

# Kefir Mikroflorası Üzerinde Araştırma

Doç. Dr. Erol ERGÜLLÜ

E.Ü.Z.F. Tarım Ürünleri Teknolojisi Bölümü — İZMİR

Doç. Dr. Mustafa ÜÇÜNCÜ

E.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü — İZMİR

## Ö Z E T

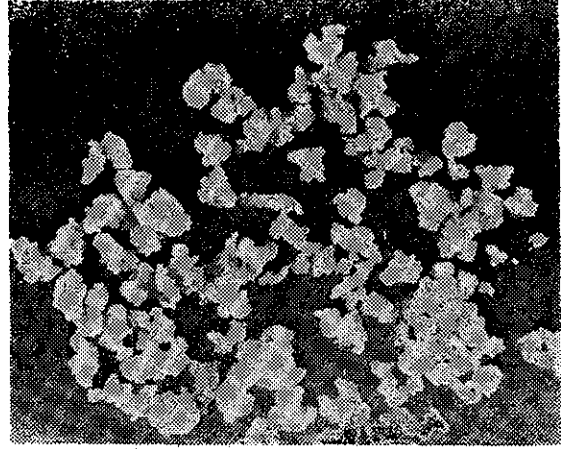
Çalışmada, çeşitli yörelerden sağlanmış 7 kefir örneğinin mikroflorası araştırılmış ve elde edilen bulgulara göre, kefir mikroflorasında süt asidi bakterileri (Streptokok ve Laktobasiller) ile mayaların çoğunlukta olduğu belirlenmiştir. Bu bakteri türlerinden herbirinin kefir oluşumunda ayrı bir yeri bulunmaktadır. Süt asidi bakterileri sütü pıhtılaştırmakta ve bunlardan bazıları da ayrıca uçucu asitler oluşturarak, kefirin tat ve kokusunun meydana gelmesine katkıda bulunmaktadırlar. Mayalar ise süt şekerini parçalayarak alkol ve karbondioksit oluşturmaktadırlar.

Kefir örneklerinde, normal florada bulunmaması gereken diğer bazı mikroorganizmaların da bulunduğu ve bunlar içerisinde özellikle koliform grubu bakteriler ile enterokokların başta geldiği gözlenmiştir.

## 1. GİRİŞ

Kefir, çok eski geçmişi olan, özellikle Kafkasya'da, bazı Orta Doğu ve Avrupa ülkelerinde işlenen, hafif atkollü, ekşi ve köpüklü bir süt içkisidir. Bileşiminde % 0.5 - 1.5 etil alkol ve yaklaşık % 0.7 kadar süt asidi vardır. Sindirimini kolaylığı, serinletici ve iştah açıcı niteliği ve bazı hastalıklardaki iyileştirici etkisi, hem tüketiminin artmasına neden olmuş ve hem de çok sayıda araştırmacının ilgisini üzerinde toplamıştır.

Kefir yapımında kültür olarak çoğunlukla kefir danelerinden yararlanır. Kefir daneleri, kefire işlenecek sütte süt asidi ve alkol fermentasyonu yapacak mikroorganizmi içeren, beyazımsı renkte, karnabahar andırır şekilde ve bezelye veya fındık büyüklüğündedir (Şekil 1). Ne zaman ve nasıl oluştuğu kesin olarak bilinmemekle beraber, ilk kez Kafkasya'daki «Gaucase» köyünde oluştuğu ve burada yaşayan köylülerin sütleri deri tulumlar içerisinde fermentasyona bırakmaları ile «airan» adı verilen bir süt mamulünün elde edildiği ileri sürülmektedir (ACCOLAS ve AUCLAIR 1974).



Şekil 1. Kefir daneleri

Kefir daneleri son yıllarda birçok araştırmacının ilgisini çekmiş ve üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Kefiri oluşturan mikroorganizmalar üzerinde yapılan çalışmalar, bu mikroorganizmaların çeşitli kefiirlere göre çok büyük farklılıklar gösterdiğini, ancak kefir mikroflorasının, laktik streptokoklar ile mayalardan oluştuğunu ortaya koymuştur (KAMINSKI 1957, FEOFİLOVA 1958, PECH 1963, GEORGANTAS 1970, BABINA 1971, BABINA ve ROZHKOVA 1973, OTTOGALLI ve ark. 1973).

Flora içerisinde yer alan bakteriler, *Str. Lactis*, *Leuconostoc*, *Thermobacterium*, *Streptobacterium* ve *Betabacterium* grubu *Lactobacillus*'lardır. Maya florası ise, laktozu fermente eden ve etmeyen mayalar şeklinde ayrılmaktadır. Tüm bu bakteri ve mayalar dışında kefir mikroflorasında diğer bazı mikroorganizmaların ve bunlar arasında özellikle koliform grubu bakteriler, *Bac. subtilis*, *Acetobacter*, fekal streptokoklar'ın bulunabildiği belirtilmektedir (VAYSSIER 1978).

Bu nedenle araştırmamızda, kefir örneklerinin doğal mikroflorası yanında, diğer mikroorganizmalar da incelenmiş ve kefir mikroflorasında yer alan bakteri ve mayaların hangi türler olduğunun belirlenmesine çalışılmıştır.

## 2. ÖZDEK ve YÖNTEMLER

### 2.1. ÖZDEK

Araştırmada 7 kefir örneği kullanılmış ve bunlardan 6'sı Ege Bölgesinin çeşitli yörelerinden, 1'i ise Kafkasya'dan sağlanmıştır.

### 2.2. YÖNTEMLER

#### 2.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Örneklerin mikrobiyolojik niteliklerinin belirlenebilmesi için, 10 g kefir, bir porselen kap içerisinde steril koşullar altında tartılmış ve iyice ezilerek, içerisinde 90 ml steril Ringer çözeltisi bulunan kapaklı şişelere aktarılmıştır. Şişeler 25 kez karıştırılarak örneklerin  $10^{-1}$  seyreltmesi yapılmıştır. Bundan sonra aynı işlem  $10^{-8}$  seyreltme oranı elde edilinceye kadar devam edilmiştir.

#### 2.2.2. Toplam Mikroorganizma Sayısının Belirlenmesi

Toplam mikroorganizma sayısı iki farklı besi ortamı kullanılarak belirlenmiştir.

##### 2.2.2.1. Plate Count Agar (Pepton maya glikoz agar - PC -)

Pepton	5 g
Maya Ekstraktı	2,5 g
Glikoz	1 g
Yağsız süt	10 ml
Agar	11,5 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} = 7.0 \pm 0.1$$

Proteolitik bakterilerin de birlikte saptanabilmesi için yağsız süt içeren bu besi ortamı, iyice eritildikten ve pH'sı ayarlandıktan sonra deney tüplerine 10'ar ml olarak doldurulmuş ve 121°C derecede 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Toplam mikroorganizma sayısının belirlenmesi için; örneğin  $10^{-4}$  ile  $10^{-8}$  arasındaki seyreltilerinden steril Petri kaplarına 1'er ml alınmış ve 45°C derecedeki besi ortamı ile karıştırılmıştır. Üç seri halinde ekim yapılan Petri kapları  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  derecede  $72 \pm 2$  saat inkübasyona bırakılmışlardır. 30 ile 300 koloni içeren Petri kaplarındaki koloniler sayılmış ve bulu-

nan sayı seyreltme oranı ile çarpılarak toplam mikroorganizma sayısı saptanmıştır.

Çevresinde berrak bir zon oluşturan koloniler proteolitik bakteriler olarak tanımlanmıştır.

##### 2.2.2.2. Chinablue Laktoz Agar

(Kinin mavisi laktoz agar - CBL -)

Et Ekstraktı	3 g
Pepton	5 g
Laktoz	10 g
Kinin mavisi	0,375 g
(% 1'lik çözeltiden 37,5 ml)	

Na Cl	5 g
Agar	12 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} = 7.0 \pm 0.1$$

Laktozdan asit oluşturan ve oluşturmeyen mikroorganizmaların belirlenebilmesi amacıyla hazırlanan besi ortamına ekim, Plate Count Agar'da belirtilen yöntemle yapılmıştır.

Koyu mavi renkli koloniler asit yapan bakteriler olarak tanımlanmıştır.

##### 2.2.3. Lactobacillus ve Leuconostec Sayısının Belirlenmesi

Söz konusu mikroorganizmaların sayılarının belirlenmesi için «Rogosa Agar» kullanılmıştır.

Pepton	10 g
Maya ekstraktı	5 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	6 g
Amonyum sitrat	2 g
Glikoz	20 g
Tween 80	1 ml
Sodyum Asetat	15 g
Tuz çözeltisi *)	5 ml
Agar	15 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} = 5.4$$

##### \*) Tuz Çözeltisi :

$\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	11,5 g
$\text{Mn SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2,4 g
$\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,68 g
Saf su	100 ml

Yukarıda içeriği belirtilen besi ortamı, eritildikten sonra, üzerine 1,32 ml sirke asidi ila-

ve edilmiş ve pH'sı 5,4'e ayarlanmıştır. 30 dakika süre ile su banyosunda kaynatıldıktan sonra da steril Petri kaplarına, yaklaşık 15 ml'lik bölümler halinde dökülmüştür.

Streptobacterium, Betabacterium ve Leuconostoc türlerinin belirlenmesi için, iyice kurutulan besi ortamı üzerine,  $10^{-4}$  ile  $10^{-8}$  arasındaki seyreltilerden 0,1'er ml alınmış ve steril cam çubukla yayılmıştır. Her seyreltme oranı için paralel ekim yapılan Petri kapları,  $32^{\circ}\text{C}$  derecede 5 gün süre ile, anaerob etüvde % 95 azot ve % 5  $\text{CO}_2$  gazı altında inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda gelişen farklı görünümdeki koloniler sayılmış ve tanımlanmıştır.

Thermobacterium grubundaki bakterilerin saptanması için, yukarıda belirtilen işlem tekrarlanmış, ancak  $10^{-1}$  ile  $10^{-4}$  arasındaki seyreltilerden yararlanılmış ve inkübasyon  $45^{\circ}\text{C}$  derecede yapılmıştır.

#### 2.2.4. Enterokok Grubu Bakterilerin Belirlenmesi

Bu grup bakteriler için «Slanetz Bartley» besi ortamı kullanılmıştır.

Tripton	20 g
Maya ekstraktı	5 g
Glikoz	2 g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	4 g
Sodyum azid	0,4 g
(% 1'lik çözeltiden 40 ml)	

Agar	12 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} = 7.2 \pm 0.1$$

Besi ortamı 30 dakika süre ile kaynatılmış,  $50^{\circ}\text{C}$  dereceye soğutulmuş ve üzerine, filtrasyonla sterilize edilmiş % 1'lik trifenil tetrazoliumklorid çözeltisinden 10 ml katılarak iyice karıştırılmış ve Petri kaplarına dökülmüştür.

Daha sonra Petrilere  $10^{-1}$  ile  $10^{-4}$  arasında yayma şeklinde ekim yapılmış ve kaplar  $37^{\circ}\text{C}$  derecede 48 saat süre ile inkübe edilmiştir.

#### 2.2.5. Pseudomonas Bakterilerinin Belirlenmesi :

Bu amaçla «GSP- Agar» kullanılmıştır.

Nişasta (suda çözünabilir)	20 g
Sodyum Glutamat	10 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2 g
$\text{Mg SO}_4$	0,5 g
Fenol kırmızısı	0,36 g
(% 1'lik sudaki çözeltiden 36 ml)	

Agar	12 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} = 7.2 \pm 0.2$$

Besi ortamı hazırlandıktan sonra  $121^{\circ}\text{C}$  derecede 15 dakika sterilize edilmiş ve Petri kaplarına dökülmüştür.

Petrilere ekim  $10^{-1}$  —  $10^{-4}$  seyreltilerden ve yayma şeklinde yapılmıştır. Kaplar  $25^{\circ}\text{C}$  derecede 3 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır.

#### 2.2.6. Koliform grubu Bakterilerin Belirlenmesi

Bu gruptaki bakterilerin belirlenmesi için «Kristalviole neutral kırmızısı safra agar -VRB-» kullanılmıştır.

Pepton	7 g
Maya ekstraktı	3 g
Laktoz	10 g
Na Cl	5 g
Safra tuzu	1,5 g
Neutral kırmızısı	0,03 g
(% 0,1'lik çözeltiden 30 ml)	

Kristal viole	0,002 g
(% 0,1'lik çözeltiden 2 ml)	

Agar	13 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} = 7.2 \pm 0.1$$

Besi ortamı hazırlandıktan sonra 30 dakika süre ile kaynatılmış ve yaklaşık 15 ml'lik bölümler halinde, steril Petri kaplarına dökülmüştür.

Iyice kurutulan ( $37^{\circ}\text{C}$  derecede 4 - 5 saat) besi ortamına ekim,  $10^{-1}$  ile  $10^{-4}$  arasındaki seyreltilerden yapılmış ve bunun için Petrilere her seyreltiden 0,1 ml konularak steril cam

çubukla (Drigalski) yayılmış ve Petri ler, 30°C derecede 24 saat inkübe edilmişlerdir.

### 2.2.7. Maya ve Küflerin Belirlenmesi

Maya ve küflerin belirlenebilmesi için «Malt Ekstrakt Agar» kullanılmıştır.

Malt ekstrakt	30 g
Pepton	3 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} = 5.6 \pm 0.1$$

Bu besi ortamı 121°C derecede 10 dakika sterilize edilmiş ve 50°C dereceye soğutulmuştur. Daha sonra içerisine % 10'luk steril süt asidi çözeltisinden eklenerek pH'sı ayarlanmış ve Petri kaplarına dökülmüştür.

Ekim yayma şeklinde yapılmıştır. Bunun için  $10^{-4}$  —  $10^{-8}$  seyreltilerinden 0,1 ml alınarak, iyice kurutulmuş besi ortamına steril cam çubukla dağıtılmıştır. Petri kapları 2 gün 30°C derecede ve bunu izleyen 3 günde oda sıcaklığında inkübe edilmişlerdir.

### 2.2.8. Streptokok'ların Belirlenmesi

Bu amaçla «Elliker Agar» kullanılmıştır.

Tripton	20 g
Maya ekstraktı	5 g
Jelatin	2,5 g
Glikoz	5 g
Şağkaroz	5 g
Laktoz	5 g
Na Cl	4 g
Sodyum asetat	1,5 g
Askorbik asit	0,5 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} : 6.8 \pm 0.1$$

Besi ortamı 121°C derecede 15 dakika sterilize edilmiş ve Petri kaplarına dökülmüştür. Örneğin  $10^{-4}$  ile  $10^{-8}$  arasındaki seyreltilerinden 0,1 ml alınarak besi ortamı üzerine yayılmıştır. Inkübasyon 35°C derecede 48 saat süre ile yapılmıştır.

### 2.2.9. Staphylokok ve Mikrokok'ların Belirlenmesi

Bunun için «Mannit tuz fenol kırmızısı agar - Mannitol salt agar -» kullanılmıştır.

Pepton	10 g
Et ekstraktı	1 g
Na Cl	75 g
Mannit	10 g
Phenol kırmızısı	0,025 g
(% 0.1'lik çözeltiden 25 ml)	

Agar	12 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} : 7.4 \pm 0.1$$

İçeriği belirtilen besi ortamı 121°C derecede 15 dakika sterilize edilmiş ve steril Petri kaplarına dökülmüştür.

Örneğin  $10^{-1}$  ile  $10^{-4}$  arasındaki seyreltilerinden 0,1 ml alınarak, iyice kurutulmuş besi ortamına yayılmış ve 37°C derecede 24 - 48 saat arasında inkübe edilmiştir.

### 2.2.10. Anaerob Spor Yapan Bakterilerin (Clostridium) belirlenmesi

Clostridium'ların belirlenmesi için «SAT - Agar (Sülfid azid thioglycolat agar)» kullanılmıştır.

Pepton	20 g
Maya ekstraktı	10 g
(L+) - Cystein (L - Sistin)	0,5 g
Na Cl	5 g
Sodyumthioglycolat	1 g
Agar	3 g
Saf su	1000 ml

$$\text{pH} : 7.1 \pm 0.1$$

Besi ortamı 121°C derecede 15 dakika süreyle sterilize edilmiş ve sonra yaklaşık 50°C dereceye soğutulmuş içerisinden daha önceden steril filtre edilen % 10'luk Sodyum sülfid çözeltisinden 5 ml; % 10'luk Demir - 3 - sülfat çözeltisinden 5 ml ve % 5'lik sodyum azid çözeltisinden 3 ml, steril koşullar altında katılmıştır. İyice karıştırılan besi ortamı, steril deney tüplerine yaklaşık 8 - 10 ml olarak doldurulmuştur.

Örneğin  $10^{-1}$  —  $10^{-4}$  seyreltelerinden 1'er ml alınmış ve  $45^{\circ}\text{C}$  derecedeki besi ortamına aktarılmıştır. Her seyreltiden 3'er tüpe ekim yapılmış ve tüpler  $80^{\circ}\text{C}$  derecedeki su banyosunda 10 dakika tutulmuştur. Daha sonra hemen soğutulularak,  $37^{\circ}\text{C}$  derecede 48 saat süre ile inkübe edilmişlerdir.

### 2.2.11. Aerob Spor Yapan Bakterilerin (Bacillus) Belirlenmesi

Aerob spor yapan bakterilerin belirlenmesi için «Glikoz Agar» kullanılmıştır.

Pepton	10 g
Et ekstraktı	5 g
Na Cl	5 g
Glikoz	10 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml

pH :  $7.0 \pm 0.1$

Besi ortamı  $121^{\circ}\text{C}$  derecede 15 dakika sterilize edilmiş ve Petri kaplarına dökülmüştür.

Uygun seyrelteleri ( $10^{-1}$  —  $10^{-4}$ ) hazırlanan ve  $80^{\circ}\text{C}$  derecede 10 dakika süre ile su banyosunda tutularak hemen soğutulan örneklerin her seyreltisinden 0,1 ml alınmış ve daha önceden çok iyi kurutulmuş besi ortamı üzerine steril cam çubukla (Drigalski) yayılmıştır. Petri kapları,  $37^{\circ}\text{C}$  derecede 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Bu bölümde (2.2.2. - 2.2.11)'de belirtilen mikroorganizmaların belirlenmesinde, MERCK (1973)'in «Mikrobiologisches Handbuch» kitabından yararlanılmıştır.

### 2.2.3. Kültürlerin Tanımı

Örneklerden izole edilen kültürler, saflaştırma işleminden sonra genus düzeyinde ayrılmışlar ve farklı biyokimyasal niteliklerden yararlanılarak tanımlanmışlardır.

Streptococcus, Leuconostoc ve Lactobacillus genusuna dahil kültürlerin tanımında ERGÜLLÜ (1980)'nin; mayaların tanımında ise LODDER (1970)'in belirttikleri yöntemler uygulanmıştır.

## 3. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 3.1. Mikroorganizma Sayısı

Kefir örneklerinden elde edilen bulgular her örnekte farklılık göstermiş ve Plate Count Agarda belirlenen toplam mikroorganizma sayısı  $2.10^6$  ile  $26.10^8$  arasında değişmiştir (Çizelge 1). CBL besi ortamında ise daha düşük mikroorganizma sayısı bulunmuş ve bu besi ortamında elde edilen değerler  $1.60^6$  ile  $24.10^8$  arasında saptanmıştır. Tüm örneklerde asit yapan bakteriler sayıca yüksek değerler göstermesine karşın, ancak tek bir örnekte asit oluşturmayan mikroorganizmanın bulunduğu ( $1.10^6$ ) dikkati çekmektedir (Çizelge 1).

*Lactobacillus* ve *Leuconostoc* sayısı, örneklerde çok yüksek değerler göstermiş ve kefir mikroflorasının ana kaynağını oluşturan bu mikroorganizmalar, en düşük 1. örnekte ( $32.10^5$ ) ve en yüksek 4. örnekte ( $31.10^7$ ) bulunmuştur. *Streptobacterium*, *Betabacterium* ve *Leuconostoc* grupları içerisinde en yüksek sayısal değerleri *Streptobacterium* grubu oluşturmuş; buna karşın *Betabacterium* ve *Leuconostoc* ise çok daha düşük sayıda saptanmıştır. Termofil grup içerisinde yer alan türlere ise ancak tek bir örnekte rastlanmış ve  $45^{\circ}\text{C}$  derecede gelişen bu mikroorganizmalar gramda 500 adet olarak belirlenmiştir. Bu nedenle kefir mikroflorası içerisinde egemen florayı *Lactobacillus* genusunda *Streptobacterium* grubunun oluşturduğu söylenebilir.

İncelenen kefir örneklerinde *Staphylokok*, *Mikrokok*, *Pseudomonas* bakterileri ile *Clostridium* ve *Bacillus* gibi spor yapan bakterilere rastlanılmamış; ancak bir örnekte (4. örnek) 500 ad./g enterokok ve yine aynı örnekte 300 ad./g koliform grubu bakterilerin bulunduğu gözlenmiştir. Belirtilen bu bakterilerin normal kefir mikroflorası içerisinde yer almadıkları, fakat çeşitli kaynaklardan kefire bulaşmış olabilecekleri kabul edilebilir. Çeşitli kefirlerde mikroflorayı inceleyen VAYSSIER (1978)'de örneklerde fazla sayıda enterokok ve koliform grubu bakterilerin bulunabildiğine değinmektedir.

Kefirin içerdiği mikroorganizmalar içerisinde en yüksek sayısal değerleri laktik streptokoklar göstermiştir. Gerçekten de süt asidi

**Çizelge 1. Farklı Kefir Örneklerinde Mikroorganizma Sayısı (gramla)**

Kefir örnekleri		1	2	3	4	5	6	7
Toplam Mikroorganizma sayısı	Plate - count agar	2.10 <sup>6</sup>	1.10 <sup>7</sup>	32.10 <sup>7</sup>	34.10 <sup>7</sup>	26.10 <sup>8</sup>	8.10 <sup>7</sup>	10.10 <sup>8</sup>
	CBL - agar	1.10 <sup>6</sup>	1.10 <sup>7</sup>	29.10 <sup>7</sup>	38.10 <sup>7</sup>	24.10 <sup>8</sup>	7.10 <sup>7</sup>	9.10 <sup>8</sup>
	Asit oluşturmayanlar	0	0	1.10 <sup>4</sup>	0	0	0	0
Lactobacillus ve Leuconostoc Sayısı	Streptobacterium	32.10 <sup>5</sup>	37.10 <sup>6</sup>	29.10 <sup>6</sup>	31.10 <sup>7</sup>	28.10 <sup>7</sup>	19.10 <sup>7</sup>	24.10 <sup>7</sup>
	Betabacterium Leuconostoc							
	Thermobacterium	0	0	5.10 <sup>2</sup>	0	0	0	0
Enterokok sayısı		0	0	0	5.10 <sup>2</sup>	0	0	0
Pseudomonas sayısı		0	0	0	0	0	0	0
Koliform grubu bakterisi sayısı		0	0	0	3.10 <sup>2</sup>	0	0	0
Maya sayısı		5.10 <sup>5</sup>	10.10 <sup>6</sup>	2.10 <sup>6</sup>	4.10 <sup>6</sup>	1.10 <sup>5</sup>	3.10 <sup>6</sup>	2.10 <sup>6</sup>
Staphylokok ve Mikrokok sayısı		0	0	0	0	0	0	0
Spor yapan bakterisi sayısı	Clostridium	0	0	0	0	0	0	0
	Bacillus	0	0	0	0	0	0	0
Streptokok sayısı		4.10 <sup>7</sup>	38.10 <sup>6</sup>	18.10 <sup>7</sup>	42.10 <sup>7</sup>	17.10 <sup>8</sup>	11.10 <sup>7</sup>	9.10 <sup>7</sup>

oluşturarak sütün pıhtılaşmasına ve kefirin diğer mikroorganizmaları için uygun bir ortamın oluşturmasına katkısı olan bu gruptaki mikroorganizmalar, incelenen örneklerde yüksek düzeyde bulunmuş ve sayıları gramda  $38.10^6$  ile  $17.10^8$  arasında değişmiştir.

Kefir örneklerinin mikroorganizma sayılarına ilişkin değerler incelendiğinde; kefirde yer alan mikroorganizmaların genellikle *Lactobacillus* (özellikle *Streptobacterium* ve *Betabacterium* grupları), *Leuconostoc*, *Streptococcus* (özellikle laktik streptokoklar) ve mayalardan oluştuğu kolaylıkla söylenebilir. Elde edilen bulgular, kefir mikroflorası üzerinde çalışan diğer araştırmacıların (KAMINSKI 1957, FEOFILOVA 1958, PBCH 1963, BABINA 1971, GEORGANTAS 1970, BABINA ve ROZHKOVA 1973, OTTOGALLI ve ark. 1973, VAYSSIER 1978) sonuçları ile büyük ölçüde uyum göstermiştir.

### 3.2. Kefir örneklerinden İzole Edilen Türler

İncelenen kefir örneklerinden izole edilen bakteri ve maya türleri çizelge 2'de topluca gösterilmiştir. Sözkonusu çizelgeden de izlenebileceği gibi; *Streptococcus* genusu içerisinde en önemli olan ve tüm örneklerde rastlanan türün *Str. Lactis* olduğu, buna karşın yalnız bir örnekte *Str. faecalis*'in bulunduğu belirlenmiştir. *Leuconostoc* genusu içerisinde ise; *Leuc. cremoris*, *Leuc. mesenteroides* ve *Leuc. Kefir* (*Leuc. lactis*) saptanmış; ancak bu türlerin tüm örneklerde yer almadığı gözlenmiştir. Laktik streptokoklardan *Str. cremoris*'in bir örnekte ve çok düşük düzeyde bulunması dikkati çekmektedir. *Lactobacillus* genusundan *Lb. casei* ve *Lb. brevis*, tüm örneklerde saptanmıştır. Bu nedenle kefirde bir yandan asitlik gelişiminde, diğer yandan proteinlerin parçalanmasında *Lb. casei*'nin etkili olduğu; *Lb. brevis*'in ise  $CO_2$  oluşumunda katkısı bulunduğu gerçeği ortaya çıkmaktadır. Ancak *Lb. casei* olarak tanımladığımız bakterinin gerçekte *Lb. caucasicum*'dan gerek morfolojik ve gerekse biyokimyasal özellikleri açısından farklı olmadığını vurgulamakta yarar vardır. VAYSSIER (1981)'de yaptığı benzer çalışmada, kefir örneklerinden *Lb. casei*'yi ve varyetelerini izole etmiştir.

Kefir örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar içerisinde en büyük farklılık maya

Çizelge 2. Kefir Örneklerinden İzole Edilen Bakteri ve Maya Türleri

Kefir Örnekleri	1	2	3	4	5	6	7
<i>Streptococcus</i> ve <i>Leuconostoc</i>	<i>Str. Lactis</i>	<i>Str. lactis</i> <i>Leuc. cremoris</i>	<i>Str. lactis</i> <i>Leuc. mesenteroides</i>	<i>Str. lactis</i> <i>Str. faecalis</i>	<i>Str. lactis</i> <i>Str. cremoris</i> <i>Leuc. lactis</i> ( <i>leuc. kefir</i> )	<i>Str. lactis</i>	<i>Str. lactis</i>
<i>Laktobacillus</i>	<i>Lb. casei</i> <i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. casei</i> <i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. casei</i> <i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. casei</i> <i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. casei</i> <i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. casei</i> <i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. casei</i> <i>Lb. brevis</i>
Maya	<i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i>	<i>Sacc. florentinus</i> <i>Candida pseudotropicalis</i>	<i>Lb. bulgaricus</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Sacc. italicus</i>	<i>Sacc. ssp.</i> <i>Torulopsis Sphaerica</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Sacc. globosus</i>	<i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Candida ssp.</i>	<i>Kluyveromyces fragilis</i> <i>Sacc. florentinus</i>

florasında gözlenmiştir. Maya florasında özellikle laktozu fermente eden ve laktozdan alkol ve CO<sub>2</sub> oluşturan türlerin floraya egemen oldukları belirlenmiştir. Bunun yanısıra diğer bazı mayaların da kefir içerisinde yer aldıkları dikkati çekmektedir (Çizelge 2).

İncelenen kefir örneklerinden izole edilen türlerin dağılımı, diğer araştırma sonuçları ile uyum sağlamıştır (KAMINSKI 1957, GEORGANTAS 1970, OTTOGALLI ve ark. 1973, VAYSSIER 1978).

Sonuç olarak ve özetle belirtmek gerekirse; kefir mikroflorası içerisinde özellikle; *Str. lactis*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Leuconostoc ssp.*, *Kluyveromyces fragilis* gibi mikroorganizmaların bulunduğu; ancak bu mikroorganizmaların gerek sayısal bakımdan gerekse oransal olarak her kefir örneğine göre çok büyük farklılıklar gösterdiği söylenebilir.

## ZUSAMMENFASSUNG

### Untersuchungen über die Mikroflora des Kefirs

Bei der Arbeit wurde die Mikroflora der von verschiedenen Gebieten entnommenen 7 Kefirpilze untersucht. Nach den Ergebnissen war festzustellen, dass die nützliche Mikroflora der Kefirpilze aus Milchsäurebakterien (Streptokokken und Laktobazillen) und Hefen besteht. Jede dieser Bakterienarten hat eine besondere Rolle bei der Herstellung des Kefirproduktes. Die Milchsäurebakterien legen die Milch dick,

und einige von ihnen (Aromabildner und Beta-bakterien) bilden flüchtige Säuren, die den Geschmack des Kefirs verbessern. Die Hefen vergären den Milchzucker zu Alkohol und Kohlensäure.

Die häufigsten Fremdinfectionen waren Darmbazillen (Coli - Aerogenes Gruppe) und Enterokokken zu ermitteln.

## YARARLANILAN KAYNAKLAR

- ACCOLAS, J.P. andj. AUCLAIR 197. Kefir. Encyclopedia of food technology. 532 - 534. ....
- BABINA, N.A. 1971. Quantitative characteristics of the microflora of kefir cultures. Dairy Sci-Abstr. Vol. 33, 7 : 550
- BABINA, N.A. and ROZHKOVA, I.V. 1973. Quantitative composition of kefir microflora at different times of the year. Dairy Sci. Abstr. Vol. 35, 12 : 542
- ERGÜLLÜ, E. 1980. Beyaz peynirin olgunlaşması sırasında mikrofloranın, özellikle gaz yapan bakterilerin değişimi üzerinde araştırmalar, T.B.T.A.K., VHAG - 402 no.lu proje.
- FEOFILOVA, E.P. 1958. Mikroflora kefirnogo zerna. Mikrobiyologiya 27 : 229 - 234. «alınmıştır». Dairy Sci. Abstr. Vol. 20, 8 : 677 C.
- GEORGANTAS, S. 1970. Microbial flora of Greek kefir. Latte 44 : 563 - 570. «alınmıştır». Dairy Sci. Abstr. Vol. 34, 7 : 557 (1972).
- KAMINSKI, J. 1957. Microflora of kefir grains - Dairy Sci. Abstr. Vol. 19, 6 : 493 a.
- LODDER, J. 1970. «The Yeasts» a Taxonomic Study. Amsterdam : North - Holland Publishing Co.
- KOSIKOWSKI, F. 1977. Cheese and fermented milk foods. Edwards Brothers, Inc. Ann Arbor, Michigan.
- MERCK, 1973. Mikrobiologisches Handbuch. E. Darmstadt.
- OTTOGALLI, G, A, GALLI, P. RESMINI and G. VOLONTERIO, 1973. Microbiological and chemical composition and ultrastructure of kefir grains. Dairy Sci. Abstr. Vol. 37, 12 : 782 (1975).
- PECH, Z. 1963. Major microflora of kefir and its relationships. Sborn. Vysoke chem. - tech. V Praze, Potravin Tech. 7 : 57-68. «alınmıştır». Dairy Sci. Abstr. Vol. 26, 9 : 439.
- UÇUNCU, M. 1980. Süt içkilerinin toplum sağlığı ve Türkiye Sütçülüğündeki Yeri ve Önemi. E.Ü. Gıda Fak. Dergisi. 1 : 249 - 269.
- VAYSSIER, Y. 1978. Le kéfir : Analyse qualitative et quantitative. Revue Laitiere Française, 361 : 73 - 75.