T.C
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OTLU PEYNİRLERDE ENTEROTOKSİJENİK *Staphylococcus aureus* SUŞLARININ ÜREME VE ENTEROTOKSİN OLUŞTURMA YETENEKLERİ

Veteriner Hekim Levent AKKAYA
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

108152

DANIŞMAN
Doç. Dr. Yakup Can SANCAK

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Bu tez TÜBİTAK tarafından VHAG-1497 no'lu ve Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 99-VF-023 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2001

T.C

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OTLU PEYNİRLERDE ENTEROTOKSİJENİK *Staphylococcus aureus* SUŞLARININ ÜREME VE ENTEROTOKSİN OLUŞTURMA YETENEKLERİ

Veteriner Hekim Levent AKKAYA

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Banur BOYNUKARA
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Yakup Can SANCAK
Üye

Doç. Dr. Belgin SARIMEHMETOĞLU
Üye

Doç. Dr. Emrullah SAĞUN
Üye

Yrd. Doç. Dr. Mustafa ALİŞARLI
Üye

TEZ KABUL TARİHİ

08/10/2001

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmada yardımlarından dolayı Danışman Hocam Doç. Dr. Yakup Can SANCAK ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa ALİŞARLI başta olmak üzere bölümdeki tüm hocalarıma, Arş.Gör. Süleyman ALEMDAR ve Arş.Gör. Tahir AVAN başta olmak üzere tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca bu araştırmayı maddi olarak destekleyen TÜBİTAK-VHAG Grubuna ve Y.Y.Ü. Araştırma Fonu Başkanlığına teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay I

Teşekkür II

İçindekiler III

Simgeler ve Kısaltmalar VII

Şekiller VIII

Tablolar IX

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Peynir Hakkında Genel Bilgiler 3

2.2. Otlu Peynir Hakkında Genel Bilgiler 7

2.3. Genel olarak stafilokoklar ve *S. aureus* 10

2.4. Stafilokokal enterotoksinler 12

2.5. Enterotoksinlerin tespitinde kullanılan metotlar 14

2.6. *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin oluşumunu etkileyen faktörler 15

2.6.1. Gıda içeriğinin etkisi 16

2.6.2. Su aktivitesinin (a_w) etkisi 17

2.6.3. pH'nın etkisi 17

2.6.4. Isının etkisi 18

2.6.5. Oksijenin etkisi 19

2.6.6. Rekabetçi mikrofloranın etkisi 20

2.7. *S. aureus*'un Kontaminasyon Yolları ve Epidemiyolojisi 22

2.8. Peynirlerde *S. aureus*'un Gelişimi ve Enterotoksin Oluşumu ile İlgili Olarak Yapılan Çalışmalar 25

3. MATERYAL VE METOT 37

3.1. Materyal 37

3.1.1. Süt 37

3.1.2. Starter kültür 37

3.1.3. Test mikroorganizması 37

3.1.4. Peynir mayası 38

3.1.5. Peynir yapımında kullanılan otlar 38

3.1.6. Kuru tuzlamada kullanılan ufalanmış peynir..... 38
3.1.7. Peynir ambalaj malzemesi..... 38
3.2. Metot..... 38
3.2.1. Çiğ ve pastörize sütten deneysel otlu peynir yapımı..... 38
3.2.1.1. Otlu peynirin yapım aşamaları..... 38
3.2.1.2. İnokulumun hazırlanması..... 39
3.2.1.3. Deneme düzeninin kurulması..... 42
3.2.1.3.1. Pastörize sütten yapılan peynirler..... 42
3.2.1.3.2. Çiğ sütten yapılan peynirler..... 43
3.2.2. Peynirlerde yapılan analizler..... 44
3.2.2.1. Mikrobiyolojik analizler..... 44
3.2.2.1.1. Numunelerin alınması ve dilüsyonların hazırlanması..... 44
3.2.2.1.2. Aerobik mezofil genel canlı bakterilerin sayımı..... 44
3.2.2.1.3. Laktik asit bakterilerinin sayımı..... 44
3.2.2.1.4. *S. aureus*'un sayımı..... 44
3.2.2.1.5. Enterobakteri'lerin sayımı..... 45
3.2.2.1.6. Maya ve küf sayımı..... 45
3.2.2.2. Kimyasal analizler..... 45
3.2.2.2.1. Peynir örneklerinde pH' nın belirlenmesi..... 45
3.2.2.2.2. Peynir örneklerinde su aktivitesinin belirlenmesi..... 46
3.2.2.2.3. Peynir örneklerinde tuz miktarının belirlenmesi..... 46
3.2.2.2.4. Peynir örneklerinde titre edilebilir asitliğin belirlenmesi..... 46
3.2.2.3. Serolojik analizler..... 47
3.2.2.3.1. Peynirlerde enterotoksinlerin (Enterotoksin A, B, C, D) belirlenmesi..... 47
4. BULGULAR..... 48
4.1. Deneysel Olarak Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Serolojik Analiz Sonuçları..... 48
4.1.1. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin mikrobiyolojik analiz sonuçları..... 50
4.1.1.1. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin *S.. aureus* sayıları..... 50
4.1.1.2. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin toplam aerobik mezofil canlı sayıları..... 51

4.1.1.3. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin laktik asit bakterileri sayıları 52
4.1.1.4. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin maya-küf ve Enterobacteriaceae grubu mikroorganizma sayıları 53
4.1.2. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin kimyasal analiz sonuçları 53
4.1.2.1. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin a_w değerleri 53
4.1.2.2. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin pH değerleri 54
4.1.2.3. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin titrasyon asitliği değerleri 55
4.1.2.4. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin tuz miktarları 56
4.1.3. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin serolojik analiz sonuçları 56
4.2. Deneysel Olarak Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Serolojik Analiz Sonuçları 57
4.2.1. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin mikrobiyolojik analiz sonuçları 57
4.2.1.1. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin *S. aureus* sayıları 59
4.2.1.2. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin toplam aerobik mezofil canlı sayıları 60
4.2.1.3. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin laktik asit bakterileri sayıları 61
4.2.1.4. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin maya ve küf sayıları 62
4.2.1.5. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin Enterobacteriaceae grubu mikroorganizma sayıları 63
4.2.2. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin kimyasal analiz sonuçları 64
4.2.2.1. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin a_w değerleri 64
4.2.2.2. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin pH değerleri 65
4.2.2.3. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin titrasyon asitliği değerleri 66
4.2.2.4. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin tuz miktarları 67
4.2.3. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin serolojik analiz sonuçları 67
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 68

ÖZET 77
SUMMARY 78
KAYNAKLAR 79
ÖZGEÇMİŞ 92

SİMGELER VE KISALTMALAR

a_w : Su aktivitesi

kob/gr : Koloni oluşturan birim/gram

ÇA Peyniri : Çiğ sütten yapılan ve *S aureus* 10652 FDA 196 E suşu inokule edilen otlu peynir.

ÇB Peyniri : Çiğ sütten yapılan ve *S. aureus* 10654 FDA 243 suşu inokule edilen otlu peynir.

ÇC Peyniri : Çiğ sütten yapılan ve *S. aureus* 10655 137 suşu inokule edilen otlu peynir

ÇD Peyniri : Çiğ sütten yapılan ve *S. aureus* 10656 494 suşu inokule edilen otlu peynir.

ÇM Peyniri : Çiğ sütten yapılan ve *S. aureus* 10652 FDA 196 E, *S. aureus* 10654 FDA 243, *S. aureus* 10655 137 ve *S. aureus* 10656 494 suşları mix olarak inokule edilen otlu peynir

PA Peyniri : Pastörize sütten yapılan ve *S. aureus* 10652 FDA 196 E suşu inokule edilen otlu peynir.

PB Peyniri : Pastörize sütten yapılan ve *S. aureus* 10654 FDA 243 suşu inokule edilen otlu peynir.

PC Peyniri : Pastörize sütten yapılan ve *S. aureus* 10655 137 suşu inokule edilen otlu peynir.

PD Peyniri : Pastörize sütten yapılan ve *S. aureus* 10656 494 suşu inokule edilen otlu peynir.

PM Peyniri : Pastörize sütten yapılan ve *S. aureus* 10652 FDA 196 E, S. *aureus* 10654 FDA 243, *S. aureus* 10655 137 ve *S. aureus* 10656 494 suşları mix olarak inokule edilen otlu peynir.

SEA : Staphylococal enterotoksin A

SEB : Staphylococal enterotoksin B

SEC : Staphylococal enterotoksin C

SED : Staphylococal enterotoksin D

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Otlu peynirin üretim şeması.....	41
Şekil 2.	Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin S. *aureus* sayısının değişimi.....	50
Şekil 3.	Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde toplam aerobik mezofil canlı sayısının değişimi.....	51
Şekil 4.	Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde laktik asit bakterileri sayısının değişimi.....	52
Şekil 5.	Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde a_w değerinin değişimi.....	53
Şekil 6.	Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde pH değerinin değişimi.....	54
Şekil 7.	Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde titrasyon asitliği (% L.A.) değerinin değişimi.....	55
Şekil 8.	Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde tuz miktarının (%) değişimi.....	56
Şekil 9.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde *S. aureus* sayısının değişimi.....	59
Şekil 10.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde toplam aerobik mezofil canlı sayısının değişimi.....	60
Şekil 11.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde laktik asit bakterilerinin sayısının değişimi.....	61
Şekil 12.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde maya ve küf sayısının değişimi.....	62
Şekil 13.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizma sayısının değişimi.....	63
Şekil 14.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde a_w değerinin değişimi.....	64
Şekil 15.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde pH değerinin değişimi.....	65
Şekil 16.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde titrasyon asitliğinin (% L.A.) değerinin değişimi.....	66
Şekil 17.	Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde tuz miktarının (%) değişimi.....	67

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1 İçerdikleri rutubet oranına göre peynir grupları..... 4

Tablo 2 Kuru maddede yağ oranlarına göre peynir gurupları..... 4

Tablo 3 Süt ve peynirde bulunan esansiyel amino asitlerin yoğunluğu..... 5

Tablo 4 Pastörize sütten yapılan peynirlerin deneme desenleri..... 42

Tablo 5 Çiğ sütten yapılan peynirlerin deneme desenleri..... 43

Tablo 6 Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal ve serolojik analiz sonuçları..... 49

Tablo 7 Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal ve serolojik analiz sonuçları..... 58

1. GİRİŞ

Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde özellikle Van, Siirt ve Diyarbakır illerinde üretilen otlu peynir, yörede çok yaygın olarak tüketilen bir süt ürünüdür. Halk arasında sevilerek tüketilen ve geniş tüketim hacmi olan bu peynirin üretimi geleneksel olarak ve ilkel usullerle yapıldığından, hijyenik kriterler göz önüne alındığında halk sağlığı açısından bir risk oluşturmaktadır. Peynirlerde rastlanan patojen bakterilerden biri olan enterotoksijenik *S. aureus,* insanlarda görülen besin zehirlenmelerinin önemli bir kısmını oluşturmakta ve halofilik olduğundan dolayı da her türlü peynirde rahatlıkla gelişebilmektedir.

S. aureus'un gıdalara bulaşması genel itibariyle insanlar, hayvanlar ve ekipmanlar vasıtasıyla olmaktadır (1). Peynirlerin enterotoksijenik *S. aureus*'larla kontaminasyonu, üretimde pastörize edilmemiş ve hijyenik kalitesi düşük süt kullanılması ve hatalı pastörizasyon işleminden yada pastörizasyondan sonra üretimde kullanılan alet, malzeme ve personelden kaynaklanmaktadır.

S. aureus'un farklı suşları insanların ellerinde, burun boğaz gibi farklı bölgelerinde bulunabilmektedir (2,3,4,5). Bu mikroorganizma, insanların ellerinden, burun ve boğaz dokusundan süt ve ürünlerine bulaşabilir (3,4,6,7). Özellikle mastitisli hayvanlardan sağılan sütler enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının önemli bir kaynağını oluşturmaktadır (3,8,9,10,11). Mastitisli bir memeden sağılan bir sütte *S. aureus* sayısı 1.5 kob/ml'yi geçebileceği bildirilmiştir (12).

S. aureus'un gelişimini ve enterotoksin oluşumunu, *S. aureus*'un yoğunluğu, rekabetçi mikroflora, laktik starter kültür, gıdanın ortamı, ısı, pH, tuz, a_w değeri ve oksijenin mevcudiyeti gibi birçok faktör etkilemektedir (13). Enterotoksin oluşumu için, ortamda bulunan enterotoksijenik *S. aureus*'ların belirli bir yoğunluğa ulaşması gereklidir. Genel olarak ortamda 10^6 kob/gr ve daha fazla sayıda enterotoksijenik *S. aureus* bulunduğunda toksin oluşabileceği bildirilmektedir (1).

Süt, dondurma, sütlü tatlılar ve peynir gibi gıdalar enterotoksin oluşumu için uygun ortamlardır. *S. aureus* suşlarının yaklaşık % 50'si 1 veya daha fazla tipte enterotoksin oluşturabilirler (14) ve oluşan enterotoksinler yüksek sıcaklığa (100 ^{0}C, 30. dk) dayanabilirler (14,15).

Doğal mikroflorası ısı uygulaması ile elimine edilmiş gıdaların sonradan enterotoksijenik *S. aureus* ile kontamine olmasıyla enterotoksin oluşumu kolayca meydana gelebilmektedir (13,16). Zehirlenmeye bakterinin oluşturduğu toksin sebep olmakta ve gıdada görülebilir ve hissedilebilir hiçbir değişiklik oluşturmadığı için de tüketici gıdadaki bozukluğu fark edememektedir (17,18).

Bu çalışmada, enterotoksin oluşturan referans *S. aureus* test suşlarıyla (SEA 10652 FDA 196E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137 ve SED 10656 494) deneysel olarak kontamine edilmiş çiğ ve pastörize sütlerden yapılan Van otlu peynirinde *S. aureus*'ların gelişimi ve enterotoksin oluşturma yetenekleri ve bunu etkileyen faktörler incelenmiştir. Van otlu peynirinin teknolojik üretim basamaklarında hangi parametrelerin enterotoksin oluşumu üzerine etkili olduğu belirlenerek stafilokokal gıda zehirlenmelerinin halk sağlığı açısından taşıdıkları sağlık riskini ve otlu peynirlerin güvenirliğini araştırmak amaçlanmış ve sorunun çözümüne ve üretim teknolojisine katkıda bulunmaya yönelik öneriler getirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Peynir Hakkında Genel Bilgiler

Gıda Maddeleri Tüzüğü (19), peyniri "Çiğ, pastörize yada 72^0C'de 2 dakika ısıtılmış sütlerin peynir mayası ya da organik zararsız bir asit ile pıhtılaştırılıp işlenmesi ve belli bir olgunlaşma süresi geçirmesi sonunda elde edilen tadı, kokusu ve kıvamı kendine özgü bir süt ürünüdür" şeklinde tanımlamıştır.

Peynir, tüm dünyada yaygın olarak tüketilen ve zevkle yenilen bir süt ürünüdür. Tüm dünyada 2000-4000 çeşit olduğu söylenen peyniri ilk olarak üretenlerin İskit Türkleri, Araplar ve Finliler olduğuna dair yayınlar bulunmaktadır. Tüm dünyada uzun yıllar primitif usullerle üretilen peynir, 2. Dünya Savaşı yıllarından sonra peynir teknolojisindeki gelişmeler hijyenik, kaliteli ve standart peynir üreten fabrikaların tesisi ile ekonomik peynir üretimine neden olmuştur (20).

Peynir çabuk bozulan, hacimli ve nakli zor olan, süte nazaran rutubeti düşürülmüş bir ürün olup, depolanması süte göre kolay ve çeşidine ve dayanma koşullarına bağlı olarak 4-5 günden 5-10 yıla kadar saklanabilen dayanıklı bir besindir. Bu özelliğinden dolayı da üretiminin bol olduğu mevsim ve bölgelerde süt, kısa sürede peynire işlenerek değerlendirilebilmektedir (21).

Dünya nüfusunun hızla çoğalması, ancak gıda üretiminin buna paralel artmaması sonucu yetersiz ve dengesiz beslenme hatta açlık ortaya çıkmıştır. Karın doyurmak kavramından yeterli ve dengeli beslenme anlayışına dönülen günümüzde, insan topluluklarının açlık sınırından çağın gerektirdiği insana yaraşır beslenme anlayışına ulaşması en büyük sorunlardan biridir. Dünya sağlık Örgütü (WHO), uluslararası beslenme standartlarında dengeli beslenme ile ilgili tanımlarında, bir insanın vücut ağırlığının her kilogramı için 1 gr protein öngörmekte ve bunun da % 40'ının hayvansal kaynaklı gıdalardan alınmasını istemektedir. Yetersiz ve dengesiz beslenme ülkemiz içinde söz konusu olup, büyük çoğunluğu tahıla dayalı beslenen halkımızın günlük diyetinde gerekli miktarda protein bulunmamakta, alınan miktarın da sadece % 26'sını hayvansal kaynaklı gıdalar oluşturmaktadır (22).

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Dünyada peynir üretimi ülkelere göre değişmekle birlikte kişi başına yıllık olarak tüketilen peynir, Avrupa ülkelerinde yaklaşık 8.5-22 kg kadardır. Ülkemizde ise üretimin kontrolsüz ve kayıtsız olması sonucu kesin istatistikler tutulmamasına bağlı olarak net bir rakam ortaya konulamamakta, ancak tahmini değerlendirmeler yapılmaktadır. Toplam sütün 1995 yılı verilerine göre % 20'si peynire işlenmiş ve tahmini olarak da 290.000-310.000 ton peynir üretilmiş olup kişi başına 5 kg civarında peynir düşmektedir (21).

Peynirler özelliklerine göre farklı şekillerde gruplandırılabilirler. Bu gruplandırmalar, tuzlama şekillerine, kuru maddede yağ oranına, rutubet durumlarına, menşeine, teknolojik işlem aşamalarına göre yapılabilmektedir. Peynirlerin rutubet miktarları besin unsurları içeriğiyle ters orantılı olduğundan ürünün besleyici değeri hakkında genel olarak bir fikir verebilmektedir (20). Gıda Maddeleri Tüzüğü'nün (19) öngördüğü şekilde yapılan sınıflandırma Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İçerdikleri Rutubet Oranına Göre Peynir Grupları (19)

Peynir Grupları	İçerdikleri Rutubet Oranı (%)
Çok Sert	% 25 ten az
Sert	% 25-36
Yarı Sert	% 36-40
Yumuşak	% 40 dan fazla

Peynirin kuru maddesindeki yağ miktarı da sınıflandırmada gözönüne alınan bir unsurdur. Gıda Maddeleri Tüzüğü'nün (19) öngördüğü şekilde yapılan sınıflandırma Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Kuru Maddede Yağ Oranlarına Göre Peynir Grupları (19)

Peynir Grupları	Kuru Maddede En Az Yağ (%)
Tam Yağlı	45
Yağlı	30
Yarım Yağlı	20
Yavan	< 20

Peynirin beslenmemizde çok büyük bir önemi bulunmaktadır. Peynirin hemen hemen tamamı sindirilebilmekte ve sahip olduğu protein kolayca amino asitlere dönüştürülerek gerekli yerlerde kullanılmakta, yağları ise sindirim kanalında parçalanmadan doğrudan emilmektedir. Emilemeyen kısmı ise, sadece balast maddeleri ile peynirlerin çeşidine göre katılan baharatlar ve otdur. Ayrıca peynirin sahip olduğu yağ ve proteinler karbonhidratlara göre daha uzun zamanda sindirilebildiklerinden doymuşluk hissini vermektedir (23).

Çeşidine bağlı olarak peynirlerin 100 gramında 20-35 gr protein bulunmaktadır (24). Peynir biyolojik değeri yüksek proteinleri ihtiva etmekte, ancak kükürt ihtiva eden amino asitler yetersiz olduğundan süt proteinlerinin biyolojik değerinden biraz daha düşük kabul edilmektedir. İlkbaharda üretilen peynirlerin biyolojik değeri diğer mevsimde üretilenlerden daha yüksek bir değere sahip bulunmaktadır (23). Süt ve peynirde bulunan esansiyel amino asitlerin yoğunluğu Tablo 3'te gösterildiği gibidir (24).

Tablo 3. Süt ve Peynirde Bulunan Esansiyel Amino Asitlerin Yoğunluğu (25)

Amino Asit	Konsantrasyon (g/ 100 g Protein)		
	Referans Protein	**Süt Proteini**	**Peynir Proteini**
Triptofan	1.0	1.4	1.4
Fenilalanin tyrosin	6.0	10.5	10.9
Lösin	7.0	10.4	10.4
İzolösin	4.0	6.4	5.8
Treonin	4.0	5.1	4.8
Metionin sistin	3.5	3.6	3.2
Lisin	5.5	8.3	8.3
Valin	5.0	6.8	6.8
Toplam	**36.0**	**52.5**	**51.6**

Peynir üretimi sırasında biyolojik değeri yüksek olan serum proteinleri peynir altı suyuna geçmekte, kazein ise peynirde toplanmaktadır. Olgunlaşma sürecinde peynirde bulunan ve suda çözünmeyen kazein, serbest amino asitlere ve suda çözülebilir nitrojene parçalanarak peynire has aroma oluşmaktadır. Bunun yanı sıra sindirilme derecesi

artırılmakta ve kısa zincirli peptitler bağırsak hücre duvarını geçerek hücre tarafından değerlendirilebilmektedir (24). Peynir, metionin ve sistin hariç insanın ihtiyacı olan esansiyel aminoasitlerin sağlanmasında temel bir kaynaktır (23).

Yağ, yüksek enerji veren ve obesiteye bağlı olarak son yüzyılda ortaya çıkan hastalıkların ana etkeni olarak görülmesine rağmen peynirde çok arzu edilen bir maddedir. Kişi başına ortalama 15 kg peynir tüketen ve sağlıklı beslenmeyi ön plana alan Avrupa ülkelerinde dahi toplam yağ alımında peynirin katkısı % 5 gibi önemsenmeyecek bir oran teşkil etmektedir. Kolesterol açısından bakıldığında peynirin kolesterol oranının da oldukça düşük olduğu görülmektedir. Yağ miktarına bağlı olarak peynirde 0-100 mg/100 gr değerleri arasında bulunan kolesterolün alımında peynirin katkısı % 3-4'lük bir paya karşılık gelmektedir. Kuru maddede yağ oranı % 40-50 olduğunda istenen tipik aroma oluşmakta ve tüketici, aromaya ve kaliteye etki ettiğinden dolayı yağlı peyniri tercih etmektedir (20).

Sütte bulunan laktoz, peynir altı suyuyla atılmakta ve peynir pıhtısında kalan kısmı da olgunlaşma periyodunda laktik aside dönüşmektedir. Bu yönüyle peynir, laktoz malabsorbsiyonu bulunanlar ile diabetikler için uygun bir gıda olma özelliğine de sahiptir (20).

Peynir, vücudun kalsiyum ve fosfor ihtiyacının sağlanmasında çok önemli bir kaynaktır. Gıdalarda kalsiyum-fosfor oranının 1'den fazla olması istenmektedir. Günlük olarak 100 gr yumuşak peynir tüketen bir kişi kalsiyum-fosfor ihtiyacının % 50'sini, 100 gr sert peynir tüketen bir kişi ise günlük kalsiyum-fosfor ihtiyacının tamamını peynirden karşılayabilmektedir (25). Peynirde mevcut sodyum, NaCl halinde bulunur ve bu miktar da peynirin hazırlanma şekline göre farklılık gösterebilmektedir. Tuz, peynirde olgunlaşmayı düzenlerken suyun tutulmasını ve kazeinin şişmesini de sağlamaktadır (23).

Yağda eriyen vitaminler olan A, D, E ve K peynirdeki yağ miktarına paralel oranlarda bulunmaktadır. Çok yağlı peynirlerde % 20-30 olan yağ oranına paralel olarak yağda eriyen vitamin oranı da süttekine oranla 5-8 kat fazla bulunabilmektedir. Suda eriyen vitaminler açısından bakıldığında ise, pek çoğu peynir altı suyuna geçtiğinden

durum daha farklılık göstermektedir. Tiamin ve niasininin %10-20'si, riboflavinin ve biotinin % 20-30'u, pridoksin ve pantotenik asidin % 30-60'ı peynirde kalmaktadır. B komplex vitaminler B_{12} haricinde genelde düşük miktarlarda bulunurlar. Peynir altı suyuyla oluşan kayıba rağmen peynir mikroflorası B grubu vitaminleri yeniden sentezleyebilir. Sentezlenen miktar, starter kültür ile peynirin çeşidine ve depolama fazına bağlı olarak değişebilmektedir (23).

Peynirlere, hijyen ve teknoloji açısından bakıldığında homojen ve bir örnek olmayan geri teknolojiye bağlı üretim tarzı pek çok işletmede günümüzde de devam etmektedir. Peynir hammaddesi olan süt, mikroorganizmalar için ideal bir besi ortamıdır. Bunlardan saprofit olanlar peynirlerin kalitesini, tat ve aromasını etkilerken, patojenler insan sağlığını tehdit etmektedir. Özellikle çiğ sütten peynir yapma alışkanlığının devam etmekte olduğu ve pek çok işletmenin geleneksel usullerle üretim yapan, hijyen bilgisinden uzak küçük işletme olduğu göz önüne alınır, satış sonrası hizmetlerin de hijyenden uzak koşullarda yapıldığı düşünülürse, ülkemiz şartlarında üretilen peynirlerin halk sağlığı açısından ne kadar sakıncalı olduğu ortaya çıkmaktadır. Ülkemizde yapılan araştırmalar bu sonuçları doğrulamaktadır (26,27,28,29,30,31,32,33,34).

2.2. Otlu Peynir Hakkında Genel Bilgiler

Otlu peynir; Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde özellikle Van, Siirt, Diyarbakır illerinde üretilen ve yöre insanının çok severek tükettiği bir süt ürünüdür. Yöresel olarak tüketilen peynirler grubuna girmektedir (35). Van'da yapılan bir araştırmaya göre, Van ilinde üretilen toplam sütün % 19'unun otlu peynire işlendiği bildirilmiştir (36).

Süt üretiminin nisan-mayıs-haziran aylarında artması ve peynire katılacak otların da bu aylarda yetişmesi sonucu peynir üretiminin büyük çoğunluğu bu dönemde olmaktadır. Otların salamura yapılarak muhafaza edilebilmesiyle üretim periyodu daha sonraki aylara da taşabilmektedir (35,37).

Üretimde kullanılan süt, esas olarak çiğ koyun sütü olmasına rağmen son zamanlarda inek sütü ve keçi sütünün kullanımı giderek artmaya başlamıştır. Koyun sütünden yapılan peynirler tat ve aroma bakımından daha fazla beğenilmekle birlikte, toplam mikroorganizma yükü inek ve keçi sütünden yapılanlara göre daha yüksektir (35).

Otlu peynire katılan otlar, baharat özelliği göstermekte ve bu da peynire özgü tat ve aroma vererek peyniri orijinal hale getirmekte ve halk arasında üriner sistem ve kalp yetersizliklerinin tedavisinde faydalı olduğuna inanılmaktadır (35). Otlu peynir imalinde yöreye özgü 5 familyaya ait 25 farklı ot kullanılmaktadır (38) .

Bu otlar arasında en çok tercih edileni sirmodur. Bunun nedeni sirmonun daha yaygın olarak yetişmesi ve peynirde arzulanan tat ve aroma oluşturmasıdır. Kekik, mendo ve heliz sirmoya göre daha az tercih edilmektedir. Bunlar isteğe göre tek tek veya karışık olarak kullanılabilmektedir. Bahar aylarında araziden toplanarak önce bol su ile iyice yıkandıktan sonra ince ince (1cm'ye kadar) kıyılmaktadır. Sirmo otu kıyılma sonrası direkt olarak % 3-8.8 tuz içeren salamuraya yatırılmakta ve böylece uzun müddet saklanabilme imkanı da doğmaktadır. Mendo yumuşak bir ot olup temizlendikten sonra kaynar suya atılmakta ve hemen soğutularak salamuraya yatırılmaktadır. Kekik otunda da haşlama işlemi dışında aynı işlem yapılmaktadır. Heliz otu ise sert ve odunsu bir yapıya sahip olup boya veren bir bitkidir. Yumuşatmak ve acımsı tadını ortadan kaldırmak için peynir suyunda veya normal suda kaynatılmakta ve sarı suyunu salınca salamuraya konulmaktadır (39).

Peynire katılacak ot miktarında bir standart belirlenmiş değildir ve yapılan araştırmalarda % 15'e varan ot oranı ile karşılaşılmaktadır. Görüntüsünün güzel olması ve geniş bir pazara hitap etmesi arzulandığında süte ağırlıkça % 1-2 oranında ot konması tavsiye edilmektedir (39).

Otlu peynirin yapımında kullanılacak olan süt, süzüldükten sonra çiğ olarak sağım sıcaklığındayken, soğumuş ise 30^0C'ye kadar ısıtıldıktan sonra 1.5-2 saatte pıhtılaşacak şekilde mayalanmaktadır. Pıhtı oluşumundan sonra bez torbalara 1 kat pıhtı 1 kat özel olarak hazırlanmış ot konarak torbanın ağzı iyice bağlanmakta ve üzerine ağırlık

konarak 4-5 saat süzülme işlemine tabi tutulmaktadır. Süzülme işlemi bittikten sonra 2-3 cm kalınlığında el büyüklüğünde kalıplara ayrılan peynir salamura yada daha çok kullanılan kuru tuzlama yöntemiyle tuzlanmaktadır (37).

Salamura usulüyle tuzlama yönteminde peynir salamurada bir müddet bekletildikten sonra teneke veya plastik kaplara konularak sonbahara kadar olgunlaştırılmaktadır (39).

Kuru tuzlama yönteminde ise peynirin üzerine kalın mutfak tuzu serpilmekte ve 3-4 gün serin bir yerde tutulduktan sonra temiz bir suyla yıkanarak fazla tuzu giderilmektedir. Bu işlemden sonra peynir direkt olarak kaplara basılmakta ve kaplara doldurma esnasında peynir kalıpları arasında boşluk kalmamasına özen gösterilmektedir. Oluşan boşluklar cacık, lor veya ufalanmış peynirle doldurulabilmektedir. Dolum işlemi tamamlanan kapların ağzına asma veya iğde yaprağı örtülmekte ve hazırlanan samanlı çamurla kabın ağzı sıvanmaktadır. Ters çevrilerek toprağa gömülen peynir kabı 3-7 ay arası isteğe göre olgunlaşmaya bırakılmakta ve tüketicinin isteğine göre yaz aylarında taze olarak da satışa sunulmaktadır (40).

Halk arasında sevilerek tüketilen ve çok geniş bir tüketim hacmi bulunan bu peynir, hijyenden uzak, atadan kalma primitif usullerle üretilmektedir. Bundan dolayı ortaya çıkan problemler 1- Hammadde ile ilgili problemler 2- Üretimle ilgili problemler 3- Paketlemeden kaynaklanan problemler 4- Üreticilerle ilgili problemler olarak sınıflandırılabilir (40). Peynir yapımı sırasında kullanılan süt, daha sağım sıcaklığındayken mayalanmakta ve işlenmekte böylece sütün bu şekilde pastörize edilmeden çiğ olarak peynire işlenmesi patojen mikroorganizmaların sütten peynire direkt geçmesine sebep olmaktadır. Bu durum da insan sağlığı üzerine büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Peynirin geleneksel usullerle üretimi sırasında kullanılan alet ve ekipmanların, üretim yerlerinin ve personelin temizliğinde hijyenik kurallara uyulmadığı bilinmektedir. Peynirin baskılama işleminde hala taş kullanılmakta, peynir kalıplarının parçalanması ise elle yapılmaktadır. Pazarlama usulleri de hijyenden uzak bu tabloya eklenebilecek bir diğer unsurdur. Doğu illerimizde ve Van'da peynirler plastik leğenlerde piramit tarzında yığınlar oluşturarak ortam sıcaklığında ve üstü açık bir biçimde satışa

sunulmaktadır (37,41). Van'da çiğ sütten imal edilmiş olan otlu peynirlerde çeşitli amaçlarla yapılan mikrobiyolojik çalışmalarda (42,43,44), pek çok patojen mikroorganizmaların ve bakteriyel kaynaklı besin zehirlenmeleri arasında önemli bir yeri olan *S. aureus*'un varlığı tespit edilmiştir.

2.3. Stafilokoklar ve *S. aureus*'un Genel Özellikleri

Stafilokoklar, Micrococcaceae familyasında yer alırlar. Morfolojik olarak oval veya yuvarlak şekilli olan stafilokoklar, kümeler şeklinde biraraya gelmiş, 0.5-1.5 μ çapında mikroorganizmalardır. Micrococcaceae familyasında Staphylococcus soyu dışında Micrococcus, Stomatococcus ve Planococcus soyları da bulunmaktadır (45). Bu genus Micrococcus'lardan anaerobik koşullarda gelişebilme, hücre duvarı kompozisyonu ve DNA'larının G+C oranlarına göre filogenetik özelliklerine bakılarak ayrılmaktadır (46).

Bu mikroorganizma, 1880 yılında Ogston tarafından yunanca üzüm salkımı anlamına gelen Staphylococcus sözcüğüyle tanımlanmış ve ilk kez Rosenbach irinli yaralardan bu bakteriyi izole ederek *S. aureus* ismini vermiştir (47).

Stafilokoklar, sporsuz bakteriler içinde çevre şartlarına ve dezenfektanlara en çok dayanan, kültürlerde 4^0C'de 2-3 ay, -20^0C'de 3-6 ay dayanma süresine sahip mikroorganizmalardır. 60^0C'deki ısıya 30 dakika dayanabilirler. Antibiyotiklere karşı çok çabuk direnç oluştururlar. Sahip olduğu penisilinaz etkisiyle penisilinin etkisini ortadan kaldırırlar (48).

Stafilokoklar, katı besi yerlerinde 1-2 mm çapında yuvarlak, düzgün, beyazdan limon sarısına kadar değişen pigmentli koloniler oluştururlar. Pigment oluşumu en iyi 20^0C'de gözlenmektedir. Yeni kolonilerde pigment oluşumu hemen hemen yokken eskidikçe lipokrom renge dönüşür. Stafilokok suşları oluşturdukları pigmente göre *S. aureus* (altın sarısı), *S. albus* (beyaz), *S. citreus* (limon sarısı) olmak üzere 3 değişik form göstermektedirler. Anaerobik ortamda pigment oluşumu görülmemektedir. Patojen

stafilokoklar kanlı agarda hemoliz yaparak α,β,δ,γ,ε kolonileri oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra patojen stafilokoklar Mac-Conkey agarda pembemsi-sarı, patojen olmayanlar ise, kırmızı-menekşe renk oluştururlar. Sıvı besiyerlerinde bulanıklık ve çöküntü yaparak çoğalırlar. Katı besiyerlerinde aerob ve anaerob ortamlarda kolayca üreyebilirler. Gram (+) olan stafilokoklar eskimiş kültürlerde gram (-) özellik verirler. (48).

Halk sağlığı açısından bakıldığında, enterotoksin oluşturanların ön plana çıktığı görülmektedir. Bunun sebebi, enterotoksijenik stafilokokların toksin tipi besin zehirlenmesi yapmalarıdır. Yani zehirlenmeye bakterinin oluşturduğu toksin sebep olmakta ve gıdada görülebilir ve hissedilebilir hiç bir değişiklik oluşturmadığı için tüketici gıdadaki bozukluğu fark edememektedir (17,18). Stafilokokal gıda zehirlenmelerinin büyük yoğunlukta *S. aureus*'tan kaynaklanması ve koagülaz (+) *S. hycus* ve *S. intermedius* tiplerinin enterotoksin sentezleme kabiliyetinin *S. aureus*'a göre çok düşük olması bu mikroorganizmayı gıda zehirlenmelerindeki rolü açısından diğer stafilokoklar arasında ön plana çıkarmıştır (13,46).

S. aureus, stafilokokların yukarıda anlatılan genel özelliklerini göstermektedir. Bu özelliklere ilave olarak *S. aureus*, Gram (+), koagülaz (+), katalaz (+), termonükleaz (+), fakültatif anaerob, sporsuz, hareketsiz, bazı suşları yalancı kapsül oluşturabilen 0.5-1μ çapında kok şeklinde bir mikroorganizmadır (49).

Bu mikroorganizmalar koagülaz, hyaluronidaz, stafilokinaz, jelatinaz, nükleaz, proteaz, lipaz, lesitinaz, fosfataz, lizozim, penisilinaz gibi enzimler salgılamaktadırlar. Bunlardan hyaluronidaz; etkenin patojenitesini artırmakta, lipaz; etkenin yağ dokulara yerleşmesini sağlamakta, penisilinaz; penisiline karşı dirençliliği artırmaktadır (48).

Enterotoksin oluşturan stafilokoklar, yüksek oranda koagülaz (+)'dir ve bu da identifikasyonlarında oldukça önemlidir. Enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşlarının hemen hepsinin koagülaz (+) olduğu belirlenmiştir (50). *S. aureus* suşlarında lesitinaz aktivitesi yüksektir. Besi yerine yumurta sarısı katıldığında suşların ürettikleri lesitinaz, yumurta sarısındaki lesitini hidrolize ederek koloni etrafında parlak bir zon oluşturarak tanımlanmayı kolaylaştırır. *S. aureus*'lar termonükleaz (+)' dirler ve ısıya dayanıklı

termonükleaz salgılarlar (46). Ortamda termonükleaz varlığı *S. aureus*'un 10^5 kob/gr sayısına ulaştığının göstergesi olarak kabul edilir (51).

2.4. Stafilokokal Enterotoksinler

Stafilokok'ların salgıladıkları toksinler ekzotoksin ve enterotoksin olarak ikiye ayrılmaktadırlar (48). Ekzotoksinler, hemolizinler, lökosidinler, lökosit sitotoksinler, eksfoliyatif toksin, Pirojenik Ekzotoksin ve Toksik Şok Sendromu Toksin 1 (TŞST)'den oluşmaktadır (52). Bunlardan hemolizinler eritrosit, lökosit, hepatositler ve insan diploid fibroblastları üzerinde sitotoksik etki göstermektedirler ve α,β,δ,γ hemolizinler olarak bölümlendirilirler. Lökosidinler sayesinde stafilokoklar fagosite edilseler dahi fagosite edildikleri hücre içinde yaşamaya devam ederler. Bir diğer ekzotoksin, yeni doğanlarda ve süt çocuklarında meydana gelen Haşlanmış Deri Sendromu'na (Staphylococcal Skin Sendrom/SSS) sebep olan eksfoliyatif toksindir. İntradermal dokunun ayrılmasına ve derinin pul pul dökülmesine sebep olmaktadır. Toksik Şok Sendrom Toksin 1 ve Pirojenik Ekzotoksin adlı ekzotoksinlerin ise, ağır bir patolojik duruma yol açan Toksik Şok Sendromu'na beraberce sebep oldukları bilinmektedir (53).

Stafilokokal enterotoksinler pirojenik toksin denen geniş ve pek çok biyolojik ve biyokimyasal özellikleri içeren süper antijen olarak adlandırılan gruba girerler. Enterotoksinler molekül ağırlığı 26000-29000 arasında ve izoelektirik nokta pH'sı 7.0-8.6 olan tek zincirli basit polipeptit yapıda özel antijen olarak kabul edilen maddelerdir. En fazla lizin, aspartik asit, glutamik asit aminoasitlerini içeren enterotoksinler 20'ye yakın aminoasitin farklı oranlarda birleşimleriyle biraraya gelmektedirler. Enterotoksinlerin pepsin, tripsin gibi sindirim sistemi kaynaklı proteolitik enzimlere dayanıklı oldukları tespit edilmiştir. Suda ve tuz solüsyonlarında da kolayca eriyebilmektedirler (46).

Enterotoksinler, ilk defa 1914' te Barber isimli şahsın stafilokokal mastitisli bir ineğin sütünü içmesiyle ortaya çıkan ve mide bulantısı semptomu gösteren akut gastrointestinal enfeksiyon oluşumuyla farkedilmiş, fakat 1930'larda Duck tarafından ispat edilene kadar ne olduğu tam olarak anlaşılamamıştır. Enterotoksinler aslında bir

ekzotoksindirler ve sindirim sistemini etkilediklerinden bu isimle anılırlar. Stafilokok enterotoksinleri, insan beynindeki kusma merkezini uyararak kusmaya sebep olduklarından dolayı aynı zamanda nörotoksin etkisi de gösterirler (47).

Enterotoksinler suşa özgü olmakla beraber, bir suş birden fazla toksin üretebilmektedir (17). Serolojik olarak belirlenen 7 toksin (A, B, C, C_2, C_3, D, E) olduğu belirtilmiş ise de (54,55,56,57,58,59,60,61), toksin şok sendromu yapan ve TST-1 olarak adlandırılan bir toksin (F) (62) ile son zamanlarda belirlenen G-H toksini (63,64,65) ile 10 çeşit enterotoksin olduğu bildirilmiştir (66). İnsanlardan izole edilen suşlarda daha çok A, B ve C tiplerine, sığırlardan izole edilen suşlarda özellikle C tipine, tavuklardan izole edilen *S. aureus* suşlarında ise D tipi enterotoksine rastlanmaktadır (1). Enterotoksin A sentezi bakteriyel üremenin logaritmik ve duraklama safhalarında olurken (67), enterotoksin B sentezi ise bakteriyel üremede duraklamanın başladığı safhada gerçekleşmektedir (48). Stafilokokal enterotoksin C oluşturan suşlar medyumlarda iyi gelişirken, gıdalardaki iç faktörler ve yarışmacı mikroorganizmalar enterotoksin C oluşumunu geciktirmektedirler (68).

Enterotoksinler genelde ısıya karşı dirençli olup konservelerde ancak konservasyon işlemi sırasında inaktive edilebilmektedirler. Enterotoksinlerin inaktivasyon sıcaklıkları üzerine yapılan çalışmalarda enterotoksinlerin 100^0C'de 30 dk'da inaktive oldukları bildirilmiş, enterotoksin B'nin ise, ısıya en dayanıklı toksin olduğu belirlenmiştir (13).

İntoksikasyonun şiddeti alınan toksin miktarına bağlıdır (69). Evenson ve ark. (70)'na göre 100-200 ng enterotoksin A'nın alınması ile gıda intoksikasyonu oluşur. Raj ve Bergdoll (71)'de bunu enteroroksin B için 20-25 μg olarak belirlemişlerdir. Gıda intoksikasyonlarına en çok A toksinin neden olduğu ve bunu B ve D toksininin izlediği birçok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir (68,72,73,74). Stafilokokal besin zehirlenmelerinin önde gelen 2 klinik semptomu kusma ve ishaldir. Zehirlenme, enterotoksinli besinin alınmasından 1-6 saat sonra meydana gelmektedir. Semptomların süresi ve ağırlığı alınan enterotoksin miktarına, hastanın yaşı ve kilosuna bağlı olarak değişmekte olup, kusma, öğürme, abdominal sancı ve salivasyon gibi belirtiler görülmekte ve semptomlar 24-48 saat kadar sürmektedir. Nadir de olsa dışkı ve kusmukta kan, şahısta baş ağrısı ve terlemeye rastlanmakta ve ölüm nadiren görülmektedir (47).

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Besin zehirlenmesiyle oluşan akut gastroenteritiste mukozalarda hiperemi ve erozyon, kaslarda irritasyon sonucu kasılmalar, bölgesel ödem ve jejunum mukozasının epitel hücrelerinde mitokondriyal tahribat ortaya çıkar. Enterotoksinler, bağırsağın lumeninden suyun absorbsiyonunu inhibe ederek ve ishalin oluşmasına yol açan faktörlerin transferine neden olarak ishale sebep olmaktadır (13,47). Bu tablonun haricinde geniş spektrumlu antibiyotik kullanan ve dışkıdan *S. aureus* izole edilen hastalarda bağırsaklarda enterotoksin sentezine bağlı olarak nekrozis ve pseudomembranlı enterocolitis oluştuğu bildirilmiştir (13).

2.5. Enterotoksinlerin Tespitinde Kullanılan Metotlar

Enterotoksinlerin teşhisi için pratikte hayvan deneylerine ve serolojik testlere başvurulmaktadır. Maymunlarda yapılan denemeler pratik olmamakta ve hayvan denemelerinden tam anlamıyla netice alınamamaktadır. Bundan dolayı basit jel diffüzyon testi, pasif aglütinasyon testleri ve radioimmunoassay florosan antikor tekniği gibi antijen-antikor reaksiyonları teşhiste ön plana çıkmaktadır. Besinlerde enterotoksin saptanmasında ise, son zamanlarda enzim linked immunosorbent assay (ELISA) testlerinin kullanımı artmış bulunmaktadır (13).

Enterotoksin belirleyen metotlar her bir enterotoksine karşı spesifik antikorun kullanılmasına yöneliktir. Bu metotlarda toksin antikor reksiyonlarının sonuçları agar üzerinde presipitasyon oluşumuyla kolayca gözlenebilir. Bu metotlar, optimum-sensitivity-plate metodu (OSP), mikroslide tekniği ve maymun besleme testleridir. OSP metodunda kültür filtratında enterotoksin varsa presipitat hattı oluşmaktadır. Bu metodun hassasiyeti kültür filtratlarında 100 ng/ml'dir. Mikroslide metodunun kullanımı pratik değildir ve uzun süren ekstraksiyonlardan dolayı gıdalarda kullanımı sınırlıdır. Maymun besleme metodu biyolojik metotların içinde en hassasıdır. Bu metot da 50 ml test örneği kataterle genç Rhesus maymunun midesine verilir ve 5 saat içinde kusma görülürse örnekte enterotoksinin var olduğu kabul edilir. Bu metot pahalı olduğu için nadiren kullanılır (13).

Gıdalarda enterotoksin tayininde, kültürlerden enterotoksin tayini için kullanılan metotlardan daha hassas olan metotlara ihtiyaç vardır. Gıda zehirlenmesine neden olan gıdalarda 1-5 μg /gr seviyelerinde toksin bulunduğundan dolayı enterotoksinin tespiti kolaydır. Ancak, enterotoksin miktarı bu seviyelerin altında olduğunda da tespit edebilecek hassasiyete sahip metotların kullanılması gereklidir. Burada kullanılan metot ne kadar basit ekstraksiyon mekanizmasına sahipse o kadar hassastır. Gıdalarda enterotoksin tespitinde mikroslide tekniği, radioimmunoassay (RIA), enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) ve reversed plate latex aglütinasyon (RPLA) metotları kullanılmaktadır. Mikroslide tekniği 50-100 ng/ml hassasiyete sahiptir. Radyoimmunassay metodu güvenilir olmasına rağmen az kullanılmaktadır. Bunun sebebi radyoaktif materyal ve pahalı ekipman kullanımıdır. Bu metodun hassasiyeti 0.3-0.5 ng/gr'dır. ELISA metodu'nun hassasiyeti RIA ile aynıdır ve gıdalarda enterotoksin tespitinde kullanılan en geçerli metotlardan biridir. Bir test pleytinde birden fazla analiz yapılabilmektedir. RPLA metodunda latex partikülleri spesifik antikorlarla kaplanır ve daha sonra gıda ekstraktı ilave edilerek reaksiyon oluşur. Bu prosedürde mikrotitrasyon pleytlerinde aglütinasyon çıplak gözle görülebilir ve bu metodun hassasiyeti de RIA ve ELISA metotlarının hassasiyetiyle aynıdır (13).

2.6. *S. aureus*'un Gelişimini ve Enterotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

S. aureus'un gelişimini, *S. aureus'* ların yoğunluğu, rekabetçi flora, laktik starter kültür, gıdanın ortamı, ısı, pH, tuz miktarı, a_w değeri, oksijenin mevcudiyeti gibi pek çok faktör etkilemektedir (13,16,18). *S. aureus*'un gelişimi üzerinde başlangıç inokulasyon veya kontaminasyon seviyesinin önemli bir yeri vardır. *S. aureus*'un başlangıç inokulasyon veya kontaminasyon seviyesi düşükse gelişimi zayıf olmakta, sayısal yoğunluk fazlaysa mikroorganizmanın gelişimi iyi olmaktadır (75).

Enterotoksinlerin oluşumunu, enterotoksijenik *S. aureus*'ların yoğunluğu, ortamda doğal mikrofloranın bulunması, ortamın ısısı, pH'sı, tuz miktarı ve aerobik şartları etkilemektedir (13,16,18). Enterotoksin oluşumu için, ortamda bulunan enterotoksijenik *S. aureus*'ların belirli bir sayısal yoğunluğa ulaşması gereklidir. Genel itibarıyla ortamda

10^5-10^6 kob/gr *S. aureus* bulunduğunda toksin oluşabileceği bildirilmektedir (76,77). Enterotoksijenik *S. aureus*'un sayısına bağlı olarak oluşan enterotoksin miktarının da değiştiği bildirilmektedir (78,79).

2.6.1.Gıda içeriğinin etkisi

S. aureus'ların gelişimi için gıda ortamında azot, karbonhidrat, vitamin ve minerallerin bulunması gereklidir (80). Favorite ve Hammon (81), asit kazein hidrolizat, glikoz, B_1 vitamini ve nikotinik asidin enterotoksin üretimini desteklediğini bildirmiştir. Surgalla ve ark. (82), çalışmalarında nitrojen kaynağı olarak 2-16 asit içeren ortamlarda enterotoksin tespiti yapılabildiğini ve 3 aminoasitli ortamlarda glikoz olmazsa *S. aureus*'un gelişmediğini bildirmişlerdir. Miller ve Fung (83), *S. aureus* S6 suşunun, arjinin, sistin, lökosin, fenilanine, prolin, valin, 6 farklı inorganik tuz, 4 değişik vitamin ve enerji kaynağı olarak monosodyum glutamat içeren sentetik medyumda ürediğini ve enterotoksin sentezlendiğini saptamıştır. Wu ve Bergdoll (84), protein hidrolizat tozunu kromotogrofiye tabi tutmuş, 18 fraksiyon belirlemiş ve bunlardan 5'inin stafilokok enterotoksin B üretimini teşvik ettiğini bildirmiştir. Casman ve Bennet (85), kalsiyum pentotat, L-sistin, triptofan, magnezyum, sülfat, glikoz, nikotinik asit ve tiamin içeren asit hidrolizat medyumun *S. aureus*'un üremesinde ve enterotoksin oluşumunda iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Bergdoll (86), *S. aureus*'un gelişiminde, %3 protein hidrolizat tozu + %3 N-2 amine NAK (%0.00005 tiamin ve %0.01 niacin ileve edilmiş) içeren medyumu tercih etmiştir. Peters (87), enterotoksin üreten ve üretmeyen *S. aureus* suşlarının temel besin ihtiyaçlarının değişmediğini belirlemiştir. Morse ve Mah (88), glikozun parçalanma ürünlerinin enterotoksin B sentezi üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Markus ve Silverman (89) ise, % 5 glikoz ilavesinin enterotoksin A üzerinde etkisi olmadığını tespit etmişlerdir.

Besin maddeleri arasında dondurulmuş tavuk, yağ, patates, salam, süt, kremalı fırınlanmış ürünler gibi süt mamulleri *S. aureus*'ların üremesi için ideal ortamlardır (1). Buna ilave olarak pastörize sütlerden yapılan peynirlerin, çikolatalı sütlerin, tereyağının, dondurmanın, genova tip fermente sosislerin, patates ve çeşitli et salatalarının ve bir Japon mahalli yemeği olan pirinç köftesinin zehirlenmeye sebep olduğu bildirilmiştir (13).

2.6.2. Su aktivitesinin (a_w) etkisi

S. aureus'un en belirgin özelliklerinden biri düşük a_w'de gelişebilmesidir (90). Tatini (80), *S. aureus*'un gelişebildiği minimum a_w'nin 0.83 olduğunu ve 0.83-0.99 a_w aralığında gelişebildiğini bildirmektedir. Scott (91) ise, *S. aureus*'un gelişimi için minumum a_w'nin 0.86 olduğunu bildirmiştir.

Segalove ve Dack (92), et ürünlerinde % 20 veya daha az rutubetin *S. aureus*'un gelişimini inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Labuza ve ark. (93), *S. aureus*'un gelişiminde sadece a_w'nin değil onun yanında gıda ortamının diğer faktörlerinin de önemli olduğunu bildirmiş ve domuz karkasında a_w 0.84'te gelişen *S. aureus*'un soğuk dondurulmuş karkasta 0.90'da gelişemediğini saptamışlardır. *S. aureus*'un domuz infizyon medium'da 0.83 a_w'de gelişebildiği bildirilmiştir (94).

Notermans ve Heuvelman (95), stafilokokal enterotoksin A'nın oluşumunun a_w'nin düşmesiyle etkilendiğini ve miktarının azaldığını, a_w'nin düşmesiyle enterotoksin B oluşumunun ve miktarının enterotoksin A'dan daha çok etkilendiğini, a_w 0.93'e düştüğünde enterotoksin B'yi oluşturmadığını, enterotoksin C oluşumunun, ortamın a_w'sinden enterotoksin A ve B'den daha fazla etkilendiğini bildirmiştir. Bergdoll (13), enterotoksin A'nın, enterotoksin B'den daha düşük a_w'de oluşabildiğini, enterotoksin A'nın gıdalarda yapılan denemelerde a_w 0.90'nın altında oluşurken enterotoksin B'nin 0.90 ve daha yüksek a_w'de oluştuğunu ve enterotoksin A ve B için optimum a_w'nin 0.99 olduğunu bildirmiştir.

2.6.3. pH'nın etkisi

Tatini (80), *S. aureus*'un optimal üreme pH'sını 6.0-7.0 olarak ve gelişim pH aralığını da 4.0-10.0 değerleri arasında bildirmiştir. *S. aureus*'un üreyebileceği daha düşük pH değerlerine ilişkin araştırmalardaki veriler oldukça farklılık göstermektedir. Notermans ve Heuvelman (95), bu pH değerinin 4.4-4.5 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

S. aureus'un tuza diğer mikroorganizmalardan daha dayanıklı olduğu ve tuzun varlığında pH'nın yükseldiği, bu durumun *S. aureus'un* gelişimini ve enterotoksin oluşturmasını sağladığı bildirilmiştir (13). *S. aureus'un* minimal gelişim pH'sı, suşa, pH ayarlamak için kullanılan aside göre değişir (96). Nunheimer ve Fabian (97), *S. aureus'un* çeşitli asitlere farklı hassasiyet gösterdiğini ve bu etkinin asetik> sitrik > laktik > tartarik> hidroklorik asit sıralaması şeklinde olduğunu ifade etmiştir. Çeşitli peynirler üzerinde yapılan çalışmalarda (78,98,99,100,101,102,103,104,105,106), olgunlaşma periyodunda pH'nın *S. aureus'un* gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir.

Enterotoksinin minimum üretildiği pH 4.0, optimum üretildiği pH 6.0-7.0, maximum pH 9.8'dir (80). Enterotoksin B'nin oluşumunun pH'nın yükselmesine bağlı olduğu, enterotoxin miktarının pH'nın yükselmesiyle doğru orantılı olduğu, pH 5 ve altında enterotoksin B'nin oluşumunun oldukça düşük olduğu, fakat *S. aureus* gelişiminin bu pH'da iyi olduğu bildirilmiştir (87). Troller (90), *S. aureus'un* gelişimi için maksimum pH'nın 9.5'tan 9.8'e kadar değişebildiğini, enterotoksin oluşumunun pH 9.0'un üstünde olmadığını ve pH 8.0'in üstünde enterotoksin sentezinin %50 düştüğünü, pH 5.0 ve altında enterotoksinlerin çok az oluştuğunu veya oluşmadığını, enterotoksin B ve C için optimal değerin 6.8 iken enterotoksin A'nın optimal olarak pH 5.3-6.8 aralığında oluştuğunu bildirmiştir.

2.6.4. Isının etkisi

Mezofilik bir mikroorganizma olan *S. aureus*'un optimal üreme sıcaklığı 37^0C'dir. Gelişim aralığının ise 7.0-47.8 ^{0}C olduğu bildirilmektedir (80). Mossel ve ark. (107), anaerobik şartlarda *S. aureus'un* gelişimi için minimum ısı 7 ^{0}C iken toksin oluşumunun 10 ^{0}C'nin altında olmayacağını ifade etmişlerdir.

Stafilokokların, donma derecelerinin altındaki derecelerde inaktivasyonuna, salmonella ve *E. coli* gibi Gram (-)'lerle kıyaslandığında çok dayanıklı olduğu bildirilmiştir (106).

Enterotoksin oluşumu 10-46^{0}C'ler arasında meydana gelirken optimum üretim ısısı 40-45^{0}C'dir (80). Troller (90), enterotoksin üretimi için optimal ısının 35-39 ^{0}C olduğunu, enterotoksin oluşumunun 9-45 ^{0}C aralığında olduğunu ve bu değerlere yaklaştıkça enterotoksin miktarının azaldığını bildirmiştir. Notermans ve ark. (68), sıcaklığın enterotoksin C'nin oluşumunu kesin olarak etkilediğini ve enterotoksin C'nin oluşumunun 12-16 ^{0}C arasındaki sıcaklıklarda nadir olarak gözlendiğini bildirmişlerdir.

Enterotoksin B oluşumu için optimum ısının 37 ^{0}C olduğu, laboratuvar şartlarında optimum derecelerin üstünde ve altında enterotoksin B oluşumunun aynı *S. aureus* sayısında daha az miktarlarda olduğu bildirilmiştir (79). Mc Lean ve ark. (108), BHI'ye *S. aureus*'u inokule etmişler, 112 saat sonra 16, 20 ve 37 ^{0}C'lerde *S. aureus*'un gelişimini benzer bulmuşlar ancak, enterotoksin B oluşumu sıcaklık artışıyla beraber sırasıyla 8, 20, 34 mg/ ml olarak gerçekleşmiştir. Segalove ve Dack (109), 18 ^{0}C'de en az 3 günlük inkubasyondan sonra kültürel materyalde enterotoksin oluştuğunu ve *S. aureus* S6 ve 137 suşlarının enterotoksin B'yi optimum olarak 40 ^{0}C'de oluşturduğunu bildirmişlerdir. Ancak *S. aureus*'un üremesi ve enterotoksin A ve B'nin oluşumu Notermans ve Heuvelman (95) tarafından 12 ^{0}C'nin altındaki sıcaklıklarda saptanmıştır.

2.6.5. Oksijenin etkisi

S. aureus optimum olarak aerobik şartlarda gelişmekle birlikte fakültatif anaerobik şartlarda da gelişmesini sürdürebilmektedir (80). Stafilokokların anaerobik ve aerobik koşullarda iyi ürediği ancak, anaerobik koşullarda biraz daha yavaş ürediği bildirilmiştir. Enterotoksin oluşumunun anaerobik koşullarda olduğu söylenmesine rağmen vakum paketlerde enterotoksin oluşumu görülmediği belirtilmiştir (13). Stafilokoklar hem aerobik hem de anaerobik koşullarda iyi üreyebilirken, enterotoksin oluşumunun anaerobik şartlarda daha az miktarda olduğu bildirilmiştir (90).

Christiansen ve Foster (110), vakum paketlemede oluşan anaerob atmosferin *S. aureus*'un gelişimini geciktirdiğini bildirmiştir. Enterotoksin, optimum olarak aerobik ortamda oluşmakta ise de hem aerobik hem de anaerobik ortamlarda rahatça oluşabildiği belirtilmiştir (80). Barber ve Deibel (111), kontamine edilmiş fermente sucuklarda stafilokokal gelişimin sucuğun periferinde oluştuğunu, oksijen konsantrasyonunun % 10'a düştüğü iç kısımlarda enterotoksin oluşumu olmadığını bildirmiştir. Baird-Parker (79), stafilokok'ların sayısının 10^7-10^8 kob/gr'a ulaşmasına rağmen enterotoksin B ve D sentezinin anaerob koşullarda daha az olduğunu tespit etmiştir. Mc Lean ve ark. (108), 30 ^{0}C'de inkubasyondan sonra aerobik kültürde enterotoksin B miktarını, N_2 + CO_2 95:5 oranında olan anaerobik ortamdan 10 kat fazla belirlemişlerdir. Genigeorgis ve ark. (112), enterotoksin B oluşumunun kürlenmiş jambonda anaerobik koşullarda daha az miktarlarda oluştuğunu tespit etmişlerdir. Tatini (80), enterotoksin A, B, C ve D'yi kısmi vakumda muhafaza edilmiş dilimlenmiş bologna salamında tespit ettiğini bildirmiştir. Barber ve Deibel (111), oksijen yoğunluğunun enterotoksin A'nın oluşumunu etkilediğini, oksijenin olmadığı ortamlarda *S. aureus*'un 1.0 x 10^8 kob/gr sayısına ulaşmasına rağmen enterotoksin A oluşumunun görülmediğini, enterotoksin A'nın % 5 ve daha yüksek oksijenin olduğu ortamlarda tespit edildiğini ve enterotoksin oluşumunun arttığını, % 10 oksijen bulunan ortamda 4.0 x 10^7 kob/gr *S. aureus* ve % 5 oksijen bulunan ortamda 1.5 x 10^8 kob/gr *S. aureus* varlığında enterotoksin A oluşumunun gözlendiğini bildirmişlerdir.

2.6.6. Rekabetçi mikrofloranın etkisi

S. aureus'un inhibe edilmesinde laktik starter mikroorganizmaların oluşturduğu bakteriyosinlerin etkili olduğu belirtilmektedir (46). Süt mikrobiyolojistleri iyi bir starter aktivitesinin peynirin olgunlaşma periyodu boyunca *S. aureus*'un gelişimini engellemek için temel faktör olduğunun bilincindedirler. Starterdeki laktik asit bakterileri stafilokokların gelişimini engellemektedir (90). Peynir gibi fermente gıdalarda, kullanılan laktik starter kültür tipinin ve yüksek aktivite göstermesinin *S. aureus*'un gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (80,90).

Serratia marcessens'in bir suşu ve *E.coli*'nin 2 suşunun 35 ^{0}C'deki pişmiş ette enterotoksin A oluşumunu engellediği, ancak *S. aureus*'un gelişimini engelleyemediği

bildirilmiştir (113). Peterson ve ark. (114), saprofitik ve psikrofilik bakteri türlerinden oluşan karışık kültürlerin *S. aureus*'un gelişimini baskıladığını belirtmişlerdir. Bu baskı, toplam bakteri populasyonunun stafilokokal bakteri populasyonundan daha fazla olduğu durumlarda önemli olmaktadır. Oberhofer ve Frazier (115), 66 farklı mikroorganizmanın *S. aureus*'un gelişimi üzerine etkisini incelemişler ve en etkili mikroorganizmaların *Streptococcus faecium, Streptococcus faecalis var. liquifaciens* ve nisin üreten *Lactococcus lactis* olarak saptandığını bildirmişlerdir. Iandole ve ark. (116), *S. aureus*'un gelişimi üzerine *Streptococcus diasetillactis* ve diğer laktokokların inhibe edici etkisi olduğunu ve *S. aureus*'un başlangıç değerinin önemli olduğunu belirtmişlerdir. Haines ve Harmon (117), 15 tür laktik asit bakterisinin *S. aureus*'un gelişimi üzerine etkisini incelemişlerdir. En etkili inhibitör mikroorganizmaları laktokoklar ve *Pediococcus cerevisiae* olarak belirlemişler, laktobasiller ve lökonostokları *S. aureus*'un gelişimini engelleyemediğini bildirmişlerdir. Truby ve Bennet (118), *Proteus mirabilis, Salmonella schotmuelleri* ve *Enterobacter aerogenes*'in *S. aureus*'un gelişiminini engellediğini saptamışlardır. Kao ve Frazier (119), *Streptococcus faecalis, Streptococcus faecium, Lactobacillus lactis, Lactobacillus brevis* ve *Leuconostoc mezenteroides*'in *S. aureus*'un gelişimini stimule ettiğini bildirmişlerdir. Mc Coy ve Faber (113), ortamdaki yarışmacı mikroorganizmaların, *S. aureus*'un gelişimini inhibe edemediğini ve ulaşabileceği maksimum total sayıyı etkileyemediğini bildirmişlerdir. Çeşitli peynirler üzerinde yapılan çalışmalarda (75,102,106,120,121,122,123,124,125), süte katılan starter kültürün ve çiğ sütün doğal florasının *S. aureus*'un gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir.

Gıdada bulunan yarışmacı mikroflora enterotoksin oluşumunu inhibe eden en önemli faktörlerin başında gelmektedir (18,75). Doğal mikroflorası ısı uygulaması gibi işlemlerle elimine edilmiş gıdalarda, sonradan enterotoksijenik *S. aureus*'un kontaminasyonuyla enterotoksin oluşumu sıkça meydana gelebilmektedir. Gıdanın doğal mikroflorası ile enterotoksijenik *S. aureus*'un arasındaki oranın büyük olduğu durumlarda, yani yarışmacı mikroflora sayısının *S. aureus* sayısından nispeten düşük olduğu durumlarda enterotoksin sentezi engellenememektedir (13). Tatini ve ark. (126), çiğ sütte *S. aureus*'un rekabetçi mikrofloradan önemli derecede etkilendiğini, ısı işlemi görmüş sütlerde daha kolay ürediğini ve toksin oluşturabildiğini bildirmişlerdir. Çeşitli peynirler

üzerinde yapılan çalışmalarda (75,106,120), çiğ sütün doğal florasının enterotoksin oluşumunu inhibe ettiği bildirilmiştir.

2.7. *S. aureus*'un Kontaminasyon Yolları ve Epidemiyolojisi

S. aureus ubiquiter (her yerde bulunma) özelliğine sahip bir mikroorganizmadır. *S. aureus*'un gıdalara bulaşması genel itibariyle insanlar, hayvanlar ve ekipmanlar vasıtasıyla olmaktadır (1,127).

Yapılan saha çalışmalarında, *S. aureus*'un sağlıklı insanların burun deliği mukozasında % 4-60 ve derilerinde % 5-20 oranında bulundukları ortaya konmuştur (46). Ülkemizde gıda işleme ve pazarlama alanında çalışan personel üzerinde Gaziantep piyasasında yapılan bir araştırmada (128), çalışan bireyler, imalatçılar ve dağıtıcılar olarak ikiye bölünmüş 1.grupta yer alan fırıncı ve yemekhane personeli gibi imalatçılardan oluşan 74 kişiden alınan örneklerin %29.8'inin burun, %25.7'sinin el-tırnak, %5.4'ünün boğaz kültürlerinden *S. aureus* izole edilmiş, yine 2. grupta yer alan kasap, büfeci, çaycı, kantinci ve bulaşıkçı gibi meslek sahiplerinden oluşan 103 kişiden alınan örneklerin %27.2'sinin burun, %33.1'inin el-tırnak, %4.9'unun boğaz kültürlerinden *S. aureus* izole edilmiştir. Hacıbektaşoğlu ve ark. (129), gıda sanayiinde çalışan 450 personelin *S. aureus* açısından portörlüğünü incelemişler, 54 personelin (%12) portör olduğunu bunların 46'sının (%85.2) nasal *S. aureus* taşıyıcısı olduğunu belirlemişlerdir. Diğer bir araştırmada Kaya ve Metintaş (130), besin işlerinde çalışanlarda *S. aureus* taşıyıcılığını araştırmışlar, boğazdan, burundan ve ellerden alınan örneklerin sırasıyla % 1.7, % 21, ve % 7.8'inde *S. aureus* izole etmişlerdir.

Gıda işleyicilerinin yanı sıra sağım personeli bulaşmada önemli bir yer tutmaktadır. Bu kişilerin portör olması, elle sağımın yapıldığı işletmelerde cilt ve üst solunum yolları vasıtasıyla mikrokok ve stafilokok türleri başta olmak üzere pek çok mikroorganizmanın süte geçişini sağlamaktadır (131).

Johnson ve ark. (132), süt ineği sürülerinde subklinik mastitis olgularının % 40-50 oranında seyrettiğini ve mastitis olgularının % 95'inin stafilokokus ve streptokokus türlerinden meydana geldiğini bildirmişlerdir. Gülhan (133), Van ve yöresindeki, çeşitli büyüklüklerdeki süt işletmelerinde mastitis şüpheli 151 baş sağmal inekten alınan süt numunelerinin %32.55'inden *S. aureus* izole edildiğini bildirmiştir.

Ubiquiter özelliğine sahip bir mikroorganizma olan *S. aureus* havada, toprakta ve suda bulunur. Gıda işletmelerinde dezenfeksiyonun yapılmadığı veya eksik yapıldığı işletmelerde alet ve ekipmandan kaynaklanan sekonder kontaminasyonlar çok önemli bir yer tutmaktadır. Bunların başında gerektiği gibi temizlenmemiş ve dezenfekte edilmemiş sağım ekipmanları ve süt kapları gelmektedir. Bu ekipmanlarda kalan süt artıkları mikroorganizmalar için mükemmel bir besi yeri olma özelliğini taşımakta ve sağım arası periyotlarda hızla artarak yüksek rakamlara ulaşmakta ve bir sonraki periyotta sütü enfekte etmektedir (131).

S. aureus halk sağlığı için büyük bir tehlike olup aşağıda da gösterildiği gibi çeşitli gıdalar vasıtasıyla pek çok zehirlenmeye sebep olmuştur.

Bean ve ark. (134), 1988-1992 yılları arasında ABD'de meydana gelen gıda kaynaklı zehirlenmeleri incelemişler, gıdalardan kaynaklanan 2423 vakadan 77373 kişinin etkilendiğini ve gıda zehirlenmelerinin %79'unun bakteriyel kökenli olduğunu belirtmişlerdir. Toplam gıda zehirlenmeleri içinde, *S. aureus*'tan kaynaklananları 1988 yılında %1.8, 1989 yılında % 2.8, 1990 yılında % 2.4, 1991 yılında % 1.7 ve 1992 yılında % 1.5 olarak saptamışlar ve ölüm görülmediğini bildirmişlerdir.

Bryan (135), ABD'de 1900-1982 yılları arasında süt ve süt ürünlerinden kaynaklanan zehirlenmelerin istatistiğini çıkarmıştır. Bu tarihler arasında stafilokokal intoksikasyonun toplam 119 vakaya sebep olduğunu, peynirlerden kaynaklanan 7 stafilokokal intoksikasyon bulunduğunu bildirmiştir.

ABD'de 1973-1987 yılları arasında kayıtlara geçmiş 237545 insanı kapsayan 7458 besin zehirlenmesi görülmüş, bunların %66'sının bakteriyel kökenli olduğu, bakteriyel kökenli zehirlenmelerin de %14'ünün *S. aureus* tarafından oluşturulan toksinlerle meydana geldiği saptanmıştır (136).

İngiltere'de 1969-1990 yılları arasında kayıtlara geçmiş 359 toplu stafilokok zehirlenmesi görülmüş, bunların %79'unda enterotoksin A tek başına veya diğer toksinlerle birlikte tespit edilmiştir. Zehirlenmelerin %85'inin et ve et ürünleri, %8'inin süt ve süt ürünlerinden kaynaklandığı saptanmıştır (137).

Todd (138), Kanada'da 1975-1984 yılları arasındaki 10 yıllık periyotta gıda kökenli zehirlenmeleri incelemiş ve *S. aureus*'un yıllık ortalama olarak 209 toplu ve 323 bireysel zehirlenmeye sebep olduğunu ve bu zehirlenmelerin 6'sının süt ürünlerinden kaynaklandığını bildirmiştir.

Alterkuse ve ark. (139), 1973-1992 yılları arasında ABD'de peynirlerden kaynaklanan gıda zehirlenmelerini incelemişler, bu tarihler arasında peynirlerin, 16 *S. aureus* intoksikasyon vakasına sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Brezilya'da 1992 yılında beyaz peynir, süt, kremalı kek ve sosisten oluşan gıdalardan kaynaklanan 30 stafilokok zehirlenmesine rastlanmış, bu zehirlenmelerden 12'sinin beyaz peynirlerden kaynaklandığı belirlenmiştir. Zehirlenmelere sebep olan beyaz peynirlerde 10^4-10^8 kob/gr arasında *S. aureus* tespit edilmiştir. Bu zehirlenmelerde enterotoksin A ve B birlikte 15, enterotoksin A ve C birlikte 2, enterotoksin A ve B 1'er ve enterotoksin C ise 4 zehirlenmeye neden olmuştur (72).

1985 yılında Ayrshire'da bir otelde bulunan 265 kişi yedikleri peynirden zehirlenerek, kusma ve ishal semptomu göstermişlerdir. Yapılan incelemelerde peynirlerde *S. aureus*' a rastlanmamış ancak enterotoksin A bulunduğu bildirilmiştir (140).

1986 yılında ABD'de Californiya'da bir konferansa katılan 230 kişiden 80'i, yemekten sonra 3 ile 14 saat arası bir periyotta akut gastroenteritis tanısıyla rahatsızlanarak hastaneye kaldırılmışlardır. Yemek servisinde sunulan Tortelini peynirinden şüphelenilmiş ve yapılan incelemede 1.0 x 10^6 kob/gr *S. aureus* tespit edilmiş olup, elde edilen suşun enterotoksin A ve C'yi kombine olarak ürettiği tespit edilmiştir. Peynirin incelenmesinde ise, sadece enterotoksin A'nın saptandığı bildirilmiştir (141).

1965 yılında ABD' de yaygın olarak tüketilen Cheddar peyniri ve bu peynire nazaran daha az tüketilen Monterey ve Keminost peynirinin sık sık salgınlara sebep olduğu, 1978 yılında çiğ sütten üretilen Cheddar peynirinden 200 zehirlenme vakası bildirilmiştir. Colby peynirinin tüketilmesi sonucu Wisconsin eyaletinde aynı yıl 87 zehirlenme vakasının meydana geldiği ve aynı eyalette 1970'de tereyağı tüketimine bağlı olarak enterotoksin A'nın sebep olduğu 24 kişiyi etkileyen bir zehirlenme vakası rapor edilmiştir (142).

Brezilya'da peynir yiyen bir ailenin 7 üyesi peyniri tükettikten 4 saat sonra şiddetli kusma semptomuyla hastaneye kaldırılmış, incelenen peynir numunelerinde 2,9 x 10^8 kob/gr *S. aureus* ve enterotoksin H tespit edildiği bildirilmiştir (66).

1977 yılında, Stafiloenterotoksikozis'e sebep olan İsviçre peynirlerinde bir partiyi temsil eden 59 parça örnek üzerinde yapılan çalışmada, 2.5 x 10^1-10^8 kob/gr arasında *S. aureus*'a rastlanmış, örneklerin çoğunda 10^4-10^6 kob/gr arasında *S. aureus* tespit edilmiştir. Peynir örneklerinde pH 5.5-5.7 değerleri arasında saptanmış ve 59 parça peynirden alınan örneklerin % 72.6'sında enterotoksin B bulunduğu bildirilmiştir (143).

2.8. Peynirlerde *S. aureus*'un Gelişimi ve Enterotoksin Oluşumu ile İlgili Olarak Yapılan Çalışmalar

Pek çok peynir çeşidinde deneysel araştırmalar yapılmış ve bunlardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Akbulut ve ark. (98), beyaz salamura peynire 10^4 kob/gr seviyesinde *S. aureus* inokule ederek pastörize edilmiş sütten yapılmış %1 oranında yoğurt katılmış ve katılmamış 2 parti halinde deneme peyniri yapmışlar ve peynirleri 90. güne kadar kimyasal ve mikrobiyolojik analize tabi tutmuşlardır. % 1 yoğurt katılmış peynirlerde *S. aureus*'un, 15. günde en yüksek değeri olan 96 x 10^6 kob/gr'a çıktığını ve düzenli bir şekilde düşerek 90. günde 17 x 10^2 kob/gr'a indiğini, % 1 yoğurt katılmamış peynirlerde ise, *S. aureus* sayısının 15. günde en yüksek değeri olan 42 x 10^5 kob/gr'a çıktığını ve düzenli bir şekilde düşerek 90. günde 8 x 10^2 kob/gr'a indiğini saptamışlardır. Çalışmada, asit ve tuz miktarındaki yükselmenin *S. aureus*'un gelişimi üzerinde etkili olmadığını belirtmişlerdir.

Arispe ve Westhoff (144), Brezilya'da beğenilerek tüketilen Queso Blonco peyniri üzerinde çalışmışlardır. Ticari olarak 4 farklı biçimde üretilen peynirler 5. güne kadar 3 ^{0}C, 5. günden 8. güne kadar 3 ve 15 ^{0}C'de depolanmışlardır. Birinci tip peynirler yüksek nem (%59) düşük tuz (%2.2), ikinci tip peynirler yüksek nem (%59) yüksek tuz (% 3.5), üçüncü tip peynirler düşük nem (%52) düşük tuz (%2.2) ve dördüncü tip peynirler düşük nem (%52) yüksek tuz (%3.5) içerecek şekilde çiğ sütten üretilmişlerdir. Birinci tip peynirde; sütte log 4.0 kob/gr olan stafilokok sayısını, 8. günde 3 ^{0}C'de log 5.51 kob/gr, 15 ^{0}C'de log 6.86 kob/gr, ikinci tip peynirde; sütte log 4.0 kob/gr olan stafilokok sayısını 8. günde 3 ^{0}C'de log 4.32 kob/gr, 15 ^{0}C'de log 4.91 kob/gr, üçüncü tip peynirde; sütte log 1.36 kob/gr olan stafilokok sayısını 8. günde 3 ^{0}C'de log 4.63 kob/gr, 15 ^{0}C'de log 7.01 kob/gr ve dördüncü tip peynirde; sütte log 1.36 kob/gr olan stafilokok sayısını 8. günde 3 ^{0}C'de log 4.51 kob/gr, 15 ^{0}C'de log 6.36 kob/gr olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, başlangıç stafilokok sayısının gelişimde önemli olduğunu, yüksek muhafaza ısısının ve imalat aşamasındaki uzun süreli inkubasyonun stafilokok sayısını arttırdığını vurgulamışlardır.

Bachmann (120), çiğ sütten sert bir tip olan Emmantel ve yarı sert bir tip olan Tilsit peynirini üretmiş ve bu peynirlere *S. aureus*'un yanı sıra pek çok patojeni de inokule ederek bu mikroorganizmaların peynirlerdeki yaşamlarını incelemiştir. *S. aureus* TI 918 (Enterotoksin A ve D) suşu her 2 peynire de log 5.5 kob/ ml civarında inokule edilmiş ve 90 günlük olgunlaşma periyodunda sert Emmantel peynirinde daha 1. günde *S. aureus*'un

bu peynirin imalat prosesindeki 53 ^{0}C'de telemenin ısıtılması işleminden dolayı yok olduğunu, yarı sert Tilsit peynirinde ise 60. güne kadar *S. aureus*'un gelişimini sürdürdüğünü belirtmiştir. Bu peynirde *S. aureus*'un 7. günde log 7 kob/ ml, 60. günde log 2 kob/ ml olarak tespit edildiğini ve çiğ sütten yapılan peynirlerde yarışmacı floranın *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin oluşumunu engellediğini bildirmiştir.

Bennet ve Amos (99), 11 farklı peynire imalat prosesleri esnasında *S. aureus* 485 (Enterotoksin A, B ve D) ve *S. aureus* 574 (Enterotoksin C ve E) suşlarından 10^4 kob/gr miktarında inokule ederek 26^{0}C'de depolamışlar ve olgunlaşma dönemlerinde enterotoksin oluşturma şartlarını incelemişlerdir. 11 farklı peynirin 5'inin toksin oluşturmadığı, 6'sının ise toksin oluşturduğu bildirilmiştir. Bunlardan Cheese-Ola peynirinde; pH 5.72 ve a_w 0.94 iken *S. aureus* 485 suşu 4. günde 3 x 10^6 kob/gr seviyesine ulaştığında enterotoksin D'yi, *S. aureus* 574 suşu 8. günde 1 x 10^7 kob/gr sayısına ulaştığında enterotoksin E'yi, Golden Image peynirinde; pH 5.90 ve a_w 0.94 iken *S. aureus* 485 suşu 6. günde 6 x 10^6 kob/gr seviyesine ulaştığında enterotoksin D'yi, *S. aureus* 574 suşu 8. günde 9 x 10^6 kob/gr sayısına ulaştığında enterotoksin E'yi, Golden Image Mıld Cheddar peynirinde; pH 5.61 ve a_w 0.96 iken *S. aureus* 485 suşu 10. günde 7 x 10^6 kob/gr seviyesine ulaştığında enterotoksin A ve D'yi, Unige-Loaf peynirinde; pH 5.60 ve a_w 0.95 iken *S. aureus* 574 suşu 10. günde 3 x 10^6 kob/gr seviyesine ulaştığında enterotoksin C ve E'yi, Pizza Mate Mozerella peynirinde; pH 5.56 ve a_w 0.96 iken *S. aureus* 485 suşu 41. günde 2 x 10^6 kob/gr seviyesine ulaştığında enterotoksin D'yi, Unige-Loaf Mozerella peynirinde; pH 5.86 ve a_w 0.97 iken *S. aureus* 485 suşu 6. günde 4 x 10^6 kob/gr seviyesine ulaştığında enterotoksin A'yı, *S. aureus* 574 suşu 10. günde 5 x 10^6 kob/gr sayısına ulaştığında enterotoksin E'yi, 42. günde 2 x 10^6 kob/gr seviyesine ulaştığında enterotoksin C'yi saptamışlardır. Araştırmacılar, pH ve a_w'nin *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin oluşumunu engellemediği, ancak peynir çeşidine göre uygun olmayan depolama sıcaklığının etkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Coşkun (43), pastörize ve çiğ sütten 2 farklı otlu peynir denemesi yapmış ve 90 günlük olgunlaşma periyodunda mikrobiyolojik, biyokimyasal ve duyusal değişimleri incelemiştir. Pastörize sütten yapılan peynirde 1. günde log 2.72 kob/gr olan *S. aureus*'un, en yüksek değeri olan log 4.74 kob/gr'a 30. günde ulaştığını ve 90. günün sonunda log

2.96 kob/gr'a düştüğünü, çiğ sütten yapılan peynirde ise, 1. günde log 3.76 kob/gr olan *S. aureus*'un, en yüksek değeri olan log 5.72 kob/gr'a 15. günde ulaştığını ve 90. günün sonunda log 3.24 kob/gr'a düştünü saptamıştır. Çiğ sütten yapılan peynirde *S. aureus* sayısının yüksek çıkmasını üretimde sütün ısıtılmamasına bağlamıştır.

Fontecha ve ark. (145), İspanya'da yaygın bir tüketimi olan Majorero peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma periyodunda mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Geleneksel olarak üretilmiş 2 farklı Majorero peynir serisinde *S. aureus* sayısının telemede 5.0×10^4 kob/gr iken 15. günde 1.0×10^5 kob/gr'a yükseldiğini ve 90. günde ortamdan tamamen kaybolduğunu saptamışlardır. pH'yı telemede 6.68 ve 90. günde 5.44, tuz miktarını 2. günde % 5.07 ve 90. günde % 3.55 olarak belirlemişlerdir. *S. aureus* sayısının düşmesini, NaCl ve a_w seviyesinin yükselmesine ve yağ asitlerinin artmasına bağlamışlardır.

Gomez-Lucia ve ark. (123), geleneksel olarak çiğ sığır, keçi ve koyun sütünden imal edilen Manchego tipi peynirde *S. aureus*'un gelişimi üzerine normal ve düşürülmüş starter aktivitesinin etkisini incelemek amacıyla, *S. aureus* FRI-100 (Enterotoksin A), S6 (Enterotoksin A ve B), FRI-137 (Enterotoksin C_1), FRI-361 (Enterotoksin C_2), FRI-472 (Enterotoksin D) suşlarından log 4.3-4.7 kob/gr miktarında inokule ederek % 0.1 ve % 1 laktik starter kültür katarak deneme peynirleri yapmışlar ve sonuçta starterin *S. aureus* sayısını düşürdüğünü ve buna bağlı olarak da denemelerin hiç birinde enterotoksine rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Gomez-Lucia ve ark. (124), pastörize süte 2.5×10^4 kob/gr *S. aureus* S6 (Enterotoksin A ve B) suşu inokule etmişler ve % 1'lik ve % 0.1'lik starter kültür katarak 2 ayrı Manchego peynir denemesi kurmuşlardır. Çalışmalarında 8 haftalık olgunlaşma periyodunda *S. aureus*'un gelişimi ve enterotoksin üretimini incelemişlerdir. % 0.1 ve % 1 starter kültür ilave ettikleri peynirlerde enterotoksin B üretimine rastlanmadığını, enterotoksin A üretiminin ise, % 0.1'lik olanda 23. günde *S. aureus* sayısının log 5.75 kob/gr ve pH 5.25 olduğunda ve % 1'likte 24. günde *S. aureus* sayısının log 5.25 kob/gr ve pH 4.75 olduğunda tespit edildiğini belirtmişlerdir. % 0.1 starter katılan denemede

S. aureus sayısının, % 1 starter katılan denemeden yüksek çıktığını ve *S. aureus* sayısına bağlı olarak enterotoksin seviyesinin de yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir.

İbrahim ve ark. (78), pastörize edilmiş sütten yaptıkları Cheddar peynirlerine ortalama log 4.32 kob/gr *S. aureus* ATCC 13565 (Enterotoksin A) inokule etmişler ve tuzlanmış ve tuzlanmamış olarak, 4 ve 11^0C'de muhafaza edilmiş farklı koşullara sahip peynir denemeleri kurmuşlar ve 6 haftalık periyotta *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin oluşumunu incelemişlerdir. 4 ve 11^0C'de depolanan tuzlanmamış Cheddar peynirlerinde enterotoksin A oluşumuna daha 1. günde rastlanmasına rağmen toksin miktarının tuzlu peynirlerden daha düşük oranlarda bulunduğunu ve 4 ve 11 ^{0}C'de muhafaza edilenler arasında pek fark olmadığını saptamışlardır. Yine 4 ve 11 ^{0}C'de depolanan tuzlanmış Cheddar peynirlerinde tuzlanmamış peynirlere nazaran *S. aureus* sayısının ve ortalama pH'nın daha yüksek çıktığını, enterotoksin A üretiminin tuzlu peynirlerde daha fazla gerçekleştiğini ve 11 ^{0}C'de depolanan tuzlanmış peynirlerde daha da fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada tuzlu peynirlerde tuzun, tuza hassas olan laktik asit bakterilerinin sayısını inhibe ettiği ve pH'nın bu yüzden daha yüksek çıktığını belirtmişlerdir. *S. aureus*'un hem halofilik olmasından hemde yüksek pH'da daha iyi gelişmesinden dolayı *S. aureus* sayısının nispeten yüksek çıkmasına bağlı olarak enterotoksin konsantrasyonunu artırdığını vurgulamışlardır.

Khalid ve Harrigan (146), 3 x 10^3 kob/gr *S. aureus* 196E (Enterotoksin A ve D) suşunu pastörize sütten yapılmış olan Sudan beyaz peynirine inokule ederek 37 ^{0}C'de 7 günlük periyotta *S. aureus*'un gelişimi ve enterotoksin oluşumunu incelemişlerdir. 1. günde *S. aureus* $5.9x10^5$ kob/gr, pH 6.4, NaCl % 7.4 ve a_w 0.93 iken, 7. günde *S. aureus*'un $8.3x10^7$ kob/gr'a, pH'nın 6.2'ye, NaCl'ün % 5.2'ye düştüğünü ve a_w'nin 0.96'ya yükseldiğini, enterotoksin A'ya ilk olarak bu günde rastlandığını ve enterotoksin D'nin ise tespit edilmediğini saptamışlardır. Enterotoksin D'nin tespit edilememesini enterotoksin D oluşumunun, daha yüksek *S. aureus* sayısı ile a_w düzeyine ve düşük muhafaza ısısına ihtiyaç duymasına bağlamışlardır.

Khalid ve Harrigan (147), *S. aureus* SD6 suşunu (Enterotoksin A ve D) 3.5 x 10^6 kob/gr miktarında pastörize edilmiş süte katarak Sudan'da tüketilmekte olan Sudan beyaz

peyniri (Jibna Baida) üretmişlerdir. Aynı telemeden yapılan peyniri, kaynatılmış peynir suyu, kaynatılmamış peynir suyu, % 8'lik, % 11'lik, % 14'lük ve % 17'lik NaCl içeren salamuralara koyarak farklı koşullara sahip peynir denemeleri kurarak 2 haftalık periyotta incelemişler ve peynir denemelerinin hiç birinde enterotoksin tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Enterotoksin tespit edilememesini, muhtemelen yüksek tuzun, iyonları vasıtasıyla bakterisid etkisine ve a_w değerini düşürmesiyle *S. aureus*'un gelişimini etkilemesine bağlamışlardır.

Kılıç ve ark. (122), pastörize sütten 2 farklı şekilde ürettikleri İzmir tulum peynirinin 6 aylık olgunlaştırma periyodunda mikrobiyolojik ve kimyasal analizlerini yapmışlardır. Starter kültür katarak ürettikleri 1. tip tulum peynirinde stafilokok tespit edememişler, ancak kültür katmadan geleneksel yöntemle yaptıkları 2. tip tulum peynirinde 1. günde 2.74×10^2 kob/gr, 2. ayda 86 kob/gr, 4. ayda 25 kob/gr stafilokok tespit etmişler ve 6. ayda ise stafilokok'a hiç rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Pastörize sütten yapılan 1. tip peynirde stafilokok tespit edilememesini ısısal işleme ve kültür kullanımına bağlamışlardır.

Mutluer ve ark. (100), çiğ ve pastörize sütten yaptıkları denemede peynirlerine 10^5 kob/ ml düzeyinde A, B, C ve D tipi enterotoksin oluşturan *S. aureus* suşlarını (SEA 100, SEB ATTC 14458, SEC F110, SED FRI- 472) ayrı ayrı inokule etmişler ve *S. aureus*'ların 60 günlük olgunlaşma periyodunda beyaz peynirlerde gelişimini ve enterotoksin oluşturma yeteneklerini incelemişlerdir. Çiğ sütten yapılan peynirlerde başlangıç pH değeri 6.7 ve tuz değeri % 3.3-3.9 olduğunu ve düzenli olarak azaldığını, *S. aureus* sayısında pıhtılaşma aşamasında pek artış olmadığını, teleme aşamasında enterotoksin A ve olgunlaşmanın 1. gününde enterotoksin D üreten suşların 10^7 kob/gr seviyesine ulaştığını, ancak enterotoksin A'nın tespit edildiğini, enterotoksin B ve C oluşturan suşların ise, 10^6 kob/gr seviyesinde kaldığını bildirmişlerdir. 60. günde enterotoksin A oluşturan suş ile kontamine peynirde *S. aureus* sayısını 1.8×10^4 kob/gr, diğer suşlar ile kontamine peynirlerde ise $< 2.0 \times 10^2$ kob/gr, pH'yı 4.6-6.9, tuz miktarını % 3.3-4.1 olarak saptamışlardır. Pastörize sütten yapılan peynirlerde inkubasyondan hemen sonra enterotoksin A, B, C ve D üreten *S. aureus* sayılarını sırasıyla 6.0×10^5, 3.9×10^5, 6.0×10^5 ve 8.3×10^5 kob/gr ve pH'yı 6.8 ve tuz miktarını % 3.3-3.4 olarak belirlemişlerdir.

Telemede bütün gruplarda 10^6 kob/gr'a ulaşan *S. aureus* sayısının 60. günün sonunda çiğ sütten yapılan peynirlere nazaran daha düşük seviyeye düştüğünü ve bu aşamada pH'nın 4.8-5.0 ve tuz miktarının % 3.2-3.5 olduğunu ve enterotoksin sentezine ise, hiçbir aşamada rastlanmadığını bildirmişlerdir. Pastörize sütlerden yapılan peynirlerde enterotoksin bulunmaması, starter kültürün sebep olduğu nispeten düşük pH'nın *S. aureus* sayısını baskılamasına bağlanmıştır

Nunez ve ark. (101), çiğ koyun sütünden yaptıkları Manchego peynirine *S. aureus* INIA 606 (Enterotoksin A, B, C ve D) ve *S. aureus* INIA 607 (Enterotoksin C) suşlarını inokule etmişler ve 60 günlük olgunlaşma periyodunda *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin üretimini incelemişlerdir. Yaptıkları 4 farklı deneme peynirinde 1. denemede 10^4 kob/gr *S. aureus* ve % 1 laktik kültür, 2. denemeye sadece 10^4 kob/gr *S. aureus* inokule etmişler, 3. denemeye 10^6 kob/gr *S. aureus* ve % 1 laktik kültür, 4. denemeye yine sadece 10^6 kob/gr *S. aureus* inokule etmişlerdir. *S. aureus*'u 1. denemede telemede, log 5.43 kob/gr (pH 6.47), 1. günde, en yüksek değeri olan log 5.49 kob/gr (pH 4.94), 60. günde, log 1.78 kob/gr (pH 5.18); 2. denemede telemede, log 5.31 kob/gr (pH 6.41), 1. günde, en yüksek değeri olan log 5.67 kob/gr (pH 4.92), 60. günde, log 1.74 kob/gr (pH 5.15); 3. denemede telemede, log 6.73 kob/gr (pH 6.47), 1. günde, en yüksek değeri olan log 7.04 kob/gr (pH 4.94), 60. günde, log 4.34 kob/gr (pH 5.18); 4. denemede telemede, log 6.86 kob/gr (pH 6.41), 1. günde, en yüksek değeri olan log 7.31 kob/gr (pH 4.92), 60. günde, log 4.36 kob/gr (pH 5.15) olarak saptamışlardır. Bilhassa 3. ve 4. denemede *S. aureus* 1. günde log 7.04 kob/gr ve log 7.31 kob/gr değerlerine kadar ulaşmasına rağmen hiçbir peynir denemesinde enterotoksine rastlanmamış ve bu durumun normal asitlik gelişiminden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Nunez (102), İspanya'da çiğ sütten yapılarak geleneksel olarak mağaralarda olgunlaştırılan Cabreles peynirinin olgunlaşma periyodunda mikroflorasını incelemiştir. 2 farklı mandırada geleneksel olarak yapılan Cabreles peynirlerinden A mandırasında yapılan denemede süt, teleme ve peynir üretiminin hiçbir aşamasında koagülaz-pozitif stafilokoka rastlanmazken B mandırasında yapılan denemede, telemede 6.0×10^3 kob/gr seviyesinde olan koagülaz-pozitif stafilokok peynirin olgunlaşmasının 4. gününde ortamdan kaybolmuş ve bunun sebebinin düşük pH olduğunu bildirmiştir.

Nunez ve ark. (103), İspanyada geniş bir tüketimi bulunan Burgos peynirinde deneysel bir çalışma yaparak *S. aureus* ve *E. cloacae*'nın gelişimi üzerine 7 günlük olgunlaşma periyodu boyunca laktik starter inokulasyonunun ve depolama sıcaklığının etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla, pastörize edilmiş koyun, keçi ve inek sütünden oluşan peynir sütüne log 3 kob/gr *S. aureus* inokule ederek % 0, % 0.01, % 0.1 ve % 1 laktik starter kültür katarak 4, 7, 10, 15 ve 20 ^{0}C'lerde depolamışlardır. Sonuç olarak, yüksek oranda starter kültür katılan denemelerde starterin oluşturduğu bakteriyosinlerin, düşük pH'nın ve yüksek sıcaklık derecelerinde depolamanın *S. aureus'un* gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

Özalp ve ark. (148), inek sütünden çiğ , pastörize ve pastörize süte starter ilave ederek 3 farklı salamura beyaz peynir denemesi kurmuşlar ve 90 günlük olgunlaşma süresince hijyen indeksi bazı mikroorganizmaların gelişimini incelemişlerdir. Çiğ sütten yapılan peynirlerde stafilokok sayısını 15. günde 8.0 x 10^5 kob/gr ve 90. günün sonunda 4.2 x 10^4 kob/gr, pastörize sütten yapılan peynirlerde 15. günde 3.5 x 10^5 kob/gr ve 90. günün sonunda 3.0 x 10^3 kob/gr ve starter ilave edilmiş pastörize sütten yapılan peynirlerde 15. günde 3.5 x 10^4 kob/gr ve 90. günün sonunda 3.0 x 10^4 kob/gr olarak saptamışlar ve 90. günün sonunda bu mikroorganizmanın peynirlerde bulunmasının yetersiz olgunlaşmadan kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Patır (104), Elazığ'da tüketilen Şavak salamura beyaz peynirinden, izole ettiği koagülaz (+) *S. aureus*'lardan 1.0 x 10^3 kob/ ml inokule ederek çiğ koyun sütünden, farklı miktarda tuz katarak 3 tip (A,B,C) peynir yapmış ve 120 günlük olgunlaşma periyodunda koagülaz (+) *S. aureus*'ların yaşamlarını incelemiştir. Koagülaz (+) *S. aureus*'u, A peynirinde 0.günde, log 5.98 kob/gr (pH 5.43), en yüksek değere çıktığı 15. günde, log 6.20 kob/gr (pH 5.88-Tuz % 4.83), 120. günde, log 4.51 kob/gr (pH 5.30-Tuz % 5.62); B peynirinde 0.günde, log 5.98 kob/gr (pH 5.43), en yüksek değere çıktığı 15. günde, log 6.05 kob/gr (pH 5.93-Tuz % 7.96), 120. günde, log 4.83 kob/gr (pH 5.55-Tuz % 8.28); C peynirinde 0.günde, en yüksek değeri olan log 5. 98 kob/gr (pH 5.43), 120. günde, log 4.39 kob/gr (pH 5.48-Tuz % 10.56) olarak saptamıştır. Sonuçta düşük pH'lı ve yüksek tuz oranındaki peynirlerde daha az *S. aureus* tespit edilmiş, pH ve tuzun *S. aureus*'un gelişimi üzerine inhibe edici bir etkisi olduğu bildirilmiştir.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Poullet ve ark. (121), kış ve bahar aylarında olgunlaştırmaya alınan Casar de Caceres peynirlerinin iç ve yüzey florasının olgunlaşma periyodu boyunca mikrobiyel değişiklikleri incelediği çalışmasında bahar aylarında olgunlaştırmaya alınan peynirlerde peynirin iç kısmında, *S. aureus* sayısının telemede, en yüksek değeri olan log 2.94 kob/gr'a ulaştığını ve 60. günde tespit edilmediğini, aynı peynirin yüzey kısmında *S. aureus* sayısının en yüksek değerine ulaştığı 15. günde log 2.72 kob/gr olduğunu ve 60. günde günde tespit edilmediğini; kış aylarında olgunlaştırmaya alınan peynirlerde peynirin iç kısmında, *S. aureus* sayısının en yüksek değerine çıktığı 4. günde log 3.04 kob/gr olduğunu, 60. günde log 1.0 kob/gr olarak belirlendiğini, aynı peynirin yüzey kısmında 4. günde en yüksek değeri olan log 3.25 kob/gr'a ulaştığını ve 60. günde log 1.78 kob/gr olduğunu bildirmişlerdir. Kışın yapılan peynirlerde *S. aureus* sayısının fazla bulunmasını, pH'nın ve nemin bahar aylarında yapılan peynirlerden yüksek olmasına, peynirlerin dış yüzeylerinde *S. aureus* sayısının iç kısımlardan fazla bulunmasını, yüzeydeki aerobik ortama ve pH'nın maya küflerden dolayı yüksek olmasına bağlamışlar ve olgunlaşma periyodu boyunca *S. aureus* sayısının düşmesini laktik asit bakterilerinin inhibitör etkilerinden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Pozo ve ark. (105), 10 adet La Serena peynirinde 60 günlük olgunlaşma periyodu boyunca iç ve yüzey kısımdaki mikrobiyel florayı ve bazı kimyasal özellikleri inceledikleri çalışmalarında, La Serena peynirinin iç kısmında koagülaz (+) stafilokok sayısını 2. günde ortalama log 4.08 kob/gr, 30. günde ortalama log 3.08 kob/gr olarak saptandığını ve 45. günden sonra belirlenemediğini, aynı peynirin yüzey kısmında 2. günde koagülaz (+) stafilokok sayısını ortalama olarak log 4.27 kob/gr, 30. günde log 3.75 kob/gr olarak saptandığını ve 45. günden sonra belirlenemediğini bildirmişlerdir. Koagülaz (+) stafilokokların gelişiminin inhibisyonunun düşük pH'dan, yükselen tuz miktarının a_w'yi düşürmesinden ve yüksek muhafaza ısısından kaynaklandığını bildirmişler, bahar aylarında üretilen peynirlerde koagülaz (+) stafilokok sayısının kışın yapılan peynirlerden daha az bulunması yüksek muhafaza ısısına, yüzey kısmında koagülaz (+) stafilokok sayısının iç kısımlardan fazla bulunmasını ise, yüksek NaCl konsantrasyonuna ve düşük a_w'ne bağlamışlardır.

Santos ve Genigeorgis (75), Brezilya'da çok tüketilen Minas peynirlerinin 28 günlük olgunlaşma periyodunda *S. aureus*'ların gelişimini ve yaşama periyotlarını inceleyen bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışma için kullanılacak peynir sütünü önce pastörize ve çiğ olarak ikiye bölmüşlerdir. Pastörize süte *S. aureus* 100, 137, 243 suşlarını starter ilave ederek ve etmeyerek kurdukları peynir denemesinde 2 farklı düzeyde inokule ederek 12 peynir denemesi, ve yine pastörize ve çiğ süte 3 suşu birlikte inokule ederek starterli ve startersiz olmak üzere 4 peynir denemesi kurmuşlardır. Çiğ sütten yapılan bütün peynirlerde *S. aureus* sayılarının pastörize sütten yapılan peynirlerden fazla çıkmasına rağmen, bu peynirlerin hiçbirinde enterotoksine rastlanmadığını, buna karşın pastörize sütten üretilen 16 adet peynirin 10'unda (%68) enterotoksin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Çiğ sütten yapılan peynirlerde enterotoksine rastlanmamasını bu tip peynirlerde bulunan doğal mikrofloranın *S. aureus*'un enterotoksijenik özelliğini baskılamasına bağlamışlardır. Çiğ sütten yapılan peynirlerin % 57'sinde, pastörize süte starter kültür katılarak üretilen peynirlerin ise sadece %15'inde *S. aureus* sayısının log 7 kob/gr'ı aşmasını, pH'nın *S. aureus* gelişimi üzerine inhibe edici etkisine bağlamışlardır.

Stecchini ve ark. (106), Montosio peynirinde 90 günlük olgunlaşma periyodunda *S. aureus*'un ve *S. typhimirium*'un gelişimini ve aynı zamanda enterotoksin A'nın üretilip üretilmediğini incelemişlerdir. Çiğ olarak kullanılan peynir sütüne 10^5 kob/gr *S. aureus* ISM 7881 (Enterotoksin A) inokule edilmiş ve starter kültür katılmış ve katılmamış denemelerde *S. aureus*'un gelişimini ve toksin oluşumunu belirlemeye çalışmışlardır. Starter katılan peynir denemesinde başlangıçta log 5.7 kob/gr'a çıkan *S. aureus* sayısının olgunlaşma periyodunun sonu olan 90. günde log 4.0 kob/gr'a, pH'nın ise 6.2'den 90. günde 5.55'e düştüğünü; starter katılmayan peynir denemesinde ise, başlangıçta log 6.5 kob/gr olan *S. aureus* sayısının, 20. günde log 7 kob/gr'a çıktığını ve olgunlaşma periyodunun sonu olan 90. günde log 6.3 kob/gr'a, pH'nın ise 6.2'den 90. günde 5.65'e düştüğünü saptamışlardır. *S. aureus* sayısı log 5.7-7.0 kob/gr seviyelerinde bulunmasına rağmen hiçbir peynir denemesinde enterotoksin A'nın saptanmadığını bildirmişlerdir. Çiğ sütten yapılan peynirlerde enterotoksin bulunmamasını bu tip peynirlerde bulunan yarışmacı mikrofloranın *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin oluşumunu engellemesine bağlamışlardır. Starter katılan peynirlerde *S. aureus* sayısının nispeten düşük olmasının,

bu peynirlerdeki düşük pH'nın *S. aureus*'un gelişimi üzerine inhibe edici etkisinden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Tayar (149), 3 farklı işletmede (A,B,C) geleneksel olarak üretilen beyaz peynir örneklerinde 90 günlük olgunlaşma periyodunda mikrobiyolojik ve kimyasal değişmeleri incelemiş ve A ve B işletmelerinden aldığı örneklerde 90. günde C işletmesinden aldığı örneklerde ise 60. günden sonra stafilokok-mikrokokların ortamdan yok olduğunu ve gruplar arasındaki stafilokok-mikrokokların sayısındaki farkın uygulanan yöntemden kaynaklandığını bildirmiştir.

Ünlütürk ve ark. (125), Beyaz peynirde *S. aureus*'un ve *Salmonella typhimirium*'un canlı kalma olasılığı üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Sütü pastörize ettikten sonra % 1 starter kültür kattıkları ve hiç starter kültür katmadıkları peynirleri % 14 ve % 18 tuzlu salamuraya koyarak 4 farklı şekilde deneme kurmuşlardır. Başlangıç pH'sı 6.35 olan süte 5.8 x 10^3 kob/gr *S. aureus* 6538 P suşunu inokule ettikleri startersiz peynirlerde 24 saat sonra *S. aureus* sayısını 8.2 x 10^3 kob/gr, pH'yı 5.22 olarak belirlemişler, bu peynirlerden daha sonra % 14'lük salamuraya konulanlarda 0. günde *S. aureus* sayısı 1.4 x 10^4 kob/gr, pH 5.17 iken 12. günde *S. aureus* sayısının en yüksek değeri olan 1.5 x 10^5 kob/gr'a ve pH'nın 5.0 değerine ulaştığını ve 90. günde *S. aureus* sayısını 4.7 x 10^4 kob/gr, pH'yı 4.92; % 18'lik salamuraya konulanlarda 0. günde *S. aureus* sayısı 1.1 x 10^4 kob/gr, pH 5.20 iken 12. günde *S. aureus* sayısının en yüksek değeri olan 2.6 x 10^5 kob/gr'a ve pH'nın 5.3 değerine ulaştığını ve 90. günde *S. aureus* sayısını 1.4 x 10^4 kob/gr, pH'yı 4.92 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Starter ilave edilen peynirlerde ise 24 saat sonra *S. aureus* sayısını 5.7 x 10^3 kob/gr ve pH'yı 5.07 olarak belirlemişler, bu peynirlerden daha sonra % 14'lük salamuraya konulanlarda 0. günde *S. aureus* sayısı 1.0 x 10^3 kob/gr, pH 4.90 iken 5. günde *S. aureus* sayısının en yüksek değeri olan 1.3 x 10^4 kob/gr'a ve pH'nın 5.1 değerine ulaştığını ve 90. günde *S. aureus* sayısını 2.0 x 10^1 kob/gr, pH'yı 4.79; % 18'lik salamuraya konulanlarda 0. günde *S. aureus* sayısı 6.0 x 10^3 kob/gr ve pH 5.08, iken 12. günde *S. aureus* sayısının en yüksek değeri olan 5.3 x 10^3 kob/gr'a ve pH'nın 5.20 değerine ulaştığını ve 90. günde *S. aureus* sayısını 8.0 x 10^2 kob/gr, pH'yı 4.70 olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. *S. aureus* sayısındaki azalma starter kültüre bağlanmıştır. Starterli peynirlerde *S. aureus* sayılarının startersiz örneklere kıyasla daha düşük

bulunduğunu, 90 günlük olgunlaşma sonunda peynirden tamamen elimine edilemediğini ve başlangıçtaki düzeyini koruduğunu bildirmişler, ancak gelişerek saptanabilir düzeyde toksin oluşturamayacağını belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Süt

Peynir yapımında kullanılan 700 lt çiğ inek sütü, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Fabrikası'ndan temin edildi. Denemede kullanılan çiğ inek sütünde toksin ve koagülaz (+) *S. aureus* varlığı araştırıldı ve toksin ile koagülaz (+) *S. aureus* bulunmadığı belirlendi. Pastörize sütten yapılan peynir üretiminde kullanılan süt 82 ^{0}C'de 2 dk pastörize edildi. Deneme peynirlerinin yapımında kullanılan çiğ ve pastörize sütler 5'er gruba ayrılarak peynirler 3.2.1'de anlatıldığı gibi imal edildi.

3.1.2. Starter kültür

Peynir imalinde kullanılan pastörize süte katılan starter kültür, toz halinde (1:1 oranında *Lactococcus lactis subsp. lactis, Lactococcus lactis subsp. cremoris*) olup Visby Vac Laboratorium, Wiesby Gmbh & Co. KG:'den temin edildi ve kültür süte % 1.5 oranında katıldı.

3.1.3. Test mikroorganizması

Test mikroorganizması olarak kullanılan A, B, C ve D tipi toksin oluşturan *S. aureus* referans suşları (SEA 10652 FDA 196E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137 ve SED 10656 494) Dr. Holmes (Public Health Laboratory Service, UK)'den temin edildi.

3.1.4. Peynir mayası

Sütün mayalanmasında piyasada 1 kg'lık plastik ambalajlarda satılan 1/12000 pıhtılaşma kuvvetine sahip Pınar marka ticari sıvı maya kullanıldı.

3.1.5. Peynir yapımında kullanılan otlar

Mahalli adıyla Sirmo (Allium spp.) olarak bilinen ve piyasada salamura olarak bulunan otlar satın alınarak, sütte olduğu gibi 2 kısma bölündü. 1. kısım otlar 65 ^{0}C'de 30 dk. pastörize edildi ve pastörize sütten yapılmış peynirlere katıldı. 2. kısım otlar ise, *S. aureus* yönünden analizi yapıldıkdan sonra bir işleme tabi tutulmadan çiğ sütten yapılan peynirlere % 2 oranında katıldı.

3.1.6. Kuru tuzlamada kullanılan ufalanmış peynir

Kaplara konan peynire, dinlenme süresi biten peynir kalıpları fındık büyüklüğünde ufak parçalara ayrılarak lor veya cacık gibi, peynirlerin basılmasında kullanıldı.

3.1.7. Peynir ambalaj malzemesi

1 litrelik burgu kapaklı cam kavonozlar kullanıldı.

3.2. Metot

3.2.1. Çiğ ve pastörize sütten deneysel otlu peynir yapımı

3.2.1.1. Otlu peynirin yapım aşamaları

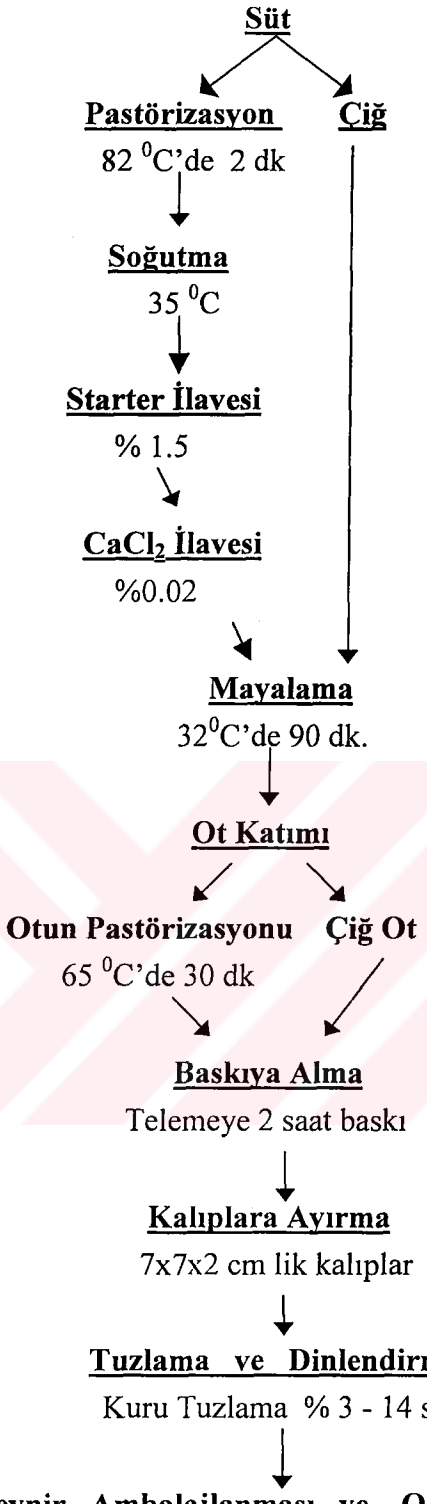
Pastörize sütten yapılan otlu peynir üretiminde kullanılacak süt, 82 ^{0}C'de 2 dk süreyle pastörize edilerek mayalama ısısının birkaç ^{0}C üzerine kadar soğutulduktan sonra % 1.5

starter kültür katıldı ve 30 dk beklendi. %0.02 $CaCl_2$ ilave edildikten sonra 32 ^{0}C'de mayalandı ve mayalama süresi 90 dk olarak belirlendi. Pıhtı pekişip sertleştikten sonra özel pıhtı kesme bıçaklarıyla peynir pıhtısı 1 cm'lik parçalara ayrıldı. Daha önce hazırlanmış olan otlar 3 defa yıkandıktan ve suyu iyice süzüldükten sonra, pastörize sütten yapılan peynire 65 ^{0}C'de 30 dk pastörize edilerek, çiğ sütten yapılan peynire pastörize edilmeden süt miktarı esas alınarak telemeye % 2 oranında katıldı ve otlarla iyice karıştırıldı. Ot katıldıktan sonra teleme, içinde süzme bezi bulunan kaplara aktarılarak fazla suyu süzüldü. Süzülen teleme baskıya alınarak 2 saat içinde kalan suyun atılması sağlandı. Baskısı tamamlanmış olan teleme bir bıçakla 7x7x2 cm boyutlarında kalıplara ayrıldı. Elde edilen peynir kalıpları tartıldıktan sonra alt ve üst yüzleri ağırlıkça % 3 oranında temiz kalın tuz ile kuru tuzlama yöntemiyle tuzlandı ve yaklaşık 14 saat civarında kendi haline bırakıldı. Ambalajlama mataryeli olarak kullanılan cam kavanozlara kuru tuzlanmış peynir kalıpları yerleştirildikten sonra boşluklara ufalanmış peynir doldurudu. En üste pastörize edilmiş asma yaprakları kondu ve kavanozlar daha önceden delinmiş kapaklar ile kapatıldı. Peynir kavanozları yere ağzı ters gelecek şekilde çevrildi ve 9 ^{0}C'de 3 ay olgunlaşmaya bırakıldı. Çiğ sütten yapılan otlu peynirde ise, işlemler mayalama aşamasından itibaren yukarıda anlatıldığı şekilde yapıldı (Şekil 1).

3.2.1.2. İnokulumun hazırlanması

S. aureus test suşları Nutrient agara geçilerek 37 ^{0}C'de 24 saat inkube edildi. Daha sonra *S. aureus* test suşundan tek koloni Brain Hart İnfüzyon (BHI) buyyon içeren steril bir tüpe ekildi ve 37 ^{0}C'de 24 saat inkube edildi. İnkübasyondan sonra santrifüje edilmiş olan BHI buyyonun üstteki sıvı kısmı atıldı, dipte kalan sedimente, 10 ml steril fizyolojik tuzlu su ilave edildi. Bu tüp vortekste sediment sıvı içersinde iyice dağılıncaya kadar karıştırıldıktan sonra santrifüje edilerek üstteki sıvı kısmı alındı ve daha sonra sedimente yine 10 ml steril fizyolojik tuzlu su ilave edilerek tekrar santrifüje edildi. Santrifüje edildikten sonra üstteki sıvı atıldı ve sediment 10 ml fizyolojik tuzlu suyla sulandırılarak başlangıç solüsyonu elde edildi. Bu tüpten de 10^{-7}'ye kadar dilüsyonlar hazırlandı. Bu dilüsyonlar bulanıklığın belirlenmesi için Minufuge RF Heraeus Sepatech marka spektofotometreye konarak 560 nm dalga boyunda okundu. Aynı zamanda 10^{-7}'ye kadar hazırlanmış olan dilüsyonlardan Plate

Count Agar (PCA)'a da ekimler yapılarak spektrofotometrede yapılan bulanıklık testi ile mikroorganizma sayısı arasında direkt ilişki kuruldu. Elde edilen bu başlangıç solüsyonundan inokule edilen miktar sütün 1ml'sini 10^5 seviyesinde kontamine edecek şekilde belirlendi (18,150,151).



Şekil 1: Otlu Peynirin Üretim Şeması

3.2.1.3. Deneme düzeninin kurulması

3.2.1.3.1. Pastörize sütten yapılan peynirler

Süt, süzülerek sonra 82 ^{0}C'de 2 dk süreyle pastörize edildikten sonra peynir yapımında kullanıldı. Sıcaklığı 32 ^{0}C'ye ayarlanan süt, 5 eşit kısma bölünerek 5 çeşit peynirin yapımında kullanıldı. Gruplara ayrılan süte önceden hazırlanan starter kültürden % 1.5 oranında ve A, B, C ve D tipi toksin oluşturan *S. aureus* referans suşları (SEA 10652 FDA 196E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137 ve SED 10656 494) ayrı ayrı ve miks olarak 10^5 kob/gr miktarında ilave edildi (Tablo 4). İnokulomun hazırlanması ve katılması 3.2.1.2'de belirtildiği gibi yapıldı. Daha sonra bu sütten 3.2.1.1'de anlatıldığı şekilde peynir yapıldı.

Tablo 4. Pastörize Sütten Yapılan Peynirlerin Deneme Desenleri

Peynir	*S. aureus* Suşları[1]	*S. aureus* İnokul. Miktarı	Starter	Starter İnokul. Miktarı	Depolama Süresi (Gün)	Depolama Isısı	Analiz Periyodu	n
Kuru Tuzlama	A	10^5	1:1 oranında Lactococ. Lactis Subsp. Lactis. Lactococ. Lactis Subsp. Cremoris	%1.5	90	9^{0}C	Pıhtı Teleme 1.Gün 3.Gün 7.Gün 15.Gün 30.Gün 60. Gün 90.Gün	5X9
	B							
	C							
	D							
	MİKS (A,B,C,D)							

1.Enterotoksijenik *S.. aureus* A (SEA 10652 FDA 196E), B (SEB 10654 FDA 243), C (SEC 10655 137), D (SED 10656494)

3.2.1.3.2. Çiğ sütten yapılan peynirler

Süt, süzüldükten sonra çiğ olarak peynir yapımında kullanıldı. Sıcaklığı 32 ^{0}C'ye ayarlanan süt 5 eşit kısma bölünerek 5 çeşit peynirin yapımında kullanıldı. Gruplara ayrılan süte A, B, C ve D tipi toksin oluşturan *S. aureus* referans suşları (SEA 10652 FDA 196E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137 ve SED 10656 494) ayrı ayrı ve miks olarak 10^5 kob/gr miktarında ilave edildi (Tablo 5). İnokulomun hazırlanması ve katılması 3.2.1.2'de belirtildiği gibi yapıldı. Daha sonra bu sütten 3.2.1.1'de anlatıldığı şekilde peynir yapıldı.

Tablo 5. Çiğ Sütten Yapılan Peynirlerin Deneme Desenleri

Peynir	*S. aureus* Suşları[1]	*S. aureus* İnokul. Miktarı	Depolama Süresi (Gün)	Depolama Isısı	Analiz Periyodu	n
Kuru Tuzlama	A	10^5	90	9^{0}C	Pıhtı Teleme 1.Gün 3.Gün 7.Gün 15.Gün 30.Gün 60. Gün 90.Gün	5X9
	B					
	C					
	D					
	MİKS (A,B,C,D)					

1.Enterotoksijenik *S.. aureus* A (SEA 10652 FDA 196E), B (SEB 10654 FDA 243), C (SEC 10655 137), D (SED 10656 494)

3.2.2. Peynirlerde yapılan analizler

3.2.2.1. Mikrobiyolojik analizler

3.2.2.1.1 Numunelerin alınması ve dilüsyonların hazırlanması

Mikrobiyolojik yönden analizi yapılacak her bir örnek steril stomacher torbalara 10'ar gr tartılarak üzerine 90'ar ml steril peptonlu fizyolojik tuzlu su (%0.85 NaCl + %0.1 pepton) ilave edilerek stomacherde 2 dakika süreyle homojenize edildi. Bu şekilde 1:10 sulandırılması sağlanan örneğin homojenatından 1ml önceden steril hazırlanmış içerisinde 9 ml peptonlu fizyolojik tuzlu su içeren deney tüpüne aktarıldı. Deney tüpü vorteksle karıştırıldıktan sonra örneğin dilüsyon serisi desimal olarak 10^{-7}'e kadar hazırlandı (152).

3.2.2.1.2. Aerobik mezofil genel canlı bakterilerin sayımı

Toplam aerobik mezofil bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA) kullanıldı. Hazırlanan dilusyonlardan damla plak metoduyla ekim yapıldı. Petri kutuları 32 ^{0}C'de 48 saat süreyle inkubasyona bırakılarak total bakteri sayımı yapıldı (152).

3.2.2.1.3. Laktik asit bakterilerinin sayımı

Laktik asit bakterilerininin sayımında M17 Agar kullanıldı. Besiyerinin pH'sı 5.7'ye ayarlandı. Ekimler dökme plak metoduyla çift kat (Overlayer) olarak yapıldı ve petriler 35 ^{0}C'de 48 saat inkübe edilip, inkübasyon sonunda oluşan 1-2 mm çapında, beyaz renkli tipik koloniler sayılarak değerlendirildi (152).

3.2.2.1.4. *S. aureus*'un sayımı

Her bir dilüsyondan, 0.1 ml homojenize edilmiş örnek alınarak önceden hazırlanmış Baird-Parker Agar'a yayma yöntemiyle yapıldıktan sonra absorbe olana kadar beklendi ve 35 ^{0}C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Siyahtan koyu griye kadar değişen, yumuşak, dış bükey, tam kenarlı donuk zonlu ve 1.5 mm çapında koloniler *S. aureus* olarak değerlendirildi. Çiğ sütten yapılan peynirlerden alınmış örneklerde

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

bulunan *S. aureus* şüpheli suşlara yukarıdaki işleme ilave olarak katalaz, koagülaz, gram boyama testleri yapıldı ve katalaz (+), koagülaz (+), gram (+) kok olan koloniler *S. aureus* olarak değerlendirildi (153).

3.2.2.1.5. Enterobakteri'lerin sayımı

Enterobakterilerin sayımında Violet Red Bile Glukose Agar (VRBGA) kullanıldı.Ekimler dökme plak metoduyla çift kat (Overlayer) olarak yapıldı. Ekim yapıldıktan sonra petri kutuları 30^0C'de 3 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonunda oksidaz (-) olan 0.5 mm çapındaki kırmızı kolonilerin sayımı yapıldı (152).

3.2.2.1.6. Maya ve küf sayımı

Maya ve küf sayımında Potato Dextrose Agar (PDA) kullanıldı. Besiyeri sterilize edilip 50 ^{0}C'ye kadar soğutulduktan sonra % 10'luk steril tartarik asit katılarak pH 3.5'e ayarlandı. Dökme yöntemiyle ekim yapılarak petriler 20-25^{0}C'de 5-7 gün inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayıldı (152).

3.2.2.2. Kimyasal analizler

3.2.2.2.1. Peynir örneklerinde pH'nın belirlenmesi

Peynir örneklerinin pH'sının belirlenmesi için NEL marka 890 model pH metre kullanıldı. pH metre standardize edildikten sonra peynir örnekleri elektrodun kolayca temas etmesini sağlayacak şekilde iyice parçalanarak küçük bir behere konuldu ve pH metrenin elektrodu peynir kitlesine daldırılarak beklendi ve sonuç okundu. Bu işlem aynı peynir kitlesinin 3 farklı yerine yapıldı ve sonuçların ortalaması alındı (154).

3.2.2.2.2. Peynir örneklerinde su aktivitesinin belirlenmesi

Peynir örneklerinin su aktivitesinin belirlenmesi için Durothern a_w-Wert-Messer marka a_w metre kullanıldı. Peynir örneğinin sıcaklığı oda sıcaklığına ayarlandı ve daha sonra standardize edilmiş olan a_w metrenin numune bölmesine yerleştirilerek su aktivitesi belirlendi (155).

3.2.2.2.3. Peynir örneklerinde tuz miktarının belirlenmesi

Tartılan 5gr peynir örneği sıcak su ile havanda iyice ezildikten sonra sulu kısım 500 ml'lik balon jojeye aktarıldı ve aynı işlem 4-5 kez yapılarak tüm tuzun suya geçmesi sağlandı. Balon joje soğuduktan sonra saf su ile işaret çizgisine kadar dolduruldu ve filtre kağıdından süzülerek, süzüntüden 25 ml alındı. Birkaç damla % 5 lik potasyum kromat indikatörü eşliğinde 0.1 N gümüş nitrat ile kalıcı kiremit kırmızısı rengi elde edilinceye kadar titre edildi. Harcanan 0.1 N gümüş nitrat miktarı aşağıdaki formülde yerine konarak ve tuz miktarı hesaplandı (156).

$$\% \text{ Tuz} = \frac{G \times 0.585}{P}$$

G = Harcanan 0.1 N AgNO3 Miktarı (ml)

P = Titrasyonda kullanılan peynir miktarı, gr (5.0 gr tartıldığında bu değer 0.25 gr'dır)

3.2.2.2.4. Peynir örneklerinde titre edilebilir asitliğin belirlenmesi

İyice öğütülen peynir örneklerinden 10 gr alınarak 250 ml'lik bir erlene konup üzerine 40^0C'de 105 ml distile su katıldı ve 1 dk kuvvetlice çalkalandı. Süzülme işleminden sonra süzüntüden 2.5 ml (2.5 gr peynir) alınarak 2-3 damla % 1'lik fenolftalein indikatörü katıldı ve 0.1 N sodyum hidroksit çözeltisi ile pembe renk oluşuncaya kadar titre edildikten sonra asitlik aşağıdaki formülle hesaplandı (156).

% Titrasyon Asitliği = $\frac{Ç \times 0.009 \times 100}{P}$

Ç=Titrasyonda kullanılan 0.1 N NaOH çözeltisi (ml)

P=Titrasyonda kullanılan peynir miktarı (10 gr tartıldığında bu değer 2.5 gr'dır)

3.2.2.3. Serolojik analizler

3.2.2.3.1. Peynirlerde enterotoksinlerin (Enterotoksin A,B,C,D) belirlenmesi

Peynirlerde enterotoksin tayininde, peynir numunelerinin 10 gr'ı 10 ml steril serum fizyolojik ile homojonize edildikten sonra + 4 ^{0}C' de 900 x g'de 30 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı 0.20 μm'lik membran filtreden (Minisart N, Sartorious) süzülerek süzüntüde A,B,C,D tipi enterotoksin varlığı Reversed Passive Latex Agglutination Test Kiti (SET-RPLA,TD-900,OXOİD) ile belirlendi (157,158).

4.BULGULAR

4.1. Deneysel Olarak Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Serolojik Analiz Sonuçları

Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde mikrobiyolojik, kimyasal ve serolojik analiz sonuçları Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Serolojik Analiz Sonuçları

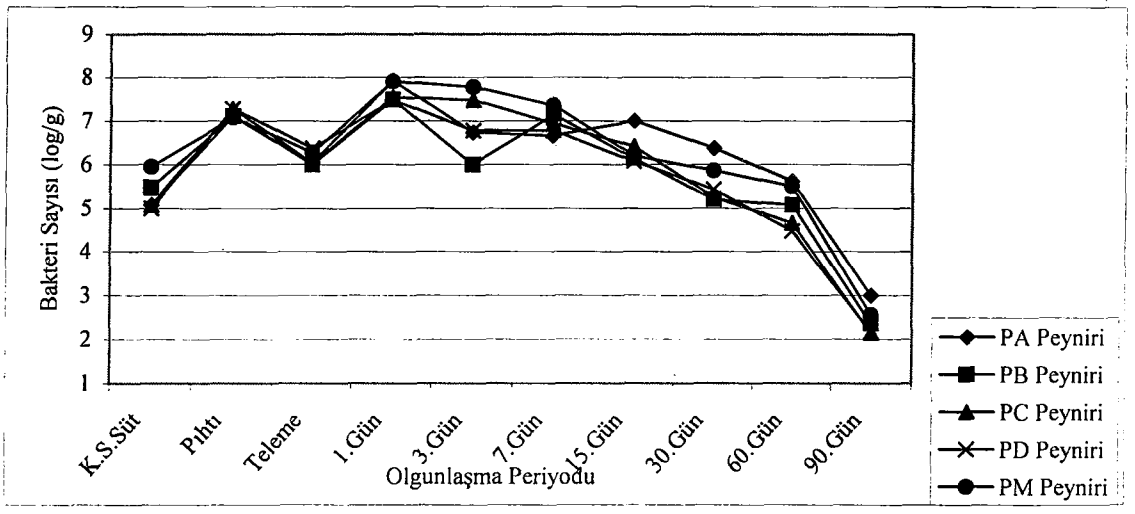
Uygulama Aşamaları	İnokule Edilen *S. aureus* Suşları[1]	*S.aureus* (kob/gr)	Aerobik Mezofilik Canlı S. (kob/gr)	Laktik Asit Bakterisi[2] (kob/gr)	Maya-Küf (kob/gr)	Entero-bakteri (kob/gr)	a_w	pH	Asitlik (% L.A)	Tuz (%)	Toksin Tipi
Kontami-nasyon Öncesi Süt	-	-	-	-	-	-	-	6.57	0.22	-	-
Kontami-nasyon Sonrası Süt	A	5.079	6.579	6.301	-	-	-	6.52	0.20	-	-
	B	5.477	6.255	6.204	-	-		6.58	0.18	-	-
	C	5.079	6.146	6.079	-	-		6.53	0.18	-	-
	D	5.000	6.414	6.146	-	-		6.57	0.19	-	-
	Miks	5.954	6.913	7.681	-	-		6.52	0.17	-	-
Pıhtı	A	7.113	7.146	7.041	-	-	0.99	4.48	0.41	-	A
	B	7.113	7.079	7.176	-	-		4.28	0.41	-	-
	C	7.278	7.255	7.146	-	-		4.14	0.41	-	-
	D	7.278	7.204	7.146	-	-		4.26	0.37	-	-
	Miks	7.079	7.079	7.000	-	-		4.24	0.32	-	-
Teleme	A	6.047	7.602	7.342	-	-	0.98	4.41	0.70	-	A
	B	6.000	6.602	6.000	-	-		4.37	0.69	-	-
	C	6.030	6.380	6.255	-	-		4.32	0.61	-	-
	D	6.380	7.544	6.255	-	-		4.19	0.64	-	-
	Miks	6.278	7.380	6.598	-	-		4.45	0.75	-	-
1.Gün	A	7.929	8.342	7.903	-	-	0.97-0.96	4.52	0.82	2.05	A
	B	7.491	8.477	6.477	-	-		4.48	0.85	2.99	-
	C	7.544	8.342	7.447	-	-		4.79	0.83	2.80	-
	D	7.477	8.230	7.518	-	-		4.37	0.82	3.30	-
	Miks	7.903	8.431	7.806	-	-		4.60	0.69	2.56	-
3.Gün	A	6.740	7.079	6.845	-	-	0.97-0.96	4.95	0.85	4.11	A
	B	6.000	7.778	6.176	-	-		4.46	1.09	3.43	-
	C	7.477	7.698	7.113	-	-		4.37	0.99	3.60	-
	D	6.778	7.079	7.255	-	-		4.47	0.98	4.68	-
	Miks	7.778	8.176	7.845	-	-		4.50	0.95	3.51	A,B,C.D
7.Gün	A	6.662	7.698	7.623	-	-	0.97-0.96	4.67	0.85	4.44	A
	B	7.146	7.146	7.146	-	-		4.39	1.26	4.68	-
	C	6.944	7.602	7.380	-	-		4.56	0.92	4.21	-
	D	6.778	7.146	7.903	-	-		4.34	0.95	4.74	-
	Miks	7.361	7.361	7.204	-	-		4.65	1.02	4.44	A,B,C.D
15.Gün	A	7.000	7.556	7.535	-	-	0.96-0.95	5.24	0.68	4.55	A
	B	6.146	8.255	6.924	-	-		5.04	0.99	4.74	-
	C	6.414	7.531	8.505	-	-		4.92	0.89	4.68	C
	D	6.079	7.672	7.380	-	-		5.08	0.88	4.85	-
	Miks	6.204	8.779	7.255	-	-		4.90	0.92	4.70	A,B,C.D
30.Gün	A	6.380	6.924	6.903	-	-	0.95-0.94	4.53	1.26	4.59	A
	B	5.204	6.806	6.778	-	-		4.44	1.23	4.81	-
	C	5.255	7.255	6.954	-	-		4.46	0.95	4.92	C
	D	5.431	6.623	5.778	-	-		4.61	1.02	5.09	-
	Miks	5.863	7.755	7.681	-	-		4.58	1.16	4.85	A,B,C.D
60.Gün	A	5.623	6.819	6.602	-	-	0.94-0.92	4.73	1.11	4.68	A
	B	5.079	6.431	6.342	-	-		4.44	1.26	5.14	-
	C	4.662	6.113	8.000	-	-		4.63	0.75	5.27	C
	D	4.477	6.643	6.602	-	-		4.80	0.93	5.68	-
	Miks	5.505	6.903	7.778	-	-		4.50	1.08	5.77	A,B,C.D
90.Gün	A	3.000	6.301	5.602	-	-	0.93-0.91	4.39	1.16	4.91	A
	B	2.361	6.146	5.826	-	-		4.20	1.62	6.40	-
	C	2.146	6.698	6.653	-	-		4.31	1.08	5.45	C
	D	2.176	6.579	5.301	-	-		4.37	1.26	6.00	-
	Miks	2.556	6.707	5.342	-	-		4.25	1.33	5.78	A,B,C.D

1- Enterotoksijenik *S. aureus* A (SEA 10652 FDA 196E), B (SEB 10654 FDA 243), C (SEC 10655 137). D (SED 10656 494)

2- *Lactococcus lactis subsp.lactis ve Lactococcus lactis subsp.cremoris*

4.1.1. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin mikrobiyolojik analiz sonuçları

4.1.1.1. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin *S. aureus* sayıları

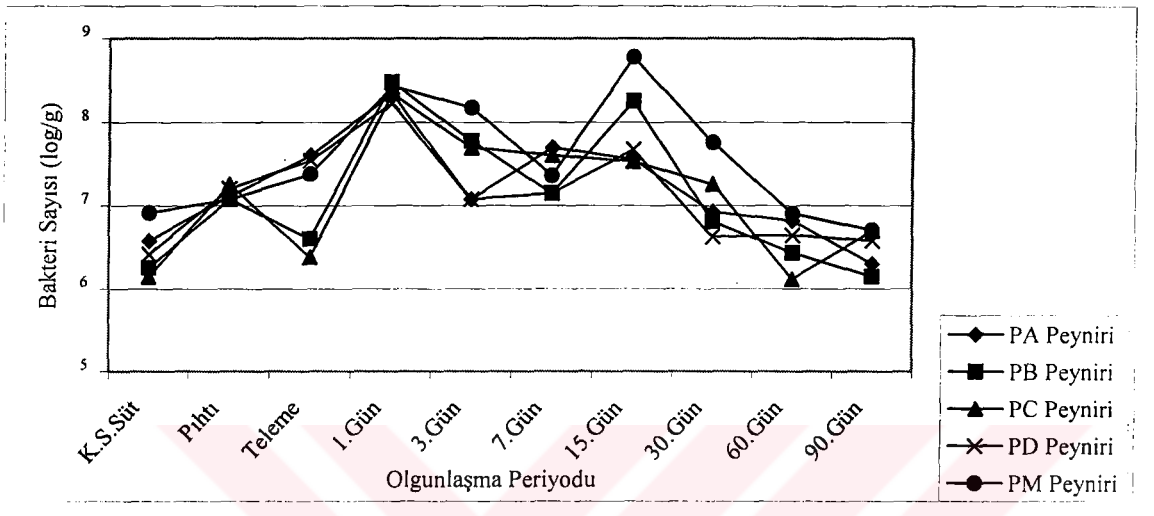


Şekil 2: Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde *S. aureus* Sayısının Değişimi

Pastörize sütten yapılan PA peynirinde *S. aureus* sayısı kontaminasyon sonrası sütte log 5.079 kob/gr, pıhtıda log 7.113 kob/gr, telemede log 6.047 kob/gr, 1.gün log 7.929 kob/gr, 3. gün log 6.740 kob/gr, 7. gün log 6.662 kob/gr, 15. gün log 7.000 kob/gr, 30. gün log 6.380 kob/gr, 60. gün log 5.623 kob/gr ve 90. gün log 3.000 kob/gr'dır. Pastörize sütten yapılan PB peynirinde; *S. aureus* sayısı kontaminasyon sonrası sütte log 5.477 kob/gr, pıhtıda log 7.113 kob/gr, telemede log 6.000 kob/gr, 1.gün log 7.491 kob/gr, 3. gün log 6.000 kob/gr, 7. gün log 7.146 kob/gr, 15. gün log 6.146 kob/gr, 30. gün log 5.204 kob/gr, 60. gün log 5.079 kob/gr ve 90. gün log 2.361 kob/gr'dır. Pastörize sütten yapılan PC peynirinde; *S. aureus* sayısı kontaminasyon sonrası sütte log 5.079 kob/gr, pıhtıda log 7.278 kob/gr, telemede log 6.030 kob/gr, 1.gün log 7.544 kob/gr, 3. gün log 7.477 kob/gr, 7. gün log 6.944 kob/gr, 15. gün log 6.414 kob/gr, 30. gün log 5.255 kob/gr, 60. gün log 4.662 kob/gr ve 90. gün log 2.146 kob/gr'dır. Pastörize sütten yapılan PD peynirinde; *S. aureus* sayısı kontaminasyon sonrası sütte log 5.000 kob/gr, pıhtıda log 7.278 kob/gr, telemede log 6.380 kob/gr, 1.gün log 7.477 kob/gr, 3. gün log 6.778 kob/gr, 7. gün log 6.778 kob/gr, 15. gün log 6.079 kob/gr, 30. gün log 5.431 kob/gr, 60. gün log 4.477 kob/gr ve 90. gün log 2.176 kob/gr'dır. Pastörize sütten yapılan PM peynirinde; *S. aureus* sayısı kontaminasyon sonrası sütte log 5.954 kob/gr, pıhtıda

log 7.079 kob/gr, telemede log 6.278 kob/gr, 1.gün log 7.903 kob/gr, 3. gün log 7.778 kob/gr, 7. gün log 7.361 kob/gr, 15. gün log 6.204 kob/gr, 30. gün log 5.863 kob/gr, 60. gün log 5.505 kob/gr ve 90. gün log 2.556 kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 2).

4.1.1.2. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin toplam aerobik mezofilik canlı sayıları

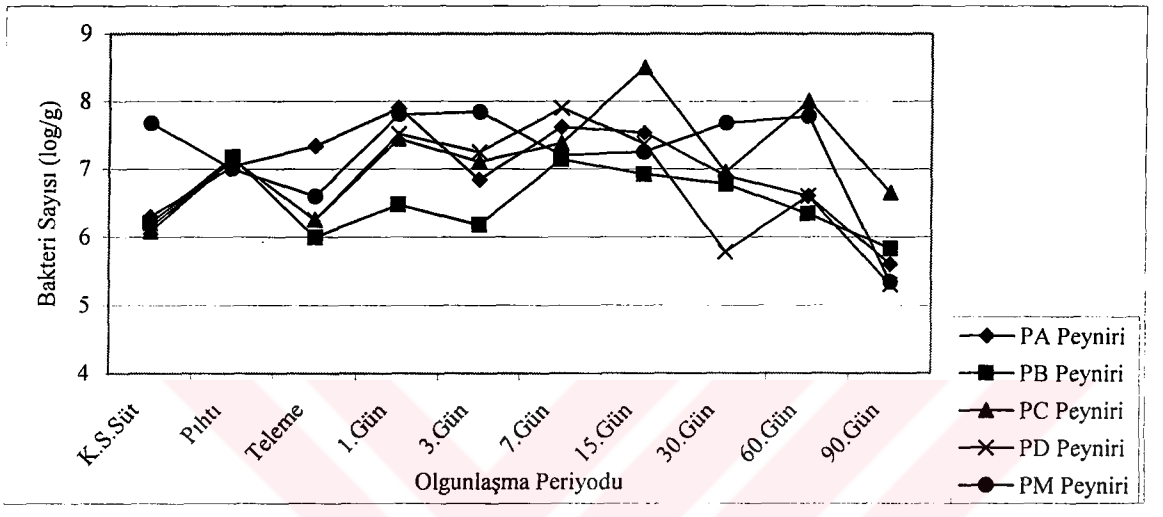


Şekil 3: Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde Toplam Aerofilik Mezofil Canlı Sayısının Değişimi

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde toplam aerobik mezofilik canlı sayısı, PA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.579 kob/gr, pıhtıda log 7.146 kob/gr, telemede log 7.602 kob/gr, 1. gün log 8.342 kob/gr, 3.gün log 7.079 kob/gr, 7. gün log7.698 kob/gr, 15. gün log 7.556 kob/gr, 30. gün log 6.924 kob/gr, 60. gün log 6.819 kob/gr, 90. gün log 6.301 kob/gr, PB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.255 kob/gr, pıhtıda log 7.079 kob/gr, telemede log 6.602 kob/gr, 1. gün log 8.477 kob/gr, 3.gün log 7.778 kob/gr, 7. gün log 7.146 kob/gr, 15. gün log 8.255 kob/gr, 30. gün log 6.806 kob/gr, 60. gün log 6.431 kob/gr, 90. gün log 6.146 kob/gr PC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.146 kob/gr, pıhtıda log 7.255 kob/gr, telemede log 6.380 kob/gr, 1. gün log 8.342 kob/gr, 3.gün log 7.698 kob/gr, 7. gün log 7.602 kob/gr, 15. gün log 7.531 kob/gr, 30. gün log 7.255 kob/gr, 60. gün log 6.113 kob/gr, 90. gün log 6.698 kob/gr, PD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.414 kob/gr, pıhtıda log 7.204 kob/gr, telemede log 7.544 kob/gr, 1. gün log 8.230 kob/gr, 3.gün log 7.079 kob/gr, 7. gün log 7.146 kob/gr, 15. gün log 7.672 kob/gr, 30. gün log 6.623 kob/gr, 60. gün log 6.643 kob/gr, 90. gün log 6.579 kob/gr, PM peynirinde; kontaminasyon sonrası

sütte log 6.913 kob/gr, pıhtıda log 7.079 kob/gr, telemede log 7.380 kob/gr, 1. gün log 8.431 kob/gr, 3.gün log 8.176 kob/gr, 7. gün log 7.361 kob/gr, 15. gün log 8.779 kob/gr, 30. gün log 7.755 kob/gr, 60. gün log 6.903 kob/gr, 90. gün log 6.707 kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 3).

4.1.1.3. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin laktik asit bakterileri sayıları



Şekil 4: Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde Laktik Asit Bakterilerinin Sayısının Değişimi

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde laktik asit bakterileri sayısı, PA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.301 kob/gr, pıhtıda log 7.041 kob/gr, telemede log 7.342 kob/gr, 1. gün log 7.903 kob/gr, 3.gün log 6.845 kob/gr, 7. gün log 7.623 kob/gr, 15. gün log 7.535 kob/gr, 30. gün log 6.903 kob/gr, 60. gün log 6.602 kob/gr, 90. gün log 5.602 kob/gr PB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.204 kob/gr, pıhtıda log 7.176 kob/gr, telemede log 6.000 kob/gr, 1. gün log 6.477 kob/gr, 3.gün log 6.176 kob/gr, 7. gün log 7.146 kob/gr, 15. gün log 6.924 kob/gr, 30. gün log 6.778 kob/gr, 60. gün log 6.342 kob/gr. 90. gün log 5.826 kob/gr, PC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.079 kob/gr, pıhtıda log 7.146 kob/gr, telemede log 6.255 kob/gr, 1. gün log 7.447 kob/gr, 3.gün log 7.113 kob/gr, 7. gün log 7.380 kob/gr, 15. gün log 8.505 kob/gr, 30. gün log 6.954 kob/gr, 60. gün log 8.000 kob/gr, 90. gün log 6.653 kob/gr, PD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.146 kob/gr, pıhtıda log 7.146 kob/gr, telemede log 6.255 kob/gr, 1. gün log 7.518 kob/gr, 3.gün log 7.255 kob/gr, 7. gün log 7.903 kob/gr, 15. gün log 7.380 kob/gr, 30. gün log 5.778

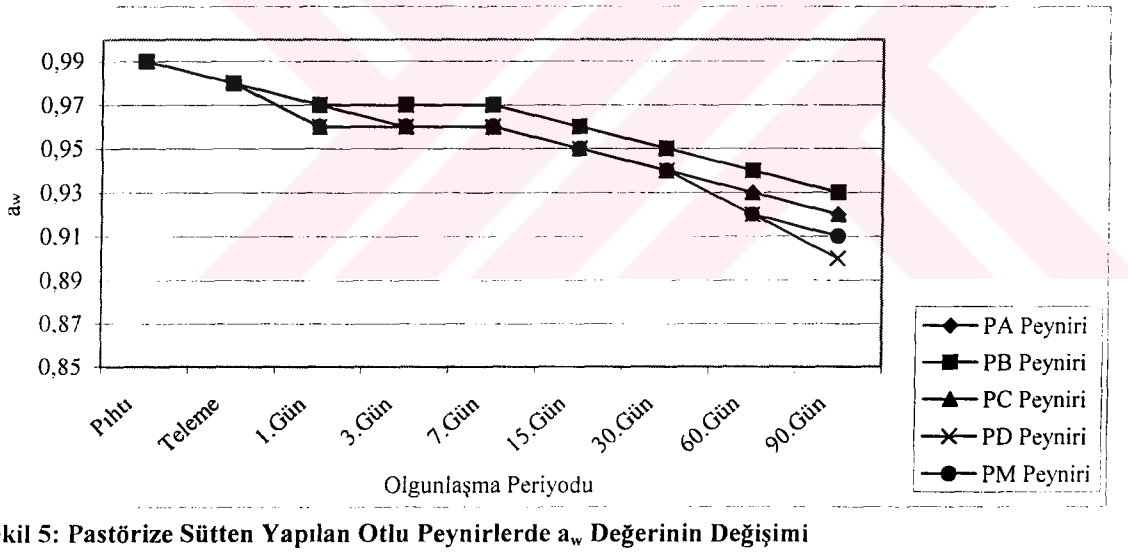
kob/gr, 60. gün log 6.602 kob/gr, 90. gün log 5.301 kob/gr, PM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 7.681 kob/gr, pıhtıda log 7.000 kob/gr, telemede log 6.598 kob/gr, 1. gün log 7.806 kob/gr, 3.gün log 7.845 kob/gr, 7. gün log 7.204 kob/gr, 15. gün log 7.255 kob/gr, 30. gün log 7.681 kob/gr, 60. gün log 7.778 kob/gr, 90. gün log 5.342 kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 4).

4.1.1.4. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin maya-küf ve Enterobacteriaceae grubu mikroorganizma sayıları

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin hiç birinde maya-küf ve Enterobacteriaceae grubu mikroorganizmaya rastlanmamıştır.

4.1.2. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin kimyasal analiz sonuçları

4.1.2.1. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin a_w değerleri

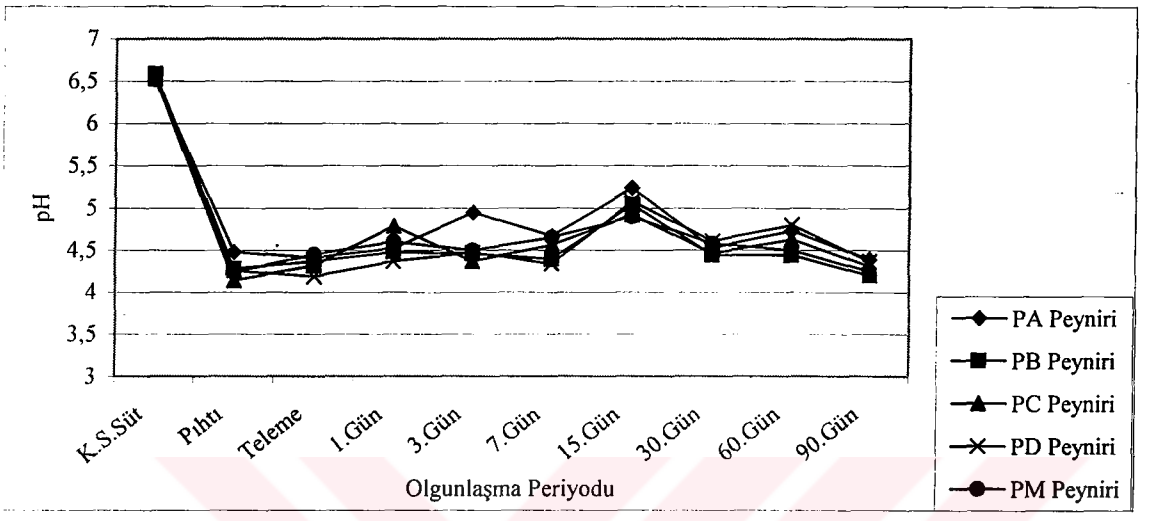


Şekil 5: Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde a_w Değerinin Değişimi

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde a_w, PA peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.97, 3.gün 0.96, 7. gün 0.96, 15. gün 0.95, 30. gün 0.94, 60. gün 0.93, 90. gün 0.92, PB peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.97, 3.gün 0.97, 7. gün 0.97, 15. gün 0.96, 30. gün 0.95, 60. gün 0.94, 90. gün 0.93, PC peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.96, 3.gün 0.96, 7. gün 0.96, 15. gün 0.95, 30. gün 0.94, 60. gün 0.93, 90. gün 0.92, PD peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.96, 3.gün 0.96, 7. gün 0.96, 15.

gün 0.95, 30. gün 0.94, 60. gün 0.92, 90. gün 0.91, PM peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.96, 3.gün 0.96, 7. gün 0.96, 15. gün 0.95, 30. gün 0.94, 60. gün 0.92, 90. gün 0.91 olarak tespit edilmiştir (Şekil 5).

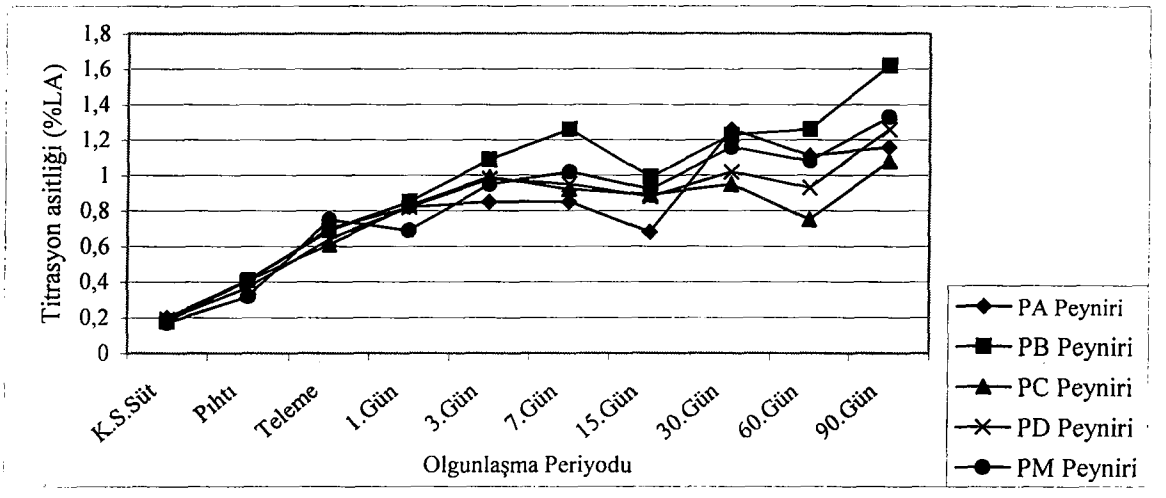
4.1.2.2. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin pH değerleri



Şekil 6: Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde pH Değerinin Değişimi

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde pH, PA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 6.52, pıhtıda 4.48, telemede 4.41, 1. gün 4.52, 3.gün 4.95, 7. gün 4.67, 15. gün 5.24, 30. gün 4.53, 60. gün 4.73, 90. gün 4.39, PB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 6.58, pıhtıda 4.28, telemede 4.37, 1. gün 4.48, 3.gün 4.46, 7. gün 4.39, 15. gün 5.04, 30. gün 4.44, 60. gün 4.44, 90. gün 4.20, PC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 6.53, pıhtıda 4.14, telemede 4.32, 1. gün 4.79, 3.gün 4.37, 7. gün 4.56, 15. gün 4.92, 30. gün 4.46, 60. gün 4.63, 90. gün 4.31, PD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 6.57, pıhtıda 4.26, telemede 4.19, 1. gün 4.37, 3.gün 4.47, 7. gün 4.34, 15. gün 5.08, 30. gün 4.61, 60. gün 4.80, 90. gün 4.37, PM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 6.52, pıhtıda 4.24, telemede 4.45, 1. gün 4.60, 3.gün 4.50, 7. gün 4.65, 15. gün 4.90, 30. gün 4.58, 60. gün 4.50, 90. gün 4.25 olarak tespit edilmiştir (Şekil 6).

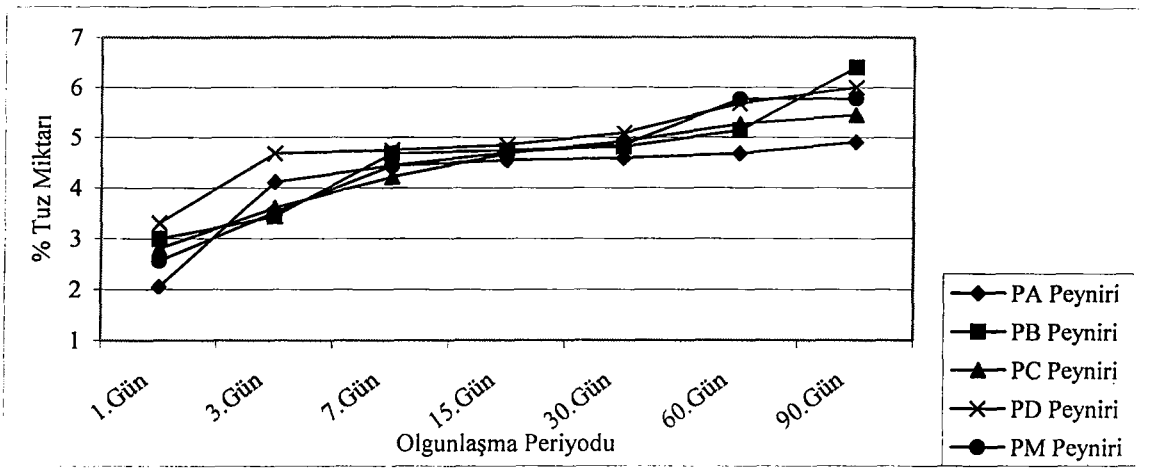
4.1.2.3. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin titrasyon asitliği değerleri



Şekil 7: Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde Titrasyon Asitliğinin (%LA) Değerinin Değişimi

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde asitlik (%LA), PA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.20, pıhtıda 0.41, telemede 0.70, 1. gün 0.82, 3.gün 0.85, 7. gün 0.85, 15. gün 0.68, 30. gün 1.26, 60. gün 1.11, 90. gün 1.16, PB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.18, pıhtıda 0.41, telemede 0.69, 1. gün 0.85, 3.gün 1.09, 7. gün 1.26, 15. gün 0.99, 30. gün 1.23, 60. gün 1.26, 90. gün 1.62, PC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.18, pıhtıda 0.41, telemede 0.61, 1. gün 0.83, 3.gün 0.99, 7. gün 0.92, 15. gün 0.89, 30. gün 0.95, 60. gün 0.75, 90. gün 1.08, PD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.19, pıhtıda 0.37, telemede 0.64, 1. gün 0.82, 3.gün 0.98, 7. gün 0.95, 15. gün 0.88, 30. gün 1.02, 60. gün 0.93, 90. gün 1.26, PM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.17, pıhtıda 0.32, telemede 0.75, 1. gün 0.69, 3.gün 0.95, 7. gün 1.02, 15. gün 0.92, 30. gün 1.16, 60. gün 1.08, 90. gün 1.33 olarak tespit edilmiştir (Şekil 7).

4.1.2.4. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin tuz miktarları



Şekil 8: Pastörize Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde (%) Tuz Miktarı Değişimi

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde (%) tuz miktarı, PA peynirinde; 1. gün 2.05, 3.gün 4.11, 7. gün 4.44, 15. gün 4.55, 30. gün 4.59, 60. gün 4.68, 90. gün 4.91, PB peynirinde; 1. gün 2.99, 3.gün 3.43, 7. gün 4.68, 15. gün 4.74, 30. gün 4.81, 60. gün 5.14, 90. gün 6.40, PC peynirinde; 1. gün 2.80, 3.gün 3.60, 7. gün 4.21, 15. gün 4.68, 30. gün 4.92, 60. gün 5.27, 90. gün 5.45, PD peynirinde; 1. gün 3.30, 3.gün 4.68, 7. gün 4.74, 15. gün 4.85, 30. gün 5.09, 60. gün 5.68, 90. gün 6.00, PM peynirinde; 1. gün 2.56, 3.gün 3.51, 7. gün 4.44, 15. gün 4.70, 30. gün 4.85, 60. gün 5.77, 90. gün 5.78 olarak tespit edilmiştir (Şekil 8).

4.1.3. Deneysel olarak pastörize sütten yapılan otlu peynirlerin serolojik analiz sonuçları

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde PA peynirinde; pıhtı aşamasında enterotoksin A, PM peynirinde; 3. günde enterotoksin A,B,C,D ve PC peynirinde; 15. günde enterotoksin C tespit edilmiş ve olgunlaşma periyodunun sonuna kadar bütün analiz aşamalarında bu toksinler belirlenmiştir (Tablo 6).

4.2. Deneysel Olarak Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Serolojik Analiz Sonuçları

Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde mikrobiyolojik, kimyasal ve serolojik analiz sonuçları Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Serolojik Analiz Sonuçları

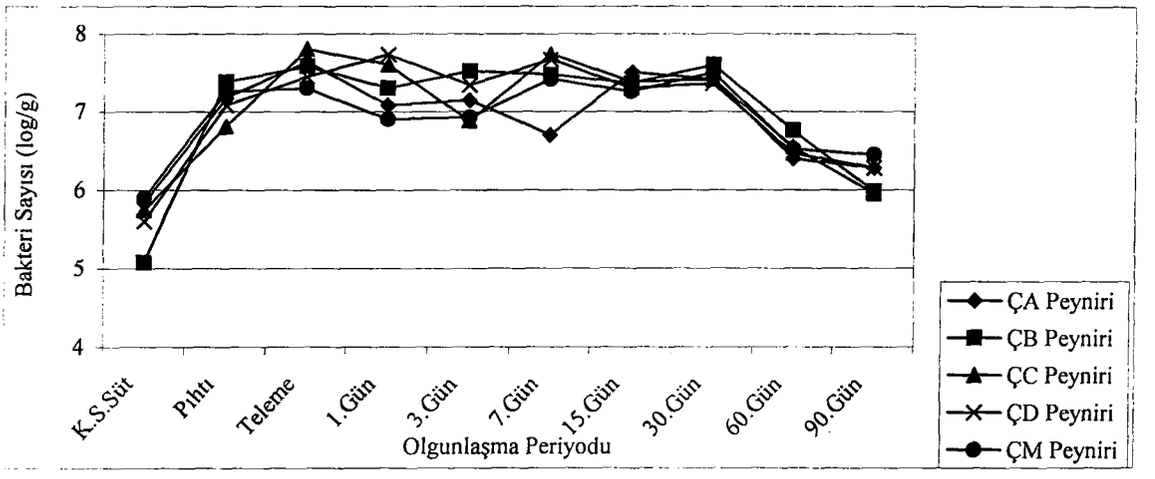
Uygulama Aşamaları	İnokule Edilen *S. aureus* Suşları[1]	*S. aureus* (kob/gr)	Aerobik Mezofilik Canlı S. (kob/gr)	Laktik Asit Bakterisi[2] (kob/gr)	Maya-Küf (kob/gr)	Entero-bakteri (kob/gr)	a_w	pH	Asitlik (% L.A)	Tuz (%)	Toksin Tipi
Kontami-nasyon Öncesi Süt	-	-	6.122	7.112	6.234	5.323	-	6.10	0.32	-	-
Kontami-nasyon Sonrası Süt	A	5.845	9.113	9.079	6.698	5.477	-	5.10	0.51	-	-
	B	5.079	8.204	7.146	7.146	4.602		5.14	0.51	-	-
	C	5.745	9.278	9.079	7.255	5.000		5.17	0.47	-	-
	D	5.602	8.869	8.845	6.079	4.204		5.10	0.51	-	-
	Miks	5.903	9.301	9.000	7.278	5.146		4.90	0.51	-	-
Pıhtı	A	7.176	9.397	9.146	6.845	6.041	0.99	4.95	0.56	-	-
	B	7.380	9.278	9.176	7.176	4.301		4.86	0.54	-	-
	C	6.806	9.447	7.301	7.079	6.819		4.93	0.54	-	-
	D	7.079	8.531	8.806	7.113	5.845		4.79	0.60	-	-
	Miks	7.255	9.447	9.301	6.845	6.380		4.91	0.68	-	-
Teleme	A	7.643	9.113	9.113	6.845	6.041	0.98	4.78	0.49	-	-
	B	7.579	9.301	9.204	6.204	6.602		4.80	0.58	-	-
	C	7.806	9.380	9.301	6.806	6.845		4.70	0.66	-	-
	D	7.447	9.531	9.477	7.146	6.643		4.94	0.64	-	-
	Miks	7.301	9.431	9.278	6.230	5.602		4.64	0.63	-	-
1.Gün	A	7.079	9.397	8.903	6.954	6.380	0.97-0.95	4.56	0.64	3.27	-
	B	7.301	9.643	9.079	6.079	6.643		5.32	0.47	3.04	-
	C	7.602	8.913	8.903	6.579	6.662		5.14	0.50	2.80	-
	D	7.732	9.301	9.146	6.041	6.301		4.77	0.58	3.51	-
	Miks	6.903	9.361	9.342	7.255	6.041		4.71	0.56	3.68	-
3.Gün	A	7.146	9.799	9.698	6.602	6.602	0.96-0.94	5.02	0.54	4.44	-
	B	7.518	9.892	9.778	5.778	6.698		4.86	0.41	3.74	-
	C	6.880	9.176	8.869	5.799	6.954		4.98	0.48	3.46	-
	D	7.342	9.380	8.903	6.778	7.079		4.86	0.54	4.08	-
	Miks	6.924	9.431	9.361	6.778	6.806		4.78	0.54	4.68	-
7.Gün	A	6.698	8.643	7.230	5.602	6.602	0.95-0.93	4.76	0.58	4.78	-
	B	7.477	8.414	8.278	6.278	6.698		4.55	0.46	5.15	-
	C	7.740	8.799	8.778	6.176	6.698		4.80	0.52	4.60	-
	D	7.672	8.949	8.924	5.903	6.623		4.73	0.62	5.00	-
	Miks	7.414	8.643	8.278	6.113	6.301		4.60	0.59	4.85	-
15.Gün	A	7.505	8.778	8.204	6.602	6.556	0.93-0.92	4.28	0.63	5.36	-
	B	7.361	8.322	9.113	6.113	6.623		4.92	0.63	5.42	-
	C	7.380	8.763	8.748	5.924	6.633		4.61	0.55	5.36	-
	D	7.301	8.869	8.838	6.602	6.505		4.64	0.56	5.20	-
	Miks	7.255	9.041	9.903	6.146	6.041		4.52	0.64	5.82	-
30.Gün	A	7.414	8.568	8.079	7.556	6.477	0.92-0.91	4.60	0.68	5.38	-
	B	7.602	8.447	8.462	6.462	6.079		5.41	0.54	5.68	-
	C	7.414	8.690	8.662	6.799	6.278		4.75	0.47	5.44	-
	D	7.361	8.755	8.672	7.204	4.903		4.91	0.51	5.38	-
	Miks	7.505	8.724	8.662	6.000	6.447		5.73	0.44	5.94	-
60.Gün	A	6.397	7.954	6.991	6.230	5.079	0.91-0.89	5.66	1,11	5.55	-
	B	6.755	6.806	6.755	6.255	4.000		4.61	1.38	5.74	-
	C	6.544	7.716	6.812	6.414	4.204		5.57	1.24	5.65	-
	D	6.462	7.949	7.812	6.838	4.477		5.60	1.45	5.74	-
	Miks	6.518	7.959	7.568	6.875	4.176		5.64	1.12	6.00	-
90.Gün	A	6.278	7.342	6.531	5.875	3.653	0.90-0.89	6.41	1.26	5.87	-
	B	5.977	7.442	6.079	6.079	2.531		5.21	1.79	6.11	-
	C	5.954	7.662	6.431	7.079	2.903		5.81	1.51	5.70	-
	D	6.278	7.913	6.643	5.176	3.544		6.20	1.65	5.90	-
	Miks	6.447	7.919	6.880	6.361	4.755		6.13	1.39	6.56	-

1-Enterotoksijenik *S. aureus* A (SEA10652 FDA 196E), B (SEB 10654 FDA 243), C (SEC 10655 137) , D (SED10656 494)

2-Çiğ sütün Laktik Asit bakteri florası

4.2.1. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin mikrobiyolojik analiz sonuçları

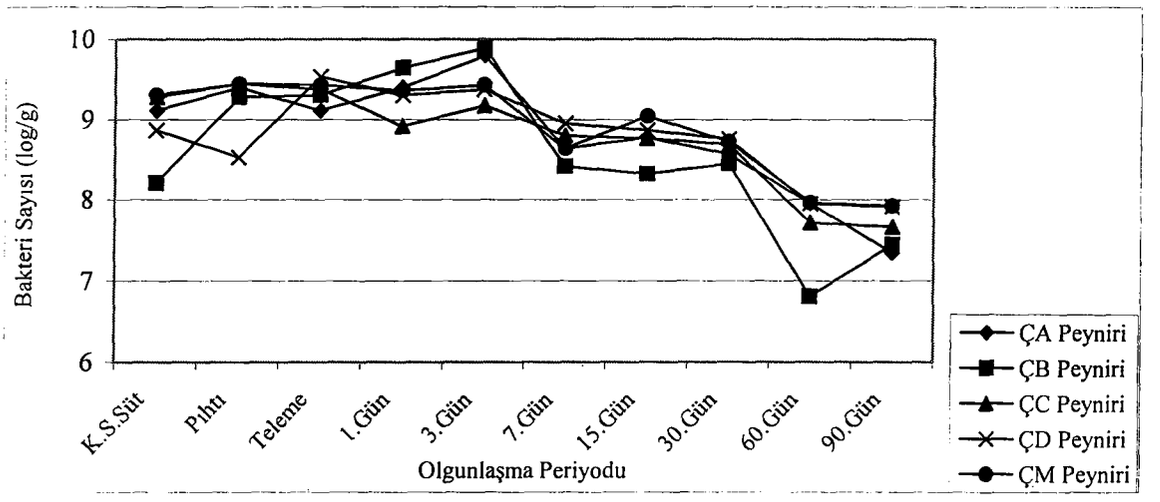
4.2.1.1. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin *S. aureus* sayıları



Şekil 9: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde *S. aureus* Sayısının Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde *S. aureus* sayısı, ÇA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 5.845 kob/gr, pıhtıda log 7.176 kob/gr, telemede log 7.643 kob/gr, 1. gün log 7.079 kob/gr, 3.gün log 7.146 kob/gr, 7. gün log 6.698 kob/gr, 15. gün log 7.505 kob/gr, 30. gün log 7.414 kob/gr, 60. gün log 6.397 kob/gr, 90. gün log 6.278 kob/gr, ÇB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 5.079 kob/gr, pıhtıda log 7.380 kob/gr, telemede log 7.579 kob/gr, 1. gün log 7.301 kob/gr, 3.gün log 7.518 kob/gr, 7. gün log 7.477 kob/gr, 15. gün log 7.361 kob/gr, 30. gün log 7.602 kob/gr, 60. gün log 6.755 kob/gr, 90. gün log 5.977 kob/gr, ÇC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 5.745 kob/gr, pıhtıda log 6.806 kob/gr, telemede log 7.806 kob/gr, 1. gün log 7.602 kob/gr, 3.gün log 6.880 kob/gr, 7. gün log 7.740 kob/gr, 15. gün log 7.380 kob/gr, 30. gün log 7.414 kob/gr, 60. gün log 6.544 kob/gr, 90. gün log 5.954 kob/gr, ÇD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 5.602 kob/gr, pıhtıda log 7.079 kob/gr, telemede log 7.447 kob/gr, 1. gün log 7.732 kob/gr, 3.gün log 7.342 kob/gr, 7. gün log 7.672 kob/gr, 15. gün log 7.301 kob/gr, 30. gün log 7.361 kob/gr, 60. gün log 6.462 kob/gr, 90. gün log 6.278 kob/gr, ÇM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 5.903 kob/gr, pıhtıda log 7.255 kob/gr, telemede log 7.301 kob/gr, 1. gün log 6.903 kob/gr, 3.gün log 6.924 kob/gr, 7. gün log 7.414 kob/gr, 15. gün log 7.255 kob/gr, 30. gün log 7.505 kob/gr, 60. gün log 6.518 kob/gr, 90. gün log 6.447 kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 9).

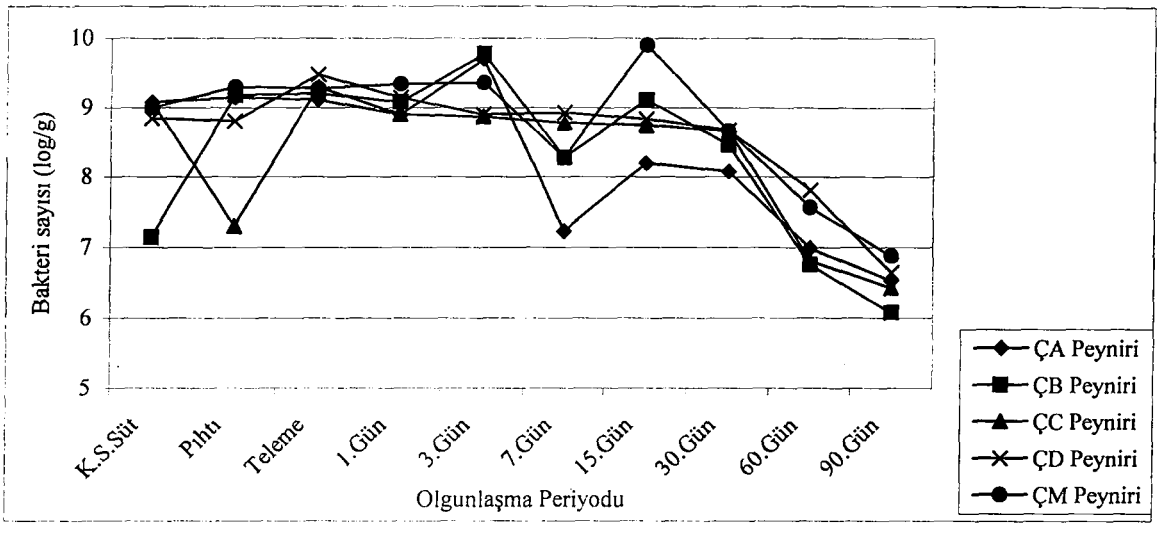
4.2.1.2. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin toplam aerobik mezofil canlı sayıları



Şekil 10: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde Toplam Aerofilik Mezofil Canlı Sayısının Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde toplam aerobik mezofilik canlı sayısı, ÇA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 9.113 kob/gr, pıhtıda log 9.397 kob/gr, telemede log 9.113 kob/gr, 1. gün log 9.397 kob/gr, 3.gün log 9.799 kob/gr, 7. gün log 8.643 kob/gr, 15. gün log 8.778 kob/gr, 30. gün log 8.568 kob/gr, 60. gün log 7.954 kob/gr, 90. gün log 7.342 kob/gr, ÇB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 8.204 kob/gr, pıhtıda log 9.278 kob/gr, telemede log 9.301 kob/gr, 1. gün log 9.643 kob/gr, 3.gün log 9.892 kob/gr, 7. gün log 8.414 kob/gr, 15. gün log 8.322 kob/gr, 30. gün log 8.447 kob/gr, 60. gün log 6.806 kob/gr, 90. gün log 7.442 kob/gr, ÇC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 9.278 kob/gr, pıhtıda log 9.447 kob/gr, telemede log 9.380 kob/gr, 1. gün log 8.913 kob/gr, 3.gün log 9.176 kob/gr, 7. gün log 8.799 kob/gr, 15. gün log 8.763 kob/gr, 30. gün log 8.690 kob/gr, 60. gün log 7.716 kob/gr, 90. gün log 7.662 kob/gr, ÇD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 8.869 kob/gr, pıhtıda log 8.531 kob/gr, telemede log 9.531 kob/gr, 1. gün log 9.301 kob/gr, 3.gün log 9.380 kob/gr, 7. gün log 8.949 kob/gr, 15. gün log 8.869 kob/gr, 30. gün log 8.755 kob/gr, 60. gün log 7.949 kob/gr, 90. gün log 7.913 kob/gr, ÇM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 9.301 kob/gr, pıhtıda log 9.447 kob/gr, telemede log 9.431 kob/gr, 1. gün log 9.361 kob/gr, 3.gün log 9.431 kob/gr, 7. gün log 8.643 kob/gr, 15. gün log 9.041 kob/gr, 30. gün log 8.724 kob/gr, 60. gün log 7.959 kob/gr, 90. gün log 7.919 kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 10).

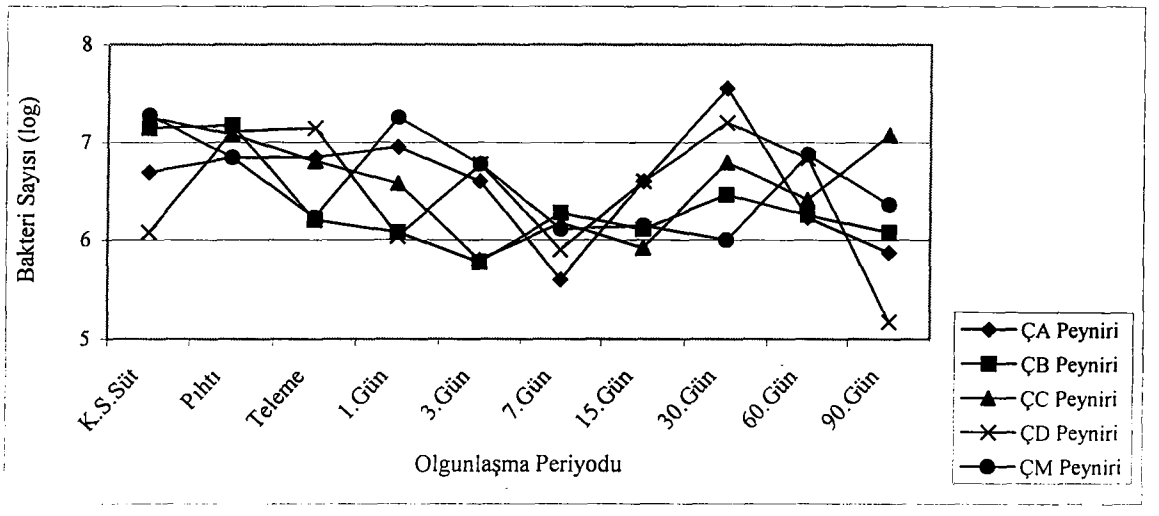
4.2.1.3. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin laktik asit bakterileri sayıları



Şekil 11: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde Laktik Asit Bakterilerinin Sayısının Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde laktik asit bakterisi sayısı, ÇA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 9.079 kob/gr, pıhtıda log 9.146 kob/gr, telemede log 9.113 kob/gr, 1. gün log 8.903 kob/gr, 3.gün log 9.698 kob/gr, 7. gün log 7.230 kob/gr, 15. gün log 8.204 kob/gr, 30. gün log 8.079 kob/gr, 60. gün log 6.991 kob/gr, 90. gün log 6.531 kob/gr, ÇB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 7.146 kob/gr, pıhtıda log 9.176 kob/gr, telemede log 9.204 kob/gr, 1. gün log 9.079 kob/gr, 3.gün log 9.778 kob/gr, 7. gün log 8.278 kob/gr, 15. gün log 9.113 kob/gr, 30. gün log 8.462 kob/gr, 60. gün log 6.755 kob/gr, 90. gün log 6.079 kob/gr, ÇC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 9.079 kob/gr, pıhtıda log 7.301 kob/gr, telemede log 9.301 kob/gr, 1. gün log 8.903 kob/gr, 3.gün log 8.869 kob/gr, 7. gün log 8.778 kob/gr, 15. gün log 8.748 kob/gr, 30. gün log 8.662 kob/gr, 60. gün log 6.812 kob/gr, 90. gün log 6.431 kob/gr, ÇD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 8.845 kob/gr, pıhtıda log 8.806 kob/gr, telemede log 9.477 kob/gr, 1. gün log 9.146 kob/gr, 3.gün log 8.903 kob/gr, 7. gün log 8.924 kob/gr, 15. gün log 8.838 kob/gr, 30. gün log 8.672 kob/gr, 60. gün log 7.812 kob/gr, 90. gün log 6.643 kob/gr, ÇM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 9.000 kob/gr, pıhtıda log 9.301 kob/gr, telemede log 9.278 kob/gr, 1. gün log 9.342 kob/gr, 3.gün log 9.361 kob/gr, 7. gün log 8.278 kob/gr, 15. gün log 9.903 kob/gr, 30. gün log 8.662 kob/gr, 60. gün log 7.568 kob/gr, 90. gün log 6.880 kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 11).

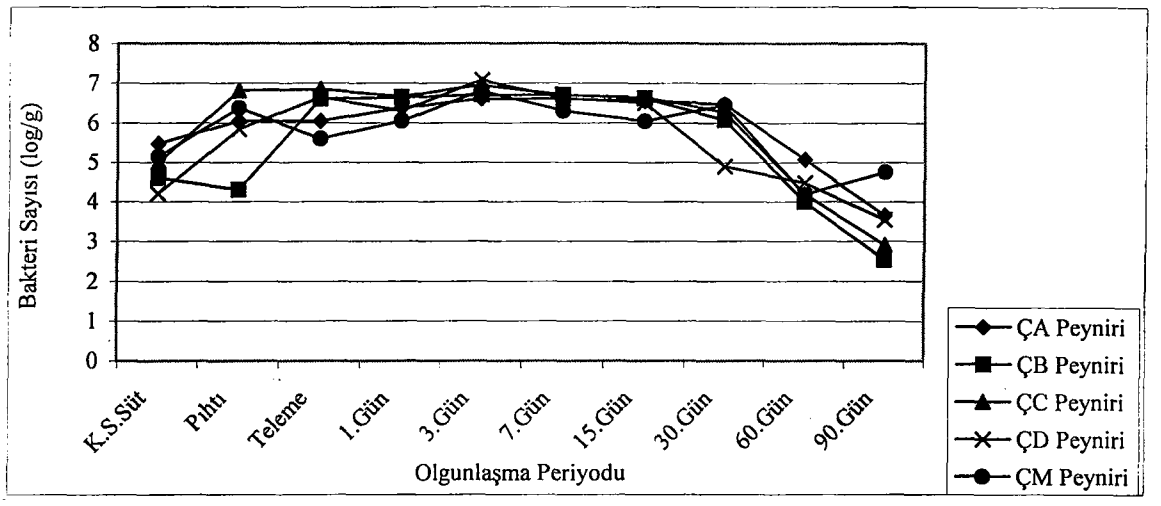
4.2.1.4. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin maya ve küf sayıları



Şekil 12: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde Maya ve Küf Sayısının Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde maya-küf sayısı, ÇA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.698 kob/gr, pıhtıda log 6.845 kob/gr, telemede log 6.845 kob/gr, 1. gün log 6.954 kob/gr, 3.gün log 6.602 kob/gr, 7. gün log 5.602 kob/gr, 15. gün log 6.602 kob/gr, 30. gün log 7.556 kob/gr, 60. gün log 6.230 kob/gr, 90. gün log 5.875 kob/gr, ÇB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 7.146 kob/gr, pıhtıda log 7.176 kob/gr, telemede log 6.204 kob/gr, 1. gün log 6.079 kob/gr, 3.gün log 5.778 kob/gr, 7. gün log 6.278 kob/gr, 15. gün log 6.113 kob/gr, 30. gün log 6.462 kob/gr, 60. gün log 6.255 kob/gr, 90. gün log 6.079 kob/gr, ÇC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 7.255 kob/gr, pıhtıda log 7.079 kob/gr, telemede log 6.806 kob/gr, 1. gün log 6.579 kob/gr, 3.gün log 5.799 kob/gr, 7. gün log 6.176 kob/gr, 15. gün log 5.924 kob/gr, 30. gün log 6.799 kob/gr, 60. gün log 6.414 kob/gr, 90. gün log 7.079 kob/gr, ÇD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 6.079 kob/gr, pıhtıda log 7.113 kob/gr, telemede log 7.146 kob/gr, 1. gün log 6.041 kob/gr, 3.gün log 6.778 kob/gr, 7. gün log 5.903 kob/gr, 15. gün log 6.602 kob/gr, 30. gün log 7.204 kob/gr, 60. gün log 6.838 kob/gr, 90. gün log 5.176 kob/gr, ÇM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 7.278 kob/gr, pıhtıda log 6.845 kob/gr, telemede log 6.230 kob/gr, 1. gün log 7.255 kob/gr, 3.gün log 6.778 kob/gr, 7. gün log 6.113 kob/gr, 15. gün log 6.146 kob/gr, 30. gün log 6.000 kob/gr, 60. gün log 6.875 kob/gr, 90. gün log 6.361 kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 12).

4.2.1.5. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin Enterobacteriaceae grubu mikroorganizma sayıları

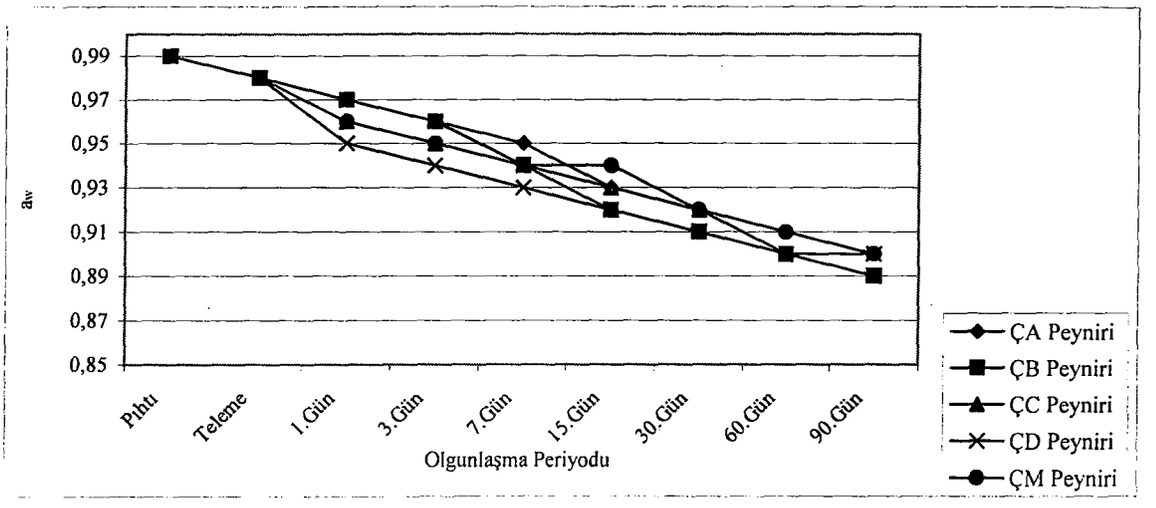


Şekil 13: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde Enterobacteriaceae Grubu Mikroorganizma Sayısının Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde enterobakteri sayısı, ÇA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 5.477 kob/gr, pıhtıda log 6.041 kob/gr, telemede log 6.041 kob/gr, 1. gün log 6.380 kob/gr, 3.gün log 6.602 kob/gr, 7. gün log 6.602 kob/gr, 15. gün log 6.556 kob/gr, 30. gün log 6.477 kob/gr, 60. gün log 5.079 kob/gr, 90. gün log 3.653 kob/gr, ÇB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 4.602 kob/gr, pıhtıda log 4.301 kob/gr, telemede log 6.602 kob/gr, 1. gün log 6.643 kob/gr, 3.gün log 6.698 kob/gr, 7. gün log 6.698 kob/gr, 15. gün log 6.623 kob/gr, 30. gün log 6.079 kob/gr, 60. gün log 4.000 kob/gr, 90. gün log 2.531 kob/gr, ÇC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 5.000 kob/gr, pıhtıda log 6.819 kob/gr, telemede log 6.845 kob/gr, 1. gün log 6.662 kob/gr, 3.gün log 6.954 kob/gr, 7. gün log 6.698 kob/gr, 15. gün log 6.633 kob/gr, 30. gün log 6.278 kob/gr, 60. gün log 4.204 kob/gr, 90. gün log 2.903 kob/gr, ÇD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 4.204 kob/gr, pıhtıda log 5.845 kob/gr, telemede log 6.643 kob/gr, 1. gün log 6.301 kob/gr, 3.gün log 7.079 kob/gr, 7. gün log 6.623 kob/gr, 15. gün log 6.505 kob/gr, 30. gün log 4.903 kob/gr, 60. gün log 4.477 kob/gr, 90. gün log 3.544 kob/gr, ÇM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte log 5.146 kob/gr, pıhtıda log 6.380 kob/gr, telemede log 5.602 kob/gr, 1. gün log 6.041 kob/gr, 3.gün log 6.806 kob/gr, 7. gün log 6.301 kob/gr, 15. gün log 6.041 kob/gr, 30. gün log 6.447 kob/gr, 60. gün log 4.176 kob/gr, 90. gün log 4.755 kob/gr olarak tespit edilmiştir (Şekil 13).

4.2.2. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin kimyasal analiz sonuçları

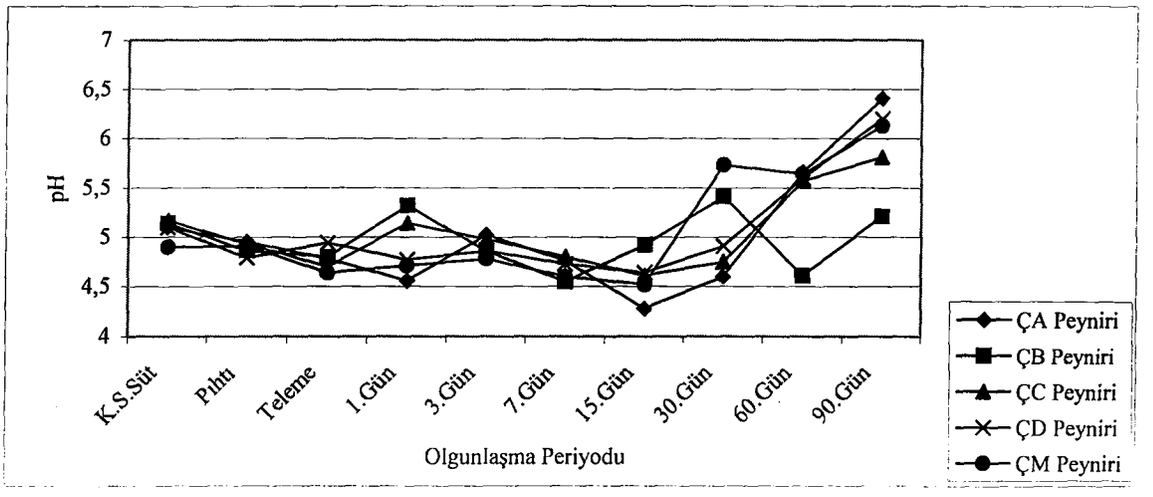
4.2.2.1. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin a_w değerleri



Şekil 14: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde a_w Değerinin Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde a_w, ÇA peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.97 , 3.gün 0.96, 7. gün 0.95, 15. gün 0.93, 30. gün 0.92, 60. gün 0.91, 90. gün 0.90, ÇB peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.97, 3.gün 0.96, 7. gün 0.94, 15. gün 0.92, 30. gün 0.91, 60. gün 0.90, 90. gün 0.89, ÇC peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.96, 3.gün 0.95, 7. gün 0.94, 15. gün 0.93, 30. gün 0.92, 60. gün 0.90, 90. gün 0.89, ÇD peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.95, 3.gün 0.94, 7. gün 0.93, 15. gün 0.92, 30. gün 0.91, 60. gün 0.90, 90. gün 0.90, ÇM peynirinde; pıhtıda 0.99, telemede 0.98, 1. gün 0.96, 3.gün 0.95, 7. gün 0.94, 15. gün 0.93, 30. gün 0.92, 60. gün 0.91, 90. gün 0.90 olarak tespit edilmiştir (Şekil 14).

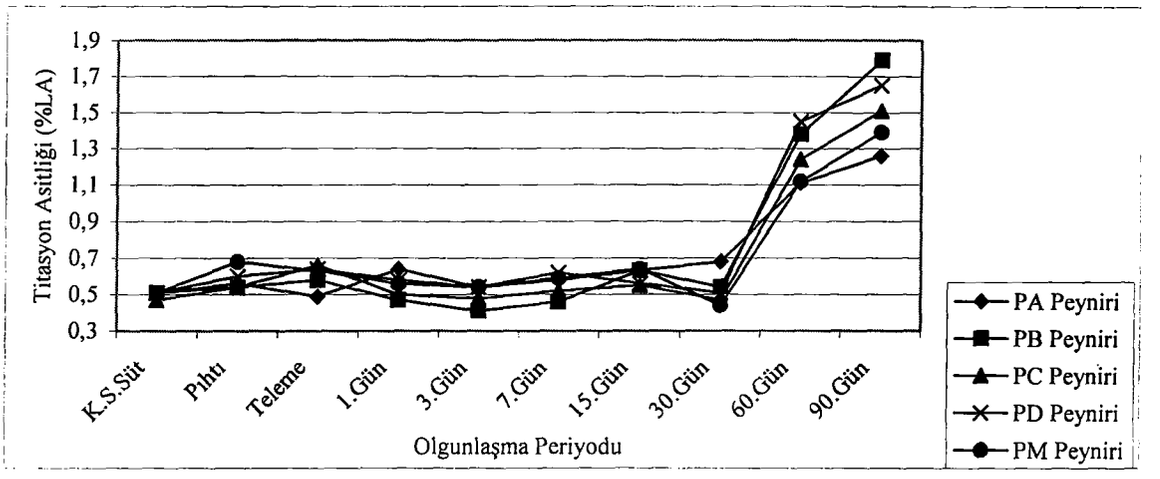
4.2.2.2. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin pH değerleri



Şekil 15: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde pH Değerinin Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde pH, PA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 5.10, pıhtıda 4.95, telemede 4.78, 1. gün 4.56, 3.gün 5.02, 7. gün 4.76, 15. gün 4.28, 30. gün 4.60, 60. gün 5.66, 90. gün 6.41, PB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 5.14, pıhtıda 4.86, telemede 4.80, 1. gün 5.32, 3.gün 4.86, 7. gün 4.55, 15. gün 4.92, 30. gün 5.41, 60. gün 4.61, 90. gün 5.21, ÇC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 5.17, pıhtıda 4.93, telemede 4.70, 1. gün 5.14, 3.gün 4.98, 7. gün 4.80, 15. gün 4.61, 30. gün 4.75, 60. gün 5.57, 90. gün 5.81, ÇD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 5.10, pıhtıda 4.79, telemede 4.94, 1. gün 4.77, 3.gün 4.86, 7. gün 4.73, 15. gün 4.64, 30. gün 4.91, 60. gün 5.60, 90. gün 6.20, ÇM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 4.90, pıhtıda 4.91, telemede 4.64, 1. gün 4.71, 3.gün 4.78, 7. gün 4.60, 15. gün 4.52, 30. gün 5.73, 60. gün 5.64, 90. gün 6.13 olarak tespit edilmiştir (Şekil 15).

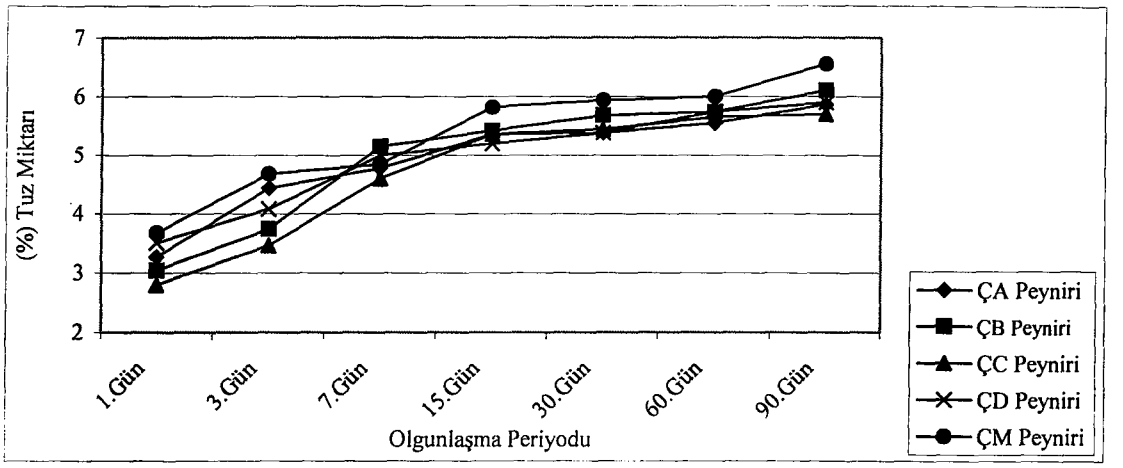
4.2.2.3. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin titrasyon asitliği değerleri



Şekil 16: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde Titrasyon Asitliğinin (%LA) Değerinin Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde asitlik (%L.A.), ÇA peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.51, pıhtıda 0.56, telemede 0.49, 1. gün 0.64, 3.gün 0.54, 7. gün 0.58, 15. gün 0.63, 30. gün 0.68, 60. gün 1,11, 90. gün 1.26, ÇB peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.51, pıhtıda 0.54, telemede 0.58, 1. gün 0.47, 3.gün 0.41, 7. gün 0.46, 15. gün 0.63, 30. gün 0.54, 60. gün 1.38, 90. gün 1.79, ÇC peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.47, pıhtıda 0.54, telemede 0.66, 1. gün 0.50, 3.gün 0.48, 7. gün 0.52, 15. gün 0.55, 30. gün 0.47, 60. gün 1.24, 90. gün 1.51, ÇD peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.51, pıhtıda 0.60, telemede 0.64, 1. gün 0.58, 3.gün 0.54, 7. gün 0.62, 15. gün 0.56, 30. gün 0.51, 60. gün1.45, 90. gün 1.65, ÇM peynirinde; kontaminasyon sonrası sütte 0.51, pıhtıda 0.68, telemede 0.63, 1. gün 0.56, 3.gün 0.54, 7. gün 0.59, 15. gün 0.64, 30. gün 0.44, 60. gün 1.12, 90. gün 1.39 olarak tespit edilmiştir (Şekil 16).

4.2.2.4. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin tuz miktarları



Şekil 17: Çiğ Sütten Yapılan Otlu Peynirlerde (%) Tuz Miktarının Değişimi

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde (%) tuz miktarı, ÇA peynirinde; 1. gün 3.27, 3.gün 4.44, 7. gün 4.78, 15. gün 5.36, 30. gün 5.38, 60. gün 5.55, 90. gün 5.87, ÇB peynirinde; 1. gün 3.04, 3.gün 3.74, 7. gün 5.15, 15. gün 5.42, 30. gün 5.68, 60. gün 5.74, 90. gün 6.11, ÇC peynirinde; 1. gün 2.80, 3.gün 3.46, 7. gün 4.60, 15. gün 5.36, 30. gün 5.44, 60. gün 5.65, 90. gün 5.70, ÇD peynirinde; 1. gün 3.51, 3.gün 4.08, 7. gün 5.00, 15. gün 5.20, 30. gün 5.38, 60. gün 5.74, 90. gün 5.90, ÇM peynirinde; 1. gün 3.68, 3.gün 4.68, 7. gün 4.85, 15. gün 5.82, 30. gün 5.94, 60. gün 6.00, 90. gün 6.56 olarak tespit edilmiştir (Şekil 17).

4.2.3. Deneysel olarak çiğ sütten yapılan otlu peynirlerin serolojik analiz sonuçları

Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde olgunlaşma periyodunun sonuna kadar hiç bir analiz aşamasında toksin oluşumuna rastlanmamıştır (Tablo 7).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan sağlığı için önemli bir tehdit sayılan *S. aureus*'un peynirlerde gelişimini etkileyen pek çok faktör vardır. pH, pastörizasyon sonrası kontaminasyon ile bulaşan *S. aureus*'un gelişimini inhibe eden en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (75,106). Çiğ sütlerin kendine özgü doğal laktik florası bulunmakta, pastörize edilen sütlerde ise yıkımlanan doğal floranın yerine starter kültür ilave edilerek pH düşürülebilmektedir. Sütte bakteriyofaj, antibiyotik, aşırı tuzlama ve starter aktivitesi yetersizliği varsa pH yeterince düşmemekte ve başta *S. aureus* olmak üzere pek çok patojen bakterinin gelişimi engellenememektedir (78). Çalışmamızda pastörize sütten yapılan otlu peynir grubunda kontaminasyon sonrası sütte 6.50 olan pH, starterin faaliyete geçmesi sonucunda hemen pıhtı aşamasında 4.14-4.48 aralığına inmiş, 7. güne kadar hemen hemen sabit bir seyir göstermiş, 15. günden sonra biraz yükselerek 4.90-5.24 aralığına çıkmış, 15. günden olgunlaşma periyodunun sonu olan 90. güne kadar da düşme eğilimine girerek, 90. günde 4.20-4.39 aralığına kadar inmiştir (Şekil 6). Olgunlaşma periyodu boyunca pastörize sütten yapılan otlu peynir grubunda, çiğ sütten yapılan otlu peynir grubuna nazaran daha düşük ve düzenli bir pH seyri görülmüştür (Şekil 6,15). Bu duruma pastörize sütten yapılan otlu peynir grubunda laktozdan hızlı laktik asit oluşturma kabiliyeti olan özel seçilmiş laktik starter kültürlerin kullanılmasının yol açtığı düşünülmektedir.

Çiğ sütten yapılan otlu peynir grubunda ise kontaminasyon sonrası sütte 4.90-5.17 aralığında bulunan pH, pıhtı aşamasında 4.0 seviyelerine inmiş ve küçük dalgalanmalar göstermesine rağmen 15. güne kadar hemen hemen sabit kalmıştır. 30. günden sonra pH yükselme eğilimine girerek ve 90. günde 5.21-6.41 aralığına kadar yükselmiştir (Şekil 15). Olgunlaşmanın sonuna doğru pH'daki yükselmede maya ve küf sayısındaki artışın ve starter kültür kullanılmamasının rol aldığı düşünülmektedir. Maya ve küfler, laktik asidi kullanmakta ve oluşturdukları proteazları vasıtasıyla kazeini parçalayarak deaminasyona sebep olmakta ve böylece pH'yı artırmaktadırlar (121). Pastörize sütlerden yapılan otlu peynir grubunda pH değişimi; Coşkun (43), Santos ve Genigeorgis (75), İbrahim ve ark. (78), Mutluer ve ark. (100), Nunez ve ark. (103), Gomez-Lucia ve ark. (123), Gomez-Lucia ve ark. (124), Ünlütürk ve ark. (125) ve Arispe ve Westhoff'un (144)

çalışmalarına benzer değerlerde bulunmuştur. Çiğ sütlerden yapılan otlu peynir grubunda pH değişimi; Coşkun (43), Santos ve Genigeorgis (75), Mutluer ve ark. (100), Nunez ve ark. (101), Stecchini ve ark. (106), Poullet ve ark. (121), Fontecha ve ark. (145) ve Tayar'ın (149) çalışmalarından farklı değerlerde, Patır'ın (104) çalışmasına ise benzerdir.

Laktozun, laktik asit bakterileri tarafından parçalanmasıyla laktik asit oluşmakta ve ortamın asitliği artmaktadır. Pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde % asitlik başlangıçtan itibaren düzenli bir artış eğilimine girmiş, 15. günde hafif bir düşme görülmesine rağmen bu düzenli artış olgunlaşmanın sonuna kadar devam ederek 90. günde en yüksek değeri olan 1.08-1.62 L.A. düzeyine yükselmiştir. Çiğ sütlerden yapılan otlu peynir grubunda ise başlangıçtan itibaren 30. güne kadar titrasyon asitliği hemen hemen 0.4-0.6 L.A düzeyinde sabit olarak seyretmiş ve pastörize sütlerden yapılan otlu peynir grubundan çok düşük bulunmuştur. Çiğ sütlerden yapılan peynirlerdeki doğal florada bulunan laktobasillerin olgunlaşma periyodunun başlangıcında hızlı gelişmesine rağmen asitliği yeterince düşüremediği, izole edilen laktobasillerinde starter kültür mikroorganizmaları içermediği bildirilmiştir (159). Bu durum, starter olmayan laktik asit bakterilerinin çiğ sütlerden yapılan otlu peynir grubunda 30. güne kadar düşük asitliğin oluşmasında bir rol oynayabileceğini göstermektedir. 30. günden sonra ise titrasyon asitliği yükselmeye başlamış ve 90. günde 1.26-1.79 L.A. seviyelerine çıkarak pastörize sütlerden yapılan otlu peynir grubuna benzerlik göstermiştir (Şekil 4,11). Pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde asitliğin düzenli gelişimi, starter kültürün asitlik gelişimini kontrol altında tutmasından kaynaklanabilir. Pastörize sütlerden yapılan otlu peynir grubunda titrasyon asitliği değişimi; Nunez ve ark. (103) ve Arispe ve Westhoff'un (144) çalışmalarına benzer bulunmuştur. Çiğ sütlerden yapılan otlu peynir grubunda titrasyon asitliği değişimi; Coşkun (43), Patır (104) ve Tayar'ın (149) çalışmalarına benzer sonuçlarda bulunmuştur.

Mikroorganizmaların gelişimi ve metobolizmalarının devamı için en temel besin sudur. Gıdalarda bulunan su ise bağlı ve serbest su olarak kısımlara ayrılır ve mikroorganizmaların yararlanabildiği su o gıdanın a_w değeri ile ifade edilir (160). Pastörize sütten yapılan otlu peynir gruplarında pıhtı aşamasında 0.99 olan a_w değeri, 90. günde 0.91-0.93 aralığına inmiş (Şekil 5), çiğ sütten yapılan otlu peynir gruplarında ise pıhtı aşamasında 0.99 olan a_w değeri ise, 90. günde 0.89-0.90 aralığına inmiştir (Şekil 14).

Pastörize ve çiğ sütten yapılan otlu peynir gruplarında olgunlaşma periyodu boyunca benzer şekilde a_w'nin azalması artan tuz miktarlarına bağlanabilir. Gıdalarda suyun tutulmasında organik asitler, proteinler ve türevleri, lipitler ve türevleri, emilsüfiye ediciler, özellikle peynirlerde tuz gibi katkı maddeleri önemli bir rol oynamaktadır (161). pH düştükçe peynirin su tutma kapasitesi azalmakta (162), tuz miktarı arttıkça su tutma kapasitesi artmakta ve a_w azalmaktadır (163). Olgunlaşma dönemi boyunca pastörize sütten yapılan otlu peynir grubunda a_w değerinin, çiğ sütten yapılan otlu peynirlerden daha yüksek bulunması, pastörize sütten yapılan otlu peynir grubunda pH'nın olgunlaşma periyodu boyunca çiğ sütten yapılan otlu peynirlere nazaran daha düşük seyretmesinden kaynaklanabilir.

Tuz, peynirlerde olgunlaşmayı sağlamak, aroma vermek, istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engellemek ve muhafaza süresini uzatmak amacıyla kullanılmaktadır. Pastörize sütlerden yapılan otlu peynir grubunda tuz miktarı 3. güne kadar artmış ve 30. güne kadar hemen hemen değişmemiş ve 30. günde PA, PB, PC, PD ve PM peynirlerinde sırasıyla % 4.59, 4.81, 4.92, 5.09 ve 4.85 değerlerinde bulunmuştur. Daha sonra tekrar yükselerek 90. güne kadar tuz miktarında bir artma olmuş ve PA, PB, PC, PD ve PM peynirlerinde sırasıyla % 4.91, 6.40, 5.45, 6.00 ve 5.78 değerlerine ulaşmıştır (Şekil 8). Çiğ sütlerden yapılan otlu peynir grubunda ise tuz miktarı 15. güne kadar hızlı bir şekilde artmış ve ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla % 5.36, 5.42, 5.36, 5.20 ve 5.82 seviyelerine çıkmıştır. Bu hızlı yükseliş daha sonraki günlerde daha yavaş bir şekilde gerçekleşmiş ve 90. günde ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla % 5.87, 6.11, 5.70, 5.90 ve 6.56 seviyelerine kadar ulaşmıştır (Şekil 17). Her iki metotla yapılan otlu peynir grubunda tuz oranı olgunlaşma boyunca artmıştır. Tuz oranlarındaki bu yükselme olgunlaşma boyunca peynirlerdeki su kaybına bağlı olarak kuru madde oranındaki artıştan kaynaklanmış olabilir. Pastörize sütlerden yapılan otlu peynir grubunda tuz oranındaki bu artış Coşkun (43) ve Arispe ve Westhoff'un (144) yaptığı çalışmalara benzer sonuçlarda bulunmuştur. Çiğ sütlerden yapılan otlu peynir grubunda tuz miktarındaki değişim tablosu ise Patır (104), Poullet ve ark. (121) ve Tayar'ın (149) çalışmalarına benzer bulunmuştur.

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde toplam aerobik mezofil canlı sayısı 1. günde PA, PB, PC, PD ve PM peynirlerinde sırasıyla en yüksek seviyesi olan log 7.146, 7.079, 7.255, 7.204 ve 7.079 kob/gr düzeyine çıkmış ve bu günden sonra düzenli olarak düşerek olgunlaşmanın sonu olan 90. günde yine sırasıyla log 6.301, 6.146, 6.698, 6.579 ve 6.707 kob/gr değerlerine düşmüştür (Şekil 3). Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde ise, toplam aerobik mezofil canlı sayısı başlangıçta log 8-9 seviyelerindeyken en yüksek seviyelerine telemede ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla log 9.113, 9.301, 9.380, 9.531 ve 9.431 kob/gr düzeyine erişmiş ve 90. günde aynı sırayla log 7.342, 7.442, 7.662, 7.913 ve 7.919 kob/gr düzeyine kadar düşmüştür (Şekil 10). Olgunlaşmaya bağlı olarak, toplam aerobik mezofil canlı sayısında düşme görüldüğü pek çok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (75,78,104,105,106,124,148,149).

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde laktik asit bakterileri (LAB) sayısı telemede PA, PB, PC, PD ve PM peynirlerinde sırasıyla log 7.342, 6.000, 6.255, 6.255 ve 6.598 kob/gr seviyelerindeyken 15. güne kadar aşağı yukarı sayısı hiç değişmemiş ve bu günden sonra hafif bir düşme seyri takip ederek olgunlaşmanın sonu olan 90. günde PA, PB, PC, PD ve PM peynirlerinde sırasıyla log 5.602, 5.826, 6.653, 5.301 ve 5.343 kob/gr seviyelerine düşmüş, çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde LAB telemede ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla log 9.113, 9.204, 9.301, 9.477 ve 9.278 kob/gr seviyelerinde iken 3. güne kadar yaklaşık aynı seviyede seyretmiş ve bu günden sonra düşüş göstererek 90. günde ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla log 6.531, 6.079, 6.431, 6.643 ve 6.880 kob/gr seviyelerine kadar düşmüştür (Şekil 4,11). Pastörize ve çiğ sütten yapılan otlu peynir gruplarında LAB gelişim eğrisi benzer şekilde seyretmiş ve her iki peynir grubunda olgunlaşmanın sonuna doğru düşme görülmüştür. Peynir üretim ve olgunlaşma periyodundaki LAB'nin bu gelişim tablosu pek çok araştırmacının bulgularıyla benzerlik göstermektedir (28,43,78,123,149). Pastörize ve çiğ sütten yapılan otlu peynir gruplarında başlangıç LAB sayıları arasındaki fark uygulanan pastörizasyona bağlı olarak meydana gelmiş olabilir. Olgunlaşma periyodu boyunca görülen azalma olgunlaşma boyunca artan tuz miktarına ve yükselen asitliğe bağlanabilir.

Maya ve küf grubu mikroorganizmalar, pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde kullanılan süt pastörize edildiği için olgunlaşma dönemi boyunca alınan numunelerden hiç

birinde izole edilememiştir. Çiğ sütten yapılan otlu peynir gruplarında pıhtıda ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla log 6.845, 7.176, 7.079, 7.113 ve 6.845 kob/gr olan maya-küf sayıları, daha sonra dalgalanmalar göstererek 7. güne kadar düşmüş, 15.-30. günler arasında tekrar yükselmiştir. Bundan sonra hafif bir düşme eğrisi göstererek olgunlaşma periyodunun son günü olan 90. günde ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla log 5.875, 6.079, 7.079, 5.176 ve 6.361 kob/gr seviyelerine azalmıştır (Şekil 12). Çiğ sütlerden yapılan otlu peynirlerde maya ve küf sayısındaki değişim Coşkun (43), Poullet ve ark. (121), Özalp ve ark. (148) ve Tayar'ın (149) bulduğu değerlere benzer, Patır'ın (104) yaptığı çalışmada bulduğu değerlerden ise yüksek çıkmıştır.

Enterobakteriler, pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde sütün yüksek pastörizasyona tabi tutulmasından dolayı olgunlaşma dönemi boyunca alınan numunelerden hiç birinden izole edilememiştir. Çiğ sütten yapılan otlu peynir gruplarında telemede ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla log 6.041, 6.602, 6,845, 6.643 ve 5.602 kob/gr olan enterobakteri sayısı 30. güne kadar aşağı yukarı sabit kalmıştır. Bu günden sonra düşme eğrisi göstererek olgunlaşma periyodunun son günü olan 90. günde ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla log 3.653, 2.531, 2.903, 3.544 ve 4.755 kob/gr seviyelerine inmiştir (Şekil 13). Bulunan bu değerler Pozo ve ark. (105) ve Poullet ve ark. (121)'nın çalışmasındaki olgunlaşma periyodundaki gelişim seyrine benzer bulunmuştur.

Çalışmamızda pastörize sütten yapılan deneysel otlu peynirlerde *S. aureus* sayısı pıhtı aşamasında tüm peynirlerde hızla artarak PA, PB, PC, PD ve PM peynirlerinde sırasıyla en yüksek değeri olan log 7.113, 7.113, 7.278, 7.278 ve 7.079 kob/gr seviyelerine çıkmış, 15. günden sonra düşme eğilimine girerek 90. günde yine sırasıyla log 3.00, 2.361, 2.146, 2.176 ve 2.556 kob/gr seviyelerine kadar düşmüştür (Şekil 2). Çiğ sütten yapılan deneysel otlu peynirlerde ise, *S. aureus* sayısı pıhtı aşamasında ÇA, ÇB, ÇC, ÇD ve ÇM peynirlerinde sırasıyla en yüksek değeri olan log 7.176, 7.380, 6.806, 7.079 ve 7.255 kob/gr seviyelerine hızla yükselmiş, 30. güne kadar bu sayı fazla değişmeden kalmış, 30. günden sonra azalarak 90. günde yine sırasıyla log 6.278, 5.977, 5.954, 6.278 ve 6.447 kob/gr seviyelerine kadar düşmüştür (Şekil 9). Pastörize sütlerden yapılan otlu peynir grubunda olgunlaşma periyodunun sonu olan 90. günde *S. aureus* sayısının, çiğ sütlerden

yapılan otlu peynir grubundan daha düşük çıkmasının sebebi, pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde seçilmiş laktik starterin aktivitesine bağlı olarak pH'nın düzenli ve kontrollü bir düşüş ve titrasyon asitliğinin düzenli bir yükseliş göstermesi ile seçilmiş laktik starterin oluşturduğu inhibe edici bakteriyosinler olabilir. Nitekim, peynirler üzerinde yapılan çalışmalarda pek çok araştırmacı pH'nın (78,98,99,100,101,102,103,104), çiğ sütün doğal florasının (75,102,106,120,121,122,123) ve starter kültür olarak kullandığımız laktokokların (115,116,117) *S. aureus*'un gelişimini inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızdaki pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde üretim ve olgunlaşma periyodundaki *S. aureus*'un gelişim seyri Coşkun (39), Santos ve Genigeorgis (75), Nunez ve ark. (103), Stecchini ve ark. (106) ve Özalp ve ark. (148) 'nın yaptığı çalışmalara benzer bulunmuştur. Çiğ sütlerden yapılan otlu peynirlerde üretim ve olgunlaşma periyodundaki *S. aureus*'un gelişim seyri ise Coşkun (39), Santos ve Genigeorgis (75), Mutluer ve ark. (100), Nunez ve ark. (103), Patır (104), Pozo ve ark. (105), Stecchini ve ark. (106), Bachmann (120), Poullet ve ark. (121), Fontecha ve ark. (145), ve Özalp ve ark. (148) 'nın yaptığı çalışmalara benzer bulunmuştur.

Karışık kültürlerde enterotoksinin oluşumunda inhibitör etkenin kesin mekanizması bilinmemekle birlikte, temel besin maddelerinde yarışmanın, engelleyici substantların oluşumunun, oluşan aktif metobolitlerin ve yüksek asitliğin bu mekanizmayı etkilediği sanılmaktadır (90). Enterotoksin oluşumu, başlangıç *S. aureus* bulaşma düzeyine, enterotoksin üreten *S. aureus* suşuna ve ortamdaki mikrofloraya direkt olarak bağlıdır. Yüksek düzeyde *S. aureus* inokulasyon veya bulaşmasının *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin üretim miktarını arttırdığı bildirilmiştir (75,78,105,124).

Enterotoksin A sentezi bakteri üremesinin logaritmik ve duraklama safhalarında meydana gelmekte (67), enterotoksin C sentezi rekabetçi mikroflorasının etkisiyle ilerleyen safhalarda olmakta (68) ve yüksek düzeyde *S. aureus* inokulasyon veya bulaşması *S. aureus*'un gelişimini ve enterotoksin üretimini artırmaktadır (75,78,105). Araştırmamızda, pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde pıhtı safhasında PA peynirinde enterotoksin A, 3. günde PM peynirinde enterotoksin A, B, C, D ve 15. günde PC peynirinde enterotoksin C oluşumu tespit edilmiştir. Çalışmamızda pıhtı safhasında PA

peynirinde enterotoksin A sentezlenmesi, enterotoksin A oluşumunun bakteri üremesinin logaritmik safhasındayken başlamasından, 3. günde PM peynirinde enterotoksin A, B, C, D sentezlenmesi bu peynirde *S. aureus* sayısının fazla olmasına bağlı olarak sinerjik etkiyle enterotoksin üretimini teşvik etmesinden, PC peynirinde 15. günden sonra enterotoksin C sentezlenmesi, rekabetçi mikrofloranın enterotoksin oluşumunu geciktirmesinden kaynaklanabilir. Pastörize sütlerden yapılan otlu Peynirlerde bulduğumuz bu sonuçlar Santos ve Genigeorgis (75), İbrahim ve ark. (78), Bennet ve Amos (99), Gomez-Lucia ve ark. (123), Gomez-Lucia ve ark. (124)'nın bulgularıyla uyum göstermektedir.

Peynirlerde enterotoksin oluşumuna etki eden faktörlerden bir diğeri peynirin doğal mikroflorasıdır. Çiğ sütlerden yapılan peynirlerde bulunan doğal mikrofloranın *S. aureus*' un gelişimi üzerine kısmen etkili olduğu, ancak enterotoksin üretim yeteneğini güçlü bir şekilde baskıladığı bildirilmiştir (75,106,120). Bu durum, peynirde bulunan doğal mikrofloranın zayıf bir yarışmacı olarak bilinen *S. aureus*'un gelişimi ve daha önemlisi enterotoksin oluşturma yeteneğini baskıladığını göstermektedir. Pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde ise, yarışmacı doğal mikrofloranın bulunmamasının enterotoksin oluşumunu meydana getiren en önemli faktör olduğu belirtilmiştir (75,106,120). Bizim çalışmamızda da çiğ sütlerden yapılan otlu peynir grubunda *S. aureus* sayısı 10^7 kob/gr seviyesine çıkmasına rağmen, bu gruptaki hiçbir peynirde enterotoksine rastlanmamış, pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde ise enterotoksin oluşumu belirlenmiştir. Çiğ sütlerden yapılan otlu peynirlerde enterotoksin tespit edilememesi yüksek sayıda rekabetçi mikrofloranın bulunmasından, pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde enterotoksin oluşumu görülmesi ise, yukarıda ifade edildiği gibi başlangıç inokulasyon düzeyinin yüksek olmasından ve pastörize sütteki yarışmacı mikrofloranın inhibe edilmesiyle enterotoksin oluşumunun baskılanamamasından kaynaklanmış olabilir. Pastörize sütlerden yapılan peynirlere starter kültür katılması *S. aureus*'un enterotoksin oluşturmasını engelleyememiş, sadece olgunlaşmanın sonlarına doğru sayısını düşürebilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar Santos ve Genigeorgis (75), Stecchini ve ark. (106), Bacman (120) 'nın bulduğu sonuçlarla uyum göstermektedir.

Stafilokokal gıda intoksikasyonun oluşumu için, ısı işlemi ile mikroflorası elimine edilmiş ve sonra *S. aureus*' la kontamine olmuş gıdalar önemli rol oynamaktadır. Yine

yüksek kontaminasyon seviyesine sahip çiğ sütlerden yapılan otlu peynirlerde enterotoksin oluşumu, ancak enterotoksin oluşumunu engelleyici bir faktör olan yarışmacı mikroflora tarafından durdurulabilmiştir. Burada üzerinde durulması gereken en önemli nokta pastörizasyonun özenle yapılması ve sonrasında kontaminasyonun önlenmesidir.

Pastörize süte starter kültür ilavesiyle yapılan ve düşük pH'ya sahip otlu peynirlerde *S. aureus* sayısı azalmış ancak, tamamen elimine olmamıştır. Böylece pH'nın, *S. aureus*'un gelişimi üzerine etkili olduğu gözlenmiş ancak tek başına yeterli bir faktör olmadığı sonucuna varılmıştır.

Bunlar gözönüne alınarak risk faktörlerini en aza indirgemek için şunlara dikkat edilmelidir:

Sağım hijyeni, süt kalitesi açısından önemli bir faktördür. Sağıma meme temizliği yapılmadan başlanmakta, patojen mikroorganizmalar çoğu kez tek memedeyken sağım yapan personelin eliyle ve süt sağım makinalarıyla diğer memelere ve süt ineklerine bulaşmaktadır. Sağımda çalışan personel bu konuda bilgilendirilmeli ve portörlük muayeneleri muhakkak yapılmalıdır. Süt sağım makinalarının temizliğine dikkat edilmeli, bir diğer memeye takılmadan önce dezenfekte edilmelidir. Süt güğümlerinin temizliğine büyük bir özen göstermelidir. Ahır havasının temiz olması için tozdan kaçınmalı, yer temizliğine dikkat edilmeli, iyi bir ahır drenaj sistemi olmalıdır. Çevresel faktörlere dikkat edilmeli, hava, kum, toprak, normal su kaynakları, kanazilasyon atıkları taşıyıcı olarak kabul edilmeli, hava ile deri ve insan giysilerindeki toz partikülleri vasıtasıyla stafilakokların bulaşabileceği unutulmamalı, imalat ortamında pozitif hava sistemi kurulmasına çalışılmalıdır.

Sütün soğutularak muhafaza edilmesi zorunlu hale getirilmeli, akşam sütünün sabaha kadar ortam şartlarında bekletilmesi engellenmeli, soğutma yerine hidrojen peroksit ve diğer kanserojenik katkı maddelerinin kullanımının önüne geçilmelidir. Sütün köylerden fabrikalara nakli güğümlerle değil, soğuk zincir kırılmadan gerçekleşmelidir. Bu iş için frigofirik taşıtların kullanılması zorunlu hale getirilmeli ve yasal düzenlemelerle desteklenmelidir. Fabrikalarda sütün alımında genel koloni sayısı ve somatik hücre

sayısına dayalı limit değerler belirlenmeli, sütün hijyenik kalitesi sütün fiyatlandırılmasında temel unsurlardan birini oluşturmalıdır.

Pastörizasyon öncesi dönemde temel prensip sütün kalitesini korumaktır. Peynirin hammaddesi olan süt; mastitis, antibiyotik, bakteriyofaj, yetersiz soğutma, sağım hijyeninin sağlıksız olması gibi problemlerden dolayı kalitesini yitirmekte ve bu durum pek çok problemlere neden olmaktadır. Alınması gereken pastörizasyon öncesi ve pastörizasyon sonrası önlemler ile prosese bütüncül bir yaklaşım getirilebilir. Bu da sütün fabrikaya kadar getirilmesine ve sütün pastörizasyona sokulmasına kadar süt kalitesinin korunmasıyla ve peynir imalat prosesinde pastörizasyonda ve sonrasında Good Manufacture Practis önlemlerinin alınması ile gerçekleştirilebilir. Pastörizatör kullanımı mecburi hale getirilmeli, pastörizasyon aşamasında cihazın kalibrasyonuna itina gösterilmeli, çiğ sütten mamul yapma geleneği ortadan kaldırılmalıdır.

Süt mamülleri işleme tesisleri modern anlamda yeniden yapılandırılmalı, atadan kalma mandıra geleneği reforme edilmelidir. Süt mamulleri işleme tesislerinde genel hijyene uygun nitelikte modern alet ve ekipman kullanılmalı, dezenfektanlarla paslanmaz çelik olan yüzeylerin hijyeni sağlanmalıdır. İşletmede HACCP sistemi kurulmalı, kalite kontrol kavramı benimsenmeli, personel bu yönde tam bir eğitimden geçirilmelidir. İmalat sonrasında olgunlaşma işlemi uygun soğutmalı depolarda ve kontrollü olarak yapılmalıdır. Tüketiciye sunma aşamasında ise, satış yerlerinde uygun şartlar ve soğuk zincir devam etmelidir. Kısacası tüm aşamalarda toplam kalite anlayışına sahip olunmalı ve gereken tüm kontroller aksaksız olarak referans laboratuarlar tarafından takip edilmelidir.

Sonuç olarak, pastörizasyon işlemi ile mikroflorası elimine edilmiş ve daha sonra enterotoksijenik *S. aureus* ile kontamine olmuş sütten yapılan peynirlerin, stafilokokal intoksikasyon yönüyle halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceği görülmüştür. Bundan dolayı, personel ve işletme hijyenine önem verilmesinin ve özellikle pastörizasyon sonrası kontaminasyonların önlenebilmesi için ciddi bir kontrol sisteminin zorunlu olduğu kanaatine varılmıştır.

ÖZET

Akkaya, L. Otlu Peynirlerde Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* Suşlarının Üreme ve Enterotoksin Oluşturma Yetenekleri, Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van, 2001

Bu çalışmada, pastörize ve çiğ sütlerden deneysel olarak yapılan otlu peynirlere A, B, C ve D tipi toksin oluşturan *S. aureus* referans suşları (SEA 10652 FDA 196 E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137, SED 10656 494) ayrı ayrı ve eşit oranlarda karıştırılıp 10^5 kob/ml düzeyinde inokule edilerek 10 adet deneme peyniri yapılmış ve enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının 90 günlük olgunlaşma periyodunda üreme ve enterotoksin oluşturma yetenekleri incelenmiştir.

Üretimde kullanılacak sütten başlamak üzere 90 günlük olgunlaşma periyodunda 11 farklı dönemde pastörize sütten yapılan peynirlerde *S. aureus*, aerobik mezofil canlı, laktik asit bakterileri, a_w, pH, asitlik, tuz miktarı ve A, B, C, D tipi enterotoksin tayinleri, çiğ sütten yapılan peynirlerde ise bunlara ilave olarak maya-küf ve enterobakteri sayımları yapıldı. *S. aureus* sayımı için, örneklerden yayma metodu ile Baird-Parker Agar'a ekim yapıldı ve gelişen tipik kolonilerden katalaz (+) olanlara Staphytec Plus testi uygulandı. Enterotoksin tip tayini ise SET-RPLA test kiti kullanarak belirlendi.

Pastörize sütten yapılan otlu peynirlerde 15. günden sonra *S. aureus* sayısı düzenli olarak azalmış ve 90. günde log 2' ler seviyesine düşmüştür. Çiğ sütlerden yapılanlarda ise olgunlaşmanın başlarında 10^7 kob/gr seviyelerine kadar çıkmış daha sonra azalarak 90. günde başlangıç seviyesine düşmüştür.

Yapılan çalışmada 90 günlük olgunlaştırma periyodu boyunca pastörize sütten yapılan otlu peynirlerden PA peynirinde; pıhtı aşamasında enterotoksin A,PM peynirinde; 3. günde enterotoksin A, B, C, D ve PC peynirinde; 15. günde enterotoksin C tespit edilmiş ve olgunlaşma periyodunun sonuna kadar bütün deneysel uygulama aşamalarında bu toksinler belirlenmiştir. Çiğ sütten yapılan otlu peynirlerde ise *S. aureus* sayısı 10^7 kob/gr seviyesine çıkmasına rağmen olgunlaşma periyodunun sonuna kadar hiç bir deneysel uygulama aşamasında toksin oluşumuna rastlanmamıştır. Çiğ sütlerden yapılan otlu peynirlerde enterotoksin tespit edilememesi yüksek sayıda rekabetçi mikrofloranın bulunmasından, pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlerde enterotoksin oluşumu ise, başlangıç inokulasyon seviyesinin yüksek olmasından ve pastörize sütteki yarışmacı mikrofloranın inhibe edilmesiyle enterotoksin oluşumunun baskılanamamasından kaynaklanmış olabileceği kanaatine varılmıştır. Pastörize sütlerden yapılan otlu peynirlere starter kültür katılması, *S. aureus*'un enterotoksin oluşumunu engelleyememiş, sadece olgunlaşmanın sonlarına doğru sayısını düşürebilmiştir.

Sonuç olarak, pastörizasyon işlemi ile mikroflorası elimine edilmiş ve daha sonra enterotoksijenik *S. aureus* ile kontamine olmuş sütten yapılan peynirlerin, stafilokokal intoksikasyon yönüyle halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceği görülmüştür. Bundan dolayı, personel ve işletme hijyenine önem verilmesinin ve özellikle pastörizasyon sonrası kontaminasyonların önlenebilmesi için ciddi bir kontrol sisteminin zorunlu olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Enterotoksin oluşumu, Otlu peynir, *S. aureus*, Olgunlaşma periyodu

SUMMARY

AKKAYA, L . In Herby Cheese The Ability of Growth and Enterotoksin Production of *Staphylococcus aureus* Strains, Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ph.D. Thesis, Van, 2001

In this study, *S. aureus* refarence strains (SEA 10652 FDA 196 E, SEB 10654 FDA 243, SEC 10655 137, SED 10656 494) forming A, B, C and D type toxins were inoculated separately and equally at the rate of 10^5 cfu/ml to herby cheese experimentally obtained from pasteurized and raw milk and thereby 10 cheese samples were made, The growth rate and ability of producing enterotoxin during the 90 days of ripening period were investigated.

During the 90 days of ripening, including raw milk, *S. aureus*, aerobic mesophilic count, lactic acid bacteria, a_w, pH, acidity, salt levels and A, B, C, D type enterotoxin presence were investigated in cheese samples made from pasteurised milk at 11 different periods. As to the cheese samples made from raw milk, in addition to above analyses, yeast-mould and enterobacter counting were performed. For *S. aureus* counting, samples were fixed to Baird-Parker Agar using spreading method and Staphytec Plus Test was applied to catalyse (+) ones off the typical colonies grown. To identify enterotoxin type SET RPLA Test kits were used.

The level of *S. aureus* in herby cheese samples made from pasteurised milk regularly decreased after 15 days, and on the 90 th. day reduced to log 2 cfu/gr. In cheese samples made from raw milk, at the beginning of ripening period, it increased up to 10^7 cfu/ gr, and then on 90 th. day decreased to the beginning level.

In this study, throughout 90 days of ripening period, off the cheese samples, in PA cheese samples, enterotoxin was seen in the curd stage, in PM cheese, on the third day, enterotoxin A, B ,C, D and in PC cheese enterotoxin C was seen on 15 th. day. And all these toxins were observed during all processing steps, until the end of ripening period. No enterotoxin was seen in the processing steps until the end of ripening period in the cheese samples made from raw milk and pH did not drop compared to that of pasteurised cheeses. Therefore, the level of *S. aureus* only dropped to about log 5-6 cfu/gr. Starter culture addition into herby cheese made from pasteurised milk did not prevent enterotoxin production, only reduced the number towards the end of ripening period. The absence of enterotoxin in herby cheese made of raw milk was probably due to the presence of competitive microflora in high numbers, and the formation of enterotoxin in cheese made of pasteurised milk was likely due to the high level of starter inoculation and the inhibitation of competitive microflora in pasteurised milk.

As a result, the cheese samples made from the pasteurised milk without microflora and later contaminated with enterotoksigenic *S. aureus* has a potential risk of staphylococcal intoxication. It was concluded that there must a strict control over the personnel hygiene and plant sanitation in order to prevent post-pasteurisation contamination.

Key Word: Enterotoxin production, Herby cheese, *S. aureus,* Ripening period

KAYNAKLAR

1. Erol İ. (1997). Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Ders Notları, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Teksir, Ankara.

2. Untermann F. (1972).Zum Vorkommen von Enterotoxinbildenden Staphylokokken bei Menschen, Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig., A, 222, 18-26.

3. Ecker C and Lenz W. (1990).Enterotoxinnachweis und Lysotypie bei *Staphylococcus aureus* in Rahmen der Speiseüberwachung, Arch. Für Lebensmittelhyg., 41,120-126.

4. Gilmour A and Harvey J. (1990). Staphylococci in Milk and Milk Products, J. Appl.Bacteriol., Symposium Supplement, 147-166.

5. Spoerri-Peter V. (1991).Vorkommen und Eigenschaften von *Staphylococcus aureus* in Fleischverarbeitenden Betrieben, Vet. Med. Diss., Zürih.

6. Bryan L F. (1978). Factors that Contribute to Outbreaks of Foodborne Disease. J. Food Prot., 41, 816-827.

7. Beckers H J, Coutinho R A, Jansen J T and Van Leeuwen W J. (1980). Staphylococcal Food Poisoning by Consuption of Sterilized Vanilla Custard, Antonie-van-Leeuwenhoek, 46, 224-225.

8. Hirooka E L, Salzberg S P C and Bergdoll M S. (1987). Production of Staphylococcal Enterotoxin A and Thermonuclease in Cream Pies, J. Food Protect., 50, 952-955.

9. Neumayr L and Krämer J. (1989).Vergleichende Untersuchung zur Bildung von Enterotoxin A und Thermonuklease durch *Staphylococcus aureus* in Sojamilch (-) und Milch (produkten), Arch. für Lebensmittelhyg., 40, 3-7.

10. Müller C. (1993). Charakterisierung von *Staphylococcus aureus* aus Mastitsmilch-proben der Region Nordostschweiz, Vet. Med. Diss., Zürich.

11. Ünlütürk A. (1998). Süt ve Süt Ürünlerinde Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar Ve Muhafaza Yöntemleri, Gıda Mikrobiyolojisi, Ed, Ünlütürk A. ve Turantaş F., 298-307, Mengi Tan Basım Evi, İzmir.

12. Gönç S ve Kınık Ö. (1994). Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar, E.Ü. Zir. Fak. Yayını, İzmir.

13. Bergdoll M S. (1990). Staphylococcal Food Poisoning, in Foodborne Diseases, Ed, Cliver O D, Vol. 5, 86-106, Academic Press, Wisconsin.

14. Carter G R, Chengappa M M, Roberts A W, Claus G W, Rikihisa Y. (1995). Essentials of Veterinary Microbiology, Ed, Cann C, Vol. 2, 109-241, Williams and Wilkins Co, Baltimore.

15. Bisping W, Amtsberg G. (1988). Colour Atlas for the Diagnosis of Bacterial Pathogens in Animals, Vol. 1, 15-27, Paul Parey Sci. Pub., Berlin.

16. Alişarlı M, Sağun E, Alemdar S ve Akkaya L. (Yayına Kabul Tarihi 14.06.2001). Kremalı Pastalarda Enterotoksin Oluşturan S. aureus Suşlarının Çoğalma ve Enterotoksin Oluşturma Özellikleri Üzerine Etki Yapan Faktörler, Tübitak Türk Vet. Hayv. Dergisi.

17. Halpin-Donhalek M I and Marth E H. (1989). *Staphylococcus aureus*: Production of Extracellular Compounds and Behavior in Foods-A Review, J Food Protect., 52, (4), 267-282.

18. Alişarlı M. (1997). Vermehrung von *Staphylococcus aureus* und Enterotoxinbildung in Türkischen Puddingspesien, Vet. Med. Diss., Zürich.

19. Göktürk F, Örün H ve Banoğlu V. (1982). Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük, Titiz Matbaacılık, Ankara.

20. Demirci M ve Şimşek O. (1997). Peynir Teknolojisi, Süt İşleme Teknolojisi, Vol. 4, 119-185, Rebel ofset., İstanbul.

21. Tekinşen O C. (1997). Peynir Teknolojisi, Süt Ürünleri Teknolojisi, Vol. 6, 133-229, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya.

22. Kaptan N. (1983).Ankara'da Tüketime Sunulan Beyaz Peynirlerin Kalitesi, Gıda, 8, (2), 67-72.

23. İnal T. (1990). Peynirler, Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi, Bölüm VII, 697-1013, Final Ofset, Konya.

24. Demirci M. (1996). Peynirin Beslenmemizdeki Yeri ve Önemi, Her Yönüyle Peynir, Ed, Demirci M., Vol. 1, 7-16, Hasad Yayıncılık Ltd. Şt., İstanbul.

25. Renner E. (1983). Milch und Milchproducte in der Ernahrung des Menschen Volkswirt Verlag, "Alınmıştır" Demirci M. (1996). Peynirin Beslenmemizdeki Yeri ve Önemi, Her Yönüyle Peynir, Ed, Demirci M., Vol. 1, 7-16, Hasad Yayıncılık Ltd. Şt., İstanbul.

26. Çelik Ş, Özdemir C, Özdemir S ve Sert S. (1998). Diyarbakır Yöresinde Tüketime Sunulan Salamura Beyaz Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, Geleneksel Süt Ürünleri, Ed, Demirci M, MPM Yayınları No: 621, Ankara.

27. Coşkun H. (2000). Bazı Süt İşletmelerinde Üretilen Beyaz ve Kaşar Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalite Kriterleri Yönünden İncelenmesi, Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, Ed, Demirci M, Rebel Matbaacılık, İstanbul.

28. Kınık Ö, Ergüllü E ve Akbulut N. (1999). Sepet Peyniri Üretimi ve Kimi Özellikleri Üzerine Bir Çalışma, Gıda, 24, (3), 151-161.

29. Kıvanç M. (1989). Erzurum Piyasasında Tüketime Sunulan Kaşar Peynirlerinin Mikrobiyal Florası, Gıda, 14, (1), 23-30.

30. Özdemir S, Çelik Ş, Özdemir C ve Sert S. (1998). Diyarbakır'ın Karacadağ Yöresinde Mahalli Olarak Üretilen Örgü peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri, Geleneksel Süt Ürünleri, Ed, Demirci M, MPM Yayınları No: 621, Mert Matbaası, Ankara.

31. Özalp E, Kaymaz Ş ve Akşehirli E. (1978). Erzincan Tulum Peynirlerinde Enterotoksijenik Stafilokok'lar ve Salmonella'lar Yönünden Araştırma, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 25, (11), 56-61.

32. Patır B, Arslan A ve Güven A. (1995). Şavak Salamura Beyaz Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi, Fırat Üni. Vet. Bil. Derg., 11, (1), 51-56.

33. Şahan N ve Var I. (1998). Taze Urfa Peynirlerinin Mikrobiyolojik Özellikleri ve Bazı Patojen Bakterilerinin Aranması, Geleneksel Süt Ürünleri, Ed, Demirci M, MPM Yayınları No: 621, Mert Matbaacılık, Ankara.

34. Tekinşen O C ve Çelik C. (1979). Şavak Peynirinde Staphylococcus'lar ve Micrococcus'lar, Ankara Üni. Vet. Fak. Derg., 26, (3-4), 47-63.

35. Yetişmeyen A. (1997).Otlu Peynir Üretim Tekniğinin ve Kalite Özelliklerinin Geliştirilmesi Üzerine Bir Araştırma, Tr. J. Agricult. and Foresty, 21, 237-245.

36. Tunçtürk Y. (1991). Van İlinin Sütçülük Durumu Üzerine Bir Araştırma, Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Y. Lisans Tezi (Yayımlanmamış), Van.

37. Akyüz N ve Coşkun H. (1996).Van Otlu Peynirlerin Üretimi ve Peynire Katılan Otların Peynirin Çeşitli Özellikleri Üzerine Etkisi, Her Yönüyle Peynir, Ed, Demirci M., Hasad Yayıncılık Ltd. Şt., İstanbul.

38. Özçelik H. (1989).Van ve Yöresinde Süt Mamüllerinin Hazırlanmasında Yararlanılan Bitkilerin Kullanılışları Üzerine Bir Araştırma, Doğa Türk Tar. ve Or. Derg., 13, (2), 356-361.

39. Coşkun H. (1998). Van Otlu Peyniri, V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Ed, Demirci M., MPN Yayınları No.621, Mert Matbaası, Ankara.

40. Coşkun H. (1996).Van Otlu Peynirinin Üretimi ile İlgili Sorunlar ve Çözüm Önerileri, Dünya Gıda , Aralık 37-39.

41. Kurt A ve Akyüz N. (1984). Van Otlu Peynirinin Yapılışı ve Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Nitelikleri, Gıda, 9, (3), 141-146.

42. Sancak Y C, Kayaardı S, Sağun E ve Ekici K. (1996). Otlu Peynirlerin Kimyasal Kompozisyonu, Su Aktivitesi (a_w) Değeri ve Mikroorganizmalar Arasındaki İlişki, Y.Y.Ü. Sağlık Bil. Derg., 2, (1-2), 75-79.

43. Coşkun H. (1995). Farklı Metotlarla Üretilen Otlu Peynirlerde Olgunlaşma Süresi Boyunca Meydana Gelen Değişmeler, Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Van.

44. İşleyici Ö ve Akyüz N. (2000). Van İlinde Satışa Sunulan Otlu Peynirlerde Mikrofloranın ve Laktik Asit Bakterilerinin Türlerinin Belirlenmesi, Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, Ed, Demirci M, Rebel Matbaacılık, İstanbul.

45. Sneath P H A, Mair N S, Sharpe M E and Holt G E, (1986). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Ed, Sneath P H A, Williams and Wilkins Publishing, London.

46. Asperger H. (1998). *Staphylococcus aureus*, Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar, Kınık Ö, Gönç S, Akalın S, IDF Yayını, Vol. 3, 21-44, Ege Üni. Basımevi, İzmir.

47. Adams M R and Moss M O. (1993). *S. aureus*, in Food Microbiology, Vol 7, 205-210, Allen Press, England.

48. Leloğlu N. (1997). Gram pozitif Koklar, Özel Mikrobioloji, Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N ve Akay Ö., Vol. 2, 31-39, Medisan Yayınları, Ankara.

49. Wilkinson B J, Sison Y and Peterson P K. (1981). Chemical and Biological Studies of *S. aureus*, "Alınmıştır" Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (1986). Ed, Sneath P H A, Vol. 2, 990-1100, Williams and Wilkins Publishing, London.

50. Hayes P R. (1995). *S. aureus*, in Food Microbiology and Hygiene, Vol. 2, 44-49, Published by Chapman and Hall, London.

51. Tunail N. (2000). Mikrobiyel İnfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Vol. 3, 81-185, Armoni Matbaacılık, Ankara.

52. Arbuthnott J P, Coleman D C and Azavedo J S. (1990). Staphylococcal Toxins in Human Disease, J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl., 101-107, "Alınmıştır" Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar, (1998). Kınık Ö, Gönç S, Akalın S, IDF Yayını, Vol. 3, 21-44, Ege Üni. Basımevi, İzmir.

53. Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

54. Bergdoll M S, Surgala M J and Dack G M. (1959). Staphylococcal Enterotoxin-Identification of a Specific Precipitating Antibody with Enterotoxin-Neutralizing Property, J. Immunol., 85, 334-338.

55. Casman E P. (1960). Further Serological Studies of Staphylococcal Enterotoxin, J. Bacteriol., 79, 849-856.

56. Bergdoll M S, Borja C R and Avena R M. (1965). Identification of a New Enterotoxin As Enterotoxin, C. J. Bacteriol., 90, 1481-1485.

57. Casman E P, Bennet R W, Dorsey A E and Issa J A. (1967). Identification of a Fourth Staphylococcal Enterotoxin D, J. Bacteriol., 94, 1875-1882.

58. Avena R M and Bergdoll M S. (1967). Purification and Some Physicochemical Properties of Enterotoxin C, *Staphylococcus aureus* Strain 361, Biochemistry, 6, 1474-1480.

59. Borja C R and Bergdoll M S. (1967). Puification and Characterization of Enterotoxin C Produce by *Staphylococcus aureus* Strain137, Biochemistry, 6, 1467-1473.

60. Bergdoll M S, Borja C R, Robbins R N and Weis K F. (1971). Identification of Enterotoxin E, Infect. Immun., 4, 593-595.

61. Reiser R F, Robins N, Noleto A L, Khoe G P and Bergdoll M S. (1984). Identification, Purification and Some Physicochemical Properties of Staphylococcal Enterotoxin C_3, Infect. Immun., 45, 625-630.

62. Bergdoll M S and Schlivert P M. (1984).Toxic Shock Syndrome Toxin-I, Am. Soc. Microbiol., News 50, 525.

63. Betley M J, Borst D W and Regassa L B. (1992). Staphylococcal Enterotoxin, Toxic Shock Syndrome Toxin and Streptococcal Pyrogenic Exotoxins: a Comperative Study of Their Molecular Biology., Chem. Immunol., 55, 1-35.

64. Yi-Cheng Su and Wong Amy C L. (1995 a). Identification and Purification of a New Staphylococcal Enterotoxin, H., Appl. and Environmentel Mic., 60, (2),1438-1443.

65. Yi-Cheng Su and Wong Amy C L. (1995 b). Detection of Staphylococcal H by an Enzyme Linked Immunosorbent Assay, J. Food Protect., 59, (3), 327-330.

66. Pereira M L, dos Carmo L S, Santos E J. and Bergdoll M S. (1996). Enterotoxin H in Staphylococcal Food Poisoning, J. Food Protect., 59, (5), 559-561.

67. Troller J A. (1972). Effect of Water Activity on Enterotoxin A Production and Growth of *S. aureus*, Appl. Microbiol., 24, (3), 440-443.

68. Notermans S, Tips P and Heuvelman C J. (1984). Einfluss der Milieu-Bedingungen auf das Wachstum von *S. aureus* und die Enterotoxin-Bildung, Fleischwirtsch., 64, 1490-1496.

69. Bergdoll M S. (1991). *Staphylococcus aureus,* J.Assoc. Anal. Chem., 74, 706-710.

70. Evenson M L, Hinds M V, Bernstein R S and Bergdoll M S. (1988). Estimation of Human Dose of Staphylococcal Enterotoxin A from a Large Outbreak of

Staphylococcal Food Poisoning Involving Chocolate Milk, Int. J. Food Microbiol., 7, 311-316.

71. Raj H D and Bergdoll M S. (1969). Effect of Enterotoxin B on Human Volunteers, J. Bacteriol., 98, 833-834.

72. Bergdoll M S, dos Carmo L S, Sikorski W, de Olivera Filho M. (1992). Staphylococcal Food Poisoning in Brazil. 3rd World Congress/Foodborne Infections and Intoxications (WHO-FHO), B35, 320-322.

73. Wieneke A A. (1974). Enterotoxin Production by Strains of *Staphylococcus aureus* Isolated From Foods and Human Beings. J. Hyg. Camb. 73, 255-261.

74. Wieneke A A. (1987). Staphylococcal Food Poisoning in the United Kingdom, 1969-1990. Epidemiol. Infect., 110, 519-531.

75. Santos Clemente dos E and Genigeorgis C. (1981). Survival and Growth of *Staphylococcus aureus* in Raw Commercial Manufacturing of Brazilian Minas Cheese, J. Food Protect., 44, (3), 177-184.

76. Tükel Ç ve Doğan H B. (2000). *Staphylococcus aureus*, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Vol. 14, 357-367, Armoni Matbaacılık, Ankara.

77. Turantaş F ve Ünlütürk A. (1988). Süt ve Süt ürünlerinde *Staphylococcus aureus*'un Gelişmesi, Tnaze ve Enterotoksin Üretimi, Gıda Sanayii, 6, 9-13.

78. Ibrahim G F, Baldock A K, Radford D R and Ireland L B. (1981). Inhibition of *Staphylococcus aureus* Growth and Enterotoxin-A Production in Cheddar Cheese Produced with Variable Starter Activity, J. Food Protect., 44, (4), 263-267.

79. Baird-Parker A C. (1971). Factors Affecting the Production of Bacterial Food Poisoning Toksins, J. Appl. Bact., 34, (1), 181-197.

80. Tatini S R. (1973). Influence of Food Environments on Growth of *Staphylococcus aureus* and Production of Various Enterotoxins, J. Milk Food Technol, 36, (11), 559-563.

81. Favorite G O and Hammon W M. (1941). The Production of Staphylococcus Enterotoksin and Alpha Hemolysin in Simplified Medium, J. Bacteriol., 41, 305-316, "Alınmıştır" Minör T E, Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 6, 99-127, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

82. Surgalla M J, Kadavy J L, Bergdoll M S and Dack G M. (1951). Staphylococcal Enterotoxin Production Method. J. Infect. Dis., 89, 180-184, "Alınmıştır" Minör T E, Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 6, 99-127, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

83. Miller R D and Fung D Y C. (1973). Aminoacit Requirement for the Production of Enterotoxin B by *Staphylococcus aureus* S-6 in a Chemically Defined Medium, Appl. Microbiol., 25, 800-806, "Alınmıştır" Minör T E, Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 6, 99-127, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

84. Wu C H and Bergdoll M S. (1971). Stimulation of Enterotoxin B Production, I. Stimulation by Fractions from a Pancreatic Digest of Casein, Infect. Immun., 3, 777-783, "Alınmıştır" Minör T E, Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 6, 99-127, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

85. Casman E P and Bennet R W. (1965). Detection of Staphylococcal Enterotoksin in Food, Appl. Microbiol., 13, 181-189, "Alınmıştır" Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 6, 99-127, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

86. Bergdoll M S. (1956). Staphylococcal Enterotoxins, Biochemistry of Some Foodborne Microbial Toxins, M.I.T Press, Cambridge, Mass., "Alınmıştır" Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 6, 99-127, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

87. Peters A H. (1966). Nutritional Requirements of Enterotoxigenic Strains of *S. aureus*, Dis. Abbs., 26, 4971, "Alınmıştır" Baird-Parker A C. (1971). Factors Affecting the Production of Bacterial Food Poisoning Toxins, J. Appl. Bact., 34, (1), 181-197.

88. Morse S A and Mah R A. (1969). Effect of pH on Glucose Metobolism and Enterotoxin B Synthesis in *S. aureus* S-6, Bact. Proc., 10, "Alınmıştır" Baird-Parker A C. (1971). Factors Affecting the Production of Bacterial Food Poisoning Toksins, J. Appl. Bact., 34, (1), 181-197.

89. Marcus Z and Silverman G J. (1968). Enterotoxin B Production by non Growing Cells of *S. aureus*, J. Bact., 96, 1446, "Alınmıştır" Baird-Parker A C. (1971). Factors Affecting the Production of Bacterial Food Poisoning Toksins, J. Appl. Bact., 34, (1), 181-197.

90. Troller J A. (1976). Staphylococcal Growth and Enterotoxin Production- Factors for Control, J. Milk Food Technol., 39, (7), 499-503.

91. Scott W J. (1953). Water Relations of *Staphylococcus aureus* at 30 ^{0}C, Aust. J. Biol. Sci., 6, 549-564.

92. Segalove M and Dack G M. (1951). Growth of Bacteria Associated with Food Poisoning Experimentally Inoculated into Dehidrated Meat, Food Res., 16, 118-125, "Alınmıştır" Tatini S R. (1973). Influence of Food Environments on Growth of *Staphylococcus aureus* and Production of Various Enterotoxins, J. Milk Food Technol, 36, (11), 559-563.

93. Labuza T P, Cassil P S and Sinskey A J. (1972). Stability of Intermedied Moisture Foods, Vol. 2, J. Food Scie., 37, 160-162, "Alınmıştır" Tatini S R. (1973). Influence of Food Environments on Growth of *Staphylococcus aureus* and Production of Various Enterotoxins, J. Milk Food Technol, 36, (11), 559-563.

94. Hill W M. (1975). Personel Communication, "Alınmıştır" Troller J A. (1976). Staphylococcal Growth and Enterotoksin Production-Factors for Control, J. Milk Food Technol., 39, (7), 499-503.

95. Notermans S and Heuvelman C J. (1983). Combined Effect of Water activity, pH and Sub-Optimal Temperature on Growth and Enterotoxin Production of *Staphylococcus aureus,* J. Food Sci., 48, 1832-1835.

96. Minor E T and Marth E H. (1972). Loss of Viability by *S. aureus* in Acidified Media, I. Inactivation by Several Acids, Mixtures of Acids and Salts of acids, J. Milk Food Technol., 35, 191-196, "Alınmıştır" Troller J A. (1976). Staphylococcal Growth and Enterotoksin Production- Factors for Control, J. Milk Food Technol., 39, (7), 499-503.

97. Nunheimer T D and Fabian F W. (1940). Influence of Organic Acids, Sugars and Sodium Chloride Upon Strains of Food Poisoning Staphylococci, Am. J. Public Health, 30, 1040-1049, "Alınmıştır" Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 3, 27-53, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

98. Akbulut N, Kınık Ö and Kavas G. (1993). A Study on the Survival Fate of Some Pathogens in White Pickled Cheese, E. Ü. Zir. Fak. Derg., 30, (1-2), 111-118.

99. Bennett R W and Amos W T. (1983). *Staphylococcus aureus* Growth and Toxin Production In Imitation Cheeses, J.Food Sci., 48, 1670-1673.

100. Mutluer B, Erol İ, Kaymaz Ş ve Akgün S. (1993). Enterotoksijenik *Staphylococcus aureus* Suşlarının Beyaz Peynirde Üretim ve Olgunlaşma Sırasındaki Üreme ve Enterotoksin Oluşturma Yetenekleri, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 40, (3), 413-426.

101. Nunez M, Bautista L, Medina M ve Gaya P. (1988). *Staphylococcus aureus* Thermostable Nuclease and Staphylococcal Enterotoxins in Raw Ewes'Milk Manchego Cheese, J. Appl. Bact., 65, 29-34.

102. Nunez M. (1978). Microflora of Cabreles Cheese : Changes During Maturation, J. Dairy Res., 45, 501-508.

103. Nunez M, Chavarri F J, Garcia B E and Gaytan L E. (1986). The Effect of Lactic Starter Inoculation and Storage Temparature on The Behavior of *Staphylococcus aureus* and Enterobacter cloacae in Burgos Cheese, Food Microbiol., 3, (3), 235-242.

104. Patır B. (1987). Şavak Salamura Beyaz Peynirinin Olgunlaşması Sırasında Enterotoksijenik Koagülaz-Pozitif *Staphylococcus aureus*' un Yaşam Süreleri İle

Mikrobiyolojik ve Kimyasal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişmeler, Doğa Türk Vet. ve Hay. Derg., 11, (1), 59-67.

105. Pozo B F, Gaya P, Medina M, Rodriguez-Marin A and Nunez M. (1988). Changes in the Microflora of La Serena Ewes' Milk Cheese During Ripening, J. Dairy Res., 55, 449-455.

106. Stecchini M L, Sarais I and Bertoldi M. (1991). The Influence of Lactobacillus Plantarum Culture Inoculation on The Fate of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* in Montosio Cheese, Int. J. Food Microbiol., 14, 99-110.

107. Mossel D A A, Corry J E L, Struijk C B and Baird-Parker R M. (1995). Staphyloenterotoksicosis, in Essentials of the Microbiology of Foods, Vol. 4, 147-150, John Wiley and Sons Pub., England.

108. Mc Lean R A, Lilly H D and Allford J A. (1968). Effects of Meat Curing Salts and temperatur on Production of Staphylococcal enterotoksin, J. Bact., 95, 1203, "Alınmıştır" Baird-Parker A C. (1971). Factors Affecting the Production of Bacterial Food Poisoning Toksins, J. Appl. Bact., 34, (1), 181-197.

109. Segalove M and Dack G M. (1941). Relation of Time and Temparature to Growth and Enterotoxin Production of Staphylococci, Food Res., 6, 127-133, "Alınmıştır" Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 6, 99-127, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

110. Christiansen L N and Foster F M. (1965). Effect of Vacum Packaing on Growth of Cl. Botulinum and *S. aureus* in Cured Meats, Appl. Microbiol., 13, 1023-1025, "Alınmıştır" Tatini S R. (1973). Influence of Food Environments on Growth of *Staphylococcus aureus* and Production of Various Enterotoxins, J. Milk Food Technol., 36, (11), 559-563.

111. Barber L E and Deibel R H. (1972). Effect of pH and Oxigen Tansion on Staphylococcal Growth and Enterotoxin Formation in Fermented Sausage, Appl. Microbiol., 24, 891-898, "Alınmıştır" Troller J A. (1976). Staphylococcal Growth and Enterotoxin Production Factors for Control, J. Milk Food Technol., 39, (7), 499-503.

112. Genigeorgis J M, Sovuokidis C M and Martin S. (1971). Initiation of Staphylococcal Growth in Processed Meat Environments, Appl. Microbiol., 21, 940-942.

113. Mc Coy D W and Faber J E. (1966). Influence of Food Microorganisms on Staphylococcal Growth and Enterotoxin Production in Meat, Appl. Microbiol., 14, 372-377.

114. Peterson A C, Black J J and Gunderson M F. (1962). Staphylococci in Competition I. Growth of Naturally Occuring Mixed Populations in Pre Cooced Frozen Goods During Defrost, Appl. Microbiol., 10, 16, "Alınmıştır" Baird-Parker A C. (1971). Factors Affecting the Production of Bacterial Food Poisoning Toxins, J. Appl. Bact., 34, (1), 181-197.

115. Oberhofer T R and Frazier W C. (1961). Competition of *S. aureus* with Other Organizms, J. Milk Food Technol., 31, 335-339, "Alınmıştır" Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 3, 27-53, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

116. Iandole J J, Ordal Z J and Witter L D. (1964). The Effect of Incubation Temperature and Controlled pH on the Growth of *S. aureus* MF 31 at Various Concentrations of NaCl, Can. J. Microbiol., 10, 808-810, "Alınmıştır" Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 3, 27-53, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

117. Haines W C and Harmon L G. (1973). Effect of Selected Lactic Acid Bacteria on Growth *Staphylococcus aureus* and Production of Enterotoxin, Appl. Microbiol., 25, 436-441

118. Truby C P and Bennet E O. (1966). Role of Lipid in the Protection of *S. aureus* Againsts Treclorefenol in Mixed Culture, Appl. Microbiol., 14, 769- 773, "Alınmıştır" Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 3, 27-53, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

119. Kao C T and Frazier W C. (1966). Effect of Lactic Acid Bacteria on Growth of *S. aureus*, Appl. Bacteriol., 14, 251-255, "Alınmıştır" Minör T E and Marth E H. (1976). Staphylococci and Their Significance in Foods, Vol. 3, 27-53, Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam.

120. Bachmann H P. (1995). The Fate of Potentially Pathogenic Bacteria in Swiss Hard and Semihard Cheeses Made from Raw Milk, J. Dairy Sci., 78, 476-483.

121. Poullet B, Huertas M, Sanchez A, Caceres P and Larriba G. (1991). Microbial Study of Casar de Caceres Cheese Thorought Ripening, J. Dairy Res., 58, 231-238.

122. Kılıç S, Uysal H ve Karagözlü C. (1998). Geleneksel Yöntemlerle ve Kültür Kullanarak yapılan İzmir tulum Peynirlerinin Olgunlaşma Sürecinde Meydana Gelen değişikliklerin Kıyaslanması, Geleneksel Süt ürünleri, Ed, Demirci M., MPM Yayınları No: 621, Mert Matbaası, Ankara.

123. Gomez-Lucia E, Goyache J, Blanco J L, Vadillo S, Garayzabal J F F and Suarez G. (1987). *Staphylococcus aureus* Growth and Survival During Curding of Manchego Type Cheese Produced with Normal and Subnormal Starter Activity, Z Lebensm. Unters Forsch., 184, (4), 304-307.

124. Gomez-Lucia E, Blanco J L, Goyache J, de La Fuente R, Vazquez J.A, Ferri E F R and Suarez G. (1986). Growth and Enterotoxin A Production By *Staphylococcus aureus* S6 in Manchego Type Cheese, J. Appl. Bacteriol., 61, 499-503.

125. Ünlütürk A, Üçüncü M, Turantaş F ve Öztürk G F. (1994). Survival of *Salmonella typhimirium* and *Staphylococcus aureus* in Turkish White Cheese, Chem. Microb. Technol. Lebensm., 16, (1-2), 3-7.

126. Tatini S R, Jezeski J J, Jr. Olson J C and Casman E P. (1971). Factors Influencing the Production of Staphylococcal enterotoxin A in Milk, J. Dairy Sci., 54, 312-320.

127. Alişarlı M, Sancak Y C, Akkaya L ve Elibol C. (2000). Bazı Sütlü Gıdalarda *Staphylococcus aureus* İzolasyonu, Termonükleaz Aktivitesi ve Enterotoksijenik Özelliklerinin Araştırılması, IV. Ulusal Mik. Kongr., 18, Ankara.

128. Tahtacı E, Balcı İ ve Erkmen O. (1996). Gaziantep Yöresinde Gıda İşleme Alanında Çalışan Bireylerde *Staphylococcus aureus* Portörlüğü ve İzole Edilen Suşların Bakteriofaj Tiplendirmesi, Gıda Teknolojisi, sayı 9.

129. Hacıbektaşoğlu A, Eyigün C P, Özsoy M F ve Avcı İ Y. (1992). Nasal *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı ve Tedavide Sefuroksim Aksetil' in Eksikliği, İnfeks. Derg., 49, (2), 103-112.

130. Kaya D ve Metintaş S. (1995). Besin İşleri ile Uğraşan Kişilerde *Staphylococcus aureus* Taşıyıcılığı, Türk Hij. Biol. Derg., 52, (2), 77-80.

131. Karakuş M. (1995). Gıdalarda Mikrobiyal Gelişmeyi Etkileyen Faktörler, Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Vol. 2, 133-147, MAM Yayınları, Gebze.

132. Johnson E A, Nelson J H and Johnson M. (1990). Microbiological Safety of Cheese made From Heat-Treated Milk, Part II. Microbiology, J. Food Protect., 53, (6), 519-540.

133. Gülhan T. (1997). İnsan ve Sığır Orjinli *Staphylococcus aureus* Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri ile Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Derg., 3, (1), 82-90.

134. Bean N H, Goulding J S, Lao C and Angulo F J. (1996). Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks-United States, 1988-1992, Mor. Mortal. Wkly. Rep. CDC Surveill. Summ., Oct 25; 45, (5), 1-66.

135. Bryan L F. (1983). Epidemiology of Milk-Borne Diseases, J. Food Protect., 46, (7), 637-649.

136. Bean N and Griffin M P. (1990). Foodborne Disease Outbreaks in The United States,1973-1987: Pathogens,Vehicles and Trends, J. Food Protect., 53, (9), 804-817.

137. Wieneke A. (1974). Enteretoksin Production by Strains of *Staphylococcus aureus* Isolated from Foods and Human Beings, J. Hyg. Camb., 73, 255-261.

138. Todd E C D. (1989). Foodborne Disease in Canada- A 10-Year Summary from 1975-1984, J. Food Protect., 35, (2), 123-132.

139. Alterkuse S F, Timbo B B, Mowbray J C, Bean N H and Potter M E. (1998). Cheese-Associated Outbreaks of Human Ilness in the United States, 1973 to 1992: Sanitary Manufacturing Pratices Protect Consumers, J.Food Protect., 61, (10), 1405-1407.

140. Bone F J, Bogie D and Morgan-Jones S C. (1989). Staphylococcal Food Poisoning From Sheep Milk Cheese, J.Food Protect., 103, 449-458.

141. Raymond G and Josephin J. (1988). Selective Enteretoxin Production by A *Staphylococcus aureus* Strain Implicated in A Foodborne Outbreak, J.Food Protect., 51, (2), 130-131.

142. Minor E T and Marth E H. (1972). *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food Intoxications, A Review III., J. Milk Food Tech., 35, (2), 77-82.

143. Todd E C D, Szabo R, Robern H, Gleeson T, Park C and Clark D S. (1981). Variation in Counts, Enterotoxin Levels and Tnase in Swiss-Type Cheese Contaminated with *Staphylococcus aureus*, J. Food Protect., 44, (11), 839-848.

144. Arispe I and Westhoff D. (1984a). Manufacture and Quality of Venezuelan White Cheese, J. Food Sci., 49, 1005-1010.

145. Fontecha J, Pelaez C, Juarez M, Requena T, Gomez C and Ramos M. (1990). Biochemical and Microbiological Characteristics Hard Goat's Cheese, J. Dairy Sci., 73, 1150-1157.

146. Khalid A S and Harrigan W F. (1986). The Effect of Desalting Sudanese Cheese on Growth of and Toxin Production by *Staphylococcus aureus* 196 E, J. Food Sci. and Technol., 23, (4), 243-245.

147. Khalid A S and Harrigan W F. (1984). Investigation into The Effect of Salt Level on Growth of and Toxin Production by *Staphylococcus aureus* in Sudanese Cheese, Lebensm.-Wiss.u.-Technol., 17, 99-103.

148. Özalp E, Kaymaz Ş, Yücel A ve Akgün S. (1979). İnek Sütü ile Yapılan Salamura Beyaz Peynirlerde Hijyen İndexi Bazı Mikroorganizmalar, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 16, (3-4), 277-285.

149. Tayar M. (1995). Beyaz Peynirlerin Olgunlaşması Süresince Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özelliklerindeki Değişmeler, Gıda, 20, (2), 97-101.

150. Hinds A E and Peterson B X. (1963). Method For Standardizing Staphylococcus Suspensions Relationship of Optical Density and Viable Cell Count, J. Bacteriol., 86, 168-171.

151. Nolte U. (1982). Zum Einfluss der Wasseraktivitet und Wasserstoffionenkonzentration auf die Enterotoxin-und Thermonukleasebildung bei Staphylokokken Stemmen, Vet. Med. Diss., FU-Berlin.

152. Pichhardt K. (1993). Lebensmittel-Mikrobiologie, Springer Verlag, Berlin.

153. Baumgart J. (1993). Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln, Behr's GmbH & Co, Hamburg.

154. Kosikowski F V. (1982). Cheese and Fermented Milk Foods. Published By F.V. Kosikowski and Associates, New York.

155. Rödel L. (1971). Ein Enfacher a_w-Wert-Messer für die Praxis, Fleischwirdschaft, 51, 1800-1802.

156. Kurt A, Çakmak S ve Çağlar A. (1993). Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metotları Rehberi, Atatürk Üni. Zir. Fak. Yayınları, Erzurum.

157. Rose S, Bankes P and Stringer M. (1989). Detection of Staphylococcal Enterotoxins in Dairy Products By The Reversed Passive Latex Agglutination (SET-RPLA) Kit. Int. J. Food Microbiol., 8, 65-79.

158. Park C and Szabo R. (1996). Evaluation the Reversed Passive Latex Agglutination (RPLA) Test Kids for Detection of Staphylococcal Enterotoxins A,B,C and D in Foods, Can. J. Microbiol., 32, 723-727.

159. Ayres J. (1980). Microbiology of Foods, Ed. Schweigert B S, Witt Freman and Co., California "Alınmıştır"Arispe I, Westhoff D. (1984b). Manufacture and Quality of Venezuelan White Cheese, J. Food Sci., 49, 1005-1010.

160. Topal Ş. (1995). Düşük Nemli Gıdalarda Mikrobiyal Riskler, Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, Vol. 11, 162-174, MAM Yayınları, Gebze.

161. Ayhan K. (2000). Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Vol. 2, 37-81, Armoni Matbaacılık, Ankara.

162. Bylund G. (1999). Dairy Processing Handbook, Vol. 14, 287-331, Tetra Pak Processing Systems AB, Sweden.

163. Troller J A and Christian J H B. (1978). Water Activity and Foods, Academic Press, New York.

ÖZGEÇMİŞ

1967 yılında İzmir'in Karşıyaka ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir'de tamamladı. 1992 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakütesi'nden Veteriner Hekim olarak mezun oldu. Askerlik görevini takiben 1996 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı. Eylül 1996'da Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda Doktora öğrenimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalında görevini sürdürmektedir. Evli ve iki çocuk babasıdır.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ