

ELAZIĞ'DA SATIŞA SUNULAN PEYNİRLERDEN İZOLE EDİLEN KOLİFORM GRUBU BAKTERİLERİN TANIMLANMASI

THE IDENTIFICATION OF THE COLIFORM GROUP BACTERIA ISOLATED FROM THE CHEESE MARKETED IN ELAZIG

Metin DİĞRAK¹, Sami ÖZÇELİK²

¹ Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, ELAZIĞ

² Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 32670 Atabey-İSPARTA

ÖZET: Bu çalışmada, Elazığ Kapalı Çarşısı'nda satışa sunulan Erzincan Tulum (Şavak) Peynirinden 17, Taze Beyaz Peynirinden 21 örnek alınmış ve koliform grubu bakterileri izole edilerek tanımlanması yapılmıştır. Toplam 618 kültürün tanımlanmasında İMVİC testi ile beraber farklı biyokimyasal özellikleri de ele alınmıştır.

Erzincan Tulum Peynirinden izole edilen 316 adet koliform suşundan 72'si *Escherichia coli* tip I, 32'si *E.coli* Tip II, 76'sı *Enterobacter aerogenes*, 55'i *E. cloacae*, 31'i *Citrobacter sp.*, 14'ü *Klebsiella aerogenes*, 28'i *K. pneumoniae* olarak belirlenmiştir. Taze Beyaz Peynirinden izole edilen 302 adet koliform suşundan 86'sı *E. coli* tip I, 42'si *E. coli* Tip II, 91'i *E. aerogenes*, 34'ü *E. cloacae*, 22'si *Citrobacter sp.*, 5'i *K. aerogenes*, 11'i *K. pneumoniae* olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen toplam 19 suş ise tanımlanamamıştır.

SUMMARY: Coliform group bacteria were isolated and identified from 17 samples of the Erzincan Tulum (Şavak) Cheese and 21 samples of the freshly formed white cheese which are marketed in the Closed Shopping District in Elazığ. Different biochemical characteristics and İMVİC tests were obtained from identification of 618 cultures.

Total 316 coliform strains have been identified in the Erzincan Tulum cheese, consisted of 72 *Escherichia coli* tip I, 32 *E. coli* Tip II, 76 *Enterobacter aerogenes*, 55 *E. cloacae*, 31 *Citrobacter sp.*, 14 *Klebsiella aerogenes*, 28 *K. pneumoniae* and the freshly formed white cheese, consisted of 86 *E. coli* tip I, 42 *E. coli* Tip II, 91 *E. aerogenes*, 34 *E. cloacae*, 22 *Citrobacter sp.*, 5 *K. aerogenes*, 11 *K. pneumoniae*. Nineteen strain couldn't be identified.

GİRİŞ: Dünyaca bilinen peynirlerin dışında, her ülkede yöre istekleri doğrultusunda peynir yapılmaktadır. Ülkemizde de kaşar, beyaz, tulum ve mihalıç peynirleri en çok yapılan ve tüketilen peynir çeşididir (ERALP, 1974; KILIÇ ve GÖNÇ, 1990a).

Protein ve kalsiyum bakımından oldukça zengin olan beyaz peynir, yurdumuzda üretimi ve kişi başına tüketimi en fazla olan peynir çeşididir (KAPTAN ve BÜYÜKKILIÇ, 1983). Besin maddelerince zengin bir süt ürünü olan peynir, sadece besleyici özelliğinden dolayı değil, sevilen tat ve aromaya sahip oluşu nedeniyle toplumun her kesimi tarafından sevilerek tüketilen bir gıda maddesidir. Peynir, özellikle yağ ve protein bakımından zengin bir besindir. Peynirin olgunlaşma döneminde, proteinler aminoasitlerine ve suda eriyen küçük moleküllü bileşiklere kadar parçalandığı için sindirimi kolay olmaktadır.

Süt ürünleri içerisinde önemli bir yeri olan peynirin yapımında kullanılan süte sağım, taşıma ve işleme sırasında çok farklı kaynaklardan çeşitli mikroorganizmalar bulaşmaktadır. Bu mikroorganizmalardan bazıları saprofit olup, peynirde bulunan protein, yağ, karbonhidrat gibi besin kaynaklarını kullanarak kötü tad ve aromaya sebep olan metabolitleri üretirler. Bunun sonucu olarak peynirlerde acılaşıma, kokuşma, ekşime gibi bozulmalar meydana gelir ve ekonomik kayıplara yol açar. Bu mikroorganizmaların bir kısmı tifo, paratifo, tüberküloz ve brusella gibi ölümlü sonuçlanabilen çeşitli hastalıklara ve gıda zehirlenmelerine sebep olabilir (TWEDT ve BOUTIN, 1979).

Bu mikroorganizmalar içerisinde, en zararlı grubu koliform bakterileri oluşturmaktadır. Koliform grubu mikroorganizmalar, süt şekerini asit ve gaz çevirmekte ve oluşan gaz peynirin iç kısmında toplanarak gözeneklerin oluşmasına neden olmaktadır (YAYGIN ve KILIÇ, 1980; KIVANÇ, 1990). Gözenekler peynirin tüm yüzeyini kapladığı gibi, belirli yerlerde de ortaya çıkmaktadır.

Koliform grubu bakteriler peynirlerde gözenek oluşturmakla beraber, peynirin tat ve aromasını değiştirmektedir. Bu gruptaki bakterilerin peynirde sirke asidi oluşturmaları, *Citrobacter*'in H₂S meydana getirmesi ve *E. coli*'nin proteinlerden pis kokulu indol oluşturmaları, peynirde arzu edilmeyen tat ve aromanın açığa çıkmasına sebep olur (YAYGIN ve DEMİRYOL, 1982; ERGÜLLÜ, 1983; KILIÇ ve GÖNÇ, 1990b).

Diğer yandan koliform grubu bakterilerin buldukları ortamda tifo, paratifo ve enteritis grubu bakterilerin de bulunabileceği ve dolayısı ile bir infeksiyon tehlikesinin olabileceği de göz önüne alınırsa, koliform grubu bakterilerin sağlık açısından zararlı etkileri ortaya çıkmaktadır (FRANK ve ark., 1978; ERGÜLLÜ, 1983). Koliform grubu bakteriler, özellikle çocuklarda patojen etki göstermekte ve *E.coli*'nin bazı serolojik tipleri yeni doğan bebeklerde ishal salgınına neden olabilmektedir (AKMAN ve GÜLMEZOĞLU, 1980; KIVANÇ, 1990).

OYAN (1981), taze Llanere peynirleri gibi Venezuela'nın tipik beyaz peynirlerinde *E. coli* sayısının oldukça yüksek olduğunu belirtmiştir.

ERGÜLLÜ (1984), beyaz peynir örneklerinde en fazla *E. coli*, daha sonra *E. aerogenes*, *E. cloacae* ve *Klebsiella*'nın bulunduğunu, *Citrobacter*'in çok daha az olduğunu belirtmektedir.

OCANDO ve ark. (1991), Palmita tipi beyaz peynirlerinde yaptıkları araştırmada, örneklerin hepsinde *E.coli*, % 62.5'inde *E.cloacae*, % 50'inde *K. pneumoniae*, % 37.5'inde *E.aerogenes* bulunduğunu belirtmişlerdir.

JERMINI ve ark. (1990), İtalya ve İsviçre'de üretilen taze peynirlerden 99 örnek incelemişler ve *Enterobacteriaceae* üyeleri ile *E. coli* sayısının 10^3 - 10^5 /g olduğunu bildirmişlerdir.

KIVANÇ (1990) yaptığı çalışmada, 125 beyaz peynir örneklerinden izole ettiği 900 adet kültürün tanımlamasını yapmıştır. Araştırmada en fazla *E.coli* bulunmuş, bunu *E. aerogenes* takip etmiştir. Diğer koliform grubu bakteriler, *E. cloacae*, *Citrobacter*, *Klebsiella* ve *Serratia*'nın değişik oranlarda bulunduğunu belirtmiştir.

SERT ve KIVANÇ (1984), Erzurum piyasasında taze olarak tüketime sunulan taze beyaz peynirden 30 adet örnek almış, ikisi dışında örneklerden 11 - $2,4 \times 10^4$ adet/g *E. coli* izole etmişlerdir.

Belirtilen bu hususlar dikkate alınarak, özellikle Elazığ Kapalı Çarşısı'nda satışa sunulan Taze Beyaz peynir ve Erzincan Tulum (Şavak) peynirlerindeki koliform grubu mikroorganizmalar izole edilerek tanımlanması yapılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Peynir Örnekleri

Ercinzan Tulum (Şavak) peyniri örnekleri, 1993 yılı Eylül, Ekim, Kasım ve Aralık aylarında, Taze Beyaz peynir örnekleri ise, 1994 yılı Ocak, Şubat, Mart ve Nisan aylarında Elazığ Kapalı Çarşısı'ndan temin edilmiştir. Çalışmada Tulum peynirinden 17, Taze Beyaz peynirden 21 örnek, steril kavanozlara 250 g olacak şekilde alınmış ve aynı gün mikrobiyolojik muayeneye tabi tutulmuştur.

Yöntem

Örneklerin Mikrobiyolojik Muayeneye Hazırlanması

Steril blender kavanozu içerisine 11 g peynir örneği tartılarak 40-45°C'deki 99 ml steril % 2'lik sodyum sitratlı dilüsyon çözeltisi ile birlikte blendere aktarılmıştır. 2 dak. içerisinde peynir örneği tamamen homojen hale getirilerek 10^{-1} lik dilüsyonu yapılmıştır. Bu 10^{-1} lik dilüsyondan diğer dilüsyonlar hazırlanmıştır (HAUSLER, 1974).

Koliform Grubu Mikroorganizmaların İzolasyonu

Kültürlerin izolasyonunda Violet Red Bile Agar ve Eozin Methylen Blue Agar (Difco, Detroit) kullanılmıştır (ÖZÇELİK, 1992). 10^2 - 10^5 lik dilüsyonlardan paralel olarak ikişer petri kutusuna ekim yapılmış ve $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ de 24-48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Besiyerlerinde gelişen kırmızı zonlu, 0,5 mm çaplı veya daha büyük, kabarık, cıvıksı, gri-kahverengi merkezli ayrıca yansıyan ışık altında metalik yeşil,

merkezi koyu mor kolonilerden biyokimyasal testlerde kullanılmak üzere Nutrient Agar (Oxoid)'a ekilmiş ve burada saklanmıştır.

Koliform Grubu Mikroorganizmaların Tanımlanması

Peynir örneklerinden izole edilen saf kültürlerden, içerisinde Durham tüpü bulunan MacConkey Buyyon (Difco, Detroit) besiyerine ekim yapılmış ve $37\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ de 24-48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu asit ve gaz oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, Gram boyama yapılarak Gram-negatif çubuk şeklindeki bakterilerin saf kültür halinde görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiş ve tanımlamaya geçilmiştir (HARRIGAN ve McCANCE, 1976; ÖZÇELİK, 1992).

Koliform grubu bakterilerin tanımlanmasında COLLINS ve LYNE (1987), OCANDO ve ark.,(1991)'in belirttiği biyokimyasal testler uygulanmıştır (Çizelge 1).

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Araştırmada kullandığımız 38 adet peynir örneklerinin hepsinden koliform grubu bakteri izole edilmiştir. Erzincan Tulum (Şavak) ve Taze Beyaz peynir örneklerinden izole edilen koliform grubu bakterilerin sayıları ve oranları Çizelge 2'de, türlere göre dağılımı Şekil 1'de belirtilmiştir.

Çizelge 1. Erzincan Tulum ve Taze beyaz peynirden izole edilen koliform suşlarının biyokimyasal özellikleri, (COLLINS ve LYNE, 1987; OCANDO ve ark., 1991)

Biyokimyasal Özellikler	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>K.aerogenes</i>	<i>E.cloacae</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>Citrobacter sp.</i>
Gram Boyama	-	-	-	-	-	-
Laktozdan gaz (44°C)	+	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	+
Ürenin Hidrolizi	-	+	+	+	-	v
Jelatin Hidrolizi (25°C)	-	-	v	-	-	-
Hareket (37°C)	+	-	-	+	+	-
Manitol	+	-	-	-	-	-
İndol	+	-	v	-	-	v
Methyl red	+	+	-	-	-	+
Voges-Proskauer	-	-	+	+	+	-
Citrat	-	+	+	+	+	+
Glukozdan gaz (37°C)	+	+	+	+	+	+
Laktozdan gaz (37°C)	+	+	+	+	+	+
Lisin dekarboksilaz	+	+	+	-	+	-
Arginin hidrolaz	+	-	-	+	-	v
Malonat	-	+	+	+	v	v
Glukonat	-	+	v	+	+	-
KCN	-	-	+	+	+	+

v: Değişebilir

Araştırmada Erzincan Tulum peynirinden 316 adet, Taze Beyaz peynirden 302 adet koliform grubu bakteri izole edilmiştir. Erzincan Tulum peyniri örneklerinde teşhisi yapılan bakterilerden 72'sinin (% 22,79) *E. coli* I, 32'sinin (% 10,12) *E. coli* tip II, 76'sının (24,05) *E. aerogenes*, 55'inin (% 17,40) *E. cloacae*, 31'inin (% 9,81) *Citrobacter sp.*, 14'ünün (% 4,43) *K. aerogenes*, 28'inin (% 8,87) *K. pneumoniae* olduğu tesbit edilmiştir.

Taze Beyaz peynir örneklerinden izole edilen ve teşhisi yapılan 302 izolattan 86'sının (% 28,48) *E. coli* tip I, 42'sinin (% 14,00) *E. coli* tip II, 91'inin (% 30,13) *E. aerogenes*, 34'ünün (% 11,25) *E. cloacae*, 22'sinin (% 7,28) *Citrobacter sp.*, 5'inin (% 1,66) *K. aerogenes*, 11'inin (3,64) *K. pneumoniae* olduğu belirlenmiştir. Her iki peynir örneğinden izole edilen 19 bakteri suşu ise tanımlanamamıştır (Çizelge 2).

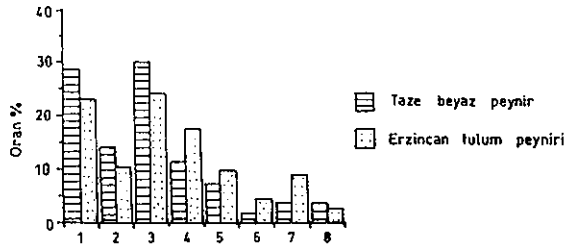
Çizelge 2. Elazığ Kapalı Çarşısı'nda satışa sunulan peynirlerden izole edilen koliform grubu bakterilerin sayısı ve oranları

Bakteriler	Peynir Çeşitleri					
	Şavak Tulum Peyniri		Taze Beyaz Peynir		Toplam	
	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)
<i>E.coli</i> tip I	72	22,79	86	28,48	158	25,56
<i>E.coli</i> tip II	32	10,12	42	14,00	74	11,98
<i>E.aerogenes</i>	76	24,05	91	30,13	167	27,02
<i>E.cloacae</i>	55	17,40	34	11,25	89	14,40
<i>Citrobacter sp.</i>	31	9,81	22	7,28	53	8,57
<i>K.aerogenes</i>	14	4,43	5	1,66	19	3,07
<i>K.pneumoniae</i>	28	8,87	11	3,64	39	6,31
Diğer koliform	8	2,53	11	3,64	19	3,07
Toplam	316	100,0	302	100,0	618	100,0

Çalışmada kullandığımız peynir örneklerinde *E.coli* ve *E. aerogenes*'in ön sırada yer alması teknolojik yönden önem taşımaktadır. Bu peynirlerin olgunlaşması sırasında tat ve aroması değişebilir. KIVANÇ (1990), Beyaz, Lor ve Civil peynirlerinden izole ettiği kültürlerin büyük bir kısmının *E. coli* olduğunu, bunu *E. aerogenes* ve *E. cloacae*'nin takip ettiğini belirtmiştir. Ayrıca OYON (1981), ERGÜLLÜ (1984) ve OCANDO ve ark. (1991) yaptığımız çalışmada bulunan sonuçlara benzer sonuçlar bulmuşlardır. Ancak, bazı peynir tiplerinde *Klebsiella sp.*'nin *E. aerogenes*'den daha fazla bulunduğu belirtilmektedir.

ARISPE (1980), pastörize edilmiş sütlerden imal edilen yumuşak beyaz peynirlerde *E. coli* sayısının oldukça yüksek olduğunu belirtmiştir.

Peynirlerden izole edilen koliform grubu bakterilerin türlere göre dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Peynirlerden izole edilen koliform grubu bakterilerin türlere göre dağılımı

1. *E.coli* tip I
2. *E.coli* tip II
3. *E.aerogenes*
4. *E.cloacae*
5. *Citrobacter sp.*
6. *K.aerogenes*
7. *K.pneumoniae*
8. Diğer koliformlar

Araştırma sonuçlarına göre, Elazığ Kapalı Çarşısı'nda satışa sunulan Erzincan Tulum (Şavak) ve Taze Beyaz peynirlerin Koliform grubu bakteri ile bulaşık olduğu görülmüştür. Koliform grubu bakterilerin peynirlerde tat ve aromayı değiştirmeleri, laktozdan oluşturdukları gaz nedeniyle peynir yapısını bozmaları, peynir tenekelerinin şişmesine ve patlamalara yol açmaları yanında, bazı türlerin patojen etki göstermeleri nedeniyle peynir teknolojisinde en zararlı bakteri grubunu oluştururlar. Bu sebeple, peynire işlenecek sütün uygun şartlar altında pastörize edilmesi ve bu işlemten sonra her türlü hijyenik şartların yerine getirilerek bu bakterilerin tekrar süte bulaşmasının önlenmesi ve bu konuda peynir üreticilerinin bilinçlendirilmesi gereklidir.

E.coli tip I ve tip II suşlarının tanımlanması FISHBEIN ve ark. (1976) tarafından bildirilen teşhis anahtarına göre yapılmıştır. *E.coli* tip I olarak tanımlanan suşun indol oluşturduğu, sitratta gelişmediği ve VP testinde negatif reaksiyon verdiği tesbit edilmiştir. *E.coli* tip II, tip I'e benzer reaksiyonlar göstermiş ancak indol oluşturmadığı görülmüştür.

KAYNAKLAR

- AKMAN, M., E. GÜLMEZOĞLU, 1980. Tıbbi Mikrobiyoloji. ss. 371. Hacettepe Üniversitesi. Ankara.
- ARISPE, I., 1980. *S. aureus* y organismos indicadores, su recuperacion e incidencia en quesos blancos pasteuriza dos. Acta Cientifica Venezolano, 31, 1, 153.
- COLLINS, C.H. and P.M. LYNE, 1987. Microbiological Methods. Butterworth & Co. (Publishers) Ltd. London pp. 450.
- ERALP, M. 1974. Peynir Teknolojisi. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları 533, Ders Kitabı, 178, s: 331.
- ERGÜLLÜ, E., 1983. Koliform grubu bakteriler ve peynir teknolojisindeki zararlı etkileri. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi. 20/2, 93-99.
- ERGÜLLÜ, E., 1984. Süt ve mamüllerinden izole edilen koliform grubu bakterilerin tanımı üzerinde araştırmalar. Gıda 9(2) 107-115.
- FISHBEIN, M., I.I. MEHLMAN, L. CHUGG, J.C. OLSON, 1976. Coliforms, fecal coliform, *E. coli*, and enteropathogenic *E.coli* In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, Inc., Washington, 277-300 pp.
- FRANK, J.F., E.H. MARTH, N.F. OLSON, 1978. Behaviour of enteropathogenic *Escherichia coli* during manufacture and ripening of Brick chees. J. Food Protec. 41, 111-115.
- HARRIGAN, W.W. and M.E. Mc CANCE, 1976. Laboratory methods in food and dairy microbiology. pp. 452. Academic press. London.
- HAUSLER, W.S., 1974. Standard methods for the examination of dairy products. 13 th. edition Washington, D.C., American Public Health Association.
- JERMINI, M.F.G.; D.U.GUTIERREZ; Z.R. APALMO; L.T. SALAS and Y. BASANTA, 1991. Hygienic evaluation of home-made style Formaggini cheese from tessin canton, Switzerland: occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains. Mitteilungen aus dem Gebeite der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 81(6), 633-634.
- KAPTAN, N., N. BÜYÜKKILIÇ, 1983. Ankara'da tüketime sunulan beyaz peynirlerin kalitesi. Gıda 8 (2), 67-72.
- KILIÇ, S., S.GÖNÇ, 1990a. İzmir tulum peynirinin kimi özellikleri üzerinde araştırmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 27 (3), 155-167.
- KILIÇ, S., S.GÖNÇ, 1990b. İzmir tulum peynirinin mikrobiyolojik özellikleri üzerinde araştırmalar II. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 27(3), 169-185.
- KIVANÇ, M. 1990. Peynirlerden izole edilen koliform grubu bakterilerin tanımlanması. Gıda, 15(2) 93-99.
- OCANDO, A.F.; D.U.GUTIERREZ; Z.R. APALMO; L.T. SALAS and Y.BASANTA, 1991. Microflora isolated from Venezuelan "Palmita-Type" cheese. J. of Food Protection, 54(11) 856-860.
- OYON, R., 1981. Queso Llanero. Ediciones de la Facultad de Agronomia. Extension Maracay. Universtad Central de Venezuela, Venezuela.
- ÖZÇELİK, S., 1992. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulama Kılavuzu. F.Ü. Fen-Edebiyat Fak. Yayınları. Yayın No: 1 Ders Notları No: 1 ss: 135. Elazığ.
- SERT, S. ve M.KIVANÇ, 1984. Erzurum piyasasında taze olarak tüketime sunulan beyaz peynirlerinin hijyenik kaliteleri üzerinde bir araştırma. Ziraat Dergisi, 15(3-4), 79-89. A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları, Erzurum.
- TWEDT, R.M., B.K. BOUTIN, 1979. Potential public health significance of non-*Escherichia coli* coliforms in foods. J. Food Prot. 42, 161-163.
- YAYGIN, H., S.KILIÇ, 1980. Peynir teknolojisinde saf kültürlerin önemi. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 17/1, 177-189.
- YAYGIN, H., İDEMİRKOL, 1982. Peynirlerde mikrobiyal bozulmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi 19/1, 273-283.