

TULUM PEYNİRİNİN OLGUNLAŞMASI SIRASINDA LAKTİK ASİT BAKTERİ FLORASININ DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

STUDIES ON THE CHANGE OF LACTIC ACID BACTERIA FLORA DURING RIPENING OF TULUM CHEESE

Bahri PATIR¹, Gülsüm ATEŞ²

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD, Elazığ

ÖZET: Bu araştırma, geleneksel yöntemle çığ koyun sütünden üretilen tulum peynirinin olgunlaşması sırasında laktik asit bakterisi florasını incelemek amacıyla yapıldı.

Telemeden ve olgunlaşma döneminin 0,15,30,60 ve 90. günlerinde laktik Streptokoklar ile *Lactobacillus- Leuconostoc- Pediococcus* grubu mikroorganizmalarının sayımları ve izolasyonları yapıldı.

Olgunlaşmanın ilk safhalarında laktik Streptokoklar, ileri safhalarında da *Lactobacillus- Leuconostoc- Pediococcus* grubu mikroorganizmalar daha yüksek düzeylerde bulundu. Ayrıca, Piyojen, Viridans ve Enterokok gruplarına ait Streptokokların tüm olgunluk dönemlerinde oldukça yüksek oranlarda olduğu tespit edildi.

İzole edilen toplam 851 suş içerisinde; *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus casei* ve alt türleri ile *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc dextranicum* ve *Leuconostoc lactis* türlerinin gruplarında predominant oldukları gözlemlendi.

Sonuç olarak; veriler, tulum peynirinin olgunlaşmasında bir çok mikroorganizma türünün etkili olduğunu, ancak laktik Streptokoklar'dan *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*'in *Lactobacillus- Leuconostoc- Pediococcus* grubundan *Lactobacillus casei* ve alt türleri ile *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc dextranicum* ve *Leuconostoc lactis* türlerinin olgunlaşmasında daha önemli bir role sahip olduklarını ortaya koymaktadır.

ABSTRACT: This study investigates lactic bacteria flora during ripening of tulum cheese which is produced from raw sheep milk traditional methods.

Colony count and isolations of lactic *Streptococci* and *Lactobacillus- Leuconostoc-Pediococcus* group microorganisms were made from curd and, 0,15th, 30th, 60th and 90th days of ripening.

In the early periods of ripening lactic *Streptococci* and in following periods *Lactobacillus- Leuconostoc-Pediococcus* group microorganisms were at higher values. It was also observed that *Streptococci* belong to Piyogen, Viridas and Enterococcus groups were abundant during the whole ripening periods.

It was determined that *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Lactobacillus*, *Lactobacillus casei* and their subspecies were predominant in the all 851 isolated strains.

It is concluded that; many microorganisms play important role in the ripening of tulum cheese but *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* of lactic *Streptococci* and *Lactobacillus casei* and their subspecies, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc dextranicum* and *Leuconostoc lactis* of *Lactobacillus-Leuconostoc, Pediococcus* grup are have more effect to ripening than the others.

GİRİŞ

Fermentasyon yoluyla gıdaların muhafazası, insanlık tarihinde bilinen en eski metotlardan biridir. Fermente süt ürünlerinin üretiminde yaygın bir şekilde kullanılan laktik asit fermentasyonu buna tipik bir örnektir. Fermentasyon olayı "starter kültür" olarak bilinen bazı bakteri, maya ve küf gibi mikroorganizmalar tarafından meydana getirilir. Bu mikroorganizmaların bir kısmı laktozdan asit meydana getirirken diğer bir kısmı da sütteki yağ ve proteinleri parçalayarak oluşturdukları bileşikler sayesinde ürüne has karakteristik tat- aroma ve yapı kazandırır ya da alkol gibi diğer bileşiklerin üretimiyle bazı fermente süt ürünlerinin (örneğin kefir gibi) yapımında önemli bir rol oynarlar. Bunun yanı sıra; çoğalan asitlik sayesinde üründe bulunabilecek patojenlerle, bozukluk yapan mikroorganizmaların gelişimini önlerler. Starter mikroorganizma-

ları, fermentasyon işlemini çoğalmaları sırasında oluşturdukları kendilerine özgü enzimlerle gerçekleştirirler. Bu mikro organizmalar içerisinde önemli bir yere sahip olan ve *laktik asit bakterileri* diye bilinen türler; laktozu parçalamak suretiyle daha çok laktik asit oluştururlar. Bu grupta *Streptococcaceae* familyasına ait *Streptococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus*'lar ile *Lactobacillaceae* familyasında olan *Lactobacillus* türleri bulunmaktadır (GARVIE, 1986 ab;HARDIE,1986 a;KANDLER ve WEISS, 1986;MUNDT,1986 ab;COGAN ve DALY,1987;TAMIME,1990;TEKİNŞEN,1996).

Starter kültürler, özellikle gelişmiş ülkelerde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu ülkelerde, sütler çoğunlukla pastörize edildikten sonra peynire işlenmektedir. Bu işlem yasal bir zorunluluk olmamakla birlikte, bilindiği gibi standart ve sağlıklı bir ürün elde etmek için en önemli koşuldur. Pastörizasyon esnasında, patojenlerle birlikte olgunlaşmayı sağlayacak olan laktik asit bakterileri de yıkımlandığından, pastörizasyondan sonra, bu faydalı bakterilerin tekrar süte aşılınması zorunlu görülmektedir. Bunların süte ilave edilebilmesi için önceden bu bakterilerin özelliklerinin ve yeteneklerinin tespiti şarttır. Bu nedenle starter kültür olarak kullanılacak bakterilerin özellikle, peynir çeşidine bağlı olarak olgunlaşmada rol oynayan türlerinin bilinmesi gerekmektedir. Peynir üretiminde, starter kültürlerin tek (single strain) çok (multiple strain) ya da karışık mix (strain) suşları kullanılır.(COGAN,1980; LAW,1984; SCOOT,1986; KARAKUŞ, 1987; COGAN ve DALY,1987; GILLILAND,1988; ÖZALP,1988; TAMIME,1990; TEKİNŞEN ve ATASEVER,1994).

Ülkemiz peynirlerinde starter kültürlerle ilgili çalışmalar oldukça yetersizdir. KARASOY(1955) yaptığı bir çalışmada, tulum peynirlerinde ilk olgunluğun *Streptococcus lactis*, esas olgunluğun ise *Streptococcus lactis*,*Thermobacterium bulgaricum* ve *Oidium lactis* tarafından meydana getirildiğini belirtmektedir. Bu yönde yapılan bir diğer çalışmada (BOSTAN ve ark.,1992) ise, deneysel olarak çiğ inek sütünden üretilen tulum peynirlerinin çeşitli olgunluk sürelerinde 684 suş izole edilmiştir. Araştırmada, olgunlaşmanın ilk safhalarında daha çok *Streptococcus lactis* ve *Streptococcus faecalis*'in, ilerleyen günlerde ise *Streptococcus faecium*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus plantarum*'un izole edildiği bildirilmektedir. Ancak aynı çalışmada, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türlerine çok az sayıda rastlandığı vurgulanmaktadır. Yine tulum peynirlerinde, starter kültür kullanımı olanaklarının araştırıldığı diğer bir çalışmada (BOSTAN,1991), denenen kültürler içerisinde en iyi sonucun *Lactobacillus casei* ve *Streptococcus lactis* kombinasyonundan elde edildiği belirtilmektedir. Bir diğer çalışmada (PATIR ve ark.,2001) ise, tulum peynirlerinin olgunlaşmasında daha çok ; *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei* ve alt türleri, *Streptococcus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc cremoris*, *Streptococcus faecium* ile *Streptococcus faecalis* ve alt türlerinin önemli bir role sahip olabileceği bildirilmektedir.

Deneysel olarak üretilen kaşar peynirinde olgunlaşmanın ilk safhalarında *Streptococcus faecalis* ve alt türleri, *Streptococcus lactis* ve *Lactobacillus bulgaricus*; ileri safhalarında da *Streptococcus faecium*, *Streptococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Lactobacillus casei*, ve alt türlerinin gruplarında predominant oldukları bulunmuştur (TEKİNŞEN,1978). Benzer olarak, salamura beyaz peynirler üzerinde yapılan diğer bir çalışmada (ÖZER,1964), olgunlaşmada rol oynayan mikroorganizmaların daha ziyade; *Streptococcus durans*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Leuconostoc dextranicum*, *Leuconostoc citrovorum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus fermenti* türlerinin olduğu vurgulanmaktadır. Salamura beyaz peynirin standardizasyonu üzerine yapılan çalışmada da (ÇELİK,1982), *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis*, *Leuconostoc cremoris* kültürlerinin çeşitli kombinasyonları ile pastörize sütlerden üretilen peynir örneklerinin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal niteliklerinin daha üstün olduğu belirtilmektedir.

Ticari tulum peynirleri üzerinde yapılan bir çalışmada (BOSTAN ve ark., 1992), iyi kaliteli tulum peynirlerinden izole edilen toplam 426 suşun büyük çoğunluğunun; *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc cremoris* ve *Lactobacillus curvatus* olduğu bulunmuştur.

Yapılan diğer bir araştırmada (SÜRMELİ ve ark. 1982) ise, tulum peynirlerinden izole edilen 60 suş içerisinde sırasıyla, Enterokok, Laktik, Piyojenik ve Viridans Streptokoklar'ın bulunduğu, 3 suşun da *Leuconostoc* türleri olduğu tespit edilmiştir. Aynı araştırmada, 54 *Lactocabillus* suşunun daha çok *L. plantarum* ve *L. casei* türlerini içerdiği saptanmıştır.

35 adet İzmir tulum peyniri örneğinden izole edilen suşların büyük çoğunluğunun laktik *Streptokoklar*'dan *Str. lactis*, *Str. cremoris*; *Lactobacillus*'lardan *L. casei*, *L. plantarum*, *L. plantarum var. arabinosus*, *L. fermenti*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*, *L. lactis* ve *L. helveticus*'dan oluştuğu ortaya konmuştur (KILIÇ ve GÖNÇ, 1990).

Bu araştırmada, geleneksel yöntemle üretilen tulum peynirinin olgunlaşması sırasında, ürüne lezzet ve aroma kazandıran laktik asit bakterilerinin tür ve sayısı incelenerek, starter kültürü, standart kalitede tulum peyniri üretim çalışmalarına yardımcı olacak bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Deneyisel tulum peynirinin üretiminde kullanılan çiğ koyun sütleri; Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden temin edildi. Sabah sağımından elde edilen sütler en kısa süre içerisinde güğümlerle laboratuvara getirildi. Mikrobiyolojik ve kimyasal analizler için 150-200 ml kadar süt örneği alınarak analizleri yapıncaya kadar $4 \pm 1^\circ\text{C}$ de saklandı. Arta kalan sütlerden alışagelen teknikte tulum peyniri örnekleri yapıldı.

Yöntem

Sütte Antibiyotik Kalıntılarının Saptanması : Deneyisel peynir örneklerinin yapımında kullanılan çiğ koyun sütlerinden 50 ml alınarak kaynatıldı ve 42°C 'ye soğutuldu. Bu derecedeki süte %3 oranında yoğurt kültürü katılarak 42°C 'de inkübasyona bırakıldı. Bir saatlik inkübasyon süresince her 15 dakikada bir asitlik ölçülerek, asitliğin gelişip gelişmediği kontrol edildi. 1 ml süte penicilline'nin 0,005 I.U. bulunması *Streptococcus thermophilus*'un, 0,01 I.U. bulunması da *Lactobacillus bulgaricus*'un gelişmesini etkilediğinden, asitliğin yükselip yükselmemesine göre karar verildi (ANONYMOUS, 1974; ANONYMOUS, 1977; KOSIKOWSKI, 1977).

Peynir Örneklerinin Yapımı : Deneyisel tulum peyniri örnekleri geleneksel yöntem uygulanarak üretildi (TÖRAL, 1969; AKYÜZ, 1981; KURT ve ÖZTEK, 1984; TEKİNŞEN, 1996). Peynir örneklerinin yapımı 5 kez tekrarlandı. Plastik bidonlar içerisinde hazırlanan örnekler, $4 \pm 1^\circ\text{C}$ de olgunlaşmaya alındı. Olgunlaşmanın 0, 15, 30, 60 ve 90. günlerinde mikrobiyolojik denemeler uygulandı.

Örneklerin Deneyler İçin Hazırlanması : laboratuvar da aseptik şartlar altında, peynir örneklerinin steril bir bıçak yardımıyla 150-200 g kadar alınarak steril geniş ağızlı ve burgulu kapaklı kavanozlara kondu. Örnekler kavanozda bir spatula ile parçalanarak karıştırıldı. Karışımdan 10 g bir parçalayıcının (Bühler 51800/00) özel kabında tartıldı. Örneğin üzerine sodyum sitratın damıtık sudaki steril % 2'lik çözeltisinden 90 ml ilave edilerek, parçalayıcıda homojen hale getirildi. Böylece örneğin 10^{-1} süspansiyonu hazırlandı. Süspansiyon 10 dakika bekletildikten sonra, 1/4 gücündeki Ringer solüsyonu kullanılarak örneğin 10^{-8} e kadar diğer seyreltileri hazırlandı.

Örneklerin her seyreltisinden 1'er ml kullanılarak, iki seri halinde petri kabı dökme metodu ile ekimleri yapıldı ve inkübasyon süresi sonunda 30-300 koloni içeren plaklar değerlendirildi (ANONYMOUS, 1970; ANONYMOUS, 1974; HARRIGAN ve McCANCE, 1976).

Laktik Asit Bakteri Gruplarının Saptanması

Laktik Streptokok Mikroorganizmaların Sayımı : Laktik Streptokoklar'ın sayısı M 17 Agar (Oxoid) besi yerinde saptandı. Plaklar $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48-72 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler değerlendirildi (TERZAGHI ve SANDINE, 1975).

Lactobacillus- Leuconostoc- Pediococcus Mikroorganizmalarının Sayımı : Bu grup mikroorganizmaların sayımı için Rogosa'nın acetate agar'ı (AcA) (Oxoid) kullanıldı (SHARPE ve ark., 1966). Çift tabakalı plaklar $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 5 gün inkübe edildi. İnkübasyondan sonra oluşan koloniler sayıldı (HARRIGAN ve McCANCE, 1976).

Kültürlerin İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Sınıflandırılması

İzolasyon : Kültürler, laktik Streptokok ve *Lactobacillus- Leuconostoc- Pediococcus* mikroorganizmalarının sayımda kullanılan plaklardan izole edildi. Bunun için, örneğin 10^{-1} seyreltisi 30'dan az koloni içerdiğinde plakta bulunan kolonilerin tamamı, 30-300 arasında koloni içeren plaklar ise 8 eşit kısma bölündükten sonra, uygun bölümde bulunan bütün koloniler M17 besiyerinden yeast glikoz broth'a Rogosa agar besiyerinden de MRS broth'a transfer edildi. Yeast glikoz broth ve MRS broth 30°C de 2 gün inkübasyona bırakıldı (MAN ve ark., 1960; HARRIGAN ve McCANCE, 1976; SHARPE, 1979).

Saf olmayan kültürler, izole edildikleri besiyerini içeren plaklara (37°C de 1 saat tutularak kurutulmuş) sürülerek inoküle edildi ve 1-3 gün süreyle inkübasyona alındı. İnkübasyon sonunda oluşan kolonilerin tipleri incelendi. Plaklarda birbirinden farklı kültürel karakterde koloni bulunduğu, her bir koloni kulture edildiği broth'a steril bir öze ile alındı ve 30°C 'de 24-48 saat inkübe edildi. Kültürlerin saf olup olmadıklarına, gram boyama reaksiyonu ve sürülerek ekimi yapılan plaklardaki koloni tiplerinin incelenmesi sonucunda karar verildi. Saf olan koloniler yatık hazırlanmış agarlara geçilerek stok kültürleri hazırlandı. Bu amaçla, laktik Streptokoklar için yatık yeast glikoz, agar, *Lactobacillus-Leuconostoc, Pediococcus*'lar için de Rogosa agar kullanıldı (HARRIGAN ve McCANCE, 1976).

Kültürlerin Karakterizasyonu : Kültürler Çizelge 1'de belirtilen nitelikleri belirlenerek karakterize edildi.

Çizelge 1. Kültürlerin Karakterizasyonu Dikkate Alınan Nitelikleri.

Nitelik	Kaynak
Morfolojik karakterler	
Gram boyama	ANONYMOUS (1974)
Genel Morfoloji	HARDIE (1986a)
Kültürel karakterler	
Genel görünüm, şekil, büyüklük	HARRIGAN ve McCANCE (1976)
Biyokimyasal karakterler	
Katalaz deneyi	HARRIGAN ve McCANCE (1976)
Üreme deneyi	HARRIGAN ve McCANCE (1976); MAN ve ark. (1960)
Voges – proskauer deneyi	HARRIGAN ve McCANCE (1976)
Glikozdan karbondioksit oluşumunun saptanması	HARRIGAN ve McCANCE (1976)
Karbonhidratların fermentasyonunun saptanması	ARDA (1985)
Litmuslu sütü indirgeme	HARRIGAN ve McCANCE (1976)
Argininden amonyak oluşumu	HARRIGAN ve McCANCE (1976)

Kültürlerin Sınıflandırılması

İzole edilen kültürler, çeşitli araştırmacıların (SHARPE ve ark., 1966; HARRIGAN ve McCANCE, 1976; TAMINE, 1990; TEKİNŞEN ve ATASEVER, 1994) önerdiği şemalarda belirtilen testler uygulanarak sınıflandırıldı.

BULGULAR

Geleneksel yöntemle çiğ koyun sütünden üretilen tulum peyniri örneklerinin olgunlaşmaları sırasında izole edilen mikroorganizmalara ait elde edilen veriler Çizelge 2, 3 ve 4'de belirtilmiştir.

Çizelge 2 incelendiğinde, telemeden *Streptococcus*'lara ait 84 suşun izole edildiği ve bunun %42,9'unun laktik Streptokoklar %36,9'unun Viridans-Enterokok grubu Streptokoklar, %20,0'sinin ise Piyojen Streptokoklar olduğu tespit edilmiştir. Tür olarak telemede % 26,2 oranında *Str. Lactis* ve % 15,5 ora-

Çizelge 2. Geleneksel Yöntemle Çiğ Koyun Sütünden Üretilen Tulum Peyniri Örneklerinden İzole Edilen *Streptococcus* Türleri ile Sayıları

Mikroorganizma	Teleme	Olgunlaşma Süresi (gün)				
		0	15	30	60	90
Laktik grup	36 (42.9)	33 (35.9)	32 (40.5)	18 (34.0)	6 (12.8)	3 (5.9)
Str. cremoris	13 (15.5)	6 (6.5)	11 (13.9)	5 (9.4)	1 (2.1)	1 (2.0)
Str. lactis	22 (26.2)	26 (28.3)	15 (19.0)	10 (18.9)	4 (8.5)	2 (3.9)
Str. lactis subsp.diacetylactis	1 (1.2)	1 (1.1)	6 (7.6)	3 (5.7)	1 (2.1)	-
Piyojen grup	17 (20.2)	13 (14.1)	14 (17.7)	8 (15.1)	7 (14.9)	9 (17.6)
Viridans-Enterokok grubu	31 (36.9)	46 (50.0)	33 (41.8)	27 (50.9)	34 (72.3)	39 (76.5)
Toplam izolat	84	92	79	53	47	51

() : İçindeki rakamlar yüzdeyi göstermektedir.

nında da *Str. cremoris* izole edilmiştir. Yine telemede *Lactobacillus*'lardan toplam 30 suş (%50,0) izole edilmiştir. Bunlardan 11'i (%18,3) *L.casei* ve alt türleri, 10'u (%16,7) *L. plantarum*, 6'sı (%10,0) ise *L. bulgaricus* türleri olduğu görülmüştür. Telemede toplam 29 *Leuconostoc* türünden 12'sinin (%20,0) *L. dextranicum*, 9'unun (%15,0) *L. cremoris* ve 6'sının (%10,0) *L. lactis* olduğu gözlenmiştir (Çizelge 3).

Ambalajlama işleminden önce (0.gün), peynir örneklerinde 92 adet *Streptococcus* izolasyonu yapılmıştır. Bunların %50,0'sinin Viridas-Enterokok grubu mikroorganizmalar olduğu, bunu sırasıyla Laktik grup (%35,9) ve Piyojen grup (%14,1) izlemiştir. Laktik grup içerisinde 26 suş *Str. Lactis*, 6 suş ise *Str. cremoris* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 2). Yine bu günde *Lactobacillus*'lardan 17 adet (%37,7) izole edilmiştir. Bunun 6'sı (13,3) *L. plantarum*, 5'i (11,1) *L. casei* ve alt türleridir. 0. günde 25 *Leuconostoc* suşunun 11'i (%24,4) *L. lactis*, 7'si (%15,6) *L. dextranicum* ve 6'sının (%13,3) *L. cremoris* olduğu belirlenmiştir. Olgunluğun bu gününde 3 adet (%6,7) *Pediococcus* izole edilmiştir (Çizelge 3).

Olgunlaşmanın 15.gününde izole edilen toplam 79 adet *Streptococcus* grubu mikroorganizmaların yine büyük çoğunluğunu 33 adetle (%41,8) Viridas- Enterokoklar, 32 adetle (%40,5) laktik Streptokoklar ve 14 adetle (%17,7) Piyojen Streptokoklar teşkil etmiştir. Laktik streptokoklar'ın 15 adeti *Str. Lactis*, 11 adeti de *Str. cremoris* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 2). Bu günde 40 *Lactobacillus* suşundan 13'ü (%18,1) *L. casei* ve alt türleri, 8'i (%11,1) *L. plantarum* olduğu, *L. curvatus* ile *L. lactis*'in ise 6 şar suş ile % 8,3 oranında bulunduğu gözlenmiştir. 15günde *Leuconostoc* grubu mikroorganizmalardan 25 adet izole edilmiş ve bu günde, *L. cremoris*, *L. lactis* ve *L. dextranicum*'un hemen hemen aynı düzeyde (%9,7-%12,5) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Olgunluğun 30.gününde izole edilen 53 *Streptococcus* suşunun %50,9'u Viridans-Enterokok grubu Streptokoklar, %34,0'ü Laktik grup ve %15,1', Piyojen Streptokoklar olduğu ve laktik Streptokoklar'dan *Str.lactis*'in %18,9, *Str.cremoris*'in ise %9,4 oranında olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 2). 30.olgunlaşma gününde identifiye edilen *Lactobacillus* sayısı bir önceki olgunlaşma gününe (15.gün) oranla yaklaşık 2 misil artarak 71 adete (%78.9) ulaşmıştır. Bu günde *L. casei* ve alt türlerinin 35 adet *L. plantarum*'un 16 adet, *L. curvatus* ile *L. buchneri/brevis* türlerinin de 5'er adet olduğu saptanmıştır. İzole edilen 13 *Leuconostoc* suşundan 7'sinin *L. cremoris*, 4'ünün de *L. dextranicum* olduğu, *Pediococcus* grubu mikroorganizmalara ait ise 6 suşun bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Geleneksel Yöntemle Çiğ Koyun Sütünden Üretilen Tulum Peyniri Örneklerinden İzole Edilen *Lactobacillus- Leuconostoc-Pediococcus* Grubu Mikroorganizmalar Türleri ve Sayıları.

Mikroorganizma	Teleme	Olgunlaşma Süresi (gün)				
		0	15	30	60	90
Lactobacillus türleri	30 (50,0)	17 (37,7)	40 (55,6)	71 (78,9)	83 (83,8)	65 (82,3)
L.casei ve alt tür.	11 (18,3)	5 (11,1)	13 (18,1)	35 (38,9)	37 (37,3)	33 (41,8)
L.plantarum	10 (16,7)	6 (13,3)	8 (11,1)	16 (17,8)	25 (25,2)	21 (26,6)
L. curvatus	-	1 (2,2)	6 (8,3)	5 (5,6)	7 (7,1)	6 (7,6)
L.helveticus	1 (1,7)	1 (2,2)	1 (1,4)	1 (1,2)	-	-
L. lactis	2 (3,3)	2 (4,4)	6 (8,3)	2 (2,2)	2 (2,0)	-
L. bulgaricus	6 (10,0)	2 (4,4)	3 (4,2)	4 (4,4)	-	-
L. fermentum	-	- (2,8)	2 (3,3)	3 (7,1)	7 (5,1)	4
L. buchneri/brevis	-	-	1 (1,4)	5 (5,6)	5 (5,1)	1 (1,3)
Leuconostoc türleri	29 (48,3)	25 (55,6)	25 (34,7)	13 (14,4)	12 (12,1)	12 (15,2)
L. cremoris	9 (15,0)	6 (13,3)	9 (12,5)	7 (7,8)	10 (10,1)	10 (12,7)
L. lactis	6 (10,0)	11 (24,4)	7 (9,7)	2 (2,2)	1 (1,0)	2 (2,5)
L. dextranicum	12 (20,0)	7 (15,6)	8 (11,1)	4 (4,4)	1 (1,0)	-
L. mesenteroides	2 (3,3)	1 (2,2)	1 (1,4)	-	-	-
Pediococcus türleri	1 (1,7)	3 (6,7)	7 (9,7)	6 (6,7)	4 (4,4)	2 (2,5)
Toplam izolat	60	45	72	90	99	79

() : İçindeki rakamlar yüzdeyi göstermektedir.

Olgunluk süresinin 60. gününde izole edilen toplam 146 suşun 47'si *Streptococcus*' lar 83'ünün *Lactobacillus*'lar, 12'sinin *Leuconostoc* türleri ve 4'ünün *Pediococcus* olduğu belirlenmiştir. Bu günde, *Lactobacillus*'lar içerisinde 37 suşun *L. casei* ve alt türleri, 25 suşun *L. plantarum* ve 7 suşun *L. curvatus* ve yine 7 suşun *L. fermentum* olduğu bulunmuştur. Ayrıca 10 adet *L. cremoris* ile 4 adet *Pediococcus* saptanmıştır. Yine bu günde, piyojen gruptan 7, viridas-enterokok grubundan ise 34 suşun varlığı tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Olgunluğun son gününde (90.gün) izole edilen 51 *Streptococcus*'un yine büyük çoğunluğunun *Viridas-Enterokok* grubu mikroorganizmalarla (%76,5), Piyojen gruptan (%17,6) meydana geldiği bulunmuştur. Bu günde *Lactobacillus*'lardan daha çok *L. casei* ve alt türleri ile *L. plantarum* ve *L. curvatus* 'un izole edildiği, bunların sırasıyla %41,8, %26,6 ve %7,6 oranında oldukları görülmüştür. *Leuconostoc* grubu mikroorganizmaların izolat sayısının 12, *Pediococcus*'ların ise 2 adet olduğu ve *L. cremoris*'in % 12,7 oranında bulunduğu saptanmıştır (Çizelge 2,3).

Örneklerde izole edilen toplam 851 izolattan sırasıyla; 252 adeti *Streptobacterium*, 209 adeti Viridans-Enterokok grubu *Streptococcus*'lar, 128 adeti laktik Streptokoklar, 116 adeti *Leuconostoc*'lar, 33 adeti *Thermobacterium*, 28 adedi *Betabacterium* ve 23 adedi de *Pediococcus*'lara ait olduğu saptanmıştır (Çizelge 4).

Çizelge 4. Tulum peyniri Örneklerinden İzole Edilen *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*'lar ile Laktik, Piyojen ve Viridans-Enterokok Grubu *Streptococcus*'lara ait Bulgular.

Mikroorganizma	Teleme	Olgunlaşma Süresi (gün)				
		0	15	30	60	90
L.L.P. Grubu	60 (41,7)	45 (32,8)	72 (47,7)	90 (62,9)	99 (67,8)	79 (60,8)
Streptobacterium türleri	21 (14,6)	12 (8,8)	27 (17,9)	56 (39,2)	69 (47,3)	60 (46,2)
Thermobacterium türleri	9 (6,3)	5 (3,6)	10 (6,6)	7 (4,9)	2 (1,4)	-
Betabacterium türleri	- (2,0)	- (5,6)	3 (8,2)	8 (3,8)	12	5
Leuconostoc'lar	29 (20,0)	25 (18,2)	25 (16,6)	13 (9,1)	12 (8,2)	12 (9,2)
Pediococcus'lar	1 (0,7)	3 (2,2)	7 (4,6)	6 (4,2)	4 (2,7)	2 (1,5)
Laktik Streptokok Grubu	36 (25,0)	33 (24,1)	32 (21,2)	18 (12,6)	6 (4,1)	3 (2,3)
Piyojen Streptokok'lar	17 (11,8)	13 (9,5)	14 (9,3)	8 (5,6)	7 (4,8)	9 (6,9)
Viridans – Enterokok Grubu	31 (21,5)	46 (33,6)	33 (21,9)	27 (18,9)	34 (23,3)	38 (29,2)
Toplam izolat	144	137	151	143	146	130

L.L.P.: Lactobacillus – Leuconostoc – Pediococcus

() : İçindeki rakamlar yüzdeyi göstermektedir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada, çiğ koyun sütlerinden geleneksel yöntemle üretilen tulum peyniri örneklerinde laktik asit bakteri türlerinin (laktik streptokoklar ve *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* grubunda bulunan mikroorganizmalar) 90 günlük olgunlaşma periyodu boyunca değişimleri incelendi.

Ülkemizde üretilen peynir çeşitlerimiz arasında yer alan tulum peynirinde üretim sonucu çoğunlukla standart bir yapı elde edilememektedir. Ayrıca, ürünün bozulmasında etkili ve insan sağlığına zararlı olabilecek bir çok mikroorganizmanın oldukça yüksek düzeylerde bulunması (KURT ve ark., 1991; BOSTAN ve ark. 1992; KELEŞ ve ATASEVER, 1996; TEKİNŞEN ve ark., 1998; PATIR ve ark., 2001) zaman zaman ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Tulum peynirlerimizin kalitesinin iyileştirilmesine yönelik çalışmaların oldukça sınırlı olması nedeniyle, ürünün olgunlaşması sırasında, lezzet ve aromada etkili mikroorganizma türleri yerince kavuşturulamamıştır.

Yapılan bir çalışmada, tulum peyniri örneklerinde saptanan laktik asit bakteri türlerinin, olgunluğun çeşitli safhalarında değişik oranlarda buldukları gözlemlendi. Şöyle ki; laktik Streptokoklar'dan *Str. cremois* ve *Str. lactis* olgunluğun başında daha yüksek oranlarda (%15,5 ve %26,2) olmasına rağmen, olgunlaşmanın sonunda (60. ve 90. gün) daha düşük oranlarda (%2,0 ve %3,9) saptandı. Yine, olgunlaşmanın çe-

şitli safhalarında belirlenen *Lactobacillus-Leunostoc-Pediococcus* grubu mikroorganizmalara ait veriler incelendiğinde, bu grupta bulunan bakterilerin başlangıçta oldukça düşük oranlarda bulunduğu, ileri olgunlaşma günlerinde ise (30-90.günler) sayıları artarak floraya hakim bir duruma geldikleri gözlemlendi. Elde edilen sonuç; olgunluğun ilk safhalarında laktik Streptokok sayısının yüksek, *Lactobacillus-Leunostoc-Pediococcus* grubu mikroorganizma sayısının ise düşük olduğunu; buna karşılık, olgunlaşmanın ileri günlerinde laktik Streptokok sayısının azaldığını ve *Lactobacillus-Leunostoc-Pediococcus* sayısının ise artarak florada dominant sayıya ulaştığını belirten araştırmacıların (RASIC,1962;YANAI ve ark.,1977;GÖKOVALI,1980;ÇELİK,1982). bulgularıyla uyum göstermektedir. Ancak, laktik Streptokoklar'ın olgunluğun sonunda tamamen ortamdaki kaybolduklarını bildiren TEKİNŞEN (1978) ve ERGÜLLÜ (1980)'nün bulgularıyla bağdaşmamaktadır. Bulguların uyumsuzluğu;muhtemelen adı geçen araştırmalarda, denemeye alınan örneklerin olgunlaşma sürelerinin uzun seçilmesine ve farklı teknolojik işlemlere bağlanabilir.

Piyozen Streptokoklar başlangıçta nispeten daha yüksek miktarlarda tespit edildi. Viridans-Enterokok grubunda bulunan bakterilerin ise, telemeden başlamak üzere sonraki olgunluk sürelerinde predominant düzeyde buldukları saptandı. Bu sonuç, çiğ süttten deneysel olarak üretilen tulum peynirinin çeşitli olgunluk aşamalarında, bu grup bakterileri en az %21,9 en çok %33,0 oranında saptayan araştırmacıların (BOSTAN ve ark., 1992) bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Viridans-Enterokok grubu mikroorganizmaların üründe yüksek sayılarda saptanmasının nedeni, grup içerisinde asite, tuza ve sıcaklığa dayanıklı *Str. thermophilus*, *Str.faecium*, *Str. faecalis*, *Str. durans* gibi türlerin bulunmasına bağlı olabilir.

Lactobacillus-Leunostoc-Pediococcus grubunda bulunan mikroorganizmalardan *Lactobacillus casei* ve alt türleri, *Lactobacillus plantarum*, *Leunostoc dextranicum*, *Leunostoc lactis* ile *Leunostoc cremoris*'in olgunlaşma boyunca diğer türlere göre predominant oldukları bulundu. Başlangıçta daha az sayıda tespit edilen *Lactobacillus*lardan *L. casei* ve alt türleri ile *L. plantarum*'un olgunluğun 90. gününde artarak sırasıyla %41,6 ve %26,6 oranlarına ulaştığı saptandı. Olgunlaşmanın ileri günlerinde *Lactobacillus-Leunostoc-Pediococcus* grubunda bulunan mikroorganizma sayılarında artış görülmesi, olgunlaşmanın başlangıcında yetersiz olan asit miktarının ileri günlerinde artmasına, dolayısıyla asit ortamda diğer laktik asit bakterilerinden (laktik Streptokoklar) daha iyi üremelerine bağlanabilir (KANDLER ve WEISS,1986;TAMIME,1990;TEKİNŞEN ve ATASEVER,1994).

Tulum peyniri örneklerinde, *Leuconostoc* grubu mikroorganizmalardan daha çok *L.dextranicum*, *L.lactis* ve *L.cremoris* türleri bulundu. Olgunluğun çeşitli sürelerinde izole edilen toplam *L.cremoris* sayısının, adı geçen diğer iki türe göre nispeten daha fazla olduğu gözlemlendi. *Pediococcus*'lar ise daha çok olgunlaşma döneminin ortalarında %6,7 ile %9,7 oranlarında tespit edildi. Elde edilen bu sonuç, deneysel tulum peyniri örneklerinde *Leuconostoc*'ların 30., *Pediococcus*'ların ise 90. olgunlaşma günlerinde ortamdaki tamamen yok olduklarını bildiren BOSTAN ve ark.,(1992)'nin bulgularıyla bağdaşmamaktadır. Bulguların uyumsuzluğu, üretimde farklı nitelikteki sütlerin kullanımına bağlı olabilir.

Sonuç olarak; tulum peynirinin olgunlaşmasında, laktik Streptokoklar'dan *Str.lactis*, *Str. cremois* türlerinin; *Lactobacillus* grubundan *L. casei* ve alt türleri ile *L. plantarum*'un *Leuconostoc*'lardan ise *L. cremois*, *L. dextranicum* ve *L. lactis*'in araştırmada adı geçen diğer mikroorganizma türlerinden ya da gruplarından daha fazla etkiye sahip olduklarını ortaya koymaktadır. Bu nedenle, tulum peynirlerinde bu türlerin farklı kombinasyonlarının ele alınarak üretimde denenmelerinin yararlı olacağı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

- AKYÜZ,N.1981.Erzincan (Şavak) Tulum Peynirinin Yapılışı ve Bileşimi. Atatürk Üniv., Zir.Fak.Derg.,12(1) 85-111.
 ANONYMOUS.1970.Methods of Microbiological Examination of Milk Products. Supplement No:1, British Standard 4285,British Standards Institution, London.
 ANONYMOUS.1974. Standards Methods for the Examination of Dairy Products. 13th. Ed., AMERICAN Public Health Association, New York.

- ANONYMOUS.1977. Laboratory Manual. Food and Agricultural Organisation, The FAO Regional Dairy Development and Training Centre For the Near East., Spring.
- ARDA, M.1985. Genel Bakteriyoloji. Ankara Üniv., Vet. Fak., Yay:402, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara, 521 sayfa.
- BOSTAN, K.1991. Tulum Peynirlerinde Starter Kültür Kullanılabilirliği Üzerine Bir Araştırma. İstanbul Üniv., Sağlık Bilimleri ENSTİTÜSÜ, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim dalı, Doktora Tezi, İstanbul, 102 sayfa.
- BOSTAN, K., M. UĞUR, G.ÇİFTÇİOĞLU.1992. Tulum Peynirlerinde Laktik Asit Bakterileri ve Küf Florası. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 17(2) 111-118.
- COGAN, T.M.1980. Les Levains Lactiques Mesophiles. Une Revue. Le Lait, 60:197-425.
- COGAN, T.M.,C.DALY.1987. Cheese Starter Cultures. "in, Cheese- Chemistry, Physics and Microbiology. Vol. 1, Ed,F.Fox". Elsevier Applied science Publishers, London and New York.
- ÇELİK, C.1982. Çeşitli Starter Kültürleri Kullanarak Salamura Beyaz Peynirin (Edirne Tipi) Standardizasyonu Üzerinde Araştırmalar. Fırat Üniv., Vet. Fak.,Teksir, Elazığ, 99 sayfa.
- ERGÜLLÜ,E.1980. Beyaz Peynirlerin Olgunlaşması Sırasında Mikrofloranın, Özellikle Gaz Yapan Bakterilerin Değişimi Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniv. , Zir. Fak., Süt Teknolojisi Kürsüsü, Teksir, İzmir.
- GARVIE, E.I.1986a. Genus Leuconostoc. "in, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds. P.H.A.Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe ve J.G. Holt", Vol.2, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 965-1599.
- GARVIE, E.I.1986b. Genus Pediococcus. "in, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds. P.H.A.Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe ve J.G. Holt", Vol.2, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 965-1599.
- GILLILAND,S.E. 1988.Bacterial Starter Cultures for Foods. CRC Pres Inc., Boca Raton and Florida.
- GÖKOVALI, T.1980. Salamura Tulum Peynirinin Olgunlaşması Sırasında Meydana Gelen Mikrobiyolojik Değişiklikler Üzerine Araştırma. İhtisas Tezi, Ege Üniv., Zir.Fak., Bornova, İzmir.
- HARDIE,J.M.1986a. Genus Streptococcus. "in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe ve J.G. Holt", Vol..2, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 965-1599.
- HARDIE,J.M.1986b. Other Streptococcus. "in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe ve J.G. Holt", Vol..2, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 965-1599.
- HARRIGAN,W.F.,M.E.McCANCE.1976. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Revised ed., Academic Pres, London,362 sayfa.
- KANDLER,O.,N.WEISS.1986. Genus Lactobacillus."in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe ve J.G. Holt", Vol..2, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 965-1599.
- KARAKUŞ,M.1987. Fermente Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültürler, Temel İşlevleri ve Uygulamadaki Sorunlar. Gıda Sanayi Dergisi,1:32-36.
- KARASOY,M.1955. Yurdumuz Peynirlerini Olgunlaştıran Mikroplar ve Enzimleri. Ankara Üniv., Vet. Fak. Yay. :67 Yeni Desen Matbaası, Ankara.
- KELEŞ,A.,M.ATASEVER.1996.Divle Tulum Peynirinin Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Kalite Nitelikleri. Süt Teknolojisi, 1 (1) 47-53.
- KILIÇ,S.S.GÖNÇ.1990. İzmir Tulum Peyniri'nin Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Araştırmalar (II). Ege Üniv., Zirç Fak.Derg.,27(3)169-184.
- KOSIKOWSKI,F.V.1977.Cheese and Fermented Milk Foods. 2nd Ed., Edwards Brothers Inc.,Michigan.
- KURT,A.,L.ÖZTEK.1984. Şavak Tulum Peynirinin Yapım Tekniği Üzerine Araştırmalar. Atatürk Üniv., Zir. Fak. Derg., 15(3-4)65-77.
- KURT, A.,A.ÇAĞLAR,S.ÇAKMAKÇI.1991. Erzincan Tulum (Şavak) Peynirinin Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma. Doğa, Tr. J.of. Veterinary and Animal Sciences,16:41-50.
- LAW, B.A.1984. Flavour Development in cheese. "in, Advanced in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. Eds. F.L. Davies ve B.A. Law", Elsevier Applied Science Publishers, London and New York.
- MAN,J.,M.ROGOSA,M.E.SHARPE.1960. A medium for the Cultivation of Lactobacilli. J. Appl., Bact., 23:130-135.
- MUNDT, J.O. 1986A. Enterococci. "in, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe ve J.G. Holt", Vo. 2, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 965-1599.
- MUNT, J.O. 1986b. Lactic Acid Streptococci. "in, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Sharpe ve J.G. Holt", Vol. 2, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 965-1599.
- ÖZALP, E. 1988. Süt Ürünlerinde Kullanılan Starter Kültürler. Ankara Üniv., Vet. Fak. Derg., 35 (1) 6-15.
- ÖZER, İ. 1964. Türkiye Salamura Beyaz Peynirlerinin Olgunlaşmasında Rol Oynayan Laktik Asit Mikroflorası Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniv., Vet. Fak. Yay.: 170. A.Ü. Vet. Fak. ve Zir. Fak., Basımevi, Ankara, 107 sayfa.
- PATIR, B., G. ATEŞ, A.H. DİNÇOĞLU, F. KÖK. 2001 Elazığ'da Tüketime Sunulan Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi ile Laktik Asit BSakterileri Üzerine Araştırmalar. Fırat Üniv., Sağlık Bilimleri Derg., (Baskıda).

- RASIC, J. 1962. A Study of the Resistance of Lactic Acid Bacteria to Sodium Chloride. *Procs. XVI, Inter. Dairy Congr.*, B. 881-889.
- SCOTT, R. 1986. *Cheese Making Practice*. (2nd Ed.), Elsevier Applied Science Publishers, London and New York.
- SHARPE, M.E. 1979. Lactic Acid Bacteria in the Dairy Industry. *J. Soc. Dairy Tech.*, 32 (2) 9-18.
- SHARPE, M.E., T.F. FRYER, D.G. SMITH. 1966. Identification of the Lactic Acid Bacteria "in, Identification methods for Microbiologists, Ed B.M. Gibbs ve F.A. Skinner", The Soc. for Appl. Bacteriology Tech. Series No:1, Part A, Academic Press, London.
- SÜRMEİ, G., N. TUNAİL, O. KÖŞKER 1982. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonunda Kullanılan Besiyerlerinin Karşılaştırılması Üzerinde Araştırmalar. *Gıda*, 7 (1) 3-9.
- TAMIME, A.Y. 1990. Microbiology of Starter Cultures, "in, Dairy Microbiology - The Microbiology, of Milk Products, Ed R.K.I Robinson", Vol. 2, Elsevier Science Publishers Ltd., London and New York, 409 sayfa.
- TEKİNŞEN, O.C. M. NİZAMOĞLU, A. KELEŞ, M. ATASEVER, A. GÜNER 1998. Tulum Peyniri Üretiminde Yarı Sentetik Kılıfların Kullanılabilirlik İmkanları ve Vakum Ambalajmanın Kaliteye Etkisi. *Veteriner Bilimleri Derg.*, 14 (2) 63-70.
- TERZAGHI, B.E., W.E. SANDINE. 1975. Improve Medium for Lactic Streptococci and Their Bacteriophages. *Appl., Microbiol.* 29: 807-813.
- TÖRAL, A.R. 1969. Elazığ Bölgesi Peynirlerinde Kimyevi Araştırmalar. Güven Matbaası, Ankara, 96 sayfa.
- YANAI, Y., B. BROSEN, A. PINSKY, D. SKLAN, 1977. The Microbiology of Pickled Cheese During Manufacture and Maturation. *J. Dairy research*, 44: 144-153.