,70            |
| 6        | 6,30 ± 0,30 | 4,16 ± 0,01 | <1               | 5,81 ± 0,05            | 2,84 ± 0,06            |
| 7        | 6,53 ± 0,06 | 4,32 ± 0,07 | <1               | 6,27 ± 0,01            | 3,09 ± 0,01            |
| 8        | 5,38 ± 0,08 | 3,58 ± 0,58 | <1               | 5,31 ± 0,06            | 3,02 ± 0,17            |
| 9        | 6,32 ± 0,15 | 4,69 ± 0,03 | <1               | 5,90 ± 0,14            | 3,62 ± 0,25            |
| 10       | 6,50 ± 0,50 | 3,84 ± 0,06 | <1               | 6,46 ± 0,02            | 2,75 ± 0,15            |
| 11       | 6,37 ± 0,22 | 4,47 ± 0,35 | <1               | 5,45 ± 0,20            | 2,57 ± 0,27            |
| 12       | 5,80 ± 0,19 | 3,82 ± 0,52 | <1               | 5,18 ± 0,23            | 3,14 ± 0,03            |
| 13       | 6,65 ± 0,34 | 3,58 ± 0,11 | <1               | 5,68 ± 0,03            | 2,99 ± 0,08            |
| 14       | 6,97 ± 0,06 | 4,68 ± 0,26 | <1               | 6,01 ± 0,06            | 3,53 ± 0,21            |
| 15       | 6,65 ± 0,34 | 4,94 ± 0,03 | <1               | 4,88 ± 0,28            | 3,65 ± 0,04            |

İncelenen Sürk örneklerinde Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri sayısı,  $5,38 \pm 0,08$  log kob/g ile  $6,97 \pm 0,06$  log kob/g arasında (ortalama  $6,42 \pm 0,41$  log kob/g), maya-küf sayısı  $3,15 \pm 0,15$  log kob/g ile  $4,94 \pm 0,03$  log kob/g arasında (ortalama  $3,94 \pm 0,55$  log kob/g), koliform bakteri sayısı  $<1$  log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Örneklerde MRS agarda gelişen LAB'leri sayısı  $4,88 \pm 0,28$  log kob/g ile  $6,46 \pm 0,02$  log kob/g arasında (ortalama  $5,79 \pm 0,43$  log kob/g) ve M17 agarda gelişen LAB sayısı  $2,57 \pm 0,27$  log kob/g ile  $3,65 \pm 0,04$  log kob/g arasında (ortalama  $3,13 \pm 0,32$  log kob/g) olarak belirlenmiştir.

İncelenen Sürk örneklerinin mikrobiyolojik sonuçları bu konuda yapılmış diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında TMAB sayıları, Sağdıç ve ark. (2005) ile Masatçioğlu ve Avşar (2005) ile benzerlik göstermektedir.

Örneklerin maya-küf sayıları, Sağdıç ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmaya oranla daha düşük tespit edilmiştir. Burada peynirin olgunlaşma süresi, sıcaklığı ve nemi önemli oranda etkilidir.

Sürk örneklerine ait koliform grubu bakteri sayısı  $<1$  log kob/g olarak tespit edilmiştir. Ömer (1996) ve Gaya ve ark. (1983) yaptıkları çalışmada LAB sayısı ve dolayısıyla pH değerine bağlı olarak koliform bakteri sayısında azalma meydana geldiği tespit etmiş ve bulduğumuz sonuçlar ile benzerlik gözlenmiştir. Sağdıç ve ark. (2005) Sürk peynirinde Koliform grubu bakteri sayısının bir peynirin hijyenik şartlarda yapılıp yapılmadığı hakkında önemli bilgiler verdiğini belirtmişlerdir. Beyaz peynir standartında (TSE 591) koliform grubu bakteri sayısının 100 kob log/g (2 log kob/g)'dan daha yüksek olamayacağı hükmü yer almaktadır. Bu durumda analiz edilen 15 örnekte koliform grubu bakteri sayısı itibariyle standartlara uygun olduğu belirlenmiştir.

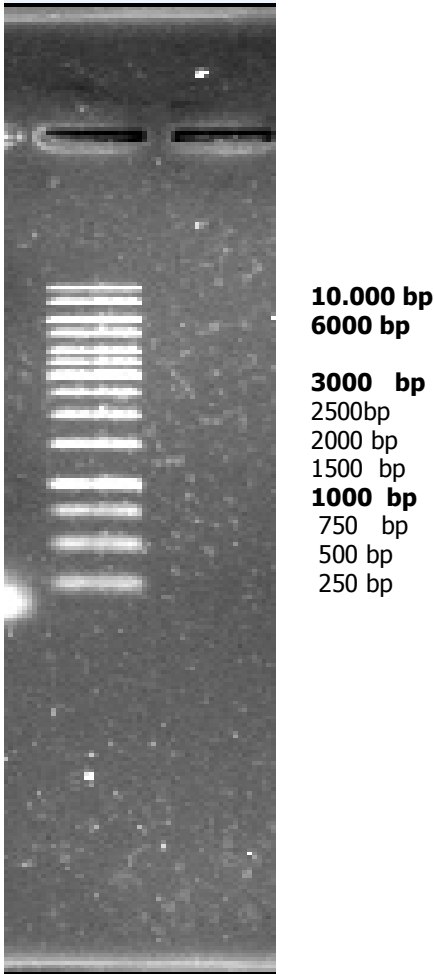
Sürk örneklerinden izole edilen MRS ve M17 agarda gelişen LAB'leri sayısı Sağdıç ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada elde ettikleri ile benzer bulunmuştur.

#### **4.3. LAB'lerinin İzolasyonu ve Tanımlama Sonuçları**

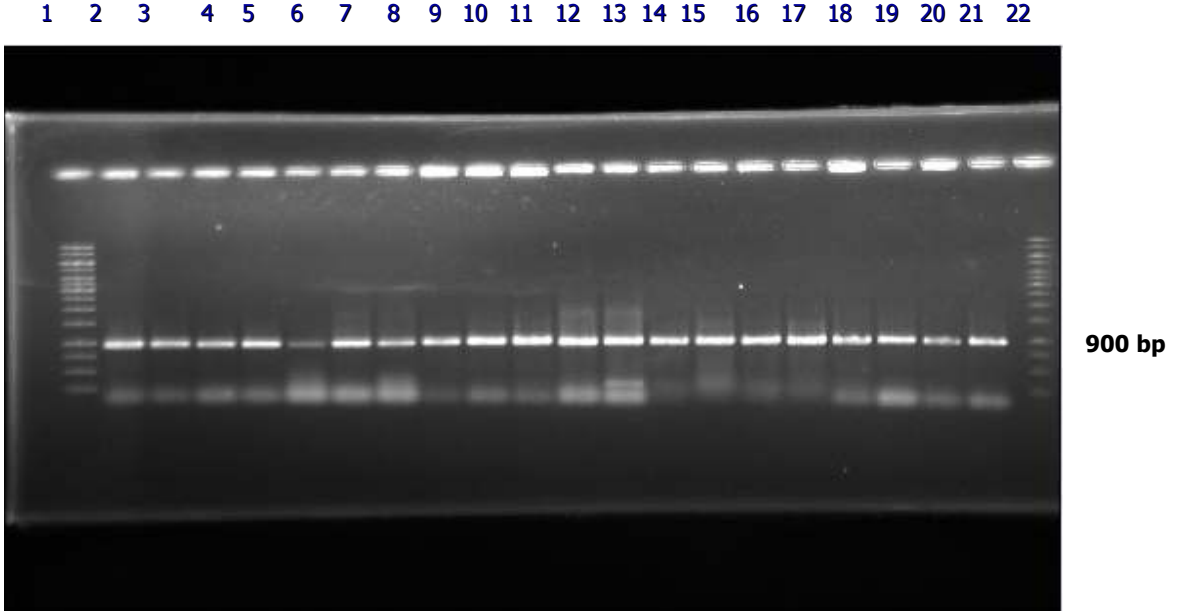
Araştırmada tesadüfi olarak seçilmiş 15 adet sürk örneği materyal olarak kullanılmıştır. Her peynir örneğinden her bir besiyeri (MRS ve M17 agar) için 4'er adet olmak üzere toplam 120 izolat alınmış, Gram boyama, mikroskopik görünüm, katalaz testi neticesinde M17 agardan elde edilen 60 izolattan 29 tanesi, MRS agardan sağlanan 60 izolattan 17 tanesi muhtemel laktik asit bakterisi olarak belirlenmiş ve toplam 46 laktik asit bakterisi DNA dizi analizi yöntemine göre tanımlanmıştır.

#### 4.4. 16S rDNA Yöntemi ile İzole Edilen ve PCR’da çoğaltılan DNA Örneklerinin Agaroz Jelde Görüntüleri

Sürk örneklerinden izole edilen ve yukarıda da bahsedildiği gibi çeşitli fiziksel ve biyokimyasal testler ile ön tanımlaması yapılan LAB’lerinin 16S rDNA yöntemi ile DNA izolasyonu yapılmış ve izole edilen DNA örnekleri PCR’da çoğaltıldıktan sonra agaroz jelde görüntülenmiştir. Agaroz jelde kullanılan marker’ın açılımı Şekil 4.4.1’de gösterilmiştir. Şekilde görülen 900-1000 bp aralığında DNA örneklerimizi görmekteyiz. Sırasıyla Şekil 4.4.2, 4.4.3 ve 4.4.4’de bu görüntüler verilmiştir. Görüntülerden de anlaşılacağı gibi DNA izolasyon işlemi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş ve jelde, çoğaltılan DNA örneklerinin görüntüleri rahatlıkla gözlenebilmektedir. Silik görüntülenen DNA örneklerinin ise izolasyon sırasında DNA’nın arafaz olarak parçalanmış hücre içerisinden alınması sırasında bulaşma olmasından kaynaklanmış olması muhtemeldir.



Şekil 4.4.1. Marker açılımı

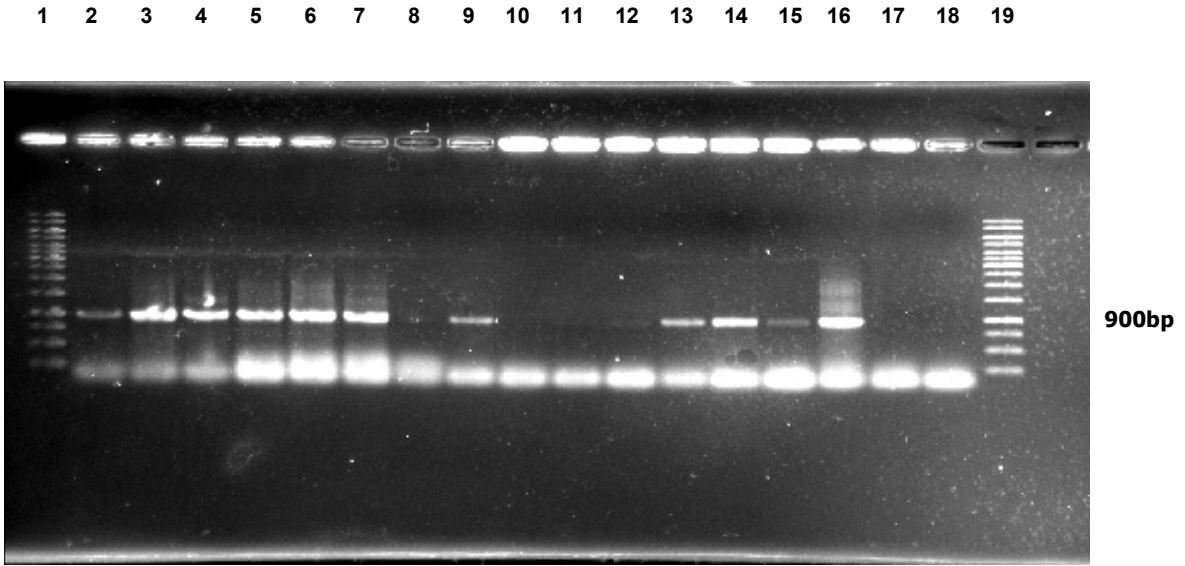


Şekil 4.4.2 Agaroz jelde DNA görüntüleri

1= Marker, 2= Lc\*.9, 3= Lc.10 (Tekrar), 4= Lc.11, 5= Lc.12, 6= Lb.3, 7= Lc.13, 8= Lc.14, 9= Lc.15, 10= Lb.2, 11= Lb.1, 12= Lc. 1, 13= Lb.5, 14= Lc.19, 15= Lc.20, 16= Lb\*.6, 17= Lb. 8, 18= Lc.21, 19= Lc.22, 20= Lc. 23, 21= Lc.10, 22= Marker.

Lc\* = M17 agarda gelişen LAB'si

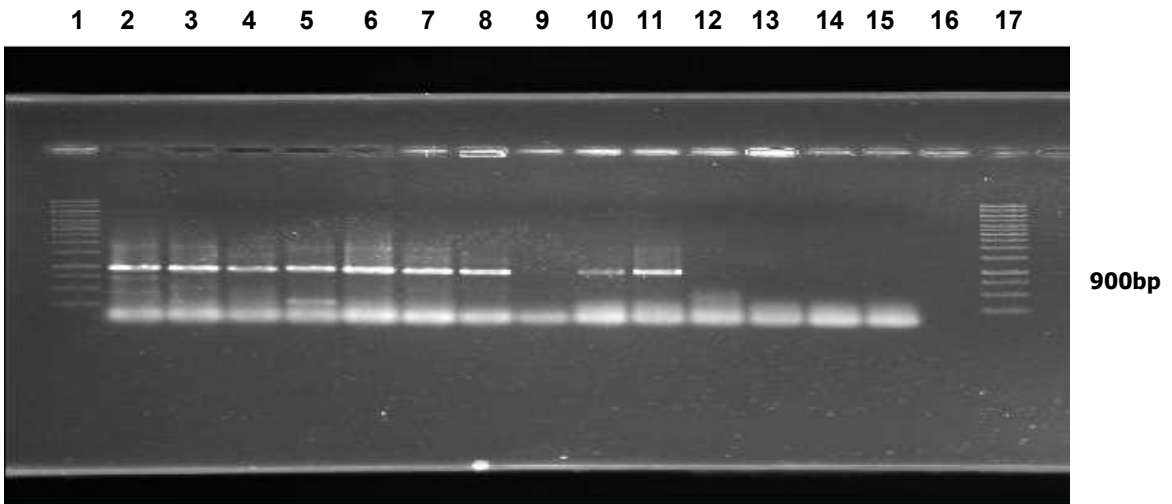
Lb\* = MRS agarda gelişen LAB'si



**Şekil 4.4.3.** Agaroz jelde DNA görüntüleri

1= Marker, 2= Lb.10, 3= Lb. 12, 4= Lc.24, 5= Lc.26, 6= Lc.27, 7= Lc.28, 8= Lb.7, 9= Lc.16, 10= Lc.17, 11= Lc.18, 12= ???, 13= ???, 14= Lb.11, 15= ???, 16= Lc.25, 17= Lb.7 (Tekrar), 18= Negatif Kontrol, 19= Marker.

???= Dizi analizi yapılamayan suşlar



**Şekil 4.4.4.** Agaroz jelde DNA görüntüleri

1= Marker, 2= Lc. 2, 3= Lc.3, 4= Lc. 5, 5= Lc.6, 6= Lc.7, 7= Lc.8, 8= Lc.4, 9= Lb.9, 10= Lb.17, 11= Lc.29, 12= Lb.13, 13= Lb.14, 14= Lb.15, 15= Lb.16, 16= Negatif Kontrol, 17= Marker

#### 4.5. PCR Ürünlerinin Saflaştırılması ve Dizi Analiz Sonuçları

DNA örneklerinin PCR'da çoğaltılmasından sonra sekans analizi yapılmadan önce mutlaka PCR ürünlerinden temizlenmesi gerekmektedir. İleri ve geri primerlerle yapılan dizi analizi sonucu elde edilen baz sıralarının, NCBI BLAST veri tabanında yapılan karşılaştırmalı tarama sonucu elde edilen tanımlama sonuçları daha önce yapılan çeşitli fiziksel ve biyokimyasal testler ile de karşılaştırılarak en yüksek benzerlik oranına sahip seçenek, tür adı olarak kabul edilmiştir. Çizelge 4.5.1.'de sekans analiz sonuçları verilmiştir. Partial sequence olarak belirtilen tanımlama sonuçlarında dizi analizi sırasında primerlerden sadece bir tanesi ile eşleşme gösterip sonuçlandırıldığı yorumu yapılabilmektedir.

**Çizelge 4.5.1 İzolatların sekans analiz sonuçları**

| İzolatlar | Tanımlama Sonucu   |
|-----------|--|
| Lc. 1     | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 2     | <i>Enterococcus durans</i> strain K22-24 16S ribosomal RNA gene, complete sequence       |
| Lc. 3     | <i>Enterococcus durans</i> strain KLDS 6.0601 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   |
| Lc. 4     | <i>Enterococcus durans</i> strain K22-24 16S ribosomal RNA gene, complete sequence       |
| Lc. 5     | <i>Enterococcus durans</i> strain KLDS 6.0606 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   |
| Lc. 6     | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain UL5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence      |
| Lc. 7     | <i>Enterococcus faecium</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: NRIC 0114       |
| Lb. 1     | <i>Lactobacillus brevis</i> partial 16S rRNA gene, strain ACA-DC 3401                    |
| Lc. 8     | <i>Enterococcus durans</i> strain KLDS 6.0318 16S ribosomal RNA gene, partial sequence   |
| Lc. 9     | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 10    | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |



|        |  |
|--------|--|
|        |  |
| Lc. 11 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 2  | <i>Lactobacillus brevis</i> partial 16S rRNA gene, strain ACA-DC 3401                    |
| Lc. 12 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 3  | <i>Lactobacillus brevis</i> partial 16S rRNA gene, strain ACA-DC 3401                    |
| Lc. 13 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 4  | <i>Lactobacillus brevis</i> partial 16S rRNA gene, strain ACA-DC 3401                    |
| Lc. 14 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 15 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 16 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 17 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 18 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 5  | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lc. 19 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 20 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 6  | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lb. 7  | <i>Lactobacillus brevis</i> partial 16S rRNA gene, strain ACA-DC 3401                    |
| Lb. 8  | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lc. 21 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 9  | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lb. 10 | <i>Lactobacillus brevis</i> partial 16S rRNA gene, strain ACA-DC 3401                    |

|        |  |
|--------|--|
| Lc. 22 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 11 | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lc. 23 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 12 | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lc. 24 | <i>Pediococcus</i> sp. NGRI 0510 gene for 16S ribosomal RNA, complete sequence           |
| Lc. 25 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 13 | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lb. 14 | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lb. 15 | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lb. 16 | <i>Lactobacillus paracasei</i> strain L7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence        |
| Lc. 26 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 27 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 28 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lc. 29 | <i>Pediococcus acidilactici</i> strain BFE 8262 16S ribosomal RNA gene, partial sequence |
| Lb. 17 | <i>Lactobacillus brevis</i> partial 16S rRNA gene, strain ACA-DC 3401                    |

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada Hatay'a özgü bir süt ürünü olan 15 farklı Sürk peyniri örneği fizikokimyasal ve mikrobiyolojik olarak incelenmiş, ayrıca bu örneklerden laktik asit bakterileri izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Bu araştırma sonucunda aşağıda belirtilen bulgular elde edilmiş ve öneriler yapılmıştır.

1. İncelenen Sürk örneklerinin ortalama kurumadde, yağ, asitlik, protein, tuz, kül ve pH değerleri sırasıyla % 43,36  $\pm$ 1,85, % 7,24  $\pm$ 1,02, % 2,33  $\pm$ 0,24, % 17,14  $\pm$ 1,02, % 5,52  $\pm$ 0,71, 6,54 $\pm$ 0,71 ve 4,16  $\pm$  0,66 olarak tespit edilmiştir.
2. Sürk örneklerinin ortalama TMAB, maya-küf, koliform bakteri ve MRS ile M17 agarda gelişen LAB'leri sayıları sırasıyla 6,42  $\pm$  0,41 log kob/g, 3,94  $\pm$  0,55 log kob/g, <1 log kob/g, 5,79  $\pm$  0,43 log kob/g ve 3,13  $\pm$  0,32 log kob/g olarak belirlenmiştir.
3. İzole edilen 46 laktik asit bakterisinin % 47,82'si *Pediococcus acidilactici*, % 21,73'ü *Lactobacillus paracasei*, % 15,21'i *Lactobacillus brevis*, % 10,86'sı *Enterococcus durans*, % 2,17'si *Enterococcus faecium* olarak belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada Sürk'ten izole edilen ve tanımlanan LAB'lerinin çok az bir kısmının, ısıtılma işlem görmesi sebebiyle çökelek ya da ayrandan geçmiş olduğu düşünülmektedir. İzole edilen LAB'lerinin büyük çoğunluğunun Sürk'ün hazırlanışı sırasında ilave edilen baharatlar ile işlenmesi ve olgunlaştırılması sırasında meydana gelen bulaşmalardan kaynaklandığı söylenebilir. Ancak tanımlanan bu bakterilerin hepsi gıda orijinlidir. Buradan yola çıkarak Sürk ve benzeri yöresel ürünlerimizden izole edilen LAB'lerinin fermente süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanım potansiyeli bulunmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Altschul S F, Madden T L, Schaffer A A, Zhang J Z Z, Miller W, Lipman D J (1997). Gapped Blast and Psi-Blast: a new generation of protein database search programs. 3389 -3402, Oxford University Press.
- Anonymous (1987). Peynir ve İşlenmiş Peynir- Toplam Katı Madde Tayini (Referans Metod). Türk Standartları Enstitüsü, 5311, Ankara.
- Anonymous (1989b). Beyaz Peynir. Türk Standartları Enstitüsü, 591, Ankara.
- Antonsson M, Molin G, ve Ardö Y (2003). *Lactobacillus* strains isolated from Danbo cheese as adjunct cultures in a cheese model system. International Journal of Food Microbiology, 2663: 1-11.
- Baumgart J, Fiinhaber J and Spicher G (1986). Microbiologische Unthersuchung von Lebensmitteln. Behr's Verlag Hamburg, Germany.
- Beasley S S ve Saris P E J (2004). Nisin-producing *Lactococcus lactis* strains from human milk. Appl. Environ. Microbiol., 70: 5051- 5053.
- Biçer O, Güler M B, Keskin M, Kaya Ş (2002). Goat production and some traditional goats milk products with special reference to Hatay region of Turkey. Seminar on Production and Utilization of Ewes Milk and Goats Milk, Crete, 1995; Poster No: 71. Alınmıştır: Güler-Akın, M. B., Konar, A. Antakya piyasasında satılan sürüklerin bazı özellikleri. Harran Üniv Ziraat Fak Derg 6 (1-2): 55-63.
- Blaiotta G, Pepe O, Mauriello G, Villani F, Andolfi R ve Moschetti G (2002). 16S-23S rDNA intergenic spacer region polymorphism of *Lactococcus garrviae*, *Lactococcus raffinolactis* and *Lactococcus lactis* as revealed by PCR and nucleotide sequence. Analysis System Appl. Microbiol., 25: 520-527.
- Centeno J A, Cepeda A, Rodriguez-Otero J L (1996a). Lactic acid bacteria izolated from Arzua cow's milk cheese. International Dairy Journal, 6(1): 65-78.
- Centeno J A, Menendez S, Rodriguez-Otero J L (1996b). Main microbial flora present as natural starters in Cebreiro raw cow's – milk cheese (Northwest Spain). International Journal of Food Microbiology, 33(2-3): 307-313.
- Collins C H ve Layne P M (1984). Microbiological Methods. Butterworth and Co Ltd., 450 p, London.
- Çıtak S, Yücel N ve Orhan S (2004). Antibiotic resistance and incidence of *Enterococcus* species in Turkish White cheese. Society of Dairy Technology, 57(1):1-5.
- Durlu- Özkaya F, Xanthopoulos V, Tunail N ve Litopoulou- Tzenataki E (2001). Technologically important properties of Lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes milk. Journal of Applied Microbiology, 91: 861-870.

- Durmaz H, Tarakçı Z, Sağun E, Aygün O (2004). Sürkün Kimyasal ve Duyusal Nitelikleri. F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi, 18(2): 85-90.
- Ely R L ve Chen J (2001). Comparison of artificial neural network, genetic programming, and mechanistic modeling of complex biological processes. Environ. Eng. Sci., 18(5):267-278.
- Fox P F, Lucey J A, Cogan T M (1990). Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 29: 237- 253.
- Garcia Fontan M C, Franco I, Prieto B, Tornadijo M E, Carballo J (2001). Microbiological changes in 'San Simon' cheese throughout ripening and its relationship with physico-chemical parameters. Food Microbiology, 18(1): 25-33.
- Gaya P, Medina M, Bautista L, Nunez M (1988). Journal of Food Protection. 46: 305-308.
- Gilliand S E, Sandine W E ve Vedomuthu E R (1984). Acid producing microorganism, Part 16, In: Compendium of Methods for the Examination of Foods, (APHA), Ed: M.L. Speck, Washington, D.C., USA, 184-196.
- Gripon J C, Desmazeaud M J, Bars D, Bergere J L (1975). Etude du Role des Micro-organismes et des Enzymes au Cours de la Maturation des Fromages. Le Lait, 55(548): 502-516.
- Guler M B (1999). Hatay yoresi Surk (kuflu çökelek) ve Carra (testi) peynirlerinin üretimi, özellikleri ve standardizasyon olanakları üzerine bazı araştırmalar. PhD. thesis, Cukurova University, P.116, Adana Turkey.
- Güler-Akın M B, Konar A (2002). Antakya piyasasında satılan sürklerin bazı özellikleri. Harran Üniv Ziraat Fak Derg 6 (1-2): 55-63.
- Hasler C M (1998). Functional Foods: Their Role in Disease Prevention and Health Promotion. Food Technology 52: 63- 70.
- Kalogridou- Vassiliadou D, Tzanetakis N and Litopoulou- Tzanetaki E (1994). Microbiological and physicochemical characteristics of 'Anthotyro' a Greek traditional whey cheese. Food Microbiology, 11: 15- 19.
- Karakuş M, Borcaklı M ve Alperden İ. (1992). Beyaz peynirin olgunlaşma sürecinde laktik asit bakterileri. Gıda, 17(6): 363-369.
- Kurt A, Çakmakçı S ve Çağlar A (1996). Süt ve Mamulleri Muayene Analiz Metotları Rehberi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 257, 398 s, Erzurum.
- Lee H, Friend A, Shahani K M (1988). Factors Affecting the Protein Quality of Yoghurt and Acidophilus Milk. Journal of Dairy Science, 71: 3203- 3213.
- Lopez-Diaz T M, Alonso C, Roman C, Garcia-Lopez M L, Moreno B (2000). Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. Food Microbiolgy, 17: 23-32.

Macrina F L, Tobian J A, Jones K R, Evans R P ve Clewell D B (1982). A cloning vector able to replicate in *Escherichia coli* and *Streptococcus sanguis*. *Gene*, 19: 345-353.

Marshall R T (1992). *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. (16th ed.), American Public Health Association, Washington, DC.

Masatcıoğlu M T, Evrendilek G A, Avsar Y K (2003). Sürk yapımında kullanılan bazı baharatların antimikrobiyal özellikleri.. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu Sempozyum Kitabı. IN: Akbulut, N., Editor. Alsancak, İzmir. Tıpyan Yayıncılık – Matbaacılık, 477-482.

Masatcıoğlu T, Avşar Y (2005). Effect of Flavorings, Storage Conditions, and Storage Time on Survival of *Staphylococcus aureus* in Surk Cheese. *Journal of Food Protection* Vol. 68: 1487-1491.

Menendez. S, Godinez, R, Centeno J A, Rodriguez-Otero J L (2001). Microbiological and biochemical characteristics of Tetilla raw cows- milk cheese. *Food Microbiology*, 18(2): 151-158.

Meyers J A, Sanches D, Elwell L P ve Falkow S (1976). Simple agarose gel electrophoretic method for the identification and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid. *J. Bacteriol*, 127: 1529- 1537.

Ouadghiri B, Amar M, Vancanneyt M ve Swings J (2005). Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS Microbiology Letters*, 251: 267-271.

Öksüz Ö (1996). Çiğ Süt Mikroflorasının Beyaz Peynir Kalitesine ve Peyniraltı Suyu Özelliklerine Etkisi Üzerine Bir Araştırma.Y Lisans Tezi, T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Prodromou K, Thasitou P, Haritonidou E, Tzanetakis N and Litopoulou-Tzanetaki E (2001). Microbiology of “Orinotyri” , a ewe’s milk cheese from the Greek mountains. *Food Microbiology*, 18 (3): 319-328.

Sağdıç O, Şimşek B, Gursoy O, Padem H (2005). Some Characteristics of Surk, a Traditional Turkish Cheese. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 56: 13-15.

Şengül M (2001). Tulum Peynirinden İzole edilen Bazı Laktik asit Bakteri Suşlarının Starter Kültür Özellikleri ve Peynirlerin Bazı Özelliklerinin Tespiti. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Ünsal A (1997). Süt Uyuyunca – Türkiye Peynirleri. İstanbul. Yapı Kredi Yayınları.

Vuyst L D, Zamfir M, Mozzi F, Adriany T, Marshall V, Degeest B, Vanningelgem F (2003). Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains as functional starter cultures in the production of fermented milks. *Int. Dairy J.* 13: 707–717.

Zarate V, Belda F, Crez C ve Cardell E (1997). Changes in the Microbial Flora of Tenerife Goats’ Milk Cheese During Ripening. *International Dairy Journal*, 7: 635-641.

## **ÖZGEÇMİŞ**

19 Ekim 1983 tarihinde İstanbul'da doğdum. Lise öğrenimimi 2001 yılında Kabataş Erkek Lisesi'nde tamamladım. 2002 yılında Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde başladığım öğrenimimi 2006 yılında bitirdim. Aynı yıl Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladım. TÜBİTAK – BİDEB Yüksek Lisans bursunu alarak bölümümde tam zamanlı olarak çalışmaktayım.