

Orjinal Araştırma Makalesi/ Original Paper

Otlu Peynirlerde *Listeria monocytogenes*'in Olgunlaşma Boyunca Canlı Kalma Süresi

Survival Time of *Listeria monocytogenes* During Maturation in Herbed Cheese

Rabia Mehtap TUNCAY^{1*}, Yakup Can SANCAK¹

¹ Van Yüziüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Van/Türkiye.
* Sorumlu yazar: Rabia Mehtap TUNCAY; E-mail: r.m.gunes@yyu.edu.tr

ÖZET

Amaç: Bu araştırma, Van ili piyasasından toplanan Otlu peynir örneklerden tanımlanmış *Listeria monocytogenes* suşları ile farklı düzeylerde kontamine edilen çiğ süttan deneysel olarak ayrı ayrı üretilen Otlu peynirlerde olgunlaşma süresince *L. monocytogenes*'in canlı kalabilme kabiliyetini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metot: Sütlere örneklerden tanımlanmış ve Real-time PCR'da doğrulanmış iki adet saha ve bir adet referans *L. monocytogenes* suşu 10^1 , 10^3 ve 10^5 kob/ml düzeylerinde katıldı. *L. monocytogenes* katılarak üretilen Otlu peynirler salamurada 90 gün süreyle olgunlaştırılmış ve *L. monocytogenes*'in canlı kalma süreleri ile peynirde meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler incelenmiştir.

Bulgular: Deneysel olarak üretilen Otlu peynir gruplarında *L. monocytogenes* sayıları farklı şekillerde seyrederek olgunlaşmanın 50. gününden itibaren bazı gruplarda izole edilememiştir. Olgunlaşmanın 75. gününden sonraki analizlerde ise hiçbir grupta *L. monocytogenes* tespit edilememiştir.

Sonuç: Otlu peynirlerin tüketime sunulmadan önce en az 90 gün olgunlaştırılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *L. monocytogenes*, Otlu peynir, Olgunlaşma periyodu.

ABSTRACT

Objective: This research was carried out to determine the viability of *L. monocytogenes* during ripening in Herby cheeses produced experimentally from raw milk contaminated with different levels of *L. monocytogenes* strains identified from Herby cheese samples collected from the Van market.

Material and Method: Two area and one reference *L. monocytogenes* strain, which were identified from the samples and verified in Real-time PCR, were added to the milk at the levels of 10^1 , 10^3 and 10^5 cfu/ml. Herby cheeses produced by adding *L. monocytogenes* were matured in brine for 90 days and the survival times of *L. monocytogenes* and the microbiological and chemical changes in the cheese were investigated.

Results: *L. monocytogenes* numbers were different in experimental herby cheese groups and could not be isolated in some groups from the 50th day of ripening. In the analyzes after the 75th day of maturation, *L. monocytogenes* could not be detected in any group.

Conclusion: It is thought that herbed cheeses must be matured for at least 90 days before being offered for consumption..

Keywords: *L. monocytogenes*, Herbed cheese, Maturation period.

GİRİŞ

Peynir, çabuk bozulabilme özelliğine sahip olan sütün rutubet oranının azaltılmasıyla besin değeri yüksek, çeşidine göre muhafaza koşulları 4-5 günden 5-10 yıla kadar değişen sürelerde bozulmadan saklanabilen forma dönüşmesiyle elde edilen bir süt ürünüdür (Tekinşen, 2000). Süt ürünleri içerisinde en çok bilinen ve üretimi en eski olan gıda maddesi peynirdir (Demirci, 1996). Peynir; hoşça giden tat ve aroması, hiçbir hazırlık yapılmadan tüketilebilmesi, gıda veya katkı maddesi olarak kullanılabilmesin-

den dolayı değerli gıda maddeleri arasında kabul edilmiştir (Akın, 2010). Otlu peynir Van'da genellikle mayıs ve haziran aylarında çoğunlukla koyun sütü kullanılarak yapılmaktadır (Akyüz ve Coşkun, 1996). Koyun sütüne keçi ve inek sütü karıştırılarak koyun sütünün az bulunduğu temmuz, ağustos ve daha sonraki aylarda da üretim gerçekleştirilmektedir (Coşkun ve Tunçtürk, 1998). Yöresel adlarıyla sirmo, mendo, heliz ve kekik en çok kullanılan otladır (Özçelik, 1989). Otlu peynirler yaz aylarında taze olarak da satılmaktadır. Tüketiciler Otlu peyniri

riskli bir şekilde taze olarak tüketebildikleri gibi, isteğe bağlı olarak toprağa gömerek veya salamurada olgunlaştırdıktan sonra da tüketebilmektedirler (Sancak, 1989).

Listeriozis'in mortalite oranı yüksek olduğundan dolayı önlenmesi gıda endüstrisi için önemli bir sorun haline gelmiştir. İnsan ve hayvan Listeriozis etkeni olan *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) son 20 yılda üzerinde en çok çalışılan mikroorganizmalardan biri haline gelmiştir (No-termans ve Powell, 2005). *L. monocytogenes*, buzdolabı sıcaklığında gelişebilen, ısıtma, soğutma ve dondurma gibi olumsuz koşullarda bile canlı kalabilen, ayrıca çevreye geniş ölçüde yayılabilen halk sağlığı açısından önemli bir patojen mikroorganizmadır (FSIS, 2003). Bazı araştırmacılar sıcaklığın; pH, atmosfer ve tuz konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Gıda maddesinin içeriğine göre de *L. monocytogenes*'in termal ölüm zamanı değişmektedir (Martin ve Fisher, 1999; Datta, 2003). *L. monocytogenes*'in (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4ab, 4c, 4d, 4e ve 7) 13 serotipi bulunmaktadır (McLauchlin ve Ress, 2009). Önemli gıda kaynaklı *L. monocytogenes* suşları arasında (1/2a, 1/2b ve 4b) farklılaşmanın olması, suş serotiplerinin daha kolay tanımlanmasına neden olmaktadır (Borucki ve Call, 2003).

Bu araştırma, Van ili piyasasından toplanan Otlu peynirlerden izole edilen *L. monocytogenes* suşları ve referans suşun farklı düzeylerde çiğ süte katılmasıyla deneysel olarak ayrı ayrı üretilen Otlu peynirlerde olgunlaşma süresince *L. monocytogenes*'in canlı kalabilme kabiliyeti ve antibiyotik dirençlilik profillerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu çalışma geleneksel bir peynir olan Van Otlu peynirinin olgunlaşması sırasında referans ve saha *L. monocytogenes* suşlarının çoğalma ve canlı kalma yeteneklerinin karşılaştırıldığı ilk çalışmadır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada, deneysel Otlu peynirlerin üretiminde kullanılan çiğ sütlerin inokulasyonunda Van Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nden temin edilen *L. monocytogenes* (ATCC7646) referans suşu (R) ve Van İli'nden toplanan Otlu peynirinden izole edilen *L. monocytogenes* saha suşlarından 2 tanesi (A ve B) kullanıldı.

Metot

Otlu peynir üretimi için Van peynirciler çarşısında salamura olarak satılan ve mahali adıyla mendo (*Antriscus nemorosa*) ve sirmo (*Allium* spp.) olarak bilinen otlar kullanıldı.

Otlu peynir örneklerinin yapımında Van ili Erciş İlçesi'nde bulunan bir çiftlikten tek sağımda temin edilen ve deterjan ile antibiyotik kalıntıları içermeyen çiğ inek sütü kullanıldı.

Çiğ sütte antibiyotik varlığının belirlenmesi

Peynir yapımı için laboratuvara getirilen süt örneklerinde beta laktam ve tetrasiklin grubu antibiyotik kalıntısı varlığı twinsensor^{BT} (Kit085-DA-001, Belgium) antibiyotik test stripleri kullanılarak yapıldı.

Süte inokule edilen *L. monocytogenes* sayısının hesaplanması

Piyasa örneklerinden elde edilen 2 saha (A ve B) ve 1 referans (R) (ATCC7646) *L. monocytogenes* suşu taze kültür olarak hazırlandı ve başlangıç solüsyonu McFarland 0.5 olacak şekilde ayarlandı (UMS, 2015b). Elde edilen yaklaşık 1.5×10^8 başlangıç solüsyonundan, süten 1 ml'sini 10^1 , 10^3 ve 10^5 seviyesinde kontamine edecek şekilde dilüsyonlar hazırlandı.

Çiğ süttten deneysel Otlu peynir yapımı

Çiğ olarak çiftlikten alınan sütler ısısı 30 ± 1 °C'ye ayarlanarak *L. monocytogenes*'in katılma seviyelerine göre; NK: *L. monocytogenes* suşu katılmadan (kontrol grubu), Referans *L. monocytogenes* grubları, R1: 1.5×10^1 kob/ml, R2: 1.5×10^3 kob/ml, R3: 1.5×10^5

kob/ml, saha *L. monocytogenes* grupları ise A1: 1.5×10^1 kob/ml, A2: 1.5×10^3 kob/ml, A3: 1.5×10^5 kob/ml, B1: 1.5×10^1 kob/ml, B2: 1.5×10^3 kob/ml, B3: 1.5×10^5 kob/ml olacak şekilde 10 gruba ayrılarak yaklaşık 90 dk'da pıhtılaşacak şekilde peynir mayası (Mayasan, Türkiye) ile 1/10.000 maya kuvvetinde olacak şekilde mayalandı. Yeterince sertleşen pıhtı bıçak yardımı ile yaklaşık 1 cm^3 'ük parçalara ayrıldı. Parçalama işleminden sonra, daha önce salamura olarak 1/1 oranında hazırlanan otlar sirmo ve mendi, süt ağırlığı esas alınarak %1.5 oranında katıldı ve telemede iyice karışması sağlandı. Süzme bezlerinde telemenin süzülmesi sağlanarak kalan suyun iyice atılması için 2 saat baskı işlemi uygulandı. Baskısı tamamlanan teleme bir bıçak yardımıyla yaklaşık $7 \times 7 \times 3$ cm boyutlarında kalıplar halinde kesildi. Otlu peynirler temiz kalın tuz ile kuru tuzlama yapılarak 24 saat süreyle ve oda ısısında üstü bezle örtülü şekilde bekletildi. Bu aşamadan sonra peynirler, 1 kg'lık steril cam kavanozlara yerleştirildikten sonra üzerine %16'lık taze hazırlanmış salamura ilave edilerek ağızları sıkıca kapatıldı. Elde

edilen otlu peynirler $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 90 gün süreyle olgunlaşmaya bırakıldı.

Deneysel Otlu peynirlerde mikrobiyolojik analizler

Analizi yapılacak peynir örneğinden 10 g tartıldı ve 10^{-8} 'e kadar desimal dilusyonları hazırlandı. Daha sonra sayımı yapılacak mikroorganizmalar için ayrı ayrı hazırlanan besiyerlerine çift paralelli ekimler yapıldı (ISO, 2001b).

L. monocytogenes sayımı için; ISO 11290-2:1998/FDAM 1:2004 sayım metodu kullanıldı (ISO, 2006b). *L. monocytogenes* sayımında kolonilerin azaldığı günlerden itibaren sayım analizinin yanında zenginleştirme yöntemi ile var/yok analizi de yapıldı (ISO, 2006a). Böylece yayma yöntemi ile tespit limitinin altında *L. monocytogenes* içeren örneklerdeki *L. monocytogenes* varlığı belirlenmiş oldu.

Otlu peynirlerin olgunlaşma süresi boyunca sayılan mikroorganizmalar Tablo 1'de gösterilmiştir (Bridson, 1998; Roberts ve Greenwood, 2003; Anonymous, 2015).

Tablo 1. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılan besi yerleri, yöntemleri ve inkübasyon koşulları

Mikroorganizma	Besiyeri	Ekim	İnkübasyon	Koloni
TAMM	Plate Count Agar (PCA) (Oxoid, CM325)	Dökme	$37 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 48 saat, Aerob	
TAPM	Plate Count Agar (PCA) (Oxoid, CM325)	Dökme	$6 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 10 gün, Aerob	
LLP	de Man, Rogosa ve Sharpe Agar (MRS) (LABM, LAB093)	Yayma	$30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 72 saat, Anaerob	Tüm koloniler
MK	Potato Dextrose Agar (PDA) (LABM LAB098)	Dökme	$25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 5 gün, Aerob	

TAMM: Toplam aerob mezofil mikroorganizma, TAPM: Toplam aerob psikrofil mikroorganizma, LLP: Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus, MK: Maya-küf

Deneysel Otlu peynirler örneklerinde kimyasal analizler

Örneklerde pH değeri pH metre ((Hanna® HI221) ile, titre edilebilir asitlik derecesi %LA cinsinden, tuz miktarı Mohr metodu kullanılarak belirlendi (Tekinşen ve ark., 1997; (Metin ve Öztürk, 2002).

DNA Sekans Analizi

Çalışmanın deneysel kısmında kullanılan *L. monocytogenes* referans suşunun ve iki adet saha izolasyonunun sekans analizleri İontek (Türkiye) firması aracılığıyla yapıldı.

İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS (Version 21) paket istatistik programı ile yapılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkinin önem düzeyini belirlemek için 'pearson correlasyon' analizi, tek yönlü varyans analizi (Anova) ve Duncan testi kullanıldı. Hesaplamalarda anlamlılık düzeyi (α) %1 ve %5 olarak alındı

BULGULAR

Çiğ sütün antibiyotik kalıntısı sonuçları

Otlu peynir yapımı amacıyla bir işletmeden tek sağımında alınan 500 litre süt mikrobiyolojik ve kimya-

Tablo 2. *L. monocytogenes* sayısındaki değişimler (\log_{10} kob/g).

	Günler										
	Teleme	1	7	15	30	45	50	55	60	75	90
NK	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
R1	2.54	2.93	2.00	2.00	1.70	V**	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
R2	4.10	4.48	3.63	2.54	1.70	V**	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
R3	5.19	6.36	5.06	4.48	2.70	2.00	V**	ND*	ND*	ND*	ND*
A1	2.70	3.04	2.30	2.00	1.70	1.70	V**	ND*	ND*	ND*	ND*
A2	4.40	4.81	3.98	3.40	2.40	2.18	1.70	V**	ND*	ND*	ND*
A3	6.29	6.45	5.40	4.65	3.04	2.54	2.00	1.70	V**	ND*	ND*
B1	2.81	3.11	2.40	2.00	2.00	1.70	V**	ND*	ND*	ND*	ND*
B2	4.45	4.89	3.99	3.42	2.54	2.30	1.70	V**	ND*	ND*	ND*
B3	6.27	6.46	5.45	4.62	2.98	2.48	2.00	1.70	V**	ND*	ND*

*ND: Not Detected. **V: *L. monocytogenes* var/yok analiz sonucunda 'var' olarak bulunmuştur.

Olgunlaşma süresi boyunca belirlenen mikrobiyolojik analizler

Peynir gruplarından olgunlaşma süresi boyunca alınan örneklerde tespit edilen TAMM, TAPM, LLP,

sal analize alınmadan önce antibiyotik varlığı yönünden incelendi ve antibiyotik kalıntısına rastlanmadı.

Mikrobiyolojik analiz bulguları

Olgunlaşma süresi boyunca belirlenen *L. monocytogenes* sayısı

Çalışmada 10 farklı peynir grubunda *L. monocytogenes*'in olgunlaşma süresi boyunca tespit edilen sayısal değişimi Tablo 2'de verilmiştir.

MK sayıları ve bu sayılarda meydana gelen değişimler sırasıyla Tablo 3 ve 4'te verilmiştir.

Tablo 3. Olgunlaşma boyunca mikroorganizma sayısındaki değişimler (log₁₀ kob/g).

	Günler									
	1	7	15	30	45	50	55	60	75	90
TAMM										
NK	9.08	9.00	9.23	8.46	8.06	8.11	7.95	7.10	7.00	6.34
R1	9.13	9.01	9.26	9.00	8.65	8.58	8.30	8.04	7.30	6.42
R2	9.27	8.56	9.40	8.93	8.71	8.61	8.36	7.48	7.30	6.17
R3	9.39	8.50	8.81	9.24	8.04	8.77	8.30	7.67	7.32	6.77
A1	9.23	8.88	8.76	9.53	8.24	8.02	7.90	7.54	7.48	6.72
A2	9.30	8.83	9.02	9.55	8.26	8.38	8.26	7.27	7.51	6.72
A3	9.10	8.92	8.86	9.57	8.39	8.12	8.00	7.29	7.46	6.60
B1	9.15	8.65	8.69	9.34	8.55	8.26	8.12	7.09	7.57	6.72
B2	9.44	9.31	8.83	9.00	8.52	8.33	7.95	7.12	7.34	6.53
B3	9.42	8.83	8.88	9.10	8.51	8.34	8.15	7.58	7.36	6.63
TAPM										
NK	8.57	8.98	7.81	7.65	7.92	7.98	7.90	7.81	7.08	6.30
R1	9.10	8.49	7.32	7.35	7.05	7.49	7.35	7.91	6.89	6.41
R2	9.24	8.43	7.75	7.45	7.67	7.43	7.40	7.70	6.99	6.87
R3	9.60	8.11	7.88	7.43	7.02	7.11	7.00	6.89	6.41	6.43
A1	9.21	8.14	8.07	7.81	7.50	7.46	7.30	7.14	7.15	6.98
A2	9.17	8.28	8.48	7.81	8.14	7.57	7.30	7.28	7.22	6.76
A3	9.35	8.28	8.29	7.40	8.17	7.28	7.00	6.81	7.26	6.60
B1	9.23	8.24	8.55	8.03	8.97	7.24	7.11	6.92	7.32	6.18
B2	9.15	8.12	7.62	8.73	8.89	7.12	7.02	6.89	7.13	6.91
B3	9.06	8.23	7.48	7.46	8.76	7.23	7.05	7.08	6.92	6.90
LLP										
NK	9.06	8.85	9.14	8.11	7.43	7.11	7.10	7.06	6.85	6.15
R1	9.02	8.72	8.89	8.93	7.83	7.57	7.38	7.26	7.22	6.30
R2	9.19	8.23	8.66	8.69	7.67	7.61	7.51	7.26	7.18	6.41
R3	8.90	8.46	8.40	9.00	7.94	7.77	7.57	7.06	7.00	6.38
A1	9.46	8.83	8.68	9.01	8.00	7.34	7.26	7.04	7.00	6.63
A2	9.28	8.49	8.85	8.23	8.10	7.38	7.30	7.22	6.76	6.40
A3	9.31	8.86	8.36	8.34	8.07	7.12	7.12	7.04	7.02	6.43
B1	9.11	8.60	8.30	9.00	7.95	7.26	7.11	7.02	6.90	6.30
B2	9.28	8.29	8.58	8.63	7.30	7.28	7.12	7.08	6.95	6.20
B3	9.30	8.77	8.87	9.05	8.06	7.57	7.28	7.12	7.04	6.09

TAMM: Toplam aerob mezofil mikroorganizma, TAPM: Toplam aerob psikrofil mikroorganizma, LLP: *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*.

Tablo 4. Olgunlaşma boyunca MK sayısında tespit edilen değişimler (\log_{10} kob/g).

	Günler										
	Teleme	1	7	15	30	45	50	55	60	75	90
NK	5.12	7.30	7.33	7.08	7.03	6.24	6.80	6.84	6.92	6.36	5.84
R1	5.56	7.40	7.67	7.00	7.58	6.29	6.30	6.40	6.94	6.15	5.65
R2	5.10	7.15	7.78	7.40	7.77	6.54	6.67	6.60	6.62	6.28	5.85
R3	5.20	7.28	7.28	6.45	7.27	6.25	6.76	6.50	6.48	6.15	5.74
A1	5.79	7.10	7.39	6.93	7.54	6.06	6.37	6.55	6.68	6.26	5.59
A2	5.06	7.45	6.94	6.89	7.94	6.44	6.76	6.77	7.01	6.86	5.86
A3	5.66	7.36	7.77	7.32	7.72	6.56	6.64	6.70	6.74	6.30	5.76
B1	5.88	7.64	7.90	7.04	7.67	6.00	6.45	6.26	6.46	6.27	5.62
B2	5.18	7.29	7.46	7.11	7.67	6.03	6.46	6.30	6.48	6.30	5.68
B3	5.18	7.28	7.67	7.25	7.18	6.25	6.93	6.70	6.43	6.28	5.70

Kimyasal analiz bulguları

Olgunlaşma süresi boyunca incelen peynir örneklerinde tespit edilen pH, Laktik asit (LA) cinsinden

titre edilebilir asitlik ve tuz değerleri değerleri sırasıyla Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Olgunlaşma boyunca örneklerde belirlenen kimyasal değerler.

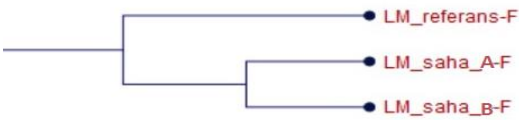
	Günler									
	1	7	15	30	45	50	55	60	75	90
pH										
NK	5.03	4.90	4.70	4.68	4.60	4.60	4.58	4.65	4.82	4.94
R1	4.96	4.90	4.70	4.70	4.55	4.55	4.52	4.65	4.91	4.98
R2	4.96	4.92	4.75	4.72	4.60	4.60	4.58	4.70	4.90	4.96
R3	4.98	4.94	4.80	4.70	4.58	4.55	4.55	4.65	4.95	5.14
A1	4.96	4.86	4.70	4.68	4.55	4.55	4.53	4.68	4.90	4.95
A2	4.95	4.90	4.74	4.72	4.60	4.55	4.55	4.70	4.90	4.95
A3	4.96	4.90	4.70	4.65	4.58	4.55	4.54	4.65	4.94	4.99
B1	4.95	4.85	4.70	4.68	4.60	4.58	4.55	4.70	4.95	5.00
B2	4.98	4.90	4.76	4.70	4.58	4.55	4.50	4.75	4.98	5.05
B3	4.90	4.86	4.70	4.65	4.60	4.58	4.50	4.65	4.98	5.10
Titasyon Asitliği (%LA)										
NK	0.63	0.73	0.82	0.96	1.12	1.15	1.20	1.30	1.39	1.63
R1	0.65	0.82	0.84	0.97	0.99	1.08	1.21	1.44	1.61	1.74
R2	0.65	0.74	0.75	0.94	1.08	1.13	1.24	1.48	1.63	1.80
R3	0.72	0.75	0.85	0.95	1.02	1.14	1.18	1.24	1.48	1.76
A1	0.63	0.82	0.82	0.90	1.08	1.12	1.15	1.20	1.38	1.80
A2	0.72	0.79	0.83	1.02	1.12	1.13	1.20	1.44	1.60	1.93
A3	0.70	0.77	0.83	0.95	1.02	1.08	1.18	1.21	1.56	1.82
B1	0.60	0.61	0.72	0.90	0.97	1.12	1.16	1.36	1.48	1.74

B2	0.61	0.61	0.76	0.82	0.85	1.05	1.13	1.30	1.44	1.68
B3	0.60	0.61	0.72	0.79	0.95	1.02	1.20	1.24	1.33	1.60
Tuz (%)										
NK	4.68	6.80	7.95	8.48	8.89	8.89	9.00	9.13	9.36	9.50
R1	4.80	6.61	7.72	8.42	8.71	9.01	9.08	9.21	9.30	9.59
R2	4.91	6.79	7.95	8.19	8.77	9.34	9.40	9.44	9.50	9.57
R3	4.97	7.02	7.25	8.77	8.89	9.07	9.10	9.36	9.36	9.50
A1	4.80	7.25	7.96	9.06	9.44	9.45	9.50	9.57	9.71	9.71
A2	4.45	7.60	8.19	8.65	8.78	9.13	9.15	9.21	9.36	9.36
A3	5.85	6.79	7.95	8.20	8.71	8.77	8.80	8.86	9.30	9.57
B1	5.85	7.02	8.89	9.06	9.21	9.25	9.28	9.36	9.50	9.50
B2	4.68	7.72	8.19	8.66	8.78	9.21	9.24	9.44	9.44	9.59
B3	4.68	7.25	8.65	9.06	9.21	9.30	9.36	9.36	9.44	9.50

LA: Laktik asit

Referans suş ve saha izolatlarının sekans analiz sonuçları

Referans suş ile deneysel çalışmada kullanılan saha izolatlarında yapılan sekans analiz sonuçları, sahadan izole edilen suşlar (A ve B) ile referans suşun %95 oranında benzer olduğunu ve *L. monocytogenes* serotip1/2a olduğunu göstermiştir.



Şekil 1. Referans Suş ile Saha İzolatlarının Sekans Analiz Sonuçlarına Göre Oluşturulan Cladogram

TARTIŞMA

Bu araştırmada, Otlu peynir üretiminde kullanılan çiğ süt ve otlar *L. monocytogenes* kontaminasyonu yönünden araştırılmış ve üretimde kullanılan çiğ süt ve otlarda *L. monocytogenes* tespit edilmedi.

L. monocytogenes sayısında bütün gruplarda telemede yaklaşık 1 log artış görülmüştür. Ancak saha suşlarındaki artış referans suşa göre biraz daha fazla olmuştur. Tablo 2'de görüldüğü gibi, olgunlaşmanın 1. gününde tüm gruplarda *L. monocytogenes* sayısında hafif bir artış görülmüş, daha sonra ol-

gunlaşma boyunca sürekli olarak azalma meydana gelmiştir.

Bu çalışmada inokulasyondan sonra teleme gruplarının önemli bir kısmında *L. monocytogenes* sayısında artış görülmesi Patır ve Güven'in (1999) yaptıkları çalışma ve aynı şekilde çalışmadaki 10^3 ve 10^5 düzeyinde *L. monocytogenes* inokule edilerek deneysel olarak üretilen otlu peynir telemesinde belirlenen değerlerle ve artış oranlarıyla Yıldırım'ın (2005) yapmış olduğu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Çiğ süte *L. monocytogenes*'in referans ve saha suşlarının farklı düzeylerde (10^1 , 10^3 , 10^5) kontaminasyonu ile yapılan tüm otlu peynir gruplarında genel olarak, *L. monocytogenes* ile asitlik ve tuz arasında $p < 0.01$ düzeyinde negatif bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Bu durum, olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde otlu peynirlerin asitlik ve tuz değerlerinin artmasıyla birlikte *L. monocytogenes* sayısında azalma olması ve olgunlaşmanın 50. gününden itibaren direkt sayım ve zenginleştirme metodu ile *L. monocytogenes*'in tespit edilememesi ile uyum göstermektedir.

Bütün Otlu peynir gruplarında *L. monocytogenes* ile TMM, TAPM ve LLP arasında pozitif yönde ve çok önemli düzeyde ($p < 0.01$) istatistiksel bir ilişki bulunmuştur. Bu durum, peynirlerde mikrofloranın genel olarak Laktik asit bakterilerinden oluşmasına

ve mikrobiyolojik analizlerde TAMM ve TAPM sayısının tespit edildiği besi yerlerinde Laktik asit bakterilerinin de üremesine ve çoğalmasına bağlanabilir. Benzer şekilde +4°C'de olgunlaştırılan tüm peynir gruplarında *L. monocytogenes*, psikrofilik karakterinden dolayı uzun süre canlılığını korumuş ve TAMM, TAPM ve LLP grubu mikroorganizmalarla birlikte mikrofloranın bir kısmını oluşturmuştur. Ancak, olgunlaşmanın 50. gününden itibaren artan tuz ve asitlik ile otların, pH'nın ve Laktik asit bakterilerinin inhibitör etkilerine bağlı olarak *L. monocytogenes* direkt sayım ve zenginleştirme metodu ile tespit edilememiştir.

Tablo 2'de görüldüğü gibi olgunlaşmanın 45. gününde R1 ve R2, 50. gününde R3, A1 ve B1, 55. gününde A2, B2, 60. gününde ise A3 ve B3'te *L. monocytogenes* saptama sınırının altına düşmüştür. Ayrıca, olgunlaşmanın 50. gününde R1 ve R2, 55. gününde R3, A1 ve B1, 60. gününde A2, B2, 75. gününde ise A3 ve B3'te hem direk hem de zenginleştirme metodu ile *L. monocytogenes* tespit edilememiştir. Otlu peynirlerde *L. monocytogenes* sayılarının saptama sınırının altına düşme ve tespit edilememe süreleri peynir gruplarının başlangıçtaki kontaminasyon düzeylerine paralel olarak değişmiştir. Bu durum, *L. monocytogenes*'in elimine edilme sürelerinin peynirlerin başlangıçtaki kontaminasyon düzeylerine paralel olarak değiştiğini belirten Yıldırım'ın (2005) değerlendirmesi ile uyum göstermektedir.

R, A, B grubu Otlu peynir örneklerindeki *L. monocytogenes*, olgunlaşmanın 50. gününden itibaren yok olmaya başlamıştır. *L. monocytogenes*'in R grubu Otlu peynirlerde olgunlaşmanın 55. gününde, A ve B grubu Otlu peynirlerde ise, olgunlaşmanın 75. gününde *L. monocytogenes* tespit edilememiştir. Referans suşun saha suşundan daha erken inhibe olması muhtemelen saha suşlarının ortama adapte olup direnç kazanmalarından kaynaklanmaktadır.

Otlu peynir örneklerinde *L. monocytogenes* sayısı olgunlaşmanın 15. gününden itibaren bütün gruplarda periyodik olarak azalmış, R1, R2 gruplarında 45. gün, R3, A1, B1 gruplarında 50. gün, A2, B2

gruplarında 55. gün, A3, B3 grubunda 60. gün sadece var/yok analizinde tespit edilebilmiştir (Tablo 1). Çalışmada, *L. monocytogenes*'in canlı kalabilme kabiliyeti bakımından R ile A ve B grubunun farklı olduğu, referans suşun saha suşlarına göre daha önce yok olduğu ve saha suşlarının daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda referans suşların 50., saha suşlarının ise, 60. günden sonra 75. günde tespit edilememesi Durmaz'ın (2003) yaptığı çalışmayla benzerlik gösterse de oluşan farklılıkların *L. monocytogenes* suşlarının farklı olmasından ve peynir yapım metodunun standart olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada tespit edilen değerler, Patır ve Güven (1999), Ryser ve Marth (1987) ile Solano-Lo'pez ve Hernáandez-Sánchez'in (2000) yaptığı çalışma ile uyumsuzluk göstermektedir. Bu uyumsuzluğun nedeni, peynir çeşidinin, teknolojisinin ve olgunlaşma şartlarının farklı olması ve farklı suşların kullanılması olabilir. Yaptığımız çalışmada, üretimde kullandığımız otlarla birlikte olgunlaşma süresince oluşan yüksek asitlik, tuz ve düşük pH'nın *L. monocytogenes*'in canlı kalabilme kabiliyetini engellediği kanaatine varılmıştır. Ayrıca katılan otlardan özellikle sirmotan (*Allium* spp.) kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada 10^3 ve 10^5 düzeyinde *L. monocytogenes* inokule edilen peynirde belirlenen değerlerle Yıldırım'ın (2005) yaptığı çalışma sonucu benzer bulunmuştur. Morgan ve ark.'nın (2001) yaptığı çalışma, peynir çeşidi farklı olsa da bizim çalışmamızdaki bulgularla uyum göstermektedir. Arıcı ve ark.'nın (1999) çalışmalarında elde ettikleri bulgular pH yönünden bizim bulgularımızla benzerken, *L. monocytogenes* açısından farklı olduğu görülmektedir. Bu farklılığın yine peynir çeşidinin ve üretim şeklinin farklı olmasından, katılan otlardan, yüksek asitlik ve tuzdan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Otlu peynir örneklerinde olgunlaşma süresi boyunca, *L. monocytogenes*'in tespit edilemediği güne kadar, *L. monocytogenes* sayılarında meydana gelen

değişimlerin istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Bu durum, olgunlaşma süresinde asitlik, tuz ve pH'da meydana gelen değişiklikler, Laktik asit bakterilerinin ve katılan otların *L. monocytogenes*'in üreme ve gelişmesine olan etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Her analiz döneminde grupları istatistiki açıdan değerlendirdiğimizde, R, A ve B gruplarının kendi içinde (R1, R2, R3; A1, A2, A3 ve B1, B2, B3) kontaminasyon düzeyine göre gruplar arası farkın $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, inokulasyon düzeylerinin farklı olması ve her inokulasyon düzeyindeki azalmanın belirli bir düzen içinde olmasından kaynaklanmış olabilir. R1 ile A1 ve B1, R2 ile A2 ve B2 ve R3 ile A3 ve B3 grupları arası farkın istatistikî olarak $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu görülmektedir. Bu durum, referans (R) *L. monocytogenes* suşunun, saha (A, B) suşlarına göre daha erken dönemde yok olmasıyla yani, saha suşlarının referans suşa göre daha dirençli olmasıyla açıklanabilir. Elde edilen veriler, saha suşları inokule edilerek yapılan A ve B grupları arasında önemli düzeyde istatistiksel bir fark olmadığını ortaya koymuştur. Bu durum, saha suşlarının dirençlerinin ve adaptasyon yeteneklerinin birbirine benzer olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, Otlı peynir örneklerinde TAMM sayısının, NK, R1, R2 gruplarında 15. güne kadar arttığı, daha sonraki günlerde ise azaldığı tespit edilmiştir. R3, A2 grubunda ise değerlerin değişken bir seyir izlediği, A1 grubunda 1. günden sonra azaldığı, A3, B1, B2, B3 gruplarında ise 30. güne kadar değişken olan değerlerin sonraki günlerde azalarak devam ettiği tespit edilmiştir (Tablo 3). Otlı peynir gruplarının tamamında TAMM sayısı ile TAPM ve LLP arasında $p < 0.01$ düzeyinde pozitif bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Bu durum incelenen peynir örneklerinde mikrofloranın genel olarak Laktik asit bakterilerinden oluşmasına, nonstarter Laktik asit bakterilerinin ortamda dominant hale geçmelerine ve mikrobiyolojik analizlerde TAMM ve TAPM sayısının tespit edildiği besi yerlerinde Laktik asit bakterilerinin de üreyip çoğalmasına

bağlanabilir. Çalışmamızda, ilk 30 gün bulgular arasında değişkenlik olması ve sonraki günlerde değerlerin periyodik olarak azalması Durmaz'ın (2003) yaptığı çalışmayla benzerlik göstermektedir. İşleyici'nin (1999) yaptığı çalışmada elde ettiği başlangıç değerleri bizim çalışmamızdaki bulgularla çok benzer olup, olgunlaşma sonunda her iki çalışmada da değerlerin düzenli bir şekilde azalarak benzer seviyelere geldiği görülmüştür. Morgan ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada, olgunlaşma dönemi sonunda elde ettikleri değerlerle çalışma sonuçlarımızın uyumlu olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda, örneklerdeki TAPM sayısının bütün gruplarda 1. günden sonra olgunlaşmanın sonuna kadar düzenli bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Tablo 3).

Örneklerinde olgunlaşma süresi boyunca LLP sayılarında meydana gelen değişimler ile analiz dönemlerinde genel olarak gruplar arası farkın istatistiksel açıdan $p < 0.05$ düzeyinde önemli olduğu görülmüştür. Otlı peynir gruplarının tamamında LLP mikroorganizma sayısı ile TAMM ve TAPM sayısı arasında, TAMM sayısı ile TAPM ve LLP arasında olduğu gibi $p < 0.01$ düzeyinde pozitif bir ilişki olduğu belirlenmiştir. İlk 30 gün LLP sayılarında değişkenlik olması ve daha sonraki günlerde değerlerin periyodik olarak azalması Durmaz'ın (2003) yaptığı çalışma ile farklılık göstermektedir. Bu farklılık, muhtemelen olgunlaşma şartlarının ve hammaddenin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. İşleyici'nin (1999) yaptığı çalışma ile çalışmamız arasında farklılıklar vardır. Bizim çalışmamızda, daha yüksek LLP sayısı ile başlayan olgunlaşma süreci sonunda 90. günde elde edilen LLP sayıları bu çalışmada elde edilen değerlerden yaklaşık 2 logaritmik birim daha düşüktür. Bu durum İşleyici (1999) tarafından üretilen Otlı peynir örneklerinin çığ koyun sütlerinden yapılmasına ve kuru tuzlama sonrası toprağa gömülerek olgunlaştırılmasına bağlı olabilir. Böylece örneklerde anaerobik ortam oluşarak LLP grubu mikroorganizmaların gelişmesi ve çoğalması olumlu yönde etkilenmiş olabilir.

Yapılan bu çalışmada; örneklerde MK sayısının,

tüm gruplarda değişkenlik gösterdiği ve 7. günde görülen artış 15. günde azalmış ve 30. günde tekrar artarak daha sonraki günlerde genel olarak periyodik bir şekilde olgunlaşma sonuna kadar azaldığı tespit edilmiştir (Tablo 4). Örneklerde MK sayısı başlangıçta laktik asit bakteri sayısına göre daha düşük iken olgunlaşma boyunca bir miktar artmış ancak olgunlaşma sonuna doğru azalarak tekrar başlangıç seviyelerine gelmiştir. Yapılan istatistiksel analizlerde MK sayısı ile tuz miktarı arasında negatif yönlü ve çok önemli bir ilişki belirlenmiştir. Bu durum olgunlaşma boyunca artan tuz miktarının MK grubu mikroorganizmaların üremesini baskılamasına bağlanabilir. MK grubu mikroorganizma sayısı çiğ sütte $4.95 \log_{10}$ kob/g seviyelerinde iken peynir yapımı ile birlikte telemede ortalama $5 \log_{10}$ kob/g seviyelerinde tespit edilmiş, olgunlaşmanın 1. günü ise tüm peynir gruplarında ortalama $1.5-2 \log_{10}$ kob/g düzeyinde önemli bir artış göstermiştir (Tablo 4). Daha sonra tüm grupların MK sayısının tedrici olarak olgunlaşma sonuna kadar yavaş yavaş azaldığı ve başlangıç seviyelerine geldiği görülmüştür. Teleme ile 1. gün arasındaki ciddi artış telemeye MK sayısı $6.23 \log_{10}$ kob/g olan otların katılmasına bağlanabilir. Otlarda yüksek sayıda bulunan MK grubu mikroorganizmaların telemede uygun ortam ve sıcaklıkta süratle çoğalarak 1. gün $7 \log_{10}$ kob/g seviyelerine ulaştıkları düşünülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, Durmaz'ın (2003) yaptığı çalışmada inokulasyon düzeyi 10^5 olan grubun bulguları ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda ki başlangıç MK sayısı İşleyici'nin (1999) yaptığı çalışma ile benzer olup, her iki çalışmada başlangıç dönemindeki hafif bir yükselmenin ardından olgunlaşmanın sonuna kadar düzenli bir azalma söz konusudur. Bizim çalışmamızdaki 90. gün değerlerinin bu çalışmadan daha yüksek olması, deneysel peynirlerin bu çalışmada kuru tuzlama ile üretilip gömülerek olgunlaştırılmasından kaynaklanabilir.

Çalışmamızda, örneklerde pH değerinin NK, R, A ve B gruplarında 55. güne kadar periyodik olarak

azaldığı daha sonra 90. güne kadar arttığı ve başlangıç seviyelerine ulaştığı tespit edilmiştir (Tablo 5). Olgunlaşmanın sonuna doğru pH'da meydana gelen yükselme, maya ve küflerin laktik asidi kullanarak ve oluşturdukları proteazların kazeini parçalaması ile oluşan deaminasyona bağlanabilir. Martin ve Fisher (1999), *L. monocytogenes*'in hayatta kalma süresinin pH 5.0'in altına düştüğü zaman kısaldığını; Papageorgiou ve Marth (1989), pH 4.6'ya düştüğünde gelişmenin durduğunu; Cole ve ark. (1990), 5 °C'de pH 5.13'te büyümenin gerçekleşmediğini; Schirmer ve ark. (2014) ise, pH 4.5'te *L. monocytogenes*'in ölüm oranının en yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmacıların tespitleri, çalışmamızda *L. monocytogenes*'in canlı kalabilme kabiliyetini kaybettiği dönemdeki pH değerleri ile uyum göstermektedir.

Çalışmamızda, ilk 55 gün azalan pH değerinin 60. günden itibaren artması Durmaz'ın (2003) yaptığı çalışmada elde ettiği değerlere benzerlik göstermektedir. İşleyici'nin (1999) yaptığı çalışmada pH değeri başlangıçtan itibaren yavaş yavaş azalarak 90. gün sonunda 4.43 ± 0.160 seviyesine ulaşmıştır. Çalışmamızda ise, pH değeri 55. güne kadar azalmış fakat daha sonra olgunlaşmanın sonunda artış göstermiştir. Bu durum, İşleyici (1999) tarafından üretilen deneysel Otlu peynirlerin çiğ koyun sütlerinden üretilmesine ve kuru tuzlama sonrası toprağa gömülerek olgunlaştırılmasına bağlı olabilir. Morgan ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada pH'nun düşmesi ve starter laktik asit bakterilerinin artmasının *L. monocytogenes*'in üremesini engellediğini belirtmişlerdir. pH değerinin olgunlaşma süresince devamlı yükselmesi yönüyle bizim çalışmamızdaki sonuçlardan farklıdır. Bu durum peynir çeşidi ve üretim teknolojisinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Patır ve Güven'in (1999) yaptığı araştırmada belirledikleri pH değeri ile *L. monocytogenes* sayısı arasındaki ilişki çalışmamıza benzer niteliktedir.

Bu çalışmada, örneklerde titre edilebilir asitlik ve tuz değerlerinin olgunlaşmanın ilk günden itibaren tüm gruplarda olgunlaşma sonuna kadar artarak devam ettiği tespit edilmiştir (Tablo 5). Bazı deney-

sel Otlu peynir örneklerinde tuz miktarı ile pH arasında negatif yönlü ($p<0.05$) ($p<0.01$), titrasyon asitliği arasında ise pozitif yönlü ($p<0.01$) bir ilişki belirlenmiştir. Bunun nedeni, olgunlaşma ilerledikçe salamuradan peynire tuz geçişinin artması ve laktik asit bakterilerinin ortama hâkim olarak pH'yı düşürüp titrasyon asitliğini arttırmalarıdır. Tuz ile TAMM, TAPM, LLP ve maya-küf arasında negatif bir ilişki olduğu ($p<0.01$) belirlenmiştir.

Tablo 5 incelendiğinde, *L. monocytogenes*'in Otlu peynirlerde canlılığını kaybetmeye başladığı 55. ve 60. günlerde %9'un üzerinde tuz oranına sahip olduğu görülmektedir. Aynı günlerde pH 4.5, titre edilebilir asitlikde %1.2 LA seviyelerinde tespit edilmiştir (Tablo 5). Üretimde kullanılan otların da *L. monocytogenes* üzerinde olumsuz etkisi olduğu bildirilmiştir (Sağun ve ark., 2006). Asitlik ve tuz ile TAMM, TAPM ve LLP arasında $p<0.01$ düzeyinde negatif bir ilişki, tuz ile MK arasında yine $p<0.01$ ve $p<0.05$ düzeyinde negatif bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda olgunlaşma dönemi boyunca asitlik ve tuzun devamlı artması ve bu mikroorganizmaların sayılarının önemli ölçüde düşmesi istatistikî açıdan önemli olan bu negatif ilişkiyi açıklamaktadır.

Yapılan bu çalışmada, ilk günden itibaren LA değeri ve tuz miktarının artarak devam etmesi Durmaz'ın (2003) yaptığı çalışmada elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir. İşleyici (1999) yaptığı çalışmada titre edilebilir asitlik değeri ve tuz miktarının olgunlaşmanın 90. gününe kadar artarak ilerlemesi yapılan bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Bazı baharatlar ve Otlu peynire katılan otlar üzerine yapılan çalışmalarda (Bakirci 1999; Durmaz ve ark., 2006; Indu ve ark., 2006; Dağdelen, 2010; Dağdelen ve ark., 2014; Köse ve Ocak, 2018) otların bazı patojen bakteriler üzerine inhibitör etkisinin olduğu belirlenmiştir. Sarımsak ve peynire katılan otların *L. monocytogenes* üzerine inhibitör etkisinin araştırıldığı çalışmalar da (Bahk ve ark., 1990; Kumar ve Berwal, 1998; Sağun ve ark., 2006; Shakur-fow ve ark., 2015) bulunmaktadır. Çalışmamızda,

deneysel Otlu peynir üretiminde sirmo, süt ağırlığı üzerinden hesaplanarak %2 oranında kullanılmıştır. Deneysel olarak *L. monocytogenes* inokule edilerek üretilen otlu peynir gruplarında *L. monocytogenes*'in 50. günden itibaren yok olmaya başlaması ve 75. gün tamamen canlılığını yitirmesinde, olgunlaşma süresince asitlik, tuz ve pH'da meydana gelen değişikliklerle birlikte katılan otların da *L. monocytogenes*'in üreme ve gelişmesini inhibe etmesinde rol oynadığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda incelenen referans ve saha suşlarının tamamının *L. monocytogenes* 1/2a olduğu yapılan sekans analizi ile tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda (Erol ve Şireli, 1999; Hofer ve ark., 2000; Makino ve ark., 2005; Ayaz ve Erol, 2011; Kevenk, 2014) değişik oranlarda *L. monocytogenes* 1/2a suşunun tespit edildiği bildirilmektedir.

Sonuç olarak, *L. monocytogenes* ile kontamine çiğ süttten yapılan Otlu peynirlerde *L. monocytogenes*'in en az 75 gün süre ile canlı kalabileceği ve özellikle taze ya da tam olgunlaşmadan tüketilmesi halinde halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceği belirlenmiştir. *L. monocytogenes*'in belirlenen 75 günlük canlı kalabileceği süreye tolerans payını da ekleyerek üretilen Otlu peynirlerin tüketime sunulmadan önce en az 90 gün olgunlaştırılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu araştırma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2015- SBE-D322 nolu proje ile desteklenmiştir. Destekleri için teşekkür ederiz.

Bu makale, "Otlu Peynirlerde *Listeria monocytogenes*'in Olgunlaşma Süresince Canlılığı ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi" isimli yüksek lisans tezinden üretilmiştir

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder. Bu makale 509622 numaralı tezden üretilmiştir

KAYNAKLAR

Akın N (2010). Temel Peynir Bilimi-I. Genel Konular, Damla Ofset, Konya.

- Akyüz N, Çoşkun H (1996). Van Otlı peynirlerinin Üretimi ve Peynire Katılan Otların Peynirin Çeşitli Özelliklerine Etkileri, "Her Yönüyle Peynir". Editör, M Demirci, 3. Baskı, Hasad Yayıncılık Ltd Şti, İstanbul, 208-216.
- Anonymous (2015). The microbiology manual. LABM Ltd, UK.
- Arıcı M, Demirci M, Gündüz HH (1999). *Listeria monocytogenes*'in inek ve koyun sütünden yapılan beyaz peynirlerin imalat, olgunlaşma ve depolama aşamalarındaki durumu. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23, 5, 1133-1137.
- Ayaz ND, Erol İ (2011). Serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from turkey meat by multiplex PCR in Turkey. *Journal of Food Safety*, 31, 149-153.
- Bahk J, Marth EH (1990). Listeriosis and *L. monocytogenes*. Chapter 18. In: DO Cliver (Editor). Foodborne Disease. Academic Press, Inc. London, 247-257.
- Bakirci I (1999). The effects of some herbs on the activities of thermophilic dairy cultures. *Nahrung*, 43, 333-335.
- Borucki K, Call DR (2003). *Listeria monocytogenes* serotype identification by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 41, 12, 5537-5540.
- Bridson E Y (1998). The Oxoid Manual. 8th edition, Oxoid Limited Hampshire, England.
- Coşkun H (1998). Microbiological and biochemical changes in herby cheese during ripening. *Nahrung*, 42, 309 - 313.
- Dağdelen S, Bilenler T, Durmaz G, Gökbulut I, Hayaloğlu AA, et al. (2014). Volatile composition, antioxidant and antimicrobial activities of herbal plants used in the manufacture of Van Herby (Otlı) cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38, 1716-1725.
- Dağdelen Ş (2010). Otlı Peynire Katılan Önemli Ot Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan Etkileri, Aroma Profili ve Bazı Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- Datta AR (2003). *Listeria monocytogenes*. Chapter 7. In: Miliotis MD, Bier JW (Editors). International Handbook of Foodborne Pathogenes. Marcel Dekker Inc, USA. 116-129.
- Demirci M (1996). Peynirin Beslenmedeki Önemi. "Her Yönüyle Peynir", Editör, M Demirci, 3. Baskı, Hasad Yayıncılık Ltd Şti, İstanbul, 9-17.
- Durmaz H (2003). Otlı Peynirlerin Üretim ve Olgunlaşma Sürelerinin *L. monocytogenes*'in Üremesi Üzerine Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van.
- Durmaz H, Sagun E, Tarakci Z, Ozgokce F (2006). Antibacterial activities of *Allium vineale*, *Chaerophyllum macropodium* and *Prangos ferulacea*. *African Journal of Biotechnology*, 5, 19, 1795-1798.
- Ergün Ö, Bostan K, Sağun E (1992). Van Otlı peynirlerinde mikrobiyolojik kalite ve küf florası. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 3, 1-2, 53-59.
- Erol İ, Şireli UT (1999). Donmuş broiler karkaslarında *Listeria monocytogenes*'in varlığı veserotip dağılımı. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 4, 765-770.
- Glass K, Doyle MP (1989). Fate of *L. monocytogenes* in processed meat products during refrigerated storage. *Applied and Environmental Microbiology Journal*, 55, 1565-1569.
- Hofer E, Ribeiro R, Feitosa DP (2000). Species and serovars of the genus *Listeria* isolated from different sources in Brazil from 1971 to 1997. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95, 615-620.
- Indu MN, Hatha AAM, Abirosh C, Harsha U, Vivekanandan G (2006). Antimicrobial activity of some of the South-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, 153-158.
- International Organization for Standardization (ISO) (2001b). Microbiology of food and animal feeding stuffs-Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbi-

- ological examination, Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilution. ISO6887-1.
- International Organization for Standardization (ISO) (2006a). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method; Amendment 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data, ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004.
- International Organization for Standardization (ISO) (2006b). Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*- Part 2: Enumeration method; Amendment 1: Modification of the enumeration medium. ISO 11290-2:1998/FDAM 1:2004.
- İşleyici Ö (1999). Otlı Peynir Mikroflorasındaki Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Bu Peynir Yapımında Kullanılabilecek Starter Kültürlerin Tespiti. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van.
- Kevenk TO (2014). Süt ve Ürünlerinde *Listeria monocytogenes*'in İnsidensi, Serotiplendirilmesi ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Samsun.
- Köse Ş, Ocak E (2018). Antimicrobial and antioxidant properties of sirmo (*Allium vineale* L.), mendi (*Chaerophyllum macropodium* Boiss.) and siyabo (*Ferula rigidula* DC.). *GIDA*, 43, 2, 294-302.
- Kumar M, Berwal JS (1998). Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). *Journal of Applied Microbiology*, 84, 213-215.
- Makino SI, Kawamoto K, Takeshi K, Okada Y, Yamasaki M, et al. (2005). An outbreak of food-borne Listeriosis due to cheese in Japan, during 2001. *International Journal of Food Microbiology*, 104, 189-196.
- Martin SE, Fisher CW (1999). *Listeria monocytogenes* in Encyclopedia of Food Microbiology. Ed: Robinson RK, Batt CA, Patel PD. Academic Press, 1228-1251.
- McLauchlin J, Rees Ced (2009). Genus I. *Listeria* Pirie 1940a, 383AL. In: Vos PD, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, et al. (Editors). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 3rd Edition, Springer, London, 244-257.
- Metin M, Öztürk GF (2002). Süt ve Süt Ürünleri Örnek Alma Kılavuzu. Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksek Okulu Yay. No:24, İzmir, 227-249.
- Morgan F, Bonnin V, Mallereau MV, Perrin G (2001). Survival of *Listeria monocytogenes* during manufacture, ripening and storage of soft lactic cheese made from raw goat milk. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 217-221.
- Narayanan S (2013). *Listeria*. In "Veterinary Microbiology", 3rd Edition, Ed: McVey DS, Kennedy M, Chengappa MM, Wiley-Blackwell.
- Notermans S, Powell SC (2005). Introduction. In: Lelieveld HLM, Mostert MA, Holah J. Boca Raton (Editors). *Handbook of Hygiene Control in The Food Industry*. CRC Press LLC.
- Özçelik H (1989). Van ve yöresinde süt mamüllerinin hazırlanmasında yararlanılan bitkilerin kullanılışları üzerine bir araştırma. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 13, 2, 356-360.
- Patır B, Güven AM (1999). Şavak salamura beyaz peynirin olgunlaşması sırasında *Listeria monocytogenes*'in yaşam süreleri üzerine araştırmalar. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, Ek Sayı 2, 317-327.
- Roberts D, Greenwood M (2003). Isolation and Enrichment of Microorganisms. In: *Practical Food Microbiology*. Third Edition, Blackwell Pub, USA.
- Ryser ET, Marth EH (1987). Behavior of *L. monocytogenes* during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. *Journal of Food Protection*, 50, 7-13.

- Sagun E, Durmaz H, Tarakci Z, Sagdic O (2006). Antibacterial activities of the extracts of some herbs used in Turkish Herby cheese against *Listeria monocytogenes* serovars. *International Journal of Food Properties*, 9, 255-260.
- Sancak YC (1989). Van ve Yöresinde Olgunlaştırılmış Olarak Tüketime Sunulan Otlu Peynirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Fiziksel Kaliteleri Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Shakurfow FAA, Buazzi MM, Gamal MAB (2015). Assessment of antimicrobial activity of onion (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*) extracts on *Listeria monocytogenes*; *in vitro* study. *Lebda Medical Journal*, 1, 1-5.
- Solano-Lo'pez C, Herná'ndez-Sa'nchez H (2000). Behaviour of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Manchego and Chihuahua Mexican cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 149-153.
- SPSS (2006). IBM SPSS statistics version 13.0 for Windows. New York: IBM Corp.
- Tekinşen OC (2000). Peynir Teknolojisi. "Süt Ürünleri Teknolojisi", 3. Baskı, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
- Tekinşen OC, Ataserver M, Keleş A (1997). Süt Ürünleri Üretimi ve Kontrolü. SÜ Basımevi, Konya, Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım AŞ.
- Yıldırım Y (2005). Beyaz Peynir Yapımında Bazı Probiyotiklerin Kullanılmasının *Listeria monocytogenes* Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.