

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

TULUM PEYNİRİNİN OLGUNLAŞMASI SIRASINDA
BRUCELLA MELİTENSİS'İN YAŞAM SÜRESİNE
POTASYUM SORBATIN ETKİSİ

118772

DOKTORA TEZİ

AHMET H. DİNÇOĞLU

ELAZIĞ-2002

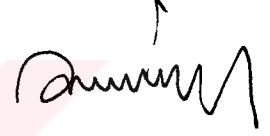
ONAY SAYFASI
MÜDÜRLÜK ONAYI


Prof. Dr. Halis ÖCAL

Bu tez Doktora Tez Standartlarına uygun bulunmuştur.

Anabilim Dalı Başkanı

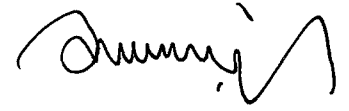
Prof.Dr. Bahri PATIR



Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman

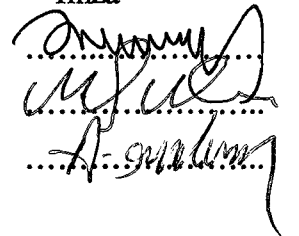
Prof.Dr. Bahri PATIR



Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

1. Prof. Dr. Bahri PATIR
2. Prof. Dr. Mustafa NİZAMLIOĞLU
3. Doç. Dr. Ali ARSLAN

İmza



TEŐEKKÜR

Bu bilimsel çalıőmanın planlanması, yűrűtűlmesi ve ortaya konmasında her tűrlű ilgi ve desteęini esirgemeyen danıőman hocam sayın Prof.Dr. Bahri PATIR'a teőekkűr etmeyi bir borç bilirim.

Bunun yanında űzellikle istatistiksel analizlerin yűrűtűlmesinde bűyűk desteęini gűrdűęűm Arő. Gűr. Dr. İbrahim ŐEKER baőta olmak űzere çalıőma arkadaőlarıma da űkranlarımı sunarım. Çalıőmam boyunca bana manen destek olan eőim ve çocuęum ile tűm aile fertlerime sonsuz teőekkűr ederim.



İÇİNDEKİLER

1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. GİRİŞ.....	5
3. 1. Brucellosis'in Tarihçesi.....	5
3. 2. Brucellosis'in Epidemiyolojisi.....	7
3. 3. Brucellosis'in Etiyolojisi.....	11
3. 4. Koloni Formasyonları.....	12
3. 5. Türler ve Antijenik Yapıları.....	14
3. 6. <i>Brucella</i> Türlerinin Patojeniteleri.....	17
3. 7. Klinik Seyir.....	17
3. 8. Laboratuvar Teşhis Yöntemleri.....	20
3. 8. 1. Direkt Teşhis.....	21
3. 8. 2. İndirekt Teşhis.....	24
3. 8. 3. Hayvan Deneyi.....	25
3. 9. <i>Brucella</i> Etkenlerinin İdentifikasyonu.....	26
3. 10. Tulum Peyniri.....	30
3. 10. 1. Genel Bilgi.....	30
3. 11. Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik Kalitesi.....	31
3. 11. 1. Total Mezofilik Aerob Mikroorganizmalar.....	32
3. 11. 2. <i>Staphylococcus-Micrococcus</i> Grubu Mikroorganizmalar.....	33
3. 11. 3. Koliform Grubu Bakteriler.....	34
3. 11. 4. Fekal Streptokok (Enterokokkus) Grubu Mikroorganizmalar.....	35
3. 11. 5. Maya ve Küfler.....	37
3. 12. Süt ve Ürünlerinde <i>Brucella</i> Etkenleri.....	38

3. 12. 1. <i>Brucella</i> Etkenlerinin Canlılık Süreçleri.....	41
3. 13. Tulum Peynirinin Kimyasal Karakteri.....	44
3. 13. 1. Rutubet.....	44
3. 13. 2. Asitlik Değeri	45
3. 13. 3. pH Değeri.....	46
3. 13. 4. Tuz.....	48
3. 14. Gıda Katkı Maddeleri ve Antimikrobisaller.....	48
3. 14. 1. Sorbik Asit ve Tuzları.....	52
3. 14. 1. 1. Genel Özellikleri	53
3. 14. 1. 2. Sorbatların Tesirliliğini Etkileyen Faktörler.....	54
3. 14. 1. 3. Sorbatların Antimikrobiyal Etki Mekanizması.....	56
3. 14. 1. 4. Sorbatların Sağlık Açısından Önemi	57
3. 14. 1. 5. Gıdalarda Sorbat Kullanımı ve Sonuçları.....	58
4. MATERYAL VE METOT	62
4. 1. Materyal.....	62
4. 1. 1. Süt Örnekleri	62
4. 1. 2. İnokülasyonda Kullanılan <i>Brucella melitensis</i> Suşu	62
4. 1. 3. Deneysel Peynir Örnekleri.....	62
4. 2. Metot.....	65
4. 2. 1. Süt ve Peynir Örneklerinin Deneyler İçin Hazırlanması	65
4. 2. 1. 1. Deneysel Peynir Örneklerinin Yapımı	65
4. 2. 2. Mikrobiyolojik Analizler	65
4. 2. 2. 1. <i>Brucella</i> Suşlarının İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	65
4. 2. 2. 1. 1. Kullanılan Besiyeri ve Hazırlanışı	65

4. 2. 2. 1. 2. Ekim ve İzolasyon İşlemi	66
4. 2. 2. 2. Kültürlerin Karakterizasyonu.....	67
4. 2. 2. 2. 1. Morfolojik Karakterler	67
4. 2. 2. 2. 2. İdentifikasyonda Kullanılan Testler	67
4. 2. 2. 3. Türlerin Ayırımı	68
4. 2. 2. 4. Diğer Mikroorganizma Gruplarının Sayımı.....	68
4. 2. 3. Kimyasal Analizler.....	69
4. 2. 3. 1. Süt Örneklerinin Analizleri.....	69
4. 2. 3. 2. Peynir Örneklerinin Analizleri	70
4. 2. 4. İstatistiksel Analizler	70
5. BULGULAR	71
5. 1. Peynir Örneklerinin Yapımında Kullanılan Çiğ Sütlerin Nitelikleri.....	71
5. 1. 1. Mikrobiyolojik Nitelikleri.....	71
5. 1. 2. Kimyasal Nitelikleri	72
5. 2. Olgunlaşma Esnasında Meydana Gelen Değişimler	72
5. 2. 1. Mikrobiyolojik Değişimler	73
5. 2. 1. 1. Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayısı	73
5. 2. 1. 2. Fekal Streptokok Sayıları.....	77
5. 2. 1. 3. <i>Staphylococcus-Micrococcus</i> Mikroorganizmalar	82
5. 2. 1. 4. Koliform Bakteriler	87
5. 2. 1. 5. Maya ve Küfler.....	92
5. 2. 1. 6. <i>Brucella melitensis</i>	97
5. 2. 2. Kimyasal Değişimler	101
5. 2. 2. 1. Asidite.....	101

5. 2. 2. 2. pH.....	106
5. 2. 2. 3. Tuz.....	111
5. 2. 2. 4. Rutubet Miktarı	115
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	120
7. KAYNAKLAR.....	130
8. ÖZGEÇMİŞ	148



TABLOLAR

	Sayfa No
Tablo 1. <i>Brucella</i> 'ya benzerlik gösteren diğer Gram negatif mikroorganizmalar ile türlerinin karakteristik özellikleri.....	23
Tablo 2. <i>Brucella</i> genusuna ait türleri birbirinden ayıran özellikler.....	24
Tablo 3. <i>Brucella</i> cinsine ait türlerin biyotip seviyesindeki ayrımı.....	25
Tablo 4. Sorbik asit ve tuzlarının kullanım alanları ile miktarları.....	48
Tablo 5. Peynir tiplerinde <i>Brucella melitensis</i> 'in mevcudiyeti ve potasyum sorbat konsantrasyonları.....	59
Tablo 6. Tulum peyniri örneklerinin yapımında kullanılan çiğ koyun sütlerine inoküle edilen <i>Brucella melitensis</i> miktarları.....	59
Tablo 7. Tulum peyniri örneklerinin yapım aşamaları.....	60
Tablo 8. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Yapımında Kullanılan Çiğ Koyun Sütlerinde Saptanan Mikroorganizma Sayıları (kob/ml).....	67
Tablo 9. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Yapımında Kullanılan Çiğ Koyun Sütlerinin Bazı Kimyasal Nitelikleri.....	68
Tablo 10. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar..	70
Tablo 11. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	70
Tablo 12. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	71
Tablo 13. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	71
Tablo 14. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.....	74

Tablo 15. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	74
Tablo 16. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	75
Tablo 17. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	75
Tablo 18. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında <i>Staphylococcus-Micrococcus</i> Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar..	79
Tablo 19. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki <i>Staphylococcus-Micrococcus</i> Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	80
Tablo 20. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki <i>Staphylococcus-Micrococcus</i> Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	80
Tablo 21. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki <i>Staphylococcus-Micrococcus</i> Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	81
Tablo 22. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Koliform Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.....	84
Tablo 23. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Koliform Bakteri Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	85
Tablo 24. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Koliform Bakteri Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	85

Tablo 25. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Koliform Bakteri Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	86
Tablo 26. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Maya ve Küf Sayılarında Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.....	89
Tablo 27. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Maya ve Küf Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	89
Tablo 28. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Maya ve Küf Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	90
Tablo 29. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Maya ve Küf Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması....	90
Tablo 30. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında <i>Brucella melitensis</i> Sayılarında Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.....	95
Tablo 31. Olgunlaşma Sırasında B ve C Grubundaki <i>Brucella melitensis</i> Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	95
Tablo 32. Olgunlaştırma Sırasında D ve E Grubundaki <i>Brucella melitensis</i> Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	96
Tablo 33. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında İçermiş Oldukları Asitlik Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.....	98
Tablo 34. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Asitlik Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması....	98
Tablo 35. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Asitlik Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması....	99
Tablo 36. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Asitlik Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	99

Tablo 37. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında İçermiş Oldukları pH Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.....	103
Tablo 38. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki pH Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması....	103
Tablo 39. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki pH Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması....	104
Tablo 40. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki pH Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	104
Tablo 41. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında İçermiş Oldukları Tuz Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.....	108
Tablo 42. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Tuz Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması....	108
Tablo 43. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Tuz Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması....	109
Tablo 44. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Tuz Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	109
Tablo 45. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında İçermiş Oldukları Rutubet Miktarlarında Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.....	112
Tablo 46. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Rutubet Miktarlarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	112
Tablo 47. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Rutubet Miktarlarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması.....	113
Tablo 48. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Rutubet Miktarlarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması....	113

ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 1. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Total Aerob Mezofilik Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler.....	72
Şekil 2. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Fekal Streptokok Grubu Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler.....	77
Şekil 3. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Staphylococcus-Micrococcus Mikroorganizma Sayılarında Meydana Gelen Değişimler.....	82
Şekil 4. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Koliform Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler.....	87
Şekil 5. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Maya ve Küf Sayılarında Meydana Gelen Değişimler.....	92
Şekil 6. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında <i>Brucella melitensis</i> Sayılarında Meydana Gelen Değişimler.....	94
Şekil 7. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşma Sırasında Asitlik Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler.....	101
Şekil 8. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında pH Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler.....	106
Şekil 9. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Tuz Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler.....	110
Şekil 10. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Olgunlaşması Sırasında Rutubet Miktarlarında Meydana Gelen Değişimler.....	115

1. ÖZET

Bu çalışmada; tulum peynirlerinde *Brucella melitensis*'e potasyum sorbatın etkisi incelendi. Bu amaçla, çiğ koyun sütlerinden 5 farklı grup (A,B,C,D,E) tulum peyniri örnekleri yapıldı. A grubu kontrol, B grubu yalnızca *Brucella melitensis* inokulasyonu yapılan örnekleri; C, D ve E grubu örnekler ise hem *Brucella melitensis* hem de sırasıyla %0.05, %0.10 ve %0.20 oranlarında potasyum sorbat ilave edilmiş peynir örneklerini teşkil etti ve olgunlaşma süresince *Brucella melitensis*'in mevcudiyeti ile üründe meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikler yönünden incelendi.

Olgunlaşma süresince sorbatsız gruptaki toplam mezofilik aerob sayıları sorbatlı gruplara göre daha yüksek oranlarda tespit edildi.

Olgunlaşma süresince sorbatsız örneklerdeki fekal streptokok sayıları sorbatlı örneklerdeki sayılardan daha yüksek miktarlarda tespit edildi.

Sorbatsız örneklerdeki *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları, sorbatlı örneklere göre daha yüksek seviyelerde seyretti. Sorbatlı örneklerin tümünde 90. günde *Staphylococcus-Micrococcus* etkenlerinin ortamdaki tamamen yok oldukları tespit edildi.

Sorbatlı peynir gruplarındaki koliform sayılarının olgunlaşma süresince sorbatsız diğer iki gruba göre çok daha düşük seviyelerde seyrettiği ve özellikle D ile E grubu örneklerde olgunlaşmanın 15. gününden sonra daha büyük düşüşlerin olduğu tespit edildi.

Sorbatsız örneklerdeki maya ve küf sayıları olgunlaşma süresince düzensiz değişimlerle giderek azalmış ve olgunlaşmanın sonunda en az düzeye inmiştir. Sorbatlı örneklerde ise maya ve küf sayıları 0-15. günlerde yavaş sonraki günlerde hızlı bir şekilde azaldı.

Brucella melitensis'in, potasyum sorbat konsantrasyon düzeylerine bağlı olarak belli oranlarda etkilendiği saptandı. Sorbatsız B grubu örneklerdeki *Brucella melitensis* düzeyinin sorbatlı C, D ve E grubu örneklerindeki düzeyden daha yüksek değerlerde olduğu ortaya kondu. E grubunda adı geçen etkenin yıkımlanması 15. günde gerçekleşirken, diğer gruplarda bu durum ancak 30. günde gerçekleşti.

Asitlik değerleri açısından sorbatlı ve sorbatsız peynir grupları arasında olgunlaşma boyunca çok büyük farklılıkların olmadığı tespit edildi.

pH'nın sorbatlı gruplarda daha düşük olduğu tespit edildi.

Olgunlaşma boyunca sorbatlı ve sorbatsız gruplar arasında tuz değerleri bakımından önemli farklılıklar görülmedi.

Rutubet bakımından, sorbat ihtiva eden gruplarla sorbatsız gruplar arasında olgunlaşma süresince önemli bir farklılık gözlenmedi.

Sonuç olarak, tulum peynirlerine üretim aşamasında potasyum sorbatın belli konsantrasyonlarda ilavesinin, *Brucella melitensis*'in yaşam süresi üzerine olumlu etki gösterdiği saptandı. Ayrıca üründe istenmeyen diğer bazı mikroorganizma sayılarının da önemli sayılabilecek düzeyde azaldığı, dolayısıyla halk sağlığı açısından daha güvenilir, sağlıklı bir ürün elde etmenin mümkün olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Brucella melitensis*, potasyum sorbat, tulum peyniri, mikrobiyolojik kalite, kimyasal kalite

2. ABSTRACT

In this study, antimicrobial effect of potassium sorbate on viability of *Brucella melitensis* in tulum cheese was examined. For this purpose, tulum cheese was produced from raw ewe milk using the following 5 formulations. Group A was uninoculated control, group B samples were inoculated with only *Brucella melitensis*; C, D and E group samples inoculated with *Brucella melitensis* were also added 0.05%, 0.10% and 0.20% of potassium sorbate, respectively. Numbers of samples were analysed for *Brucella melitensis*, microbiological and chemical characteristics of cheese products during the ripening.

During the ripening, numbers of total mesophile aerobs in groups without sorbate were found significantly higher than those in groups with sorbate.

The numbers of fecal streptococci in groups without sorbat were found higher than those in groups with sorbate.

The numbers of these microorganisms in samples with sorbate were found lower than those of samples without sorbate during ripening. It was found that *Staphylococci* and *Micrococci* microorganisms were completely eliminated in all samples with sorbate on day 90, as detected by direct plating

The numbers of coliforms in treatment groups with sorbate were lower than those in other two groups with sorbate. Group D and E, in particular, resulted in very low numbers of microorganisms after day 15 of ripening period.

The numbers of yeasts and moulds were found different in groups with sorbate and without sorbate. Their numbers in samples without sorbate gradually decreased and reached to the lowest level at the end of 90 day ripening period. It was also observed that their numbers in samples with sorbate gradually decreased between days 0 and 15 followed by a faster decrease during remaining part of ripening.

It was found that *Brucella melitensis* was affected at different rates depending on potassium sorbate concentration during ripening. Level of groups *Brucella melitensis* in group B was found higher compared to groups C, D and E. The numbers of pathogen dropped below detection limit in group E on day 15 and in others on day 30.

There was no significant differences in acidity of treatment groups.

During the ripening, pH values of samples with sorbate were lower than those samples without sorbate.

No significant differences in salt amounts observed between groups with sorbate and without sorbate.

Significant differences in moisture levels were not found between groups with sorbate and without sorbate.

In conclusion, it was observed that the life time of *Brucella melitensis* was shortened when definite concentration of potassium sorbate was added in the formulation of tulum cheese. In addition, the numbers of other harmful microorganisms were significantly reduced. Therefore, use of potassium sorbate in tulum cheese manufacturing may have a potential to improve microbial safety at this type of product.

Key words: *Brucella melitensis*, potassium sorbate, tulum cheese, microbiological quality, chemical quality.

3. GİRİŞ

3. 1. Brucellosis'in Tarihçesi

Brucellosis tarihin çok eski dönemlerinden beri bilinen fakat tam olarak tanımlanması 19. yüzyılın sonlarına dayanan zoonoz bir hastalıktır. M.Ö. 450 yılında Hipocrates tarafından yazılan ve 1849 yılında Adams tarafından tercümesi yapılan Epidemics'te tarif edilen humma, o zamanlarda Yunanistan'da hüküm süren bir hastalık olarak belirtilmiştir. Bu belgede Hipocrates muntazaman dalgalı ateşle seyreden Akdeniz kıyılarındaki hastalığı tarif etmiştir (131). Aristo M.Ö. 382-322 yıllarında ilk defa koyun ve domuzlardaki atıklardan bahsetmiştir (47). Hughes tarafından 1897'de Undulant fever (Malta humması) hakkında hazırlanan bir monografide, Torti'nin Febre Subcontinua (1712), Burnet'in Mediterranean fever (1816) ve Hennen ile Davy'nin Common continued fever olarak tanımladıkları durumların gerçekte Malta humması olduğu belirtilmiştir (131).

Brucellosis'in klinik olarak ilk tanımlaması 1859 yılında İngiliz kraliyet kuvvetlerinde çalışan ve bir cerrah olan Morston tarafından yapılmış ve kendisinde bu hastalığa yakalanmıştır. Bu hastalık o zaman Mediterranean fever Gastrik remittant fever olarak ifade edilmiştir (7,100,120,131,183,188). 1884 yılında Malta İngiliz askeri üssünde doktor olarak göreve başlayan Davide Bruce o dönemde orada hüküm süren hastalık üzerinde çalışmalara başlamış ve 1886 yılında hastalık sonucu ölen bir askere yaptığı otopsi sonucunda elde ettiği dalak pulpasıyla yaptığı preparatlarda hastalık etkeni olan mikroorganizmayı keşfetmiştir. O dönemde tam olarak tanımlayamadığı bu mikroorganizmayı 1887 yılında ölen bir İngiliz erinin ölümünden 10 dakika sonra aseptik şartlar altında çıkardığı dalaktan izole etmiştir. Küçük bir kok şeklinde gördüğü etkene *Micrococcus melitensis* adını vermiştir. Bruce bu etkeni maymunlara vererek aynı hastalığı maymunlarda meydana getirmiş ve böylece hastalık etkeninin bulaşıcı olduğunu ortaya koymuştur (42,130,131,132). Bang ve Stribolt 1895 yılında Danimarka'da abort yapan bir ineğin plasentasından izole ettikleri Gram negatif basile *Bacterium abortus* Bang (*Bacillus abortus*) adını vermişlerdir (130,131,132,152). Zammit, 1905 yılında Bruce'un *Micrococcus melitensis* adını verdiği hastalık etkenini içeren işlenmemiş keçi sütleri ile insanlara bulaştığını ortaya koymuş ve bu etkeni keçilerin lenf düğümleri, dalak ve meme dokularından izole ederek keçilerin kan serumunda bu etkene karşı spesifik aglütininler bulunduğunu belirtmiştir

(42,130,131,132,152). Dubois ise 1910 yılında Güney Fransa'da insanlardaki Brucellosis'in ve koyunların yavru atımlarının nedeni olarak *Brucella melitensis*'i göstermişlerdir (130,132). Koyunlarda *Brucella* etkenlerini ilk defa 1906 yılında Garcia ve İscara tespit etmişlerdir (132,152). 1909 yılında da Huytra Macaristan'da ki domuzlarda bu etkeni izole ettiğini bildirmekle birlikte Troum 1914 de A.B.D.'de yavru atan bir domuzun fetusundan izole ettiği mikroorganizmaya *Bacterium abortus suis* (*Brucella suis*) demiştir (130,131,132,152). 1908 yılında Alice Evans, insanlardaki Malta humması ile domuz ve sığırlarda bulaşıcı yavru atma hastalığı meydana getiren etkenler arasında morfolojik, kültürel ve serolojik benzerliklerin bulunduğunu gözlemlemiş ve bunların birbirlerine çok yakın mikroorganizmalar olduğunu ifade etmiştir. 1920 yılında Meyer ve Shaw'ın önerileriyle bu üç bakteri tek bir grupta birleştirilerek bunlara Bruce'nin adına izafeten *Brucella* grubu mikroorganizmalar, meydana getirdiği hastalığa da Brucellosis denilmiştir (130,131,132,152).

Brucella melitensis ve *Brucella abortus* arasındaki benzerlik, *Brucella abortus*'un da insanlarda hastalık oluşturabileceği düşüncesi akla getirmiş ve bu düşünce keçilerin bulunmadığı, sığırlarda yavru atmaların görüldüğü Güney Rodezya'da çiğ inek sütü içenlerde *Brucella abortus*'a bağlı enfeksiyonların oluşmasıyla doğrulanmıştır. Bundan dolayı Malta humması yerine "Undulant humma" tabiri de kullanılmaktadır (131).

Brucella ovis ilk olarak Avustralyalı araştırmacı Gun tarafından 1942 yılında incelenmiş, 1953 yılında Budlle ve Boyes Yeni Zelanda'da ki epididimitis ve orşitisli koçlardan izole ettikleri etkeni *Brucella ovis* olarak adlandırmışlardır (131,132). *Brucella neotomae*, Stoonner ve Lackman tarafından A.B.D. Utah eyaletinde 1957 yılında çöl ağacı ratlarından izole edilmiş ve bu etkenin koyun, keçi, sığır ve domuzlar için patojen olmadığını saptamışlardır (130,131). 1968'de Carmichael ve Bruner tarafından A.B.D.'de av köpeklerinde yaygın bir şekilde aborta yol açan *Brucella canis*'i izole etmişlerdir (130,131,132).

Türkiye'de Brucellosis etkenleri ilk defa 1915 yılında Kuleli Askeri Hastanesi'nde tedavi edilen bir erde Kural ve Akalın tarafından tespit edilmiştir. Berke 1931 yılında sığırlarda Brucellosis'i ilk tespit edendir. İnsan ve hayvanlarda Brucellosis'in varlığı 1943'de Golem, Koyunlardaki varlığı ise 1944 yılında Köylüoğlu ve Aktan tarafından serolojik olarak saptanmıştır (63,130,132). *Brucella melitensis*,

Özcebe tarafından ülkemizde ilk defa koyun ve kıl keçilerinden izole edilmiş, *Brucella canis* enfeksiyonu serolojik yöntemlerle köpeklerde İstanbulluoğlu ve Diker tarafından tespit edilmiş ve *Brucella abortus* enfeksiyonu ise yine serolojik olarak İzgür ve arkadaşları tarafından 1988 yılında ortaya konulmuştur (130).

3.2 Brucellosis'in Epidemiyolojisi

Brucellosis hayvanlarda 120 den fazla ülkede rapor edilen dünya çapında bir problemdir. Özellikle çoğu Ortadoğu ve Akdeniz bölgesi ülkelerinde bilhassa *Brucella melitensis* formu oldukça yaygındır. İnsan Brucellosis'inin epidemiyolojisi tarımsal ekonomi, çiftçilik metotları, gıda tüketim alışkanlıkları, hijyen standartları ile gerek kırsal gerekse kentsel alanların gelişmişliğine bağlı olarak bölgeden bölgeye değişen farklılıklar gösterir (196). Örneğin koyun ve keçilerde görülen Brucellosis, Avrupa'nın Akdeniz bölgesinde, Afrika'da, Rusya'nın güney doğusunda, Mongolya ve Ortadoğu'da önemli bir problem teşkil etmektedir. *Brucella ovis*'in yol açtığı koçlarda epididimitis Yeni Zelanda, Avustralya, Afrika ve Avrupa'da çok yaygındır. Domuzlarda Brucellosis çok sık görülmemekte ancak zaman zaman Avrupa ve Asya'da ortaya çıkmaktadır. Köpeklerde *Brucella canis*'in yol açtığı enfeksiyonlara ise, dünyada araştırması yapılmış hemen her ülkede rastlanmıştır (162).

İnsan Brucellosis'i, keçiler arasında yüksek oranda *Brucella melitensis* enfeksiyonu bulunan çok gelişmiş ülkelerde bile hala önemli bir halk sağlığı problemi olarak devam etmektedir. Arjantin, Güney Amerika'da keçi Brucellosis'inin en yüksek prevalansta (%5 den fazla) seyrettiği ülkelerden biridir. Bu durum sıhhi kontrol olmaksızın yapılan hayvan geçişleri ve kimyevi gübre üretimi için keçi gübresinin büyük çaptaki ticareti ile çıkmaktadır (195).

İnsanlarda ve evcil hayvanlarda Brucellosis'in önlenmesi, hayvanların test edilmesi ve pozitif olanların kesilmesi politikasıyla hayvanlardan enfeksiyonun eradike edilmesine bağlıdır. Bazı ülkeler sığırlardan *Brucella* enfeksiyonunu eradike etmiştir. A.B.D.'nin 16 eyaletinde bu sistem başarıyla yürütülmüş ve Brucellosis'li hayvanlar eradike edilmiştir. 1947' de yürütülen bu projeye insidens, 6321 insan vakasından (%0.00044) 231'e (%0.000011) düşmüştür. 1969'da 70 insan vakası bildirilmiştir ki bu vakalar et işleme alanlarında çalışan kişilerdi ve büyük ölçüde infekte domuzlardan köken alan *Brucella suis*'e bağlıydı. Benzer şekilde İngiltere ve Kuzey İrlanda'da

yürütülen bu projelerle 1963'ün sonlarında bu ülkelerde Brucellosis'li sığırlardan arındırıldılar (42).

Brucella dünyaya yayılmıştır. 1930-1945 yılları aralığından itibaren hastalıkla ilgili üst düzeyde önlemler geliştirilmiştir. Çeşitli devletlerde özellikle 1955'den başlayarak, bu mücadeleden başarı elde edilmiştir. Bu tarihten itibaren Brucellosis'de geriye doğru gidiş başlamış ve bu gidişin sonucunda İskandinav ülkeleri başta olmak üzere Hollanda, Danimarka, Almanya, İsviçre, Romanya, Çekoslovakya, İspanya ve Lüksemburg kontrol sağlamıştır (152)

Brucella melitensis, Shaw tarafından 1905'de Malta'daki ineklerin sütünden izole edildi ve incelediği ineklerin %30'u pozitif aglütinasyon gösterdi. 1980'de, Feinhaken ve Dafni, İsrail'deki sığırlardan izole edilen *Brucella* türlerinin %40'ının *Brucella melitensis* olduğunu rapor etmiştir (9).

Fransa'da yapılan çeşitli araştırmalar, doktorlar tarafından teşhis edilen vaka sayısını bulmak için bildirilen vaka sayısının 5 faktörü ile çarpılması gerektiği sonucuna yol açmıştır. Fransa'da 9 ilde 3.3 milyon nüfuslu bir bölgede 3067 doktorla işbirliği yapılarak bir çalışma yürütülmüştür. 1985 ve 1986 yılında toplam 365 insanda Brucellosis vakası tespit edilmiş olup aynı dönemde bildirimli zorunlu olmasına rağmen yalnız 84 vaka sağlık kurumlarına bildirilmiştir (146).

Brucellosis'in gelişimi insanlar ve hayvanlarda oluşuna göre farklılık gösterir. İnsanlarda Brucellosis'in, hayvanlardaki Brucellosis'in azalmasıyla birlikte azalıyor olması mantıklı bir düşünce tarzıdır. Ancak, Fransa'da hayvanlarda Brucellosis vakası, insanlarda görülen vaka sayısından çok daha hızla artmaktadır. 1984'de infekte sığırların oranı %0.067, koyunların %0.27 ve keçilerininki de %0.39 iken bu oran 1986'da sığırlarda %0.01, koyunlarda %0.09 ve keçilerde %0.03 olarak gerçekleşmiştir. Bu dönemde hastalığa yakalanan insan sayısının 1100 teşhis edilmiş vakaya ulaştığı tahmin edilmektedir (146).

Birçok evcil ve yaban hayvanlarının *Brucella*'ya karşı duyarlı olması ve türler arası çapraz kontaminasyonun yaygınlığı, hastalığın dünyanın hayvancılık yapılan bölgelerinde sıkça görülmesine neden olmaktadır. *Brucella* enfeksiyonlarının en yoğun olarak görüldüğü bölgeler ise; başta Akdeniz ülkeleri olmak üzere Avrupa ile Kuzey ve Güney Amerika'dır. Hastalığın Afrika ve Asya'daki çıkışları son derece değişiklik göstermektedir. Brucellosis, uygulanan eradikasyon programları ile yalnızca birkaç

ülkede ortadan kaldırılabilmektedir. WHO'nun verilerine göre, günümüzde tüm dünyada yılda 500.000 insanın Brucellosis'den etkilendiği rapor edilmektedir (64). *Brucella* infeksiyonlarında semptomların çok yönlü olması ve hastalığın diağnozunun vakaların çoğunda yapılamamasına bağılı olarak, *Brucella* ile infekte insan sayısının ülkelerin çoğunda bildirilen rakamların çok üzerinde olduğu sanılmaktadır. Türkiye'de hastalığın hayvanlardaki insidensine bağılı olarak sağıklı veri bulunmamaktadır. Türkiye'de 1970-1990 yılları arasında bildiri yapılan Brucellosis olgu sayısı özellikle 1980-1990 yılları arasında bir artış eğilimi oluşturmuş ve infeksiyona yakalanma oranının 100.000 de 8.69'a ulaştığı bildirilmiştir (64).

Devlet İstatistik Enstitüsü'nün verilerinde Türkiye'de insanlarda görülen Brucellosis vaka sayısının 1991'den 1998 yılına kadar sırasıyla 4658, 6197, 6795, 8383, 8184, 9480, 11812, 12330 olduğu, aynı yıllar içerisinde ölümle sonuçlanan vaka sayısının ise yine sırasıyla 4, 0, 2, 0, 9, 9, 1, 1 olarak şekillendiği görülmektedir. (51).

Türkiye'de insanlar üzerinde Brucellosis'in yayılımını incelemek açısından bazı araştırmalar yapılmıştır. Günhan ve ark. (78), İzmir Bornova Kayadibi köyünde 65 köylünün 22'sinde Brucellosis saptadıklarını bildirmektedirler. İnci (86), 1988-1989 yıllarında Batman yöresinde yaptığı bir araştırmada 88 kişiden 11'inde (%13) serolojik olarak *Brucella* antikorlarını bulduğunu, başka bir çalışmasında ise (85), köy posta dağıtıcılarında %25 oranında Brucellosis saptadığını ifade etmektedir. Malatya'daki kasaplar üzerinde yapılan bir araştırmada (53), 104 kasaptan 3'ünde (%2.9) antikor tespit edildiği bildirilmiştir. Fazlı ve ark. (68), 1982-1986 yılları arasında Kayseri yöresinde yapılan taramada toplam 6586 hasta serumunu incelemeye aldıklarını ve yıllar sırasıyla %15.6, %23.1, %12.6, %4.6 ve %4.6 oranında pozitif bulgular gözlediklerini rapor etmişlerdir. Gökteş (73), 1988-1989 yıllarında Erzincan bölgesinde Brucellosis tanısı ile gönderilen 2700 hastadan 419'unda (%15.5) sero-pozitif Brucellosis saptamıştır. Aynı yıllarda Afyon Emirdağ ilçesine bağılı 7 köyde insan Brucellosis'ini saptamak amacıyla yapılan bir başka çalışmada (39) ise, incelemeye alınan 828 kişiden 149'unda (%17.6) bu hastalığın tespit edildiği ifade edilmektedir. Yılmaz ve ark. (210), Elazığ ve yöresinden Fırat Üniversitesi mikrobiyoloji laboratuvarına ulaşan 499 hasta serumunun 45'inde (%10) pozitiflik saptadıklarını bildirmektedirler.

İnsan ve hayvanlarda bütün dünyada sorun olan Brucellosis Akdeniz bölgesi ülkelerinde mevcut zoonozlar arasında en önemlilerinden biridir. Bu hastalığı kontrol altına almak için yapılan çalışmalara rağmen Brucellosis hala halk sağlığı ve ekonomik bakımdan büyük bir tehlike olarak bulunmaktadır. İnsan Brucellosis'i Doğu Akdeniz Bölgesi Ülkelerinde ilk sırada gelen zoonoz bir hastalıktır Bu ülkeler arasında insan Brucellosis'inde en yüksek insidense sahip ülkeler İran (29.8/100000), Suudi Arabistan (32.8/100000), Suriye (21.0/100000), Ürdün (20.4/100000), Filistin (21.5/100000) ve Umman (16.6/100000) olarak tespit edilmiştir. Bahreyn ve Kıbrıs'ta ise insidens sıfırdır (198).

Türkiye'de ulusal Brucellosis kontrol ve eradikasyon planı 26 yıllık bir süreyi kapsayacak şekilde 1984 yılında başlatılmıştır. Plan, 4-8 aylık bütün dişi sığırların *Brucella abortus* S-19 suşu ile, kuzu ve oğlakların *Brucella melitensis* suşu ile aşılmasını kapsamaktadır. 1989 yılında Brucellosis'in sero-prevalansı sığırlarda %3.56, koyun ve keçilerde %1.26 iken bu değerler sırasıyla 1990 da %1.2 ve %2.08, 1991 de %1.01 ve %1.83'dür. Bu yıldan sonra resmi olarak bir değer bildirilmemiş olup Dünya Bankası destekli bu eradikasyon planı 1999 yılında sona erdirilmiştir. Türkiye'de insan Brucellosis'inin insidensi hakkında kesin veriler yoktur. WHO'nun verilerine göre insanlardaki vaka sayısı 1986 da 3.03/100000 iken bu değer düzenli bir şekilde artarak 1996 da 15.11/100000'e ulaşmıştır (197,198)

Ülkemizde Brucellosis'in hayvanlar arasında dağılımını konu alan çeşitli araştırmalar yapılmış ise de, toplumdaki Brucellosis olgularının durumunu gösteren güvenilir bulgular henüz mevcut değildir. Örneğin, 1970-1979 yıllarını kapsayan 10 yıllık sürede Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı'na 45 ilden sadece 755 Brucellosis vakası bildirilmiş olup diğer illerden olgu bildirilmemiştir (45). Bu verilerin epidemiyolojik değerlendirmeye ne derecede yeterli olabileceği tartışma konusudur. Çetin ve arkadaşlarının (45), 1989 yılında Türkiye'deki insanlarda Brucellosis insidensinin saptanması amacıyla yürüttükleri çalışmada toplam 70.009 örnekte çeşitli aglütinasyon yöntemleri ile *Brucella* antikorları aranmıştır. Elde edilen veriler sonucunda ülke nüfusunun %3.18'nin *Brucella* bakterileri ile temas ettiğini ortaya koymuştur.

Birçok gelişmiş ülkede, çeşitli hayvanlarda Brucellosis'e karşı mücadele ve eradikasyon projeleri oluşturularak önemli ekonomik kayıplara yol açan bu

antropozoonozun yok edilmesine çalışılmaktadır. Nitekim bu tip çalışmalar sonucunda Hollanda ve Almanya'da sığırlar arasında Brucellosis'e artık rastlanmamaktadır. A.B.D.'de ise yapılan mücadeleler sonucunda, infekte sığır oranının %11.5'den %3.1'e düşürüldüğü saptanmıştır. Ülkemizde de Tarım-Orman ve Köyişleri Bakanlığı tarafından 26 yılda tamamlanacak olan " Türkiye'de Brucellosis Mücadele Projesi " hazırlanmış ve 1983 yılında yürürlüğe konmuştur. Ülkemizde farklı yörelerde insanlar üzerinde yapılan ve kısıtlı sayıda örneğin incelendiği tarama çalışmalarında, %2.2 ile %14.4 arasında değişen seropozitiflik bildirilmiştir (45).

Yılmaz (206), Türkiye genelinde 1970-1985 yılları arasında yaptığı bir çalışmada, Brucellosis bakımından 72229 adet sığır ve 4298 koyun kan serumunun muayene edildiğini, sığırların %2.3'ünün, koyunların %11.4'ünün taşıyıcı olduklarını saptandığını ve yine bu süre içinde Ankara ilinin değişik hastanelerinde ateşli hastalıktan yatan ve *Brucella* enfeksiyonundan şüphe edilen 1108 insan kan serumu ile 33 insan omurilik sıvısının kontrol edildiğini, kan serumlarından %22'sinin ve omurilik sıvılarından %30'unun bu etken yönünden pozitif olduğunu tespit etmiştir. Pendik Hayvan Hastalıkları Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde 1986, 1987, 1988 yılının ilk altı ayında Brucellosis yönünden 19089 sığır, 1033 abort yapmış koyun ve Brucellosis şüphe edilen 1177 insan kan serumu teste tabi tutulmuş olup; sığırların %11.97'si pozitif çıkmıştır. Ülkemizin değişik yöre ve illerinden ilgili bakanlığa yapılan Brucellosis ihbarları 1980-1987 yılları içinde sığırlarda 201 ve koyunlarda ise 813 olarak gerçekleşmiştir (206).

3.3. Brucellosis'in Etiyolojisi

Brucella etkenleri 0.5-0.7 µm uzunluğunda, Gram negatif, aerobik, hareketsiz, kok, kokobasil yada kısa çubuk şeklinde küçük bakterilerdir. Spor oluşturmayan ve flagellası bulunmayan bu etkenler preparatlarda tek, çift, kısa zincir yada küçük gruplar halinde görünürler (10,11,33,102,189). İnsanlarla beraber birçok hayvan türü için zorunlu parazit olup intraselüler bir karaktere sahiptirler ve hücre içinde ürerler. Polimorf nükleer lökositler ve makrofajlar tarafından fagosite edildiklerinde bu hücrelerde tahrip olmadan kalabilir ve çoğalabilirler (36,102). Bazı durumlarda kapsül benzeri oluşumların meydana geldiği bildirilmesine rağmen gerçek bir kapsülleri yoktur (102). *Brucella* hücreleri klasik yöntemlerle boyanabilirler. Gerçekte aside dayanıklı

olmamalarına rağmen zayıf asitlerle dekolorizasyona direnç gösterme eğiliminde bulunabilirler ve bu nedenle bipolar yada modifiye Ziehl-Neelsen boyama teknikleriyle kırmızıya boyanırlar. *Brucella ovis*'in dışında genellikle Modifiye Köster Boyama metoduyla da kırmızıya boyanabilirler (102). Bu bakterilerin gelişimleri aerob ortamda gerçekleşir. Fakat *Brucella abortus* ve *Brucella ovis* ilk izolasyonlarında %10 oranında CO₂ e gereksinim duyarlar. Birkaç pasajdan sonra aerob ortamda üreyebilirler (36,179).

Brucella hücre duvarının ayrıntılı kimyasal yapısı tam olarak tespit edilememiştir. Yapılan analizler göstermiştir ki toplam bakteri kuru ağırlığının smooth kültürlerde %21'ini, nonsmooth türlerde ise %14'ünü hücre duvarı oluşturur. Smooth *Brucella* hücre duvarları yaklaşık olarak %37 oranında protein, %14 karbonhidrat, %18 lipit, %0.46 muramik asit ve %0.1 2-keto-3-deoxyoctulosonic asit (KDO) ihtiva eder. Nonsmooth tarzdaki *Brucella* hücre duvarları için bu değerler yaklaşık %47.5 protein, %13 karbondioksit, %17 lipit, %0.4 muramik asit ve %0.1 KDO şeklindedir (102).

Etken, 37 °C de optimal üreme kabiliyetinde olmakla beraber 20-40 °C arasında da üreme gösterebilir. pH 6.6-7.4'de optimum aktivitede bulunurlar (33,64,102,189). Birçok *Brucella* türü thiamin, nicotinamide ve biotin gibi vitaminlerle magnezyum iyonlarını ihtiva eden kompleks bir ortama ihtiyaç duyarlar. Bazı türler ise üremeleri için tek nitrojen kaynağı olarak amonyum tuzu ihtiva eden ortamı yeterli bulabilirler. Gelişmeleri için besiyerine %5-10 oranında normal serum yada kan serumu ilavesi üremeyi destekler. Fakat hemin (X-faktör) ve nicotinamide adenine dinucleotid (NAD:V-faktör) gerekli değildir (10,11,102). Safra tuzları, tellurite yada selenit ihtiva eden ortamlarda büyüme engellenir (11).

3. 4. Koloni Formasyonları

Brucella grubu mikroorganizmalar 4 farklı koloni yapısına sahiptirler. Bunlar Smooth (S), Rough (R), Muroid (M) ve İntermedier (I) tip kolonilerdir. Bu koloni tipleri birbirlerinden gelişme gösterdikleri ortamda oluşturdukları koloni formasyonları, şekilleri, kristal violet ile boyanma reaksiyonları ve nötral akriflavin solüsyonunda aglutine olabilme özelliği ile ayrılabilirler. Akriflavin testte smooth koloniler süspansiyonda kalırlar. Bununla birlikte rough koloniler hemen aglutine olurlar. Muroidler ise ipliksi bir yapı oluştururlar. İntermediate koloniler süspansiyonda kalabilirler yada çok iyi bir aglutinasyon oluşturabilirler. Kristal violet ile boyamada

smooth koloniler boya almazlar. Çözünmüş koloniler kırmızı ve pembenin değişik tonlarında boya alırlar ve yüzeyde radial çatlaklar görülebilir (10,11).

Sıvı vasatlarda *Brucella*'ların gelişmesi yoğun aerosyon oluşturulmadıkça genellikle zayıf bir şekilde olur. 37 °C'de 7 günlük sabit bir inkübasyonda smooth türler açık toz şeklinde bir tortuyla hafif bir bulanıklık oluşturur. Nonsmooth türler değişken bir bulanıklık ve yüzeyde zarımsı bir tabakayla beraber granüler bir tortu oluşturabilir. Sabit sıvı ortamda gelişme smooth türlerin nonsmooth türlere dönüşümü şeklinde oluşabilir (11).

Yarı katı ortamda, CO₂ e ihtiyaç duyan *Brucella abortus* ve *Brucella ovis* kültürleri yüzeyin alt kısmında birkaç mm'lik büyüme diski oluşturur. Bununla birlikte gelişim için CO₂ e gereksinim duymayan *Brucella* türleri yüzey kısmın altından birkaç mm derinliğe kadar tek örnek bir bulanıklık meydana getirir (10,11).

İlk izolasyonlarında *Brucella* türünün kolonileri 48 saatten önce nadiren görünürler. Kültürlerin 3 günlük inkübasyonundan sonra katı besleyici vasatta *Brucella* kolonileri görünür hale gelirler. Katı selektif vasatta gelişme birkaç gün gecikebilir. Ancak hem selektif hem de selektif olmayan vasatta üreme göstermeyen kültürler ekarte edilmeden önce yaklaşık 10 gün kadar rutin olarak kontrol edilmelidir (11,102). 72 saatlik inkübasyon safhasında Serum Dekstroz Agar (SDA) üzerindeki koloniler genellikle 0.5-1 mm çapında, kabarık, konveks, sınırları tam belli olan yuvarlak görünüşte bir yapıya sahiptirler. Işığa doğru tutulduğunda, smooth türlerdeki kolonilerin yüzeyinin parlak olduğu ve açık solgun sarı renkte görüldüğü saptanır. Kolonilerin üzerine ışık yansıtıldığında parıldayan pürüzsüz bir yüzey görünümünde olup mavimsi-gri renkte görünürler. Nonsmooth türlerin kolonileri smooth kolonilerle benzer çap ve şekildedirler. Fakat renk, yoğunluk ve yüzey şekli bariz şekillerde farklılık gösterir. R yapısındaki koloniler S kolonilere göre ışığı daha az geçirgen ve daha fazla granüler yapıda olup, donuk tonda bir yüzey ve mat beyaz, sarımsı-beyaz yada kahverengimsi-sarımsı bir renkten kahverengine değişen tonlarda bir renk aralığındadır. M formundaki koloniler renk ve şeffaflık yapısı bakımından R formundaki kolonilere benzerlik gösterir. Fakat tutkalımsı bir kıvamı vardır (102). Bütün koloni formları inkübasyonun ilerleyen günlerinde daha büyük bir çap ve daha koyu bir renge bürünürler. İlk izolasyonlarında, koloniler vasatta kalan yağ globülleri ve doku parçacıklarından dolayı atipik bir şekle sahip olabilirler (10,11,102).

3. 5. Türler ve Antijenik Yapıları

Uluslararası Taksonomi Komitesi *Brucella* cinsinin 6 türden oluştuğunu belirtmektedir. Bunlar *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella neotomae* ve *Brucella canis*'dir. Fakat temel olarak *Brucella* cinsi *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* ve *Brucella suis*'in yer aldığı 3 ana türden oluşmaktadır. Diğer *Brucella* türleri bazı otoriteler tarafından diğer temel türler yada bunların biyotürleri olarak ele alınmasına rağmen bu türlerde esas türler altında isimlendirilmiştir (23,42).

3 biyotipden oluşan *Brucella melitensis*'in genel olarak esas konakçıları koyun ve keçilerdir. Bunun yanında sığır, domuz ve insanları kapsayan diğer canlı türleri de infekte olabilir. Genelde, *Brucella melitensis*'in smooth kültürleri laboratuvar hayvanları için *Brucella abortus*'dan daha fazla virulenttir ve fetal infeksiyonlara yol açabilirler. Nonsmooth kültürler genellikle hem laboratuvar hayvanları hem de doğal konakları için avirulent bir yapıdadır. *Brucella melitensis* insanlarda en önemli zoonoz hastalıklardan biridir (102).

Brucella abortus'un esas konakçıları genelde sığırlar ve bu familya içerisinde yer alan hayvanlardır. Ayrıca at, deve, koyun, geyik, karaca, köpek, insan ve diğer türlerde bu etkenle infekte olabilirler. Tavşan, kobay ve fareleri kapsayan laboratuvar hayvanları için patojendir. Rough türleri genellikle avirulent olmasına rağmen inokulasyondan sonraki bazı anlarda farelerin dalağında etkenler saptanmıştır. *Brucella abortus*'un yol açtığı insan infeksiyonları oldukça sık meydana gelmektedir. *Brucella* cinsinin taksonomisini inceleyen alt komitenin 1962 yılındaki toplantısında *Brucella abortus*'un 9 biyotipinin olduğu bildirilmiştir. 1978 yılında, *Brucella abortus* biyotip 8'in yıllarca gerçek bir izolatının rapor edilmemesinden ve kullanılabilir bir referans türünün olmamasından dolayı alt komite tarafından listeden silinmiştir. Şu anda toplam 8 biyotipin karakterizasyonu yapılmaktadır (10,11,36,42,102).

Brucella suis'in 5 biyotipi vardır. Bu biyotiplerin ilk üçü doğal olarak domuzlar için patojendir. Biyotip 2 aynı zamanda yabani tavşanları da doğal olarak infekte eder ve evcil domuzlar yabani tavşanlarla kontakta bulunurlarsa infeksiyona yakalanabilirler. Biyotip 4, Rusya ile Kanada ve Alaska'daki ren geyiklerinden izole edilmiştir. Bu hayvanların etiyle beslenen Eskimolarda Brucellosis vakaları ortaya çıkmaktadır. *Brucella suis* biyotip 5 Rusya'daki rodentlerden izole edilen türlerle özdeşleşmiştir.

Brucella suis biyotip 1, 3 ve 4 insanlar için oldukça patojendir. Tavşan, fare ve kobayların içinde olduğu laboratuvar hayvanları için patojenik özelliğindedir (10,11,42,102).

Brucella ovis esas olarak koçların orchitiden sorumlu etken olmakla beraber nadiren koyunlarda abortlarla kendini gösterir. Keçiler deneysel olarak infekte edilebilirler. Sığır, kobay, tavşan, fare ve kemirici bir hayvan türü olan gerbillerde subklinik infeksiyonlar oluşturulabilir. İnsanlar bu etkenle infekte olmazlar. Tanımlanan bir biyotipi yoktur (10,11,42,102).

Brucella neotomae, A.B.D.'nin batı bölgelerinde yaşayan çöl ağacı ratından izole edilen ve biyotipi olmayan bir türdür. Doğal konağı olan bu hayvanda görünüşte bir hastalık oluşturmaz. Laboratuvar hayvanları için minimal patojenite gösterir. İnsanlar için patojenliği bilinmemektedir (10,11,42,102).

Brucella canis, dişi ve erkek köpekler için patojendir. Diğer hayvan türlerinde enfeksiyon oluşturduğuna dair güvenilir bir bulgu rapor edilmemiştir. İnsanlarda bu türün yol açtığı enfeksiyonlar nadiren meydana gelir. Kobay ve farelerde büyük dozlarda etken inokulasyonu ile deneysel olarak enfeksiyon meydana getirilebilir. Herhangi bir biyotipi yoktur (10,11,42,102).

Brucella melitensis, *Brucella abortus*, *Brucella suis* ve *Brucella neotomae* normal şartlarda S koloni yapısındadır. *Brucella ovis* ile *Brucella canis* ise R koloni özelliği gösterirler (10,11,130). S koloniler her zaman için patojenik ve antijenik yapıdadırlar. Bununla birlikte R koloniler ise daha az infektivite gösterirler ve antijenik özellikleri yoktur (130). Bir *Brucella* kültürünün koloni morfolojisindeki herhangi bir değişiklik onun virulansı ve antijenik karakterinin değişmesi ile alakalıdır (132). Diğer birçok Gram negatif bakteri gibi *Brucella* da S ile R koloni değişimini sergiler. S yapısından R yapısına değişim olması, etkenin virulansının azalması, otoaglutinasyon eğilimi ve S yapısındaki türler için spesifik aglutininler sağlayan antijenlerin azalması ile ilgilidir (10,11,132).

Brucella hücreleri çeşitli yöntemlerle (ultrasonikasyon, dondurup çözündürme ve diğer fiziksel yöntemler) parçalanırsa konvansiyonel immun elektrofözde hiperimmunserumlara karşı 20 eriyebilir antijen elde edilebilir. Dimensiyonel immuno elektroföz kullanılırsa homolog antiserumlar ile 30 dan fazla presipite olan antijen ortaya konulabilir. *Brucella* somatik lipopolisakkarid (LPS) antijenleri smooth

ve non-smooth suşlar arasında farklılık gösterirken, dış membran proteini ise tür grupları arasında değişiklikler göstermektedir (22).

1908 den itibaren *Brucella*'ların antijenik yapıları üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Ancak R ve S formlar bu esnada bilinmediği için elde edilen sonuçlar farklı şekillerde yorumlanmıştır. Örneğin morfolojik ve kültürel yapısı *Brucella melitensis*'e benzediği halde antimelitensis serumla düşük titrede aglütinasyon veren suşlara paramelitensis denilmiştir. Aynı durum *Brucella abortus* içinde söz konusu olmuş ve bunlara da para-abortus ismi verilmiştir. Aslında burada şekillenen olay S formunda olan *Brucella melitensis* ve *Brucella abortus*'un R forma geçişidir. Gözlemlere göre 3 ana türün R formları müşterek bir antijene sahip olsalar da aynı değillerdir. *Brucella ovis* ve *Brucella canis*'in S antijenleri yoktur, ancak R *Brucella*'lara karşı hazırlanmış olan antiserumlarla aglütinasyon verirler (131).

Bütün *Brucella* türleri birbiriyle yakından ilişkilidir ve bazılarının birçok ortak antijen paylaşımı vardır. *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* ve *Brucella suis*; A ve M diye isimlendirilen ve LPS protein kompleksinde olan iki önemli yüzey antijenine sahiptir. *Brucella abortus* M antijeninden daha çok A antijenini ihtiva eder. *Brucella melitensis* ise tersi olarak M antijenine daha çok sahiptir. *Brucella suis*'in antijenik yapısı *Brucella abortus*'a benzemekle beraber M antijeni *Brucella abortus*'da olduğundan daha fazladır. Bunların yanında *Brucella ovis* ve *Brucella canis* antijenik olarak rough yapısında oldukları için A ve M antijenlerine sahip değillerdir ve her ikisi de R yüzey antijeni içerirler (36,102). *Brucella ovis* ve diğer nonsmooth *Brucella* türlerindeki R antijenleri protein miktarı düşük olan LPS protein kompleksi şeklinde karakterize edilir. R antijenini ihtiva eden nonsmooth türler muhtemelen smooth türlerin A ve M aglütinojenlerinde bulunan yüzey antijenlerinden en az birini yapısında bulundurabilirler. Bazı nonsmooth *Brucella* türlerinde mukoid koloni formu ile ilişkili olarak diğer iki yüzey antijeni mevcut olabilir ve bunlar özel bir tür olabilirler (102).

S yapıdaki *Brucellalar*, anti-S *Brucella* serumunun varlığında aglütine olurlar. Yapısı bozulmuş S koloniler ve R koloni yapısındaki türler anti-R *Brucella* serumuyla aglütine edilirler. Ayrıca anti-S serum ve normal serum ile zayıf bir aglütinasyon gösterirler (102).

3. 6. *Brucella* Türlerinin Patojeniteleri

Brucella'lar fakültatif intrasellüler patojenler olarak yaşamlarını sürdürürler ve Reticuloendothelial Sistem (RES) ile ilgili dokulardaki hücrelerin içinde çoğalırlar (179). Başlıca, Polymorphonuclear Leucocytes (PMNLs) ve makrofajlarda intrasellüler olarak bulunan *Brucella*'ların bu hücre içi yaşamlarında phenolic LPS'nin önemli bir rolü olduğu öne sürülmektedir. *Brucella*'nın R varyantlarının önemli miktarlarda endotoksin içerdiği tespit edilmiştir (179). Bu endotoksin *Brucella* etkenlerinin patojenitesinde önemli bir rol oynayabilir. *Brucella abortus*, PMNLs'nin peroksidaz pozitif granüllerinin granulasyonunu inhibe eden 5'guanosine monophosphate ve adenine salgılar. Buda etkenin intrasellüler olarak canlılığını devam ettirmesini sağlar (36).

Brucella bakterisi gastrointestinal sistem, deri, nadiren de solunum yolu veya diğer mukoza yüzeylerinden alındıktan sonra, ilk üremesini bölgesel lenf bezlerinde (mezenterik, aksiller, servikal, supraklaviküler) gerçekleştirir. İlk üremesini bölgesel lenf yumrularında gerçekleştiren etkenler kısa sürede kan dolaşımına ulaşırlar. 2-3 haftalık bakteriyemi döneminden sonra hematojen yolla RES organlarına yayılırlar. Yerleştiği organlar başlıca; karaciğer, dalak, kemik iliği, böbrekler, endokard, meme, testis ve overlerdir. *Brucellalar* tendo, bursa, büyük eklem ve vertebralarda yerleşerek buralarda da bir dizi patolojik değişikliklere neden olurlar. Bu bölümlerde en çok periferik eklemler, diz, kalça ve dirseklerde kolonize olurlar (9,36,102,130,181).

Brucella etkenlerinin üreme organlarını daha çok tercih etmesinin nedeni erythritoldur. Polyhydric alcohol (erythritol) *Brucella*'nın gelişmesinde stimulan bir etkiye sahiptir. İnsan plasentasında erythritol bulunmadığından dolayı insanlarda Brucellosis'e bağlı düşük riski diğer bakteriyel enfeksiyonlarından fazla değildir (36,130,179,181).

Brucella melitensis ve *Brucella suis* ile bazen fetal enfeksiyonlar oluşabilir. Diğer türler nadiren ciddi enfeksiyonlar meydana getirirler (102)

3. 7. Klinik Seyir

3. 7. 1. Hayvanlardaki Semptomlar : *Brucella*'yla oluşan enfeksiyonların tespiti, bakterinin sayısı, virulensi ve etkenin yerleştiği canlının immun savunma mekanizmalarıyla ilgili olan direncine bağlıdır. Brucellosis, sığırların en önemli

hastalıklarından biridir. Etkenin inkübasyon süresi 10 gün ile 6 ay arasında değişmekle beraber ortalama 2-3 haftadır (130,132). Enfeksiyonun başlangıcında hayvanın vücut ısısında pek farkına varılmayan bir yükselme meydana gelir. İneklerin enfeksiyonunda bakteriyemi safhasından sonra etken gebe uterus plasentasına kolonize olur (Placentitis). Hayvan gebe değilse genellikle meme lenf yumrularında lokalizasyon meydana gelir (Interstitial mastitis). Etkenler sütle saçılır. Ayrıca; karaciğer, akciğer, lenf yumruları ya da dalakta da etkenler bulunabilir. İnekler yıllarca infekte kalabilirler. Erkek sığırlarda enfeksiyon; testis, epididimis ya da seminal keselerde kolonizasyon ve yaygın bir sonuç olarak apseleşmeler meydana gelir. *Brucella* organizmaları semenle atılabilirler. Infekte ineklerden çiftleşme ile boğalara geçmez. Fakat infekte boğalar inekleri infekte edebilir. Hastalığın sonucu olarak infekte ineklerde genellikle 6. ve 8. aylarda abortlar meydana gelir. Hayvanların uterus dokusunda yüksek miktarlarda bulunan erythritol abort olaylarının başlıca sebebidir. Ayrıca dişi ve erkeklerde sterilite ve infertilite ile sonuçlanan vakalar ortaya çıkar (36,179).

Koyun ve keçilerde başlıca klinik belirti yavru atımıdır. Abort olayı gebeliğin 2-4. aylarında veya doğumdan kısa bir süre önce gerçekleşir. Bunun yanında kısırılık, mastitis, tekelerde orşitis ve epididimiytis ile beraber düşünlük, zayıflama, bronşitise bağlı öksürük, eklem şişkinlikleri ve topallık görülebilir. Epididimisler şişmiş ve kalınlaşmış, testisler atrofik bir durum almıştır. Gebe olmayan koyun ve keçilerde hastalığa karşı nispi bir direnç vardır (130,132). Süt verimi %20 oranında azalabilmektedir. Süt sağılınca kolayca pıhtılaşır, renginde de önemli değişiklikler meydana gelir (18).

Her yaştaki domuzlar *Brucella* etkenine karşı duyarlıdırlar. Domuz Brucellosis yavru atma, sterilite, ölü doğum ya da zayıf yavru doğumu, çeşitli organlarda apseleşme, spondilitis ve topallıkla karakterizedir. Yavru atma gebeliğin herhangi bir anında meydana gelebilir. Genellikle yalnız bir kere abort yaparlar. Brucellosis evcil domuzlarda sığırlarinkinden daha yaygın bir enfeksiyondur. *Brucella suis*, domuz uterusunda metritis ve steriliteye yol açar ve uzun süre yerleşik kalabilir. Hatta 30 ay sonra bile uterus atıklarından etken izole edilebilmiştir (36,179).

Köpeklerde oral enfeksiyonda inkübasyon periyodu 6 ile 21 gün arasındadır. Hastalığın bakteriyemik fazı 2 yıl devam edebilir. Köpeklerde enfeksiyon belirtileri çok belirgin değildir. Infekte dişi köpekler, genellikle gebeliğin 3. döneminde abort

yaparlar. Abort esnasında ölü doğmayan yavru köpekler kısa sürede ölürlür. Abortu takiben sarı-kahverengi ile koyu kahverengine sahip olan ve 1 ile 6 hafta kadar devam edebilen atıklar vardır. Fetusun resorbe olması enfeksiyonun bir başka olası sonucudur. Kemiklerde oluşan enfeksiyonlar kronik osteomyelitis ve diskospondylitisle sonuçlanır. Azalan spermatogenesisle birlikte prostatitis, epididimiytis ve testiküler atrofi erkek köpeklerde yaygındır ve steriliteyle sonuçlanabilir. Yapılan çeşitli araştırmalar, kanatlıların *Brucella*'nın herhangi bir türünden hiçbir şekilde enfekte olamayacağına işaret etmektedir (36).

3. 7. 2. İnsanlardaki Semptomlar: İnsanlarda Brucellosis enfeksiyonu Malta Humması, Akdeniz Humması, Cezayir Humması, Dalgalı Humma gibi ifadelerle tanınmaktadır. Bu enfeksiyona halk arasında Mal hastalığı ve Peynir hastalığı da denmektedir (129,132). Brucellosis klinik planda polimorfik karakterli bir enfeksiyon hastalığıdır. Ülkemizin özellikle bazı bölgelerinde hastalığın endemik olarak bulunduğu dikkate alınır, tanı koymakta tereddüt edilen ateşli vakalarda Brucellosis olasılığı öncelikle düşünülmektedir (96). Brucellosis'in insanlardaki inkübasyon süresi 1 haftadan birkaç aya kadar değişmektedir. Hastalık birçok olguda semptomatik, seyrek olarak ta asemptomatik (subklinik) gidişat gösterir. Brucellosis genellikle halsizlik, iştahsızlık, vücut ağrıları ve subfebril ateş gibi genel enfeksiyon belirtileri ile başlar. Hastalarda septisemi şeklindeki akut, lenfogradulomatöz tipte kronik belirtilerle birlikte yorgunluk, halsizlik, miyalji ve artralji bulguları ile daha çok öğleden sonraları yükselen intermittan veya remittan ateş olur. Üşüme ve titreme belirtileri ile 38-39 °C'yi bulan ateş, 40-41 °C'ye kadar yükselebilir ve genellikle gece yarısından sonra bol terleme ile düşer. 7-10 gün kadar devam eden ateş yavaş yavaş 37 °C'ye kadar düşer ve 3-5 günlük ateşsiz bir dönemin ardından tekrar yükselir. Ondulan ateşi olarak da nitelendirilen bu seyir günümüzde pek fazla görülmeyip ateş kendini remittan veya intermittan olarak göstermektedir (64,96,146,181,196).

Hastalığın en önemli ikinci bulgusu kas ve eklem ağrılarıdır. Olguların %70 kadarında sırt, bel ve koksal ağrılar gibi romatizmal şikayetlerle birlikte arthritis, spondylitis, osteomyelitis, tendosynovitis, bursitis ve sacroilitis gibi osteoarticüler bozukluklar ortaya çıkmaktadır (96,132,181).

İnhalasyon yoluyla enfeksiyonun alındığı durumlarda; bronşitis, bronchopneumoni, plörazi, akciğerde multipl nodüller ve apse odakları gelişebilir. *Brucella melitensis* enfeksiyonunda sarılık gelişimi görülebilirken, *Brucella abortus*'la granulomatöz hepatit bulgularına rastlanır. Meningitis, encephalitis, myelitis, arachnoiditis ve neuropsychiatric vakalar şeklinde nörolojik bozukluklar oluşmaktadır. Bununla beraber en ciddi komplikasyon, kalp kapakçıklarının yırtılması yada kalp ve beyinde oluşan mycotic aneurismlere bağlı olarak meydana gelebilen ölümlerdir. İnfektif emboli, arterial blokaj yada renal harabiyetlere yol açabilir. Erkeklerde sıkça rastlanan unilateral epididimo-orşitis ile nadir olarak ortaya çıkan piyelonefrit ve renal apse genito-üriner sistem bulgularıdır. İnsan plasentası çok az erythritol ihtiva ettiği için, *Brucella* bakterilerinin gebelerde plasentaya affinitesi düşüktür. İnfekte hayvan plasentasına çıplak elle müdahale eden veteriner hekim yada sağlık teknisyenlerinin el ve kollarında Brucellosis'e bağlı dermatit görülebilir. Hastalık hemotolojik olarak anemi, lökopeni, trombositopeni ve pansitopeni ile seyreder (6,64,96,129,130,132,152,181,196).

3. 8. Laboratuvar Teşhis Yöntemleri

Brucella enfeksiyonlarının semptomları diğer birçok enfeksiyöz hastalıklarda olduğu kadar özellikle hayvanlarda patognomonik değildir. Bu nedenle tanıda klinik bulgular güvenilir bulunmamaktadır. Brucellosis'in teşhisi direkt ve indirekt yöntemlerle yapılmaktadır. Etkenin kültürel metotlarla izolasyon ve identifikasyonuna direkt tanı yönteminin kullanımı güvenilir olmakla birlikte geniş yelpazede elverişli değildir. Serolojik yada hücresel (allerjik) immün tepki temeline dayanan indirekt tanı yöntemleri yaygın olarak kullanılır. Kültürel tanı yöntemi, izolasyon ve identifikasyonun uzun zaman alması ve etkenin kontaminasyon riskinin yüksek olması nedeniyle olumsuzluklar taşır. İndirekt tanı metotları daha hızlı sonuç vermesine rağmen teşhiste yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar verebilir (29,130).

Son yıllarda biyomoleküler alanda meydana gelen gelişmelerle *Brucella* etkenlerinin de genetik haritası ortaya çıkarılmıştır (130). *Brucella* DNA'larının invitro çoğaltılması esasına dayanan Polymerase Chain Reaction (PCR) ile bu alanda başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Bu metotla *Brucella*'ya spesifik primerler kullanılarak *Brucella* etkenlerinin, kültürel işlemlere gerek duyulmaksızın süt ve ürünleri ile atık

fötusun çeşitli dokularından çok kısa bir sürede direkt olarak tespiti mümkündür. Bu teknik çabuk, duyarlı ve daha güvenilir olması nedeniyle diğer metotlara üstünlük sağlamaktadır (46,130).

3. 8. 1. Direkt Teşhis

a) **Mikroskopik Teşhis** : *Brucella*'lar dokularda yüksek sayıda buldukları zaman boyanmış frotilerde teşhis edilebilirler. Fötal membran, mide içeriği ve akciğeri ile vaginal atıklar, plasenta, kotiledonlar, seminal sıvı, lenf bezleri gibi materyallerden frotiler hazırlanıp boyanarak muayeneleri gerçekleştirebilir (9,10,11,29,67,130). *Brucella*'ların sütte az sayıda bulunması ve her zaman karakteristik görünüşte olmaması nedeniyle sütün *Brucella*'lar yönünden mikroskopik muayenesi her zaman fazla güvenilir değildir (132).

Sonuçlar ister pozitif ister negatif olsun kültürle teyit edilmelidir. Preparatların boyanmasında en yaygın olarak modifiye Ziehl-Neelsen ve modifiye Köster metotları kullanılmaktadır. *Brucella* etkenleri modifiye Ziehl-Neelsen metodunda mavi zemine karşı kırmızı, modifiye Köster metodunda mavi zemine karşı portakal kırmızısı renk alırlar (9,10,11,189).

b) **Kültürel Teşhis**: Kültürel metotlar, atık fötusun akciğer, mide içeriği, dalak ve karaciğerine uygulandığı zaman diagnozda oldukça etkili olurlar. Vaginal atıklarda kültür için oldukça elverişlidir. Süt de, özellikle *Brucella melitensis*'in izole edilmesinde iyi bir numunedir. Sütteki *Brucella* etkenlerinin kültürel yolla teşhisinde keçi numuneleri pozitif sonuçların ortaya konmasında koyun numunelerine göre daha elverişlidir (9,29,196).

Brucella türlerinin çoğu, yaygın olarak kullanılan temel vasatlarda izole edilebilmektedir. Fakat selektif olmayan vasat kullanımı; uterus akıntıları, süt ve ürünleri ile hayvan dokuları gibi saha örneklerinde yoğun şekilde kontaminantların bulunmasından dolayı ilk izolasyon için tavsiye edilmez. Potansiyel kontamine kaynaklardan *Brucella*'nın izolasyonu için selektif vasat kullanımı zorunludur denilebilir (115). Saha numunelerinden *Brucella*'nın izolasyonu için, kan kültürleri hariç, katı vasatlar tercih edilmektedir. Kültürün katı vasatta yapılması *Brucella* etkenlerinin niteliklerini değiştirmesine engel olarak kolonilerin tanınmasını kolaylaştırır ve hızlı gelişme gösteren yabancı etkenlerle karışmayı sınırlar. Bununla

birlikte ortamda az sayıda *Brucella* etkeni varsa numunenin vasata daha büyük hacimlerde katılması gerekir ve buda sıvı vasatların kullanımı ile mümkündür (11). *Brucella* türlerinin izolasyonunda Trypticase soy agar, Bacto-Tryptose agar, Tryptic soy agar, Tryptone soy agar, Trypcase Soy agar, Nutrient Agar, *Brucella* Albimi Agar, Difco *Brucella* Agar, Potato Agar, Karaciğer İnfüzyon Agar katı temel vasat olarak kullanılabilir (10,11,132,189). *Brucella abortus* biyotip 2 ve *Brucella ovis*'in gelişmesi ve izolasyonu için vasata %2-5 oranında serum ilavesi gereklidir. Bunun yanında birçok laboratuvarında saha numunelerinin kültüründe vasata rutin olarak serum ilave edilir. Bu amaç için *Brucella* antikorları içermeyen ve filtrasyonla sterilize edilmiş özellikle at yada sığır serumu kullanılır. Serum ilavesinin *Brucella melitensis*'in gelişmesini desteklediği ifade edilmektedir (9). Diğer etkenlerle kontamine olmayan materyallerin Serum Dekstrose Agara (SDA) direkt olarak inokule edilmesiyle *Brucella* organizmalarının gelişimi arzulanan düzeyde gerçekleşir. Kontamine etkenlerin muhtemel olarak bulunduğu örneklerde izolasyon selektif vasatlarda gerçekleştirilmelidir (102). Bazı araştırmacılar, basal vasatlara değişik düzeylerde çeşitli antibiyotikleri ilave ederek selektif vasatlar üretmişlerdir. Selektif vasatların hazırlanmasında yukarıda bahsedilen basal vasatlardan herhangi biri kullanılabilir. Selektif vasat kavramı ilk olarak 1953 yılında Kuzdas ve Morse tarafından ileri sürülmüştür. Bu araştırmacılar basal vasatın her litresi için 100 mg cycloheximide, 25.000 IU bacitracin ve 6000 IU polymyxin B sülfat ilave ederek selektif vasat hazırlamışlardır. 1954 yılında Renoux, vasata bu antibiyotiklere ilaveten son konsantrasyonu 1:800.000 olacak şekilde ethyl violet boyası ilave etmiştir (10,11,132). Kuzdas ve Morse'nin metodu birçok laboratuvarında başarıyla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bazı merkezler kullanılan antibiyotik miktarlarında belirli modifikasyonlar yapılmasını önermişlerdir. United States Department of Agriculture (USDA) laboratuvarları yukarıda belirtilen antibiyotik miktarlarının yalnız %30'unu kullanmaktadır. USDA prosedürü, her litre basal vasat için 30 mg cycloheximide, 7500 IU bacitracin ve 1800 IU polymyxin B sülfat kullanımını gerektirir (189). 1971 yılında ortaya konulan modifiye Thayer-Martin'in selektif vasatı, özellikle *Brucella ovis*'in izolasyonunda oldukça etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca, sonuçlar bu selektif vasatın *Brucella melitensis*'in izolasyonu içinde gayet elverişli olduğunu göstermiştir. Modifiye Thayer-Martin'in selektif ortamı, basal vasatın her litresine 10 mg hemoglobin ve 7.5

mg colistin methonesulphonate ile 3 mg vancomycin, 10 mg nitrofurantoin ve 12.500 IU nystatin ilave edilerek hazırlanır (10,11,29,132). 1974 yılında, Farrel tarafından geliştirilen selektif vasatla özellikle süttten *Brucella abortus*'un izolasyonu yapılmaya çalışılmıştır. Bunun yanında Farrel'in bu selektif vasatının *Brucella melitensis*'in izolasyonunda kullanılması tavsiye edilmektedir. Temel vasat olarak kullanılan SDA'ın her litresine 25.000 IU bacitracin, 5000 IU polymyxin B sülfat, 100 mg cycloheximide, 20 mg vancomycin, 5 mg nalidixic asit ve 100.000 IU nystatin ilave edilerek Farrel'in selektif ortamı hazırlanmış olur (10,11,29,102,132).

Farrel'in antibiyotik formulasyonu ile desteklenmiş SDA birçok smooth karakterdeki *Brucella* türlerinin izolasyonu için oldukça elverişlidir. Fakat bu vasat ortamı *Brucella canis* ve *Brucella ovis* için inhibitör etkide gösterebilir. Kontamine materyallerden bu türlerin izolasyonu için modifiye Thayer-Martin vasatı yada %10 oranında ısıyla inaktive edilmiş at serumu ve VCN-F inhibitörü (Vancomycin, Sodium Colistimethate, Nystatin ve Furadatin) ihtiva eden SDA kullanılabilir. Bu vasatlar Farrel'in SDA'ından daha az selektiftir (66,102).

Selektif vasata direkt inokulasyon, *Brucella*'nın izolasyonu için genellikle memnuniyet vericidir. Bununla birlikte, kan, süt, yada semen gibi *Brucella* konsantrasyonunun düşük olabileceği varsayılan örneklerde zenginleştirme prosedürü uygulanmalıdır. Zenginleştirme işlemi ya dalak dokusunun kültürünü takiben kobaylara numunenin intramuscular yolla inokule edilmesi yada sıvı zenginleştirme vasatına aktararak etkenin geliştirilmesiyle gerçekleştirilir (102).

Pantotenik asit, nicotinik asit, tiamin ve biotin gibi vitaminlerin ilavesi başta *Brucella suis* olmak üzere *Brucella* türlerinin gelişiminde olumlu etki gösterir. Bunun yanında; alanin, asparagin, glutamik asit, aspartik asit *Brucella suis*'in gelişimi için gerekli olan aminoasitlerdir (132,189).

Brucellalar aerobik organizmalar olmakla beraber *Brucella abortus* ilk izolasyonunda %5-10 oranında CO₂'e gereksinim duyar. Birkaç kültürden sonra normal atmosfer şartlarında üremeye alışır. Bunun yanında *Brucella melitensis* suşlarında ekseriya az miktarda CO₂'den yararlandığı ve ortama CO₂ ilavesinin belli seviyede gelişimlerini olumlu yönde etkilediği de belirtilmektedir (9,10,11,42,131,132).

3. 8. 2. İndirekt Teşhis

a) Serolojik Teşhis : *Brucella* infeksiyonunun kesin teşhisi etkenlerin izolasyon ve identifikasyonunu gerektirir. Bununla birlikte bakteriyolojik muayene her zaman pratik değildir. Tanı genellikle serolojik testlere bağlı olarak yürütülür ve *Brucella* infeksiyonlarının tanısında serolojik reaksiyonlardan yararlanmak daha pratiktir (11,16).

İnsan ve hayvanlarda Brucellosis'in tanısı için birçok serolojik test ortaya konulmuştur. Bu türlü testler insan ve hayvanlarda latent akut ve kronik enfeksiyonları tespit etme ve aşıllı hayvanlarla infekte hayvanları ayırt etmede kullanılır. Aynı zamanda bu testlerle çapraz reaksiyon gösteren bakterilerle *Brucella* etkenleri birbirinden ayrılır (196).

Brucellosis'in serolojik teşhisinde, testlerden yalnız bir tanesi ile infekte canlıların hepsini saptamak mümkün olmadığından en az iki testin uygulanması önerilmektedir. Çünkü kullanılan testlerin bir kısmı IgM tipindeki antikorları, bir kısmı ise IgG tipindeki antikorları saptamaktadır (48,99,119). Akut Brucellosis hastalığının ilk haftası süresince IgM antikor düzeyleri yükselmekte, 3 ay içinde ise düşmektedir. Kronik hastalarda ise, IgM düzeyi yüksek kalabilir (28,120,207). IgG antikor düzeyleri ise akut hastalığın başlangıcından sonra yaklaşık 3 hafta boyunca yükselmekte, sonraki 6-8 haftada düşmektedir. Kronik hastalık süresince yüksek kalmaktadır. IgM düzeyi ile IgG düzeyi arasında paralellik bulunmaktadır (25,28,39,87,120,124,166,188). Genel serolojik testler *Brucella canis*'li infeksiyonların teşhisi için hatalı olabilmektedir (39,87,120,183).

Tüm dünyada komplement fikzasyon testi Brucellosis'in serolojik teşhisinde referans test olarak kabul edilmiş olup aglütinasyon testleri olan Serum Aglütinasyon Testi (SAT) ve Rose Bengal Plate Testin (RBPT) ise tarama testi olarak kullanılması önerilmiştir (125,128,143). SAT ve RBPT'in haricinde değişik ortamlarda kullanılan birçok aglütinasyon testleri vardır. Bunlar; Bloking Antikor Test, Sulfate Fikzasyon Testi, Castenade Test, Spot Test, *Brucella* Coombs Testi, 2-Mercaptoethanol Test, Rivanol Testi, Ring Seronin Testi, Wright Aglütinasyon Testi, Lam Aglütinasyon Testleridir (28,56,68,71,73,74,77,78,82,86,89,91,190,205). Aglütinasyon 37 °C'de 24-48 saat bekletildikten sonra okunmalıdır. Koleraya karşı aşılanmış veya *Brucella* allerjik testi yapılmış bireylerin serumlarında *Brucella*'ya karşı antikor sentezlenir. Ayrıca *Brucella* aglütinini ile Francisella *tularensis*, E. coli serogroup O:157, Salmonella

urbana ve bu grubun diğere serotipleri, *Pseudomonas maltophilia*, *Vibrio cholera* ve *Yersinia enterocolitica* serotip 0:9 aglütinineri değişik titrelerde çapraz reaksiyon verirler (10,11). Bunların sonucunda yalancı pozitiflik reaksiyonlar ortaya çıkar. Bazı subakut Brucellosis olgularında klinik seyir olarak kuvvetli hastalık bulguları saptanmakla beraber aglütinasyon testi negatif sonuç verebilmektedir. Bu tür hastaların serumları blokan antikolar (Coombs Testi) yönünden incelenmelidir (9,16,42,67,181). Brucellosis'in serolojik tanısında son yıllarda ELISA, İndirekt Hemaglütinasyon, RIA gibi yöntemler başarıyla kullanılmaktadır (67,69,112,113,130,181).

Aglütinasyon testleri sütlerde *Brucella*'ların varlığını saptamak için sıkça kullanılmaktadır. Lam Aglütinasyon Testi, Çabuk Aglütinasyon Testi ve Bang Ring Test bu amaç için en çok kullanılan testlerdir (132).

b) Allerjik Teşhis (Deri Testi) : *Brucella* cytoplasmic proteinlerinin inokulasyonundan sonra infekte hayvanlarda oluşan gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu olan allerjik test özellikle küçük ruminantlarda Brucellosis'in tanısında kullanılmaktadır. Bu test infekte olmayan sürülere uygulandığında iyi bir spesifite göstermekle beraber serolojik testlerle zıtlık gösterebilmektedir. Bu test Brucellergen yada *Brucella* cinsi bakterilerin proteinlerinden elde edilen *Brucella* ekstraktının intrakutan infekte edilmesiyle gerçekleştirilir. Uygulamanın yapıldığı bölgede 24 saat içerisinde kızartı, ödem ve sertlik oluşumu reaksiyonun pozitif olduğunu gösterir. Nadiren uygulanan bu test genellikle epidemiyolojik çalışmalarda tarama testi olarak kullanılır ve güvenilirliği yüksek değildir (9,29,67,181,196).

Allerjik testler, H:38 yada 45/20 gibi adjuvant aşılarda aşılanmış hayvanlarda kullanılamaz. Çünkü bu aşılarda *Brucella* allergenlerine karşı uzun süreli duyarlılık oluştururlar (10,11).

3. 8. 3. Hayvan Deneyi

Brucella infeksiyonlarının teşhisinde hayvan deneylerinden de yararlanılmaktadır. Kobaylar bu deney için en duyarlı hayvanlardır. Elde edilen kültür ve kontaminasyon riski olmayan marazi maddeler intraperitoneal, kontaminasyon riski olanlar ise subkutan ve intramüsküler olarak kobaylara verilirler. Bu amaçla iki kobay kullanılır. Enjeksiyondan üç hafta sonra biri, 6-8 hafta sonra diğeri öldürülür. Otopsi

sonucu, organlardan kültür ve kan serumlarından aglütinasyon yapılarak sonuçlar değerlendirilir (36,67,130,132,152).

3. 9. *Brucella* Etkenlerinin İdentifikasyonu

Brucella etkenin gelişme karakterleri, serolojik ve bakteriyolojik metotların kombinasyonu mikroorganizmaların doğru bir şekilde sınıflandırılmasını sağlar. Bununla birlikte *Brucella* etkenleri üzerinde çalışan insanlar deneyimleriyle *Brucella* kültürlerini koloni morfolojisi ve lam aglütinasyon testlerini temel alarak tanımlamayı başarabilirler. Fakat etken tipik olmayan karakterler gösteriyor yada uygun olmayan bir konakta bulunuyorsa veya izolasyon şartları olağan değilse kültür tiplene testlerine başlanılmadan önce rutin bakteriyolojik metotlarla öncelikle *Brucella* türleri olarak tanımlanmalıdır (10,11).

Kültür *Brucella* genusunun bir üyesi olarak tanımlandıktan sonra türleri ve biyotiplerini tespit etmeye çalışmak önemlidir. Türlerin ayırımı 2 temel özellik üzerine dayandırılır. Bunlardan biri fajlar'a lysis, diğeri ise bazı aminoasit ve karbonhidratları kullanma testleridir (10,11).

Brucella cinsinin üç temel türü olan *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* ve *Brucella suis*'in biyotip seviyesindeki tanımlaması 4 ana testle gerçekleştirilir. Bunlar karbondioksit (CO₂) gereksinimi, Hidrojen sülfür (H₂S) üretimi, boyalara (thionin ve basic fuchsin) karşı duyarlılıkları ile monospesifik A ve M antiserumlarıyla aglütinasyon testleridir (10,11).

Brucella'nın kendisine benzerlik gösterebilen bazı mikroorganizmalardan ayırıcı özellikleri Tablo 1, *Brucella* genusuna ait türleri birbirinden ayıran özellikler Tablo 2, türlerin biyotip seviyesindeki farklılıkları Tablo 3'te sunulmuştur (10,11,36,102,131,189).

Tablo 1. Brucella'ya benzerlik gösteren diğer Gram negatif mikroorganizmalar ile Brucella türlerinin karakteristik özellikleri (10.11.102).

Testler	Brucella	Bordetella <i>bronchiseptica</i>	Campylobacter fetus	Moraxella	Acinetobacter	Yersinia <i>enterocolitica</i> 09
Morfoloji	küçük kokobasil	küçük kokobasil	vibrjo benzeri	diplokokkoid	diplokokkoid	çubuk
37 °C de hareket	—	+	+	—	—	—
20 °C de hareket	—	—	—	—	—	+
MacConkey agarda	—	—	—	v ^a	v	—
laktozun fermentasyonu	—	—	—	—	v	+
Glikoz içeren agarda asit üretimi	— ^b	—	—	—	—	—
Kanlı agarda hemoliz	—	+	—	v	v	—
Katalaz test	+	+	+	v	+	+
Oksidaz test	+ ^c	+	+	+	—	—
Urease test	+ ^d	+	—	v	v	+
Nitrat reaksiyonu	+ ^e	+	+	v	—	+
Sitrat kullanımı	—	+	—	—	v	—

a : Cins içinde pozitif ve negatif türler bulunabilir.

b : Brucella *neotomae* biraz fermentasyon gösterebilir.

c : Negatif olan Brucella *ovis*, Brucella *neotomae* ve nadiren olsa Brucella *abortus* türleri hariç.

d : Negatif olan Brucella *ovis* ve nadiren olsa Brucella *abortus* türleri hariç.

e : Nitratı nitrite indirgemeyen Brucella *ovis* hariç.

v: değişken

Tablo 2. *Brucella* genusuna ait türleri birbirinden ayıran özellikler (10, 11, 102, 189).

Türler	Koloni morfolojisi	Serum gereksinimi	Fajlarla lisis		R/C/RTD	Oksidaz	Üreaz	Konakçı hayvan
			10 ⁴ x RTD	Tb RTD				
<i>Brucella melitensis</i>	Düz	—	—	—	—	+	+ ^a	koyun, keçi
<i>Brucella abortus</i>	Düz	— ^b	+	+	—	+ ^e	+ ^d	siğirler biyotip 1: domuzlar biyotip 2: yabani tavşanlar, domuzlar Biyotip 3: domuzlar Biyotip 4: ren geyikleri Biyotip 5: vahşi kemirgenler
<i>Brucella suis</i>	Düz	—	—	+	—	+	+ ^e	çöl ağaç sıçanı koçlar köpekler
<i>Brucella neotomae</i>	Düz	—	—	+	—	—	+ ^e	
<i>Brucella ovis</i>	Pürtüzlü	+	—	—	+	—	—	
<i>Brucella canis</i>	Pürtüzlü	—	—	—	+	+	+ ^e	

a : Orta hızda, bazı türler yüksek hızda.

b : İlk izolasyonlarında büyümeleri için genellikle serumla ihtiyaç duyan *Brucella abortus* biyotip 2 hariç.

c : Negatif olan *Brucella abortus* biyotip 3 hariç.

d : Referans suş 544 ve negatif olan nadir saha suşları hariç orta hızda.

e : Yüksek hızda.

f : Anlık görüntüler

Tablo 3. Brucella cinsine ait türlerin biyotip seviyesindeki ayrımı (10,11,102,189).

Tür	Biotip	CO ² gereksinimi	H ₂ S üretimi	Thionin	Boyalarda büyüme ^a B. fuchsin	A	Serumda aglutinasyon ^b M	R
<i>Br. meliitensis</i>	1	—	—	+	+	—	+	—
	2	—	—	+	+	+	—	—
	3	—	—	+	+	+	+	—
	1	+ ^c	+	—	—	+	—	—
	2	+ ^c	+	—	—	+	—	—
	3	+ ^c	+	—	—	+	—	—
<i>Br. abortus</i>	4	+ ^c	+	—	+ ^d	—	+	—
	5	—	—	+	+	—	+	—
	6	—	—	+	+	+	—	—
	9	+ or —	+	+	+	—	+	—
	1	—	+	+	— ^e	+	—	—
	2	—	—	+	—	+	—	—
<i>Br. suis</i>	3	—	—	+	+	+	—	—
	4	—	—	+	— ^f	+	+	—
	5	—	—	+	— ^g	—	—	—
	1	+	+	+	— ^h	+	—	+
	2	—	—	+	— ^f	—	—	+
<i>Br. neotomae</i>		—	—	+	— ^f	—	—	+
<i>Br. ovis</i>		+	—	—	— ^f	—	—	+
<i>Br. canis</i>		—	—	—	— ^f	—	—	+

a : Boya konsantrasyonu serum dekstrozu vasatında 20 µg/ml (1:50000)

b : A = A monospesifik antiserum; M = M monospesifik antiserum; R = Rough Brucella antiserum

c : İlik izolasyonlarında genellikle pozitifdirler

d : Kanada, İngiltere ve A.B.D.'de izole edilen bazı türler boyalarda gelişmez.

e : Güney Amerika ve Güney Asya'da basic fuchsin dirençli bazı türler izole edilmiştir.

f : Birçok tür için negatiftir.

g : Büyüme 10 µg/ml lik (1:100000) thionin konsantrasyonunda meydana gelecektir.

3. 10. Tulum Peyniri

3. 10. 1. Genel Bilgi

Dünyada en fazla çeşidi olan besin türü peynirdir. Bu durumun başlıca sebebi, peynirin sütteki besin unsurlarının önemli bir kısmını yoğun bir şekilde içermesi, uzun dayanma süresine sahip olması ve bunlara bağlı olarak süt üretiminin bol olduğu mevsim ve yörelerde alışlagelen tekniklerle kısa sürede sütün peynire işlenerek değerlendirilmesidir. Dünyada, 2000'den fazla peynir çeşidinin olduğu sanılmaktadır. Ancak, sadece özde farklı 12 farklı peynir çeşidinin olduğu kabul edilmektedir (175)

Türkiye'de peynirin önemli bir kısmı küçük işletmelerde ve evlerde, pek azıda fabrikalarda üretilmektedir. Ülkemizde süt ve yöre farklılığı ile üretimde uygulanan teknolojik işlemlere bağlı olarak 25'den fazla yöresel peynir çeşidi bulunmaktadır. Bu peynir türleri arasında yer alan tulum peyniri tüketimdeki payı itibariyle beyaz salamura peynir ve kaşar peynirinin ardından üçüncü sırada yer almaktadır. Tulum peyniri, geçmiş yıllarda genellikle ev gereksinimlerini karşılamak amacıyla yapıldığından beyaz salamura peynir ve kaşar peyniri gibi büyük işletmelerde üretilmemekteydi. Diğer peynir türlerine göre değişik bir lezzet ve aromaya sahip olan tulum peyniri, zamanla tüketicinin beğenisini kazanarak yöresel üretimin yanısıra daha büyük işletmelerde, daha fazla üretilmeye başlanmıştır. Tulum peynirinin üretim miktarı 1984 yılında yaklaşık 94 ton iken bu rakam son yıllarda artış göstererek yaklaşık 3000 tona ulaşmıştır (76,170).

Tulum peyniri, sütün mayalanması sonucu oluşan pıhtının usulüne göre işlenmesi sonucunda tulumlara yada plastik bidonlara basılıp belli bir süre olgunlaştırılması sonucunda elde edilmektedir. Türkiye'de tulum peyniri kuru ve salamuralı olarak yapılmaktadır. Kuru tulum peyniri en çok İç, Doğu, Güney ve Güney Doğu Anadolu bölgelerinde, salamuralı olan ise Ege bölgesinde kıyıya yakın yerleşim birimlerinde yapılmaktadır. Tulum peyniri yapım tekniklerine bağlı olarak bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir. Şavak tulum peyniri, Divle tulum peyniri, Çimi tulum peyniri, deri peyniri ve Selçuklu tulum peyniri ülkemizin farklı bölgelerinde üretilen başlıca tulum peyniri çeşitleridir (4,30,72,104,138,174,177).

Tulum peyniri çeşitlerinden olan Şavak tulum peynirinin, ortalama kimyasal bileşimleri dikkate alındığında; salamura tipine göre, % rutubet miktarının düşük, protein ve kül miktarlarının ise daha yüksek değerlere sahip olduğu saptanmıştır (174). Ayrıca tulum peyniri, duyuşal olarak ağızda kolayca eriyerek kendine has tereyağı aroması veren, topaklanma özelliğine sahip, yarı sert, homojen yapılı ve belirgin ekşimtirik tada sahiptir.

Şavak tulum peyniri daha çok, Elazığ, Tunceli ve Bingöl yöresinde yaşayan Şavak aşireti mensupları tarafından yapıp pazarlanmaktadır. Önceleri yalnızca bu bölge kırsalındaki insanlar tarafından üretilip satışa sunulan bu ürün artık bölgedeki orta ölçekli işletmeler tarafından da üretilip piyasaya arz edilmektedir (4,75,104).

Şavak tulum peyniri, daha çok yaz sonu ve sonbahar başlangıcında çığ koyun sütünden yapılmaktadır. Bu ürün bölgenin kırsal kesiminde yaşayan insanların başlıca geçim kaynaklarından biridir. Hayvansal protein, vitamin ve mineral maddeler yönünden zengin olması nedeniyle besleyici değer açısından da önem arz etmektedir. Elde edilen ürünün niteliği ve duyuşal özellikleri, yapımda kullanılan sütün bileşimine ve uygulanan farklı işlemlere bağlı olarak değişebilmektedir (4,49,75,84,88,174).

Kaliteli ve değişmez standartlara sahip olabilen tulum peynirleri elde edebilmek için her zaman belli bir teknik üzerinde üretim yapmak gereklidir. İyi kalitede bir tulum peyniri isteniyorsa öncelikle iyi nitelikte ve yüksek hijyenik kalitede süt kullanılmalıdır. Baskının yeterli olması ve sütün plazma kısmının pıhtıdan iyice ayrılması, tulumun hava boşluğu içermeyecek biçimde doldurulması ve elverişli olgunlaştırılma koşullarının sağlanmasıyla iyi kalitede tulum peynirleri elde edilir (84).

3. 11. Tulum Peynirinin Mikrobiyolojik Kalitesi

Bütün gıda mamullerinde olduğu gibi tulum peynirlerinde de ürünün mikrobiyolojik kalitesini etkileyen başlıca ve ilk faktör hammaddenin yani sütün mikrobiyolojik yapısıdır. Tulum peynirindeki mikroorganizmaların sayı ve türleri, özellikle sağım hijyeni, sütün konulduğu materyallerin mikrobiyel yükü ve üretim teknolojisiyle de büyük ölçüde etkilenmektedir. Özellikle süte direkt olarak, sağılan hayvandan veya çevresel materyallerden karışan patojenler ürünün oluşumunda herhangi bir probleme yol açmasa da tüketici sağlığı üzerinde büyük sorunlar ortaya çıkarabilmektedir. Bu tür bulaşık ürünlerin tüketilmesiyle oluşan infeksiyonlar sporadik seyredebileceği gibi ürünü tüketen topluluğa bağlı olarak epidemik tarzda da meydana gelebilmekte ve sonucunda uzun tedavi süreci gerektiren ve hatta ölümlerle sonuçlanabilen infeksiyonlar oluşabilmektedir. Bunun yanında bu tür kontamine materyaller peynire dönüştürülmek istendiğinde ürünün kimyasal ve duyuşal niteliklerinde de problemler ortaya çıkarıp, olgunlaşma esnasında, peynirin pH değeri ve asiditesi üzerine olumsuz yönde etkilerde bulunurlar. Özellikle peynirlerde gözenek, şişlik ve çatlaklara sebebiyet verebilirler (81,174).

Gıda Maddeleri Tüzüğü'nde peynirlerde patojenlerin bulunmaması gerektiğini belirten ifadenin dışında, peynirlerdeki mikroorganizma sayılarının sınırları ile ilgili bir değer bulunmamaktadır.

3. 11. 1. Total Mezofilik Aerob Mikroorganizmalar

Tulum peynirlerindeki genel canlı mikroorganizma sayılarının ortaya konduğu çalışmalarda elde edilen değerler genellikle birbirlerine benzerlikler göstermektedir. Patır ve ark. (139), Elazığ'da satışa sunulan tulum peynirlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesini saptamak amacıyla yaptıkları bir çalışmada, 45 adet peynir örneğinde toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayılarının 5.0×10^5 ile 4.0×10^7 kob/g miktarlarında olduğunu tespit etmişlerdir.

Dığrak ve ark. (52), toplam 17 adet tulum peyniri örneğinde toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayılarının en az 3.2×10^7 , en çok 9.5×10^9 ve ortalama 1.8×10^9 kob/g olduğunu saptamışlardır.

Yapılan bir başka çalışmada ise (106), Erzincan ve Erzurum il merkezleri ile çevrelerinde bulunan mandıralardan toplanan 26 adet Şavak tulum peyniri örneğinde toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayıları en az 2.10×10^7 en çok 1.55×10^{10} kob/g ve ortalama 2.30×10^9 kob/g değerinde bulunmuştur.

Gökoavallı (72), salamuralı tulum peynirlerinde muhafaza sürecinin ilerleyen günlerinde saptadıkları toplam mikroorganizma sayısının, üretimde kullandıkları çiğ süt ve oluşan telemedeki sayıyla kıyaslandığında daha düşük olduğunu ifade etmiştir.

Ateş (19), çiğ ve starter kültürlü sütlerden ürettiği tulum peynirlerinde, total aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının olgunlaşmanın 15. ve 30. gününe kadar artış gösterdiğini daha sonra ise azalarak 90. günde en az düzeye indiğini bildirmiştir.

Ambalaj materyallerinin tulum peynirlerindeki mevcut mikroflora üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmalarda ortaya konmuştur. Bunlardan birinde Bostan ve ark. (31), 10'u orijinal keçi derisi içinden, 28'i plastik bidondan alınan toplam 38 tulum peyniri örneğini incelemiş oldukları çalışma sonucunda; her iki ambalaj materyalinden alınan örneklerde genel ve özel mikroorganizma sayıları arasında kayda değer büyük bir fark olmadığını rapor etmişlerdir. Araştırmada mikroorganizma sayılarını en az 6.6×10^6 kob/g, en çok 3.8×10^9 kob/g ve ortalama 3.2×10^8 kob/g olarak tespit etmişlerdir.

Yine bu konuyla ilgili Güven ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada (79), inek sütünden üretip üç farklı ortamda olgunlaştırdıkları tulum peynirlerinde olgunlaşmanın

başlangıcında en yüksek total aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı 7.0×10^7 kob/g miktarıyla kıllı yüzü dışarıda olan deri tulumda, olgunlaşma sonunda en yüksek sayı ise 1.8×10^7 kob/g miktarıyla kıllı yüzü içerde olan deri tulumda saptanmıştır.

Öztürk (132), *Brucella melitensis* ile deneysel olarak infekte ettiği inek ve koyun sütlerinden elde ettiği tulum peynirlerinde total aerobik mezofilik mikroorganizma sayısının en yüksek seviyeye 2. baskı sonunda çıktığını, olgunlaşmanın 7. gününden itibaren yavaş yavaş azaldığını ve 2. baskı sonunda 3.8×10^{10} kob/g olan sayının 90. günde 2.8×10^8 olarak tespit edildiğini ifade etmiştir.

3. 11. 2. *Staphylococcus-Micrococcus* Grubu Mikroorganizmalar

Peynirlerde stafilokokkal gıda zehirlenmeleri genel olarak *Staph. aureus*'un enteretoksinini içeren çiğ sütlerin üretimde kullanılması yada bu sütlerin hatalı bir şekilde pastörize edilmesi ile ürünün fazla tuzlanması, asiditesinin düşük olmasından kaynaklanmaktadır (84,121,135).

Bostan ve ark. (31), İstanbul piyasasında satışa sunulan 38 farklı tulum peyniri örneğinin 26'sında (%68.4) *S. aureus*'a rastlamışlardır. Pozitif örneklerdeki *S. aureus* sayıları ortalama olarak 8.4×10^3 kob/g miktarında saptanmıştır.

Tekinşen ve Çelik (176), Elazığ bölgesinde satışa sunulan taze şavak peynirleri üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada 40 adet peynir örneğini incelemeye almışlar ve örneklerin tamamında mikrokokları, 39'unda ise stafilokokları izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Yine Elazığ ili marketlerinden toplanan 45 adet tulum peyniri örneği üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise stafilokok sayısı ortalama olarak 4.4×10^5 kob/g olarak tespit edilmiştir (139).

Yapılan başka bir çalışmada ise (17), çiğ (D) ve kültür ilaveli pastörize inek sütlerinden (A, B, C) yapılan deneysel tulum peyniri örneklerinde *Staph. aureus*'un varlığı incelenmiştir. Kültür ilavesi gerçekleştirilen örneklerin hiçbirinde 16 haftalık olgunlaşma periyodu boyunca *Staph. aureus*'a rastlanmamıştır. Çiğ süttten yapılan peynirlerde ise mikroorganizma sayısının olgunlaşmanın başlangıcına göre sürekli olarak azaldığı, başlangıçta 1.2×10^6 kob/g olan etken sayısının 16. hafta sonunda 9.5×10^4 kob/g seviyesine düştüğü tespit edilmiştir.

Patır ve ark. (136), deneysel olarak ürettikleri tulum peyniri örneklerinde *staphylococcus* grubu mikroorganizmaların olgunlaşmanın ilk gününden itibaren devamlı

suretle azaldığını saptamışlardır. Muhafazanın 90. gününde bu sayı 5.77 log₁₀ sayı/g olarak tespit edilmiştir.

Deneysel olarak üretilen tulum peyniri örneklerinde staphylococcus-micrococcus grubu mikroorganizmalar incelenmiş, çiğ süttten yapılan peynirlerde bu mikroorganizma grubunun 0. gün (4.1×10^7 kob/g) ile 90. gün (2.6×10^7 kob/g) değerleri arasında büyük bir fark bulunamamıştır. Starter kültürlü gruplarda ise bu değerler daha düşük ve dalgalı bir seyir göstermiştir (19).

3. 11. 3. Koliform Grubu Bakteriler

Bu grup etkenler peynir teknolojisinde yol açtığı problemlerle önemli bir sorun teşkil etmektedir. Bu grup mikroorganizmaların ortamda bol miktarda bulunması fekal bir kontaminasyonun varlığına işaret eder (171).

Peynirlerde laktozu parçalamaları sonucunda oluşturdukları gaz nedeniyle peynirlerin gözenekli bir yapı almasına, peynir tenekelerinin şişmesine ve hatta patlamasına yol açabilirler. Bunun yanında tat ve aroma üzerinde olumsuz etkilerde de bulunurlar. Bu grup mikroorganizmaların peynirlerde bulunmasının en büyük sebebi üretimde çiğ süt kullanılması veya yetersiz pastörizasyondur. Özellikle sonradan meydana gelebilen kontaminasyonlar sonucunda olgunlaşmanın ilk günlerinde oldukça yüksek sayılara ulaşabilen koliform sayısı muhafazanın ilerleyen günlerinde azalmakta, bazen pH düşüşü ve koruyucu maddeler gibi ortam şartlarına bağlı olarak yok olabilmektedirler (5,44,62).

Bostan ve ark. (31), İstanbul piyasasından temin ettikleri tulum peyniri örneklerinin %62'sinin koliform grubu mikroorganizmaları içerdiğini, bunların %85'inin *E. coli*'yi ihtiva etmediğini, ortalama koliform sayısının 7.3×10^3 kob/g, *E.coli* sayısının ise 2.9×10^3 kob/g olduğunu rapor etmişlerdir.

Bostan bir başka çalışmada (30) ise, çiğ (A) ve pastörize sütlerden (B, C, D) tulum peyniri örnekleri hazırlamış, A grubundaki peynir örneklerinin olgunlaşma safhası süresince pastörize süttten yapılmış olan örneklerden daha yüksek oranda koliform ihtiva ettiğini tespit etmiştir.

Arıcı ve Şimşek (17), çiğ inek sütlerinden ürettikleri peynirlerde başlangıçta 7.0×10^7 kob/g gibi yüksek oranda tespit ettikleri koliform sayısının, 16 haftalık olgunlaşma süresi sonunda önemli ölçüde azalarak 4.0×10^3 kob/g seviyesine düştüğünü belirtmişlerdir.

Patır ve ark. (138), çiğ koyun sütü kullanarak yaptıkları bir çalışmada, telemede 8.17 log₁₀ sayı/g düzeyinde saptadıkları koliform etkenlerinin muhafazanın 30. gününe kadar belli bir artış gösterdiği, 90. günden itibaren azalarak muhafazanın son gününde 7.01 log₁₀ sayı/g seviyesine düştüğünü tespit etmişlerdir.

Gökovalı (72), salamura tulum peynirlerinde koliform bakteri sayısının imalat yeri, mevsim ve olgunlaştırma şartlarına bağlı olarak değişiklik gösterdiğini bildirmiş, incelemeye alınan örneklerdeki etken sayısının 2.85×10^5 kob/g ile 3.7×10^4 kob/g arasında değiştiğini bildirmiştir.

Kurt ve ark. (106), piyasadan topladıkları 26 adet şavak tulum peyniri örneği üzerinde yapmış oldukları çalışmada, koliform bakteri düzeyinin kob/g cinsinden en az 3.75×10^2 , en çok 2.50×10^7 ve ortalama 3.20×10^6 düzeyinde olduğunu saptamışlardır.

Güven ve Konar (79), tulum peynirlerindeki mikrobiyal floranın üzerine bazı ambalaj materyallerinin etkilerini incelemişler, koliform grubu mikroorganizma sayısını taze peynir örneklerinde 3.1×10^5 kob/g olarak tespit etmişlerdir. Bu sayının olgunlaşmanın 30. gününden itibaren azalma eğilimine girip 210. günde 1.3×10^4 kob/g- 9.1×10^4 kob/g seviyesine indiğini belirtmişlerdir.

İzmir piyasasından toplanan 35 adet teneke ve deri ambalajlı İzmir tulum peyniri örneklerinde koliform grubu bakteri sayısı ortalama olarak 1.1×10^4 kob/g düzeyinde tespit edilmiştir. Koliform grubu bakterilerin içerisinde E. coli'lerinde izole edildiği bildirilmiştir (94).

Ateş (19), deneysel olarak ürettiği tulum peyniri örneklerinden çiğ süttten yapılan grupta koliform mikroorganizma sayısının 0. günde 5.6×10^6 kob/g seviyesindeyken muhafazanın ilerleyen dönemlerinde giderek azalarak 90. günde ortamdan kaybolduğunu belirtmiştir. %1 ve %2 oranında starter kültür ilave ederek ürettiklerinde ise bu etkenlerin daha kısa sürelerde yıkımlandığını saptamıştır.

Yapılan başka bir çalışmada (52) ise, Elazığ piyasasından toplanarak incelemeye alınan 17 adet şavak tulum peynirinde etken sayısının 2.4×10^2 kob/g ile 3.0×10^4 kob/g aralığında değiştiği ve bunlarında %70.5'inin E. coli olduğu rapor edilmiştir.

3. 11. 4. Fekal Streptokok (Enterokokkus) Grubu Mikroorganizmalar

Fekal streptokok ve enterokok deyimleri farklı şekilde tanımlanabilmektedir. Kimi araştırmacılar bu iki grubu birbirinin aynısı olarak tanımlamaktadır. Diğerlerine göre ise enterokok deyimini Lancefield sınıflandırmasında D grup olarak yer alan *Streptococcus*

faecalis ve *Str. faecium* bakterilerini ifade ederken fekal streptokok deyimini sadece dışkıda değil bitki ve çevresel örneklerde de bulunabilen tüm streptokokları göstermektedir. Lancefield sınıflamasına göre D grup içerisinde yer alan ancak enterokok olmayan bakteriler *Str. bovis* ve *Str. equinus*'dur (117,178).

Enterokokkus *faecalis* ve *E. faecium* mikrobiyologlar tarafından yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Gıda zehirlenmelerine sebebiyet verip vermediği konusunda tam bir görüş birliği yoktur. Gıda zehirlenmesine neden olmayan pek çok gıdada bu bakterilere yüksek sayıda rastlanılmaktadır. Bu bakteriler aynı zamanda bazı peynirler ve sosislerin olgunlaştırılmasında starter kültür olarak da kullanılmaktadır. Hijyen indikatörü olarak bilinen bu bakteriler doğada da yaygın olarak bulunmaktadırlar. Bu nedenle gıda maddelerinde bu etkenin saptanması her zaman için gıdanın dışkı ile doğrudan kontamine olduğunu göstermez. Buna karşın enterokoklar su örneklerinde en önemli bakteriyel indikatör olarak aranır (5,117,171).

Patır ve ark. (138), deneysel olarak çiğ koyun sütünden ürettikleri tulum peyniri örneklerinde fekal streptokok sayılarının olgunlaşma süresi boyunca azaldığını ifade etmişlerdir. Başlangıçta $8.17 \log_{10}$ sayı/g düzeyinde tespit edilen bu grup etkenler, muhafazanın sonu olan 90. günde $7.07 \log_{10}$ sayı/g seviyesine düşmüştür.

Bostan (30), çiğ ve pastörize sütlerden ürettiği tulum peyniri örneklerinde fekal streptokok grubu mikroorganizma sayılarının olgunlaşma periyodu boyunca farklı gruplarda farklı seyir izlediğini ifade etmiştir.

Bostan ve ark (31), toplam 38 adet tulum peyniri üzerinde yaptıkları bir çalışmada, fekal streptokokları en az 0 kob/g, en çok 4.5×10^4 kob/g ve ortalama 2.9×10^3 kob/g düzeyinde rapor etmişlerdir.

Bir başka çalışmada ise (19), çiğ sütle başlangıçta 7.1×10^4 kob/g olan fekal streptokokkus sayısı olgunlaşmanın 60. gününe kadar düşmüş, bu dönemde hafif bir yükselme gösterdikten sonra 90. günde ortamdaki izole edilememiştir. %1 ve %2'lik starter ilaveli gruplarda ise başlangıçta daha düşük oranlarda gerçekleşen bu sayılar sırasıyla 60. ve 30. günlerde 0 kob/g olarak şekillenmiştir.

Divle tulum peynirlerini üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada ise (93), incelemeye alınan örneklerde saptanan fekal streptokokların ortalama olarak 5.58×10^7 kob/g miktarında bulunmuştur.

3. 11. 5. Maya ve Küfler

Gıda mikrobiyolojisinde maya ve küfler genel olarak birlikte alınır. Bunun başlıca iki nedeni mayaların ve küflerin fungi aleminin üyeleri olmaları ve selektif besiyerinde beraberce ancak koloni morfolojileri ile birbirlerinden rahatlıkla ayrılacak şekilde gelişebilmeleridir. Peynir teknolojisinde önemli bir yer işgal eden maya ve küfler geniş bir pH, sıcaklık ve su aktivitesi aralığında üreyebilme ve substratların büyük çoğunluğunu kullanabilme özelliklerinden dolayı peynirlerdeki önemli kontaminantlardan biridir (15,117).

Lipolitik ve proteolitik aktiviteleri yüksek olan maya ve küfler, peynirlerde yumuşamalara neden olmalarının yanısıra maya ve küf kökenli lipaz enzimi yüksek ısı derecelerine karşı dayanıklı olmaları nedeniyle peynirlerde acılaşmalara neden olabilirler. Ayrıca özellikle yüzey kısımda gösterdikleri üremeler sonucunda ortaya çıkan yaygın ve renkli koloni şekilleri kötü bir görünüm, tad ve koku şekillenmektedir (4,75).

Bunun yanında bazı maya ve küf türleri peynir teknolojisinde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmalar salgıladıkları lipolitik ve proteolitik enzimlerle yağları ve proteinleri parçalayarak Roquefort, Camambert, Gorgonzola gibi peynirlere karakteristik özelliklerini kazandırır (201).

Patır ve ark. (138), deneysel olarak inek sütünden ürettikleri tulum peyniri örneklerinde olgunlaşmanın başından 60. güne kadar maya ve küf sayılarının artış gösterdiğini, bu olgunlaşma gününde $7.50 \log_{10}$ sayı/g olarak tespit edilen değer daha sonra azalarak 90. günde $4.56 \log_{10}$ sayı/g seviyesine düştüğünü bildirmişlerdir.

İstanbul'daki değişik noktalardan temin edilen toplam 38 adet tulum peyniri örneğinin incelendiği bir çalışmada (31), maya ve küf sayısı en az 2.1×10^3 kob/g, en yüksek 2.2×10^7 kob/g ve ortalama 1.1×10^6 kob/g olarak saptanmıştır.

Bostan (30), çiğ (A) ve starter kültür ilaveli (B, C, D) sütlerden deneysel olarak ürettiği tulum peynirlerinde A ve B tipi peynirlerde pıhtıda, C ve D tipi peynirlerde ise 1. baskı sonunda elde edilen maya ve küf sayılarının, örneklerin tümünde 4.2×10^6 - 1.3×10^7 kob/g seviyesiyle 3. baskı sonunda maksimum düzeye çıktığını ifade etmiş, bu değerlerin muhafazanın 90. gününe kadar azalarak 8.2×10^4 - 1.8×10^5 kob/g seviyesine indiğini bildirmiştir.

Ateş ve Patır (19), yarı sentetik kılıflara doldurarak vakumlu ve vakumsuz olarak hazırladıkları tulum peynirlerinde maya ve küf sayılarının olgunlaşmanın ilk gününde $6.02 \log_{10}$ sayı/g olduğunu ve bu sayının 30. güne kadar artarak 7.12 - $7.24 \log_{10}$ sayı/g

seviyesine yükseldiği, daha sonraki günlerde ise azalarak 90. günde 6.24-6.81 log₁₀ sayı/g seviyesine düştüğünü tespit etmişlerdir.

Erzurum ve Erzincan ili ile çevresindeki mandıralardan toplanarak incelemeye alınan toplam 26 adet tulum peyniri örneğinde saptanan maya ve küf sayıları en az 4.00×10^3 kob/g en çok 6.80×10^6 kob/g ve ortalama olarak 1.87×10^6 kob/g miktarında tespit edilmiştir (106).

Kılıç ve Gönç (94), 35 adet teneke ve deri ambalajlı İzmir tulum peyniri örnekleri üzerinde gerçekleştirdikleri araştırmada; ortalama olarak maya sayısını 7.4×10^4 kob/g, küf sayısını ise 2.8×10^3 kob/g düzeyinde bulmuşlardır.

DeneySEL olarak çiğ süttten üretilen A tipi ile %1'lik kültür ilaveli B1 tipindeki tulum peyniri örneklerinde 0. günde sırasıyla 7.7×10^7 kob/g ve 2.9×10^6 kob/g olan maya ve küf sayıları zaman içerisinde hafif dalgalanmalar göstererek 90. günde sırasıyla 2.6×10^7 kob/g ve 2.4×10^6 kob/g'a düşmüştür. Yine %1'lik seriye ait olan C1 ve D1 peyniri ile %2'lik seriye ait olan B2, C2, D2 peynirlerinde bu etkenler olgunlaşmanın 30. gününde en yüksek düzeye ulaştıktan sonra, zamanla azalarak olgunlaşmanın 90. gününde kob/g olarak sırasıyla 1.8×10^6 , 2.4×10^5 , 1.4×10^5 , 1.2×10^5 ve 3.4×10^4 'e inmiştir (19).

Güven ve Kanar (79), inek sütünden üretilen farklı ambalaj materyallerinde muhafaza ettikleri tulum peynirlerin üzerinde yaptıkları bir çalışmada, kılıklı yüzeyi içeride olan deri tulumlarda olgunlaştırılan tulum peynirlerindeki maya ve küf sayısının, kılıklı yüzü dışarda olan deri tulumlar ve polietilen ambalaj materyallerinde olgunlaştırılan örneklerden daha yüksek miktarlarda olduğunu saptamışlardır.

Bu konuyla ilgili yapılan bir başka araştırmada (32) ise, olgunlaşma periyodunun farklı safhalarında tulum peynirlerinden izole edilen toplam 488 suştan 51 tanesinin küf olduğu tespit edilmiş olup bunların 22'sinin *Penicillium candidum*, 18'inin *P. roqueforti*, 6'sının diğer *Penicillium* türleri ve 5'ininde *Mucor spp.* olduğu rapor edilmiştir.

3. 12. Süt ve Ürünlerinde *Brucella* Etkenleri

Brucellosis, bütün dünyada yaygın bir infeksiyon olmakla beraber özellikle sığır, koyun, keçi ve domuz yetiştiriciliğinin yapıldığı ülke ve bölgelerde daha yoğun olarak görülebilmektedir. Başlıca çiğ süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi sonucu ortaya çıkan bu infeksiyonun insanlarda görülme oranı özellikle Batı Avrupa ülkeleri ve A.B.D.'de yapılan ciddi çalışmalar ve alınan önlemler sonucunda çok düşük seviyelere inmiştir.

Ülkemizde ise sokak sütçülüğünün hala yaygınlığını koruması ve pastörize süt tüketimi alışkanlığının tam olarak kazanılmamış olmasının yanında süttten elde edilen ürünlerin büyük oranda köylerde ve kırsal kesimlerde hazırlanarak piyasaya sürülmesi insanlarda Brucellosis'in yaygın bir şekilde ortaya çıkmasının başlıca nedenlerindedir. Köy peynirlerinin tamamına yakını, mandıra peynirlerinin ise yaklaşık %65'inin çiğ süttten yapıldığı bilinmektedir. Yurdumuzda yaygın bir şekilde tüketilen tulum peynirlerinin de büyük çoğunluğu, hijyenik olmayan yerlerde ve mandıralarda ilkel usullerle çiğ süttten üretilmekte ve pazarlanmaktadır. Bu nedenle, tüketici sağlığı açısından risk taşıyan bir ürün elde edilmektedir (49,75,105).

Öztürk ve Nazlı (132), İstanbul bölgesinde satışa sunulan toplam 50 adet tulum peynirinin hiçbirinde *Brucella* etkenlerini izole edememişlerdir. Yine aynı çalışmanın ikinci kısmında *Brucella melitensis* ilave edilen inek (I) ve koyun (II) sütleriyle deneysel olarak tulum peyniri üretimi gerçekleştirilmiş ve olgunlaşma süreci içerisinde bu etkenin mevcudiyeti incelenmiştir. Başlangıçta I no'lu numunede 1.5×10^9 kob/g ve II no'lu numunede 2.0×10^9 kob/g olan *Brucella melitensis* sayısı, olgunlaşmanın 21. gününde I no'lu numunede 1.0×10^2 kob/g, II no'lu numunede 2.8×10^2 kob/g'a düşmüş olup muhafazanın 30. gününden itibaren her iki numunede de *Brucella melitensis*'in izole edilemediği bildirilmiştir.

Patır ve Dinçoğlu (136), Elazığ'da tüketime sunulan beyaz peynir (30 adet) ve tulum peyniri (55 adet) örneklerinde *Brucella* etkenlerinin varlığını incelemişlerdir. Çalışmada biri beyaz (%3.33), diğeri ise tulum peynirinde (%1.18) olmak üzere toplam 2 örnekte (%2.35) *Brucella spp.*ye rastlanmış olup izole edilen suşların *Brucella abortus* (beyaz peynir) ve *Brucella melitensis* (tulum peyniri) olduğu tespit edilmiştir. Adı geçen türlerin sırasıyla 3.4×10^5 kob/g ve 4.6×10^2 kob/g miktarlarında olduğu gözlemlenmiştir.

Ankara piyasasından elde edilen toplam 94 adet beyaz peynir numunesinde *Brucella* etkenlerinin arandığı bir çalışmada (21), numuneler kobaylara enjeksiyon şeklinde verildikten 3-6 hafta sonra kobayların kanı üzerinde serolojik olarak inceleme yapılmış ve sonucunda hiçbir numunede *Brucella* izole edilememiştir. Araştırmacı, bu durumun Ankara piyasasında satılan beyaz peynirlerde *Brucella* etkenlerinin bulunmadığı anlamına gelmediğini, yetersiz numune alımı ve süpermarketlerde fabrika peyniri satılma olasılığından kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Buna karşılık, aynı tarihlerde Mert (132) tarafından yapılan bir başka çalışmada %19.33 oranında *Brucella* etkeni saptanmıştır.

Tunçbilek (185), Ankara'daki semt pazarları ile marketlerde satılan 100 adet taze beyaz peynir numunesinin 3'ünde *Brucella melitensis*, 1'inde *Brucella abortus* identifiye etmiş, kontamine peynir numunelerinin tamamının çiğ süttten yapıldığını fosfataz testi ile tespit etmiştir.

Yine Sancak ve ark. (153), Van ilinde muhtelif yerlerden temin ettikleri 40 adet taze otlu peynir numunesini *Brucella* yönünden incelemişler ve *Brucella melitensis*'in otlu peynirlerde dayanıklılık süresini araştırmışlardır. Denemeye alınan 40 adet taze otlu peynir numunesinin 7'sinde (%17.5) *Brucella spp* izole edilmiş, bu etkenlerin 6'sı *Brucella melitensis* ve 1'i *Brucella abortus* olarak identifiye edilmiştir. *Brucella melitensis*'in bu peynir türünde dayanıklılığının incelendiği çalışmanın ikinci kısmında *Brucella melitensis*'le infekte olduğu tespit edilen koyun sütleriyle deneysel olarak yapılan otlu peynirleri %16 tuz içeren salamurada 4 °C de muhafazaya alınmış ve etkenin 40 gün kadar canlılığını muhafaza ettiği saptanmıştır.

Marmara ve Trakya bölgesinde piyasadan temin edilen krema, tereyağı, dondurma ve kremalı pasta gibi süttten üretilen toplam 260 adet numune *Brucella* etkenleri yönünden incelemeye alınmış, gerek kültürel gerekse hayvan inokulasyonu yöntemleri ile hiçbir örnekte *Brucella* etkenleri izole edilememiştir. Araştırmacılar buna sebep olarak da ürünlerin yapımında kullanılan süttün tam olarak pastörize edilmesine bağlamışlardır. Yine aynı çalışma içinde deneysel olarak gramında 10⁹ adet *Brucella abortus* suşu ihtiva edecek şekilde kontamine edilen 200 g krema numunesi farklı ısılarda muhafazaya alınmış, oda derecesindekiler 3. hafta, 4 °C dekiler 6. hafta sonunda canlılıklarını yitirmiş olmalarına rağmen -22 °C de muhafaza edilen numunelerde 6 haftalık süre sonunda *Brucella* etkenleri yönünden önemli bir değişiklik görülmediği ifade edilmiştir (154).

Sert ve Kıvanç (159), farklı noktalardan temin ettikleri 24 adet civil ve 18 adet lor peynirinde *Brucella* türlerini saptayamadıklarını bildirmişlerdir.

Dünya üzerindeki çeşitli peynir türleri üzerinde bu konuyla ilgili yapılan araştırmaların birinde Altieri ve ark. (8), inek süttünden iki farklı metotla deneysel olarak ürettikleri Mozzarella peynirlerine bazı patojen mikroorganizmalarla beraber *Brucella* etkenlerini inokule ederek gelişimini takip etmişlerdir. Olgunlaşma süreci boyunca grupların hiçbirinde *Brucella* türlerini izole edememişlerdir. Yine Mozzarella peynirleri üzerinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada (194), piyasadan toplanan 17'si pastörize 14'ü ise çiğ süttten yapılmış olan toplam 31 örnekte *Brucella* etkenlerinin saptanamadığı bildirilmiştir.

Çiğ inek sütünden üretilen Arzua peynirlerinde kültürel yöntemlerle *Brucella* türleri saptanmaya çalışılmış, ne üretim için kullanılan sütlerde ne de pıhtı ve pıhtının işlenmesinden sonraki aşamalarda bu etkene rastlanmadığı ifade edilmiştir (38).

Sarno ve ark. (155), 700 adet taze koyun sütünden yapılmış peynir örneklerinde yalnız *Brucella* türlerini araştırmış ve bu örneklerin birinde *Brucella melitensis*'in varlığını saptamışlardır. Bu türün biyotip 2 olduğunu yaptığı identifikasyon çalışmaları sonucunda tespit etmişlerdir.

Cosseddu ve Pisanu (41), *Brucella melitensis* ile infekte keçi sütü peynirlerini olgunlaşmanın 10., 45. ve 50. günlerinde analize tabi tuttıklarını, bu etkenin 50. günden sonra tespit edilemediğini ifade etmişlerdir.

İran'da gerçekleştirilen geniş çaplı bir araştırmada (147), çeşitli marketler ve dağıtım merkezlerinden toplanan 677 peynir örneğinin 56'sında ve 160 krema örneğinin 1'inde *Brucella melitensis* izole edilmiş olup 295 dondurma ve 146 tereyağı örneğinin hiçbirinde etken izole edilememiştir.

Hadad ve ark. (80), Irak'ın Musul kentindeki marketlerden topladıkları 65 adet Kishfa peynirinin 3'ünde, 85 taze yumuşak peynirin 8'inde *Brucella* türlerini izole etmişlerdir. Kishfa peynirinden izole edilenlerin tamamı *Brucella melitensis* biyotip 3, yumuşak taze peynirlerdeki 3'ü *Brucella abortus* biyotip 3, 5 tanesi ise *Brucella abortus* biyotip 4 olarak identifiye edilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada (2) ise, üreticilerden toplanan 298 çiğ süt (265'i inek, 24'ü keçi) numunesi ile yine bölge marketlerinden temin edilen 335 yumuşak beyaz peynir örneğinde *Brucella*'ların varlığı incelenmiştir. Süt örneklerinin 7'sinde (6'sı inek, 1'i keçi) etkenler tespit edilmiş olup bunların 2'si *Brucella melitensis*, 5'i ise *Brucella abortus* biyotip 1 olarak identifiye edilmiştir. Peynir örneklerinin ise 25'inde saptanan etkenlerin 16'sı *Brucella abortus*, 5'i *Brucella melitensis* ve 4'ü de atipik *Brucella* olarak identifiye edilmiştir.

3. 12. 1. *Brucella* Etkenlerinin Canlılık Süreçleri

Brucellosis temelde bir hayvan hastalığı olmasına rağmen bulaşma kolaylığı ve etkenin yaygın bir şekilde bulunması nedenleriyle insanlarda da sıklıkla görülebilmektedir. Brucellosis insanlara; infekte materyal ile direkt kontak, kontamine çiğ süt ve çiğ süttten yapılan süt ürünleri ile çiğ et tüketimi sonucu alimenter ve solunum yoluyla olmak üzere 3 yolla geçmektedir. İnsanlarda meydana gelen bu vakaların önemli bir bölümü etkeni

barındıran hayvansal ürünlerin tüketilmesi sonucu indirekt yani alimenter olarak meydana gelmektedir (64,65,84).

Brucella etkeni taşıyan koyun ve keçilerden sağlanan çiğ süttten yapılan taze peynirlerin fazla tüketildiği Fransa, Yunanistan, Meksika, Peru, Kuveyt ve İran gibi ülkelerde alimenter kaynaklı Brucellosis olguları %8-100 arasında değişmektedir. Bu yolla meydana gelen enfeksiyonlarda mide asidi koruyucu etki yapmaktadır. Ancak, midede HCl üretimini bloke eden alüminyum hidroksit, magnezyum hidroksit gibi ilaçların alınması etkenin gastrointestinal invazyonunu kolaylaştırmaktadır (64). Süt ve süt ürünleri alimenter yolla oluşan enfeksiyonların en büyük kaynaklarından biridir. Brucellosis'in dünyada süt ve süt ürünleri ile bulaşmasının önemi birçok araştırmada vurgulanmıştır. Örneğin bu konuda çok büyük tedbirler alan A.B.D.'de Brucellosis olgularının %15'inde bulaşma nedeninin pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri olduğu bildirilmektedir (120,146). İnal (84), insanlarda gözlenen abortus bangın %60'ı Brucellosis'e yakalanmış hayvanlarla temas sonucunda, %40'ı ise hastalıklı hayvanların sütlerinin içilmesi veya bu sütlerden hazırlanan ürünlerin tüketilmesi nedeni ile oluştuğunu belirtmiştir.

Brucella etkenlerinin yavru atımından birkaç gün önce sütte bulunabildiği, ancak genellikle yavru atıldıktan birkaç gün sonra sütte görüldüğü belirtilmektedir (7,41,146). Tedavi görmesine rağmen bir ineğin ömür boyu sütüyle etkeni çıkarabildiği belirtilmekte ve 1 ml sütte *Brucella* sayısının enfeksiyonun akut döneminde 100-50000 arasında değiştiği bildirilmektedir (84).

Optimal üreme sıcaklığı 37 °C olan *Brucella*'lar 20-40 °C'ler arasında üreyebilmektedir. Yine bu etkenlerin üreyebilmesi için optimal pH 6.6-7.4 olup bu değerler maksimum 8.7, minimum ise 5.8 olarak şekillenmektedir. *Brucella*'lar düşük pH değerlerinde hızla inaktive olmaktadır (64).

Brucella'lar özellikle protein içeren kuru ortamlarda canlılığını koruyabilmekte, toz ve toprakta 10 haftaya kadar, ortam sıcaklığına bağlı olarak suda 10-70 gün, oda ısısında 1-3 ay, -20 °C de 3-6 ay, donmuş dokularda ise yıllarca canlı kalabilmektedir. Uygun bileşim ve konsantrasyonların kullanılması durumunda *Brucella*'lar çoğu dezenfektanlarla inaktif hale getirilmektedir. Ancak mümkün olduğu durumlarda ısı uygulamasıyla gerçekleştirilen dezenfeksiyonun, kimyasal dezenfeksiyona tercih edilmesi gerektiği ifade edilmektedir (20,64,146).

Brucella etkenleri ısıya karşı duyarlıdırlar. Pastörizasyon işlemleri ile tamamen yıkımlanırlar. 62.7 °C de 30 dakikada ve 71.6 °C de 15 saniyede inaktif hale getirilmektedir (64,130,132).

Yapılan deneysel çalışmalarla *Brucella*'ların sütlerde ve değişik süt ürünlerinde farklı iç ve dış faktörlere bağlı olarak uzun süre canlılıklarını devam ettirdiği ve bu yönüyle relatif dirençli bakteriler oldukları bildirilmiştir. Örneğin 8 °C'de muhafaza edilen ve pH değeri 4.3 olan sütte *Brucella*'nın 20-25 gün, 4-7 °C'de muhafaza edilen ve pH değeri 4.2-5.4 olan sütte ise haftalarca canlı kaldığı, deneysel olarak kontamine edilen ve 30-32 °C de muhafaza edilen, pH değeri 4.0-4.5 olan yoğurtta 14-16 gün sonra hala canlılığını koruduğu ve 40 °C de muhafaza edilen çiğ sütte ise en az 800 gün canlı kaldığı bildirilmiştir (64).

Erol'un (64) bildirdiğine göre Kleer, deneysel olarak *Brucella* ile kontamine ettiği beyaz peynirlerde etkenlerin 8 °C'de 20 hafta canlı kaldığını saptamıştır.

Ünel ve ark. (193), %10 tuzlu salamurada ve 4°C de muhafaza edilen peynirlerde *Brucella melitensis*'in 8-9 hafta süresince canlılığını muhafaza ettiğini saptamışlardır. Aynı etkenin enfekte çiğ koyun sütlerinden yapılan ve %7 oranında tuz ihtiva eden salamurada olgunlaştırılmaya bırakılmış peynirlerde 46 gün, tuz oranı %17 olan salamurada olgunlaştırılmaya bırakılan peynirlerde ise 30 gün canlı kalabildiği Öztürk (132) tarafından bildirilmiştir.

Ingram ve ark. (83), pastörize edilmemiş sütlerden yapılan peynirlerin 4.4 °C den daha düşük derecelerde en az 60 gün bekletildikten sonra tüketilmesini önermektedirler. Rammell (142), *Brucella* suşlarının peynirdeki yaşam sürelerinin farklı olduğunu; picorina peynirinde 90 günün sonunda bile etkenin izole edilebildiği buna karşın feta peynirinde ise 14-16. günlerde etkenin yıkımlandığı bildirmektedir.

Deneysel olarak infekte edilmiş inek sütleriyle yapılan yumuşak peynirlerde *Brucella abortus*'un yaşam sürecinin incelendiği bir çalışmada (141), starter kültür ilavesi ile gerçekleştirilen üretimde peynirler olgunlaşmaya alınmadan evvel kısa bir süre salamura solüsyonunda bekletildikten sonra 12 °C lik bir ısı ve nem oranı yüksek bir ortamda 35-40 gün süresince muhafaza edilmiştir. *Brucella* sayısının muhafaza süresince azaldığı ve 18. gün sonunda ortamdaki kaybolduğu bildirilmiştir.

Plommet ve ark. (141), Friesian ırkı düveleri konjunktival olarak 15×10^6 koloni dozunda *Brucella abortus* referens suş 544 ile inokule ettikleri çalışmada bu etkenin

seyrini takip etmişlerdir. Doğum yapan hayvanların 8'inde *Brucella*'ların sütle atıldığı tespit edilmiştir (ortalama sayı 1345 cfu/g). Bu sütlerle deneysel olarak yumuşak peynir yapımı gerçekleştiren araştırmacılar *Brucella* sayılarının pıhtıda 6662 cfu/g, telemede 562 cfu/g olarak saptandığını ifade etmişlerdir. Olgunlaşmaya alınan peynirlerde bu etkenler 18. günde tespit edilememişlerdir. Bu peynirlerdeki başlangıç (sütteki) pH 6.45 iken bu rakam zamanla düşerek 18. günde 4.9 olarak şekillenmiştir.

Bir başka çalışmada (151), *Brucella abortus* biotip 1 ile deneysel olarak infekte ettikleri inek ve buffalo sütlerinin karışımından Domiati, Tallaga ve Kareish peynirleri üreten araştırmacılar numuneleri oda sıcaklığı (18-22 °C) ve 2-4 °C de muhafaza ederek incelemeye almışlardır ve örnekleri kobaylara yedirerek incelemelerini devam ettirmişlerdir. Etken oda sıcaklığında Domiati peynirlerinde 12, Tallaga peynirlerinde 16 ve Karaish peynirlerinde ise 6 gün canlılığını sürdürmüştür. 2-4 °C lik ortamda ise bu değerler sırasıyla 24, 32 ve 8 gün olarak gerçekleşmiştir.

Centeno ve ark. (37), ml'sinde 333000 (I), 33000(II) ve 3300(III) adet *Brucella abortus* ihtiva edecek şekilde deneysel olarak kontamine ettikleri sütlerden hazırladıkları yumuşak peynir örneklerinde bu etkenin yaşam sürecini incelemişlerdir. Kontamine sütlerden hazırlanan peynirlerdeki etken sayısının \log_{10}/g olarak 2. günde sırasıyla 5.5, 5 ve 4.5, 15. günde 5, 4.5 ve 3.5 olarak şekillendiği, 31. günde ise etkenlerin bütün örneklerde yıkımlandığı bildirilmiştir. Örneklerdeki pH'ın ise başlangıçta 6.78, 2. günde 5.41 ve 31. günde ise 5.91 olduğu belirtilmiştir.

Erol'un bildirdiğine göre (64), *Brucella*'lar çiğ keçi sütünden yapılmış peynirlerde 180 güne kadar, pastörize edilmemiş diğer süt ürünlerinde de uzun süre canlılığını koruyabilmektedir. *Brucella*'ların başlangıç kontaminasyon dozunun 2.0×10^3 kob/ml olduğunda 2-4 °C de muhafaza edilen kremada 144 gün, ayrıca bazı *Brucella abortus* suşlarının tereyağında 13 ay, dondurmada -1.1 °C de 1 ay canlı kalabildiği bildirilmektedir.

3. 13. Tulum Peynirinin Kimyasal Karakteri

3. 13. 1. Rutubet

Tulum peynirinin rutubet oranına etki eden en büyük faktör uygulanan işleme tekniğidir. Bazı peynir çeşitlerine uygulanan ısı işlemi onların daha sert bir yapıya sahip olmalarına dolayısıyla kuru bir yapıya sahip olarak daha az rutubet ihtiva etmelerine neden olur (108). Ayrıca üretim koşulları, olgunlaştırma şartları, kültür kullanımı, tuz oranı gibi

faktörler bu değer üzerinde etkili olmaktadır (72,156). Peynirdeki su oranı; peynirin besleyici değeri, duyu kalitesi, bileşimi ve dayanıklılığı üzerinde etkilidir.

Arıcı ve Şimşek (17), çiğ süttten yapılan tulum peynirleri ile CaCl_2 ve starter kültür ilavesiyle pastörize süttten hazırlananlar arasında kimyasal açıdan önemli bir fark bulunmadığını ifade etmekle birlikte çiğ süt peynirlerinin daha yüksek oranda kurumadde ihtiva ettiğini belirtmişlerdir.

Bostan'ın da aynı sonuca ulaştığı bir başka çalışmada (30), yine çiğ ve pastörize sütlerden üretilen tulum peynirlerindeki rutubet miktarlarının, 1. baskı sonunda %57.42 iken hızlı bir düşüş göstererek 3. baskı sonucunda %41.08'e indiği, daha sonraki dönemlerde bu düşüşün daha yavaş bir seyir göstererek 90. günde %39.82 olarak ortaya çıktığı ifade edilmiştir.

Patır ve ark. (138), çiğ süttten ürettikleri tulum peynirlerinde rutubet miktarlarını telemede ortalama %59.91, olgunlaşmanın 0. gününde %38.36 ve 90. gününde ise %35.93 olarak tespit etmişler ve diğer araştırmacılarla benzer sonuca ulaşmışlardır.

Ateş (19), deneysel olarak üretilen tulum peynirlerinde muhafazanın 1. gününde %45.44 olarak saptanan rutubet miktarının 90. güne kadar hızla azalarak %24.09-%35.84 seviyesine düştüğünü ifade edilmiştir.

Ateş (19), farklı gruplar oluşturarak ürettiği tulum peyniri örneklerinde rutubet değerlerinin çiğ süttten üretilen grupta 0. günde %39.91 olduğunu, bu değer devamlı azalarak 90. günde %34.16 olarak şekillendiğini, bunun yanında ise %1 ve %2 oranında starter kültür kullandığı gruplarda rutubet miktarlarının çiğ süttten daha yüksek olmak kaydıyla aynı seyri gösterdiğini tespit etmiştir.

Tulum peynirlerinde rutubet miktarlarının saptanması amacıyla piyasa taramalarının yapıldığı çalışmalarda rakamsal olarak birbirlerine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Bu rakamlar Divle tulum peynirlerinde %42.86, salamuralı tulum peynirlerinde %42.87, farklı ambalaj materyallerinden toplanan 38 adet tulum peynirinde %42.07, 17 adet şavak tulum peynirinde %46.29 olarak ortaya çıkmıştır (75).

3. 13. 2. Asitlik Değeri

Peynirde asitlik, kullanılan hammaddenin yani süttün niteliğiyle birlikte özellikle laktik asit bakterilerinin süttteki laktozu parçalayarak laktik aside dönüştürmesiyle şekillenmektedir. Bu değerler mikroorganizmaların popülasyonuna ve aktivitelerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedirler. Bunun yanında peynirlerin küflülük durumları da

asitlik üzerine etkide bulunurlar ve bu değerin düşmesine yol açabilirler. Peynirlerin kalitesi, olgunlaşma esnasında cereyan eden biyokimyasal reaksiyonların hangi asitlik ortamında gerçekleştiğine bağlı olarak değişmektedir (4,40,44).

Bostan (30), deneysel olarak 4 farklı nitelikte tulum peyniri üretmiş olup asitlik değerlerini A tipi peynirde %1.404, B tipi peynirde %1.368, C tipi peynirde %1.344 ve D tipinde ise %1.524 olarak tespit etmiştir.

Öztürk ve Nazlı (132), inek ve koyun sütlerine deneysel olarak *Brucella melitensis* enjekte ederek yaptıkları tulum peyniri örneklerinde, inek sütünden yapılmış olan peynirlerde asitlik değerinin telemde %0.175 iken 90. günde %1.368'e; koyun sütü ile yapılan tulum peynirlerinde ise bu değerlerin telemde %0.168 ve 90. günde %1.517 olarak gerçekleştiğini ifade etmişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada (19), çiğ süttten üretilen A, %1 kültür ilavesiyle hazırlanan B₁, C₁, D₁ ve %2 kültür katılarak üretilen B₂, C₂, D₂ tipi tulum peyniri örneklerinde asitlik değerleri 0. günde sırasıyla % olarak 0.35, 0.71, 0.45, 0.71, 0.75, 0.67 ve 1.05 olarak tespit edilmiş olup bu değerler olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde devamlı surette yükselerek 90. günde sırasıyla % olarak 0.58, 0.81, 0.68, 1.05, 1.14, 0.89 ve 1.33 seviyesine yükselmiştir.

Yine Arıcı ve Şimşek (17), yapmış oldukları bir araştırmada asitlik değerlerini ortalama olarak A tipi peynir örneklerinde Soxhelet-Henkel (SH) cinsinden 87.00, B tipinde 87.16, C tipinde 77.51 ve D tipi peynirlerde 72.01 olarak saptamışlardır. Diğle tulum peynirlerinde asitlik değeri 76.70 SH olarak tespit edilmiştir (75).

Farklı peynirler üzerinde yapılan araştırmalarda (30,52,61,132,135), asitlik değerinin olgunlaşmanın başlangıcından sonuna kadar arttığı saptanmıştır. Bu konuyla ilgili olarak yapılan bazı çalışmalarda (4,31,52,95,107) saptanan asitlik değerleri %1.387 ile %1.834 arasında değişkenlik göstermiştir.

3. 13. 3. pH Değeri

pH değeri, peynirlerin kendine özgü yapı, kitle, tat ve aromayı kazanmasında etkin bir role sahiptir. Gerek starter kültürler, saprofitler ve patojenler gerekse ürüne değişik amaçlarla katılan bazı katkı maddeleri ortamın pH'sına bağlı olarak aktivite gösterirler. Örneğin antimikrobiyal bir madde olan potasyum sorbatın pKa'sı (ayrışma sabitesi) 4.75'dir. Yani optimal aktiviteyi bu değerde gösterirler (57,109,165). Aktiviteleri pH

değişimlerinden en az etkilenen mikroorganizmalar maya ve küflerdir. Küfler 1.5-11, mayalarda 1.5-9 pH aralığında gelişebilme kabiliyetine sahiptirler (133).

Halk arasında peynir hastalığı da denilen Brucellosis'in etkeni olan ve patojen bir karaktere sahip olduğundan dolayı insan sağlığı için büyük tehlike arzeden *Brucella*'ların üremeleri için optimal pH değerleri 6.6-7.4 olup maksimum pH 8.7, minimum pH 5.8 olarak bildirilmiştir. Düşük pH değerlerinde *Brucella*'lar hızla inaktive olmaktadır (64).

Yapılan araştırmaların bazılarında olgunlaşma periyodu boyunca bazı peynir gruplarında pH'nın sürekli düşüş gösterdiği, bazılarında ise düzensiz bir seyir izlediği gözlenmektedir. Bu konuyla ilgili olarak tulum peynirleri üzerinde Bostan'ın gerçekleştirdiği bir çalışmada (30), 3. baskı sonuna kadar sürekli azalma gösteren pH'nın olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde seyrini düzensizleştirdiğini; A, B, C ve D olarak 4 farklı grupta incelemeye alınan örneklerdeki pH değerlerinin sırasıyla pıhtıda 6.3, 6.3, 6.2, 6.2; 3. baskı sonunda 4.9, 5.2, 4.8, 5.2; 90. günde ise 5.1, 5.3, 5.4 ve 5.4 olarak gerçekleştiği ifade edilmiştir.

pH değerlerinin de incelendiği bir çalışmada (19), çiğ süttten üretilen tulum peyniri örneklerinde 0. günde 6.28 olan pH, olgunlaşmanın 15. gününde 6.51'e yükselmiş ve daha düşüş göstererek olgunlaşmanın son günü olan 90. günde 6.20 olarak şekillenmiştir. Starter kültür ilave edilerek hazırlanan gruplarda ise bu değerler çiğ süttten üretilenlere göre daha düşük değerler sergilemiş ve olgunlaşma periyodu boyunca devamlı olarak düşmüştür.

Öztürk ve Nazlı (132), inek ve koyun sütlerinden deneysel olarak ürettikleri tulum peynirlerinde telemede 6.20-6.30 olarak tespit ettikleri pH değerlerinin olgunlaşmanın 7. gününe kadar azalarak 4.80-4.90 seviyesine düştüğünü, daha sonraki günlerde yavaş yavaş yükselerek 90. günde 5.10-5.20 düzeyine eriştiğini ifade etmişlerdir.

Bir başka çalışmada (191) ise, pıhtısı ısı işlemine tabi tutulan ve tutulmayan tulum peyniri telemelerinin pH'nının en düşük 4.47, en yüksek ise 5.14 olarak gerçekleştiği belirtilmiştir. Aynı zamanda mayalama sürelerindeki farklılıkların pH üzerindeki etkisinin de incelendiği bu çalışmada, sürenin uzatılmasının pH'ı düşürücü bir etki gösterdiği saptanmıştır.

Çelik (44), beyaz peynirler üzerinde karşılaştırmalı araştırmalar yapmışlar ve pastörize sütlere kültür ilave edilerek hazırlanan peynirlerde görülen pH düşüşünün, çiğ sütle üretilenlerden daha hızlı olduğunu saptamıştır.

3. 13. 4. Tuz

Tuz, üretilen peynirin tipine bağlı olarak değişik oranlarda katılmaktadır. Bu işlem ürüne istenilen yönde tat ve aroma vermesi, peynirin tekstürünü düzeltmesi, süzülme yi tamamlaması, bazı istenmeyen mikroorganizmaların gelişimlerinin engellenmesi ve olgunlaşmayı düzene sokması gibi etkilerde bulunur. Tuzlama işlemiyle, telemede asidite oluşumu kısıtlanır, dolayısıyla tuzlamadan sonra telemenin pH değerinin düşmesi sınırlandırılır. Tuz bazı bakterilerin gelişmesini sınırlandırırken bazılarının da gelişimini hızlandırmaktadır (175).

Tuz miktarının olgunlaşma süresi içerisinde genellikle yavaş bir şekilde yükseldiği; rutubet, pH, sıcaklık ve protein miktarlarındaki değişimlerin tuz miktarları üzerinde etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (44,132,135,176).

Uygulamalarda bir örneklik olmadığı için üretilen tulum peynirlerindeki tuz miktarları farklılıklar arz etmektedir. Yapılan çalışmalarda tuz miktarları, %5.83 (200), %4.66 (4), %3.38 (31), %4.59 (139), ayrıca deri tulumlarda %4.74, teneke kutularda %4.94 (95), divle tulum peynirlerinde %3.36 (75) gibi farklı oranlarda tespit edilmiştir.

Patır ve ark. (138), deneysel olarak ürettikleri tulum peynirlerinde başlangıçta %5.39 olarak tespit ettikleri tuz miktarının olgunlaşmanın 60. gününde %6.93 ve 90. gününde ise %6.69 olarak gerçekleştiğini ifade etmişlerdir.

Ateş (19), çığ koyun sütünden deneysel olarak tulum peyniri üretmiş, olgunlaşmanın başlangıcında %4.47 olarak tespit ettiği tuz değerinin muhafaza süresince artarak 90. günde %5.02 rakamına ulaştığını bildirmiştir.

3. 14. Gıda Katkı Maddeleri ve Antimikrobiyaller

Dünya nüfusundaki hızlı artış, teknolojik gelişmeler, sanayileşme insanların yaşam şekilleriyle birlikte beslenme alışkanlıklarını da değiştirmiştir. Güncel yaşam içerisinde zaman kavramının çok değerli bir hal almasıyla birlikte insanlar beslenmeleri için artık daha az vakit ayırmaktadırlar. Bu durum beraberinde hazır yiyeceklere olan talebin artması ve bunun büyük bir sanayi kolu olması sonucunu doğurmuştur. Ortaya çıkan bu hazır gıda sanayisiyle; gıda maddelerinin niteliklerini yitirmeden ve bozulmadan daha uzun raf ömrüne sahip olması için değişik amaçlı katkı maddeleri sıkça gıdaların bileşiminde kullanılmaya başlanmıştır. Ürünlere katılan bu bileşikler de genel olarak gıda katkı maddeleri olarak isimlendirilmiştir.

Gıda katkı maddelerinin kullanılması insanlık tarihi kadar eskidir. İnsanoğlunun ateşi bulup çevresindeki hammaddeleri pişirerek tüketmeye başladığı dönemde, doğal katkı maddelerinden tuz ve bazı baharat çeşitleri kullanılmaya başlanmış ve bugünde aynı amaçla kullanılmaktadırlar. Mısırlılar 3500 yıl önce gıda katkısı olarak renk maddelerini kullanmışlar ve “Khand” adı verilen boyanmış şeker ilk kez Büyük İskender’e hediye olarak sunulmuştur. M.Ö. 50 yıllarında, Eski Romalılar tarafından sağlanan baharatların İngiltere’de aroma verici olarak kullanıldığı bilinmektedir. 1856 yılında “anilin purple” adı verilen renk maddesinin sentezi ile ilgili çalışmalar yapan Perkins bugün gıda endüstrisinde pek azı kullanılmakla beraber çok sayıdaki yapay boyalar üzerinde yürütülen çalışmalara öncülük etmiştir. 1886 yılında, ilk kez gıda katkı maddesi olarak tuz ve kalsiyum fosfat karışımı bir preparat üretilmiş ve çeşni maddesi olarak ticari işlem görmüştür (149).

WHO, 1956 yılında 40 ülkeyi kapsayan ve 114 yapay renk maddesi ile 50 doğal renk maddesini içeren listeleri yayınlamaya izin vermiş ve uygulamaya koymuştur (43,149). Günümüzde 2000 den fazla katkı maddesinin gıda sanayisinde değişik amaçlarla kullanımına izin verilmiş ve bunların kullanımını birçok ülkede yasal düzenlemelerle saptanmıştır (43).

Gıda katkı maddeleri genel anlamda “gıdaların özelliklerini istenilen biçimde etkilemek amacıyla kullanılan maddeler” şeklinde tanımlanmaktadır. Bunlar hem doğal kaynaklı (vitaminler, mineral maddeler, doğal aroma maddeleri) hem de yapay olarak üretilen (konserve edici maddeler, antioksidanlar, emülgatörler, koruyucu maddeler vs.) maddelerdir (12,149). Gıda katkı maddeleri birçok araştırmacı ve kurum tarafından kökenleri benzer olmakla beraber değişik şekillerde tanımlanmıştır. FAO/WHO Birleşik Kodeks Komitesinin tanımında “tek başına besin değeri taşımayan ancak gıda maddelerine bilinçli olarak direkt veya indirekt olarak katılan , onların görünüşlerini ve yapılarını düzeltmek için veya muhafaza olanağını artırmak için sınırlı miktarlarda katılan maddelerdir” denilmektedir (149). Gıda Katkı Maddeleri yönetmeliğimiz ise gıda katkı maddelerini “normal şartlarda tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya tipik gıda ana bileşeni olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan yada olmayan ve gıdanın üretilmesi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında teknolojik amaçla beklenen sonucu elde etmek için mamule yada bir komponentini elde etmek için yan ürüne doğrudan yada dolaylı olarak ve bilinerek katılan maddeleri ifade eder” şeklinde tanımlanmıştır (169).

Gıda katkı maddelerine ilişkin sınıflandırmalar, gelişen bilim ve teknoloji doğrultusunda değişmekte ve sayıları artmaktadır. Yapılmış olan sınıflandırmalarda gıda katkı maddeleri bazen kullanılış amacına, bazen de üretimde kullanıldığı gıda maddesine göre gruplandırılmaktadır (43,149). Gıda Katkı Maddeleri yönetmeliği, katkı maddelerini kullanım amaçlarına göre asitliği düzenleyiciler, antioksidanlar, tatlandırıcılar, renklendiriciler, antimikrobiyaller vb. gibi 18 ayrı grupta sınıflandırmıştır (169).

Bu sınıflandırma içerisinde yer alan kimyasal yapıdaki antimikrobiyal maddeler gıda maddelerinin muhafazasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Besin maddelerinde meydana gelen bozulmalar eski zamanlardan beri insanlar için sorun olmuştur. Çok eski yıllardan beri gıda muhafazasında mikroorganizmalara karşı kullanılan asitler, tuzlar, şeker ve odun tüsülerinin yerini bugün gıdaların mikrobiyal bozulmalarına karşı daha büyük güvenle kullanılan antimikrobiyal maddeler almıştır (57). Gıda endüstrisinde uygulanan gıda işleme ve saklama yöntemleri zamanla birbirini izleyen sürekli bir gelişim göstermiştir. Gıda muhafazasında kimyasal madde uygulaması uzun yıllardan beri bilinmektedir. 1900 yılında Paris'te yapılan hijyen kongresinde, bu kimyasal maddelerin kullanımı, insan sağlığı açısından problemler yaratacağı endişesiyle yasaklanmıştır. Bununla beraber 1932 yılında antimikrobiyal özellikteki kimyasal bileşiklerin maksimum kullanım dozu ve uygulanacağı gıda maddeleri türünün saptanması şartıyla kullanımlarına izin verilmiştir. Ancak bugün gıda katkısı olarak kullanılan bu tür antimikrobiyallerden bazıları sağlık açısından şüpheli konumlarını sürdürmeye devam etmektedir (43,54). Şunu da unutmamak lazım ki fabrikasyon işlemleri esnasında gıdalara ilave edilen her kimyasal madde bir prezervatif yani antimikrobiyal olarak düşünülemez. Örneğin konservasyon esnasında kutunun üst kısmındaki hava nitrojenle boşaltılırsa burada nitrojen gazı gıdaya ilave edilmiş kimyasal bir prezervatif olarak düşünülemez (50).

Antimikrobiyal maddeler, gıdalarda istenmeyen ancak herhangi bir nedenle bulunabilen veya bulunma olasılığı olan maya, küf, patojen olan veya olmayan her türlü mikroorganizmayı ortamdaki yok etmek, onların çoğalma ve faaliyetlerini engellemek için gıdalara katılmaktadırlar. Antimikrobiyal maddelerin etkili olabilmeleri 3 temel faktöre bağlıdır (43,57,70,149,157).

- pH'nın etkisi
- Dissosiasyon (ayrışma) etkisi
- Antimikrobiyal maddelerin spesifik etkisi.

Her kimyasal madde ancak belirli pH aralığında etki gösterebilmektedir. Koruyucu maddenin belirlenmesinde, öncelikle gıdanın pH değerinin gözönünde bulundurulması gerekir. Örneğin pH'ı 3 olan 0.1 M asetik asit solüsyonu organizmalar üzerinde zayıf bir etki gösterirken pH'ı 1 olan bufferlenmemiş 0.1 M HCl maya ve küfleri de kapsayan birçok mikroorganizmayı öldürebilir (43,57,149).

Antimikrobiyal maddelerin mikroorganizmalar üzerinde etkili olan kısmı dissosiyeye olmayan yani ayrışmamış olan kısmıdır. Birçok antimikrobiyal maddenin pK değerleri 3 ile 5 aralığında düşer. pH düştüğünde dissosiyeye olmayan asit konsantrasyonu artar. Yani daha etkili antimikrobiyal aktivite gösterir. pH oranı yükseldiğinde birçok organik asit kısmen etkisiz mikrobiyal inhibitör haline dönüşür. Parabenler ve hidroksibenzoik asit derivatları nötral pH'da dissosiyeye olmayan formda bulunurlar ve pH 7 de etkili birer inhibitör olurlar. Sorbik asit daha düşük pH'larda daha etkili olmasına rağmen pH 6.5 de de antimikrobiyal aktivite sergilemektedir (43,57,70).

Antimikrobiyal maddeler her mikroorganizmaya karşı aynı nitelikte antibakteriyel etki göstermezler. Bu etki bazılarında daha az bazılarında ise daha fazladır. Bu özelliğe kimyasal maddenin "antibakteriyel etki spesifikliği" denir (43). Antimikrobiyal maddenin çözünürlüğü ve ortamın pH'ıda dikkate alınmak suretiyle spesifik inhibitör etki gösterdiği mikroorganizmalara karşı uygun gıda maddelerinde kullanılırlar (70).

Bu temel faktörlerin dışında ortamın su aktivitesi, bileşimi, kimyasal maddenin çözünürlüğü, antimikrobiyallerin karşılıklı etkileşimleri ile kullanım dozajları antimikrobiyal maddelerin organizmalar üzerindeki etkilerini ortaya koyan diğer etmenlerdir. Ayrıca, belli bir saflıkta olmaları ve bileşimlerinde selenyum, arsenik, kurşun gibi toksik etkili maddelerin bulunmaması da önemli bir noktadır (43,57,149).

Gıdalarda, antimikrobiyal özellikte birçok katkı maddesi tek başına yada kombine olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde gıda maddeleri tüzüğümüzün kullanımına izin verdiği sorbik asit ve tuzlarının kullanılacağı mamuller ile kullanım miktarları Tablo 4'de sunulmuştur (169).

Tablo 4. Sorbik asit ve tuzlarının kullanım alanları ile miktarları (169).

E.C.	Maddenin adı	Kullanılacağı mamul	Maksimum miktar
E.200	Sorbik asit	-Sos ve ketçaplar	1 g/kg
E.201	Sodyum sorbat	-Sofralık zeytinler	500 mg/kg
E.202	Potasyum sorbat	-Mayonezler	1 g/kg
E.203	Kalsiyum sorbat	-Margarinler	1 g/kg
		-Şekerlemeler	1 g/kg
		-Reçel, jöle ve marmelatlar	1 g/kg
		-Peynir çeşitleri	1 g/kg
		-Alkolsüz içecekler	0.7 g/kg
		-Et ürünleri	0.2 g/kg
		-Ekmek	1 g/kg
		-Kek, pasta hamuru	1 g/kg

2. 14. 1. Sorbik Asit ve Tuzları

Gıdaların muhafazasında kullanılan koruyucu maddelerden birisi de sorbik asit ve tuzlarıdır. Diğer koruyuculara göre birçok üstünlüğü olan bu antimikrobiyal madde gıda endüstrisinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır.

Sorbik asit doğada *Sorbus aucuparia* L. adı verilen üvez ağacı ve meyvelerinde bolca bulunmaktadır. Sorbik asit ilk defa 1859 yılında Londra'da bir Alman kimyager olan A.W. Hoffman tarafından yabani üvez ağacının olgunlaşmamış meyvelerinden elde edilmiştir (97,109,165). Bu bileşiğin yapısı 1870-1890 yılları arasında açığa kavuşturuldu ve ilk kez 1900 yılında O. Doebner tarafından sentezlendi (165). Sorbik asidin antimikrobiyal özelliğe ve aktiviteye sahip olduğu ise Almanya'da E. Müller, A.B.D.de de C.M. Gooding tarafından 1940 yılında saptanmıştır. Bu araştırmacılar sorbik asidin antifungal özelliği olduğunu keşfederek gıda endüstrisine yeni değişimler getirmişlerdir (57,97,109,144,165). Bu koruyucu, 1950 li yılların ortalarından beri ise mikroorganizmaların gıda maddelerinde oluşturduğu problemlere karşı tüm dünyada gittikçe artan bir boyutta kullanılmaktadır (109,165).

3. 14. 1. 1. Genel Özellikleri

Doğal olarak üvez meyvesinde lakton formunda bulunan sorbik asit α,β doymamış monokarboksilik asit zinciridir ve $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCOOH}$ yapısında 6 karbona sahip organik bir asittir. Hafif asidik tatta, kokusuz, saf halde beyaz kristal bir tozdur. Saf ve seyreltilmiş halde ışığa ve sıcaklığa hassastırlar. Serbest asit olarak veya sodyum, potasyum, kalsiyum tuzları halinde granüle, toz ve çözelti gibi çeşitli formlarda

bulunmaktadır. Sorbik asidin suda çözünürlüğü çok düşüktür. Genel olarak sorbatlar şeklinde nitelendirilen tuzlarının ve bunlar içinde özellikle potasyum tuzunun suda oldukça yüksek çözünürlük oranına sahip olması nedeniyle gıda maddelerine uygulamada potasyum sorbat tercih sebebi olmaktadır (43,50,97,109,149,165). Sudaki çözünürlükleri ortamın pH'sı ve ısısına bağlı olarak değişir. 25 °C deki suda sorbik asidin çözünürlüğü %0.16 iken potasyum sorbatın aynı şartlardaki çözünürlüğü %50 nin üzerindedir (165). Bitkisel yağlarda asidin çözünürlüğü potasyum tuzunun çözünürlüğünden daha iyidir. Örneğin 20 °C deki yağda potasyum sorbatın çözünürlüğü %0.01 iken asidinki %1 dir. Sükroz, glikoz ve NaCl gibi çözündürülebilir gıda bileşenlerinin konsantrasyonu arttıkça sorbik asidin sudaki çözünürlüğü azalır. Yağ miktarındaki artış da sorbik asidin sulu fazdaki miktarını azaltan bir faktördür. Sorbik asit tuz, un ve mısır nişastası gibi katı dolgu maddeleriyle karıştırılarak kullanılabilir (97,109,149,165). Sorbik asit ısının etkisiyle sublimleştiğinden dolayı gıdalara uzun süren ısıtma yada kaynatma işlemi uygulanacaksa bu aşamadan sonra katılmalıdır (109).

Kimyasal yapısı $CH_3CH=CHCH=CHCOOK$ olan potasyum sorbat beyaz kristal toz halindedir. Sudaki çözünürlüğü oldukça yüksek olup 100 ml de 139.2 g çözünürlük kapasitesine sahiptir. Alkolde 20 °C de 1ml de 20 g çözünür. Daldırma ve sprey şeklinde uygulama için yüksek konsantrasyonlu solüsyonları gereklidir (97,149).

Sorbatlar gıda maddelerine farklı şekillerde tatbik edilebilirler. Ürünün içine direkt olarak ilave edilebileceği gibi yüzeye sprey şeklinde püskürtme, toz şeklinde serpmeye, gıda maddesini belirli konsantrasyonlarda hazırlanmış olan sorbat çözeltilerine daldırma yada ambalaj materyallerini sorbatla kaplamak suretiyle uygulanabilirler.

Sorbik asit ve potasyum tuzu antimikrobiyal bir koruyucu olarak oldukça yaygın bir şekilde gıdalarda kullanılmaktadır. Sorbatların pratik uygulamaları arasında insan gıdaları, hayvan beslenmesinde kullanılan gıdalar, farmasötikler, kozmetik ürünler ve paketleme materyallerinin korunması yer almaktadır. Bir gıda koruyucusu olarak kullanılan sorbatların uygulama alanları içerisinde peynir ve peynir ürünleri, yoğurt, ekşi krema gibi süt ürünleri; kek ve kek karışımları, pastalar, şekerli çörek, yumuşak şekerlemeler, şekerli krema, fırıncılıkta kullanılan soslar, şarap, meşrubat, meyve suları, reçeller, jeller, kuru meyveler, meyve şekerlemeleri, salatalar, fermente ve salamura sebzeler gibi meyve ve sebze ürünleri ile et, balık ve bunların ürünleri, mayonez, margarin, salata sosları gibi diğer gıda maddeleri yer almaktadırlar (43,109,148,149,165,169).

3. 14. 1. 2. Sorbatların Etkinliğini Etkileyen Faktörler

a) pH'nın Etkisi : Sorbik asit gibi organik asitler sulu çözeltilerde ayrışır ve ortama hidrojen iyonlarını salıverirler. Sorbik asit ve diğer organik asitlerde antimikrobiyal aktiviteyi sağlayan ayrışmamış moleküllerdir (97,109). Ayrışmamış formdaki moleküllerin miktarı pH ile tespit edilir. Sorbatların antimikrobiyal etkisi, ayrışma sabitesi olan (pKa) 4.75 e yaklaştığında artar. Bu pH değerinde, sorbik asidin %50 si ayrışmayan formdadır (97,109). Sorbatların etkili olduğu üst pH limiti 6.0-6.5 dir. Sorbatlar düşük pH değerine sahip olan gıdalarda oldukça etkili olmaktadır. Örneğin *Salmonella typhimurium*, pH'sı 6.7 olan nutrient broth yada pH'sı 6.4 olan yağsız sütte %0.3 sorbik asit varlığında gelişebilmektedir. Bununla birlikte pH 5'e düşürüldüğünde her iki vasatta da büyüme meydana gelmemiştir (97,109,134).

b) Su Aktivitesi : Gıdalara su aktivitelerini azaltan gıdaların katılmasıyla sorbatın tesirliğinde olumlu etkiler ortaya çıkar. Tuz ve şeker gibi maddeler hücrelerin şişerek büyümesine neden olurlar ve sonucunda hücre antimikrobiyal maddeye karşı hassaslaşır (109) Robach ve Stateler (145), NaCl ve sorbatın belirli kombinasyonlarının *Staph. aureus*'un inhibisyonunda sinerjistik bir etki ortaya koyduğunu saptamışlardır.

c) Sıcaklık : Sorbatların antimikrobiyal aktivitesi üzerinde ısı farklılıklarının etkili olduğu gözlenmiştir. Sorbat düşük ısıyla kombine edildiğinde üzüm suyunun raf ömrünü artırdığı ve bu kombinasyonun diğer meyve sularında da aynı etkiyi ortaya koyduğu saptanmıştır (109). Beuchat (26,27), NaCl ve sükrözün muhtemelen hücreleri dehidre etmesinden dolayı ısıya karşı ortamın direncini artırdığını fakat eriyik madde konsantrasyonu ne olursa olsun sorbat uygulamasının mikroorganizmaların ısıya karşı duyarlılıklarını artırdığını saptamıştır.

d) Atmosfer : Birçok araştırmacı CO₂ ve sorbat kombinasyonunun mikroorganizmaların inhibe edilmesinde etkili olduğunu saptamışlardır. Elliot ve arkadaşları (58,59), CO₂ ve sorbatın *Salmonella enteritidis* ve *Staph. aureus*'u inhibe etmede sinerjistik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Sorbat vakumlu paketlenmiş domuz filetolarında psikrotrofik bakterilerin gelişmesini geciktirmiştir (109).

e) Gıda Bileşenleri : Sorbatın etkinliği, gıdanın yapısı içerisinde sorbatın dağılımını değiştirebilen gıda bileşenleri tarafından etkilenebilir. Yağ miktarındaki artış mikrobiyal kontrol için gerekli olan sulu fazda sorbat miktarını düşürür. Tuz ve şeker gibi çözünebilir gıda bileşenleride sulu fazdaki sorbat miktarını azaltırken kombine etkilerinden dolayı sorbatın antimikrobiyal etkinliğini artırır (26,109). Bazı asitler sorbatın sudaki

çözünürlüğünü azaltır. Fakat asitler aynı zamanda sorbatın ayrışmamış formdaki aktif miktarını artırarak antimikrobiyal aktivitelerini de artırır (109).

f) Mikrobiyal Flora : Gıdalarda bulunan mikroorganizmaların sayıları ve türleri sorbatın mikrobiyal büyüme ve bozulmayı önleme kabiliyetini etkileyen faktörlerdir. Başlangıç mikroorganizma sayısının düşüklüğü başlangıç lag fazından mikroorganizmaların sorbatlar tarafından inhibe edilmesine kolaylık sağlar (111). Sorbatlar birçok maya ve küf türü ile bazı bakterilere karşı etkili olabilirlerken tüm mikroorganizmalara karşı etkili değildir. Bazıları yüksek sorbat konsantrasyonunda dahi gelişebilirler ve bazen bu organizmalar sorbatı metabolize edebilirler. Karışık mikrobiyal floraya sahip gıdalarda bazı organizmalar sorbatlar tarafından elimine edildiğinde sorbatlar tarafından etkilenmeyen diğer etkenler daha hızlı ve daha yüksek konsantrasyonlarda gelişmelerini sürdürebilirler (109).

g) Sorbat Konsantrasyonu : Düşük konsantrasyonda sorbat katılan gıda maddelerinde bazı organizmalar sorbat sayesinde daha iyi gelişme imkanı bulabilirler. 500 ppm potasyum sorbat 25 °C de *Aspergillus ochraceus*'un toksin üretimini ve gelişmesini stimüle ederken sorbat konsantrasyonu 1500 ppm'e çıkarıldığında hem gelişme hem de toksin oluşumu azalır. Sorbik asidin %0.75'lik konsantrasyonu 37 °C de pH 5 de 48 saatte *Salmonella* ve *E. coli*'yi inhibe ederken oran %0.075'e düşürüldüğünde yalnızca bakteriyostatik bir etki ortaya çıkmaktadır (97).

h) Koruyucuların Birbirleriyle Etkileşimleri : Koruyucuların aynı gıda maddesinde birlikte kullanımları mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini artırabilir yada azaltabilir. Örneğin sorbik asit ve formik asit kombinasyonu *Saccharomyces cerevisiae* mayasına antagonist etki gösterirken, *Aspergillus niger*'i inhibe etmede sinerjistik davranırlar (111). Birçok araştırmacı sorbat ve nitritin botulinal toksin üretimini geciktirmede ve kötü koşullar altında toksin üretimi için gerekli olan zamanın uzatılmasında sinerjistik davranışlarını göstermişlerdir (116,123,160,164). Yine Morad ve ark. (122), sorbatla bir antioksidan olan butillenmiş hidroksianisol (BHA) kombinasyonunda bu iki maddenin sinerjistik davranıp pişmiş hindi etinde *Salmonella typhimurium* ve doğal florayı inhibe ettiğini saptamışlardır.

3. 14. 1. 3. Sorbatların Antimikrobiyal Etki Mekanizması

Uzun yıllar boyunca sorbatlar yalnızca maya ve küfler üzerine etkili olabilen bakteriler üzerinde ise yok denebilecek kadar az bir etkiye sahip olduğu düşünülen

koruyucu maddeler sınıfındaydı. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda sorbatların Gram negatif ve pozitif, katalaz negatif ve pozitif, aerob, anaerob, psikrofilik, mezofilik ve termofilik birçok mikroorganizma türüne karşı etkili olduğu saptanmıştır (97).

Sorbik asit ve tuzları mikroorganizmaların spor yada hücre oluşumu üzerinde önleyici yada geciktirici etkide bulunabilen antimikrobiyal bir koruyucu olarak bilinir. Ancak sorbatların bunu nasıl başardığı açık ve tam olarak tanımlanabilmiş değildir. Bazı araştırmacılar mikroorganizmaların çeşitli enzim sistemlerinin inhibisyonu ile sorbatları ilişkilendirmişlerdir (50,97,109,165). Sorbik asidin, yağ asitlerinin β -oksidasyonunda belli dehidrogenaz enzimlerini inhibe ettiği savunulan görüşlerden biridir. Bu mekanizma, inaktive edilen enzim sisteminin metabolizmasının bozulması ve sonucunda hücrenin ölümüyle şekillenmektedir. Küflerin inhibisyonu genel olarak bu sistemle açıklanmaktadır (109,165).

Sülfidril içeren bir enzim olan fumerazın, sorbik asidin varlığında katalaz pozitif bakteriler ile maya ve küflerin oksidatif metabolizmalarının inhibisyon noktası olduğu belirtilmiştir. Bunun yanında aspartaz, süksinik dehidrogenaz ve maya alkol dehidrogenaz gibi sülfidril ihtiva eden enzimlerinde sorbatlar tarafından inhibe edildiği vurgulanmıştır. Sülfidril enzimlerinin inhibisyon mekanizması olarak sorbik asidin, enzimlerdeki sistemin tiyol grubu ile reaksiyona girmesi öne sürülmüştür (98,109,165).

Diğer bir grup araştırmacı (109,165) ise, sorbatın koenzim A ve asetat ile kombine hareket ederek solunumu inhibe edebileceğini belirtmiştir. Sorbat koenzim A ve asetat ile tamamen birleşebilir. Bu durum koenzim A ile ilgili enzim reaksiyonlarının engellenmesine sebep olur. Bununla birlikte, sorbatın enolazı inhibe ederek de antibakteriyel etki gösterdiği ifade edilmektedir. Sorbatın inhibitör etkisinin hücre içinde toksik olan hidrojen peroksitin artışına sebebiyet verebilen katalazın inhibe edilmesiyle ortaya çıktığı ve yine hücre içinde enzimleri inhibe ederek organizmalarda oksidatif fosforilasyon olayının sonlandırdığı bildirilmektedir. Hücresel enerji depolarından aktif transport sistemi bağlantılarının çözülmesi anaerobik şartlar altında mayaların sorbatlar tarafından oluşturulan inhibisyon mekanizmasını açıklar (97,98,109,165).

Freese ve ark. (Freese et al.), sorbatların hücrelerdeki substrat moleküllerinin transportunu inhibe ederek mikrobiyal gelişmeyi engellediklerini ileri sürmüşlerdir. Yousef ve Marth (209) ise, sorbatların aynı hareket tarzıyla aflatoksin biyosentezini inhibe ettiğini belirtmiştir. Ayrışmamış sorbik asitten H⁺ iyonları, hücre içinde serbest kalarak, putrefaktif anaerob ve proteolitik *Clostridium* türlerinin vejetatif hücrelerinde pH'nın düşmesine

sebebiyet verirler. Bunun sonucunda aminoasit transportu gibi hücrelerin aktivitesine enerji sağlayan güçlerin azalmasıyla sorbatlar inhibitör etki gösterirler şeklinde görüşlerde mevcuttur. Ayrıca sorbatlar bakteri türlerine bağlı olarak hücre membranlarına , organizmalardaki protein yapılı maddelere etkiyerek inaktivasyonlara yol açarlar. %0.4 sorbat konsantrasyonu ile *Pseudomonas fluorescens*'in RNA, DNA ve protein sentezini engellenmiştir (97,98). *Cl. botulinum* tip E nin gelişmesinin pH 5.7-5.8 de %1-2 sorbat konsantrasyonu ile engellendiği fakat aynı konsantrasyonda sorbatın pH 7.0-7.2 de gelişmeyi durdurmayıp hücre şekillerinde bozukluklara ve hatalı hücre bölünmelerine sebebiyet verdiği saptanmıştır (97).

Ortaya çıkan sonuç şudur ki, sorbatın mikroorganizmalara karşı etki mekanizmaları hakkında bilim adamları arasında tam bir fikir birliği yoktur. Genel olarak yukarıda bahsedilen veriler hipotezler üzerine kurulmuşlardır ve bazı mikroorganizma türleri yada izole edilen enzim sistemleriyle özel şartlar altında yapılan çalışmaların sonuçlarıdır. Sorbatın antimikrobiyal aktivitesi için başlı başına sorumlu tutulabilecek tek mekanizmanın olmayacağı ve muhtemelen inhibisyonun nonspesifik olduğu söylenilebilir. Bundan dolayı sorbatın inhibisyon mekanizması ortam şartlarına bağlı olarak bakteri, maya ve küfler ile bunların türlerine göre farklı olabilmektedir.

3. 14. 1. 4. Sorbatların Sağlık Açısından Önemi

Sorbatların geniş bir spektrumda kullanım imkanlarının bulunması ve organizmalar üzerinde spesifik etkilerde bulunabilme özelliğine sahip olmaları gibi nedenlerle diğer koruyucu maddelere göre gıdalarda kullanımı daha yaygın olan bir antibakteriyeldir. Sorbik asit ve tuzları insanlar ve hayvanlar tarafından kolayca hazmedilebilecek bir yapıdadırlar. Bu doymamış yağ asidinin metabolizması insan ve hayvanlarda doğal olarak bulunmaktadır. İnsan sağlığına zararsız olan sorbatlar vücutta doğal olarak yağ asitlerine benzer bir şekilde metabolize edilirler ve CO₂ ile H₂O'ya parçalanırlar. Bu işlemler sonucunda enerjide verebilirler. Vücuttaki yarı ömrü, dozajına bağlı olarak 40-110 dakikadır. Renksiz ve kokusuz olduklarından katıldıkları ürünün tadına ve rengine etki yapmazlar (50,55,97,103,109,204).

Gıdalarda antimikrobiyal olarak kullanılmasına izin verilen tek doymamış organik asit sorbik asittir. Sorbik asidin potasyum tuzu, "genel olarak güvenilir olduğu kabul edilen" (GRAS, Generally Recognized as Safe) bir maddedir ve A.B.D.'de koruyucu maddelerin ilave edilebileceği her türlü gıdaya katılmasına müsaade edilmiştir

(43,109,144,149). Metabolize edilebilir bir yağ asidi olduğundan dolayı güvenilir olarak kabul edilir. Sorbik asit ve tuzları diğer koruyuculara göre daha az toksik etkiye sahiptir. WHO sorbik asit ve tuzları için "kabul edilebilir günlük en yüksek tüketim miktarını (ADI) 25 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir (202,203). Son zamanlarda, bu katkı maddesinin et ürünlerinde kullanımının insan sağlığı için tehlikeli sonuçlar yaratabileceğine dair bazı raporlar açıklanmıştır. İnvitro çalışmalar yapan Japon araştırmacılar, belirli şartlar altında, sorbik asidin sodyum nitritle reaksiyona girerek DNA'ya zarar veren mutagenik ürünler ortaya çıkardığını rapor etmişlerdir. Bununla beraber, aynı grup araştırmacılar bu reaksiyonların meydana gelmesi için optimum pH'nın 3.5 olması gerektiğini ve maksimum indüklenme aktivitesinin sorbik asidin 1:8 oranında kullanılmasıyla görüldüğünü bildirmişlerdir (144).

İngiltere'de parasorbik asidin farelerde, parasorbik asit ve sorbik asidin sıçanlarda uzun sürede (2 yıl) yaptığı etkiler incelenmiştir. Günde 1000 ppm sorbik asit verildiği durumlarda bile toksik etki görülmemiştir. Sorbik asit veya potasyum tuzu oral olarak veya deri altından verildiği durumlarda tümör oluşturmadığı saptanmıştır (43,149).

3. 14. 1. 5. Gıdalarda Sorbat Kullanımı ve Sonuçları

Birçok gıda maddesinde kullanımına izin verilen sorbik asit ve tuzlarının asıl kullanım alanı süt ve mamulleridir. Süt ve süt ürünleri endüstrisinde en çok peynirlerde görülen ve bazı bozulmalara neden olan mikroorganizmalara karşı kullanılan bu koruyucu maddenin en yaygın kullanımını peynir endüstrisinde görmekteyiz. Sorbik asit ve tuzları hemen hemen 51 çeşit peynirde ve peynirden yapılan çeşitli ürünlerde kullanılmaktadır (57). Peynirler özellikle olgunlaşma sırasında küflere karşı sorbik asit ve tuzlarından hazırlanmış çözeltilere daldırılmakta veya bu çözeltiler peynirlerin yüzeyine püskürtülmektedir. Yine aynı amaçla pastörize eritme peynirler, taze peynirler ile et, sebze ve meyve katılarak hazırlanan peynir ürünlerine yeterli ve izin verilen miktarlarda sorbat ilavesi yapılmaktadır. Bazı peynirlerde sorbatlar peynir pıhtısına toz halinde ilave edilir. Bu uygulama, yalnızca olgunlaştırılmadan taze olarak tüketilen peynirlerde izlenen bir yöntemdir. Peynirlerin yüzeyinde görülen küflenmelerin önüne geçebilmek için toz halindeki sorbatlar yüzeye veya peynirin yerleştirileceği ambalaj materyalinin iç yüzüne serpilir. A.B.D., Fransa ve İngiltere'de bu tür paketleme materyalleri geniş ölçüde kullanılmaktadır. Genellikle beher m² paketleme materyallerine yaklaşık 4 g sorbat kullanımı önerilmektedir. Ayrıca potasyum sorbat şeklinde salamuraya eklenerek de

kullanılabilir. Sorbik asidin fungustatik etkisi yanında olgunlaşma için gerekli olan proteinazlar üzerine engelleyici etkisinin olmadığı bildirilmektedir (21,57,103,149).

Sorbatlar süt ve ürünlerinde yalnızca maya ve küfler üzerine olan etkilerinden dolayı kullanılan bir antimikrobiyal değildir. Bu tür ürünlerde istenmeyen ancak herhangi bir nedenle bulunma olasılığı olan patojen veya patojen olmayan her türlü mikroorganizmayı ortamdaki yok etmek veya onların çoğalma ve çalışmalarını önlemek amacıyla da kullanılmaktadır. Özellikle patojenler üzerine olan etkileri son zamanlarda ayrıntılı bir şekilde incelenmekte, etkinliklerini artırabilmek için bireysel yada diğer koruyucularla birlikte kullanımının doğurduğu sonuçlar üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (57,149). Özellikle ülkemizde yaygın bir şekilde tüketilen tulum peynirlerinde sorbatların veya diğer koruyucuların ortaya koyduğu etkiler üzerine herhangi bir veri bulunmamakla birlikte dünya üzerindeki farklı yörelerin kendine özgü peynir türlerinde yapılan bu tür araştırmalardan çeşitli sonuçlar elde edilmiştir.

Kurt ve Özdemir (103), biri kontrol olmak üzere 6 kısma ayırdıkları koyun sütünün ilk ikisine farklı dozlarda H_2O_2 , III. ve IV.'süne %0.08 ile %0.1 potasyum sorbat ve V.'sine de %0.05 H_2O_2 ile beraber %0.08 oranında potasyum sorbat ilave etmişlerdir. Devamında ısı uygulaması da yapılan bu sütlerden beyaz peynir üretmişlerdir. Olgunlaşmanın belirli günlerinde uyguladıkları kimyasal analizler neticesinde potasyum sorbat ilaveli peynirlerde suda eriyebilen proteinlerin oranı ile % asitlik derecesinin diğer gruplara göre daha düşük, pH'nın ise daha yüksek olduğu saptanmıştır. Doğruer ve ark. (55), deneysel olarak peynir yapımında kullandıkları süte ve salamura suyuna %0.15 ve %0.30 oranlarında potasyum sorbat ilave ederek olgunlaşma periyodunda ürünün kimyasal ve mikrobiyolojik niteliklerini araştırmışlardır. Potasyum sorbatın kimyasal yönden peynirlerin pH değerini yükseltip asidite derecesini azaltarak olgunlaşmayı geciktirdiği, mikrobiyolojik açıdan ise koliform, fekal streptokoklar ile maya ve küfler üzerinde etkili; genel canlı, lactobacillus ve staphylococcus-micrococcus'lar üzerinde etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir. Bu konuyla ilgili başka bir çalışmada (1), %4 tuzlu pastörize süttten yapılan ve 4 °C de 60 gün %4'lük salamura solüsyonunda muhafaza edilen beyaz salamura peynirlerde *L. monocytogenes*, *Staph. aureus* ve *S. typhimurium* üzerinde laktik asit bakterileri, nisin, H_2O_2 ve potasyum sorbatın etkileri incelenmiştir. Starter kültürlü peynirlerde her üç patojende muhafazanın değişik günlerinde yıkımlanırken antimikrobiallerin hiçbiri bu etkiyi gösterememiştir. Bu durum starter kültürlü peynirlerde pH'nın düşmesi (< 4.5), antimikrobiyal katkı peynirlerde ise yüksek kalması (>5.5) ve

sorbatlı grupta düşük konsantrasyonda sorbat kullanımı ile bağdaştırılmaktadır. Piccinin ve Shelef (140), A.B.D. ve Kanada marketlerinde satılan sorbatlı ve sorbatsız süzme peynirlere deneysel olarak *Listeria monocytogenes* katıp 5 °C de 24 gün muhafaza ederek incelemiştir. Süzme peynirlerde sorbat prezervatif olarak etkili olup *L. monocytogenes* sayısında düşüşler yaşattırmasına rağmen 24 gün sonunda antilisterial etki gösterememiştir. Muhafaza süresi sonunda antilisterial etkinin görülmemesi ile 5 den büyük olarak saptanan pH değerleri arasında ilişkilendirmeler yapılmıştır. Kasrazadeh ve Genigeorgis (90), İspanyol tipi yumuşak peynirlerde *Salmonella* türlerinin gelişimi ve kontrolünde bazı antimikrobiallerin rolünü incelemiştir. Laboratuvar şartlarında gerçekleştirilen deneysel üretim ve inokulasyon sonunda vakumlu paketlenen peynir örneklerini 6 ile 30 °C arasında değişen ısılarda muhafaza etmişlerdir. %0.3 oranında potasyum sorbat ilave edilen ve pH'ı 6 olan peynir grubunda bu patojenin gelişimi önemli ölçüde engellenmiştir. El-Zayat (60), yumuşak taze beyaz peynir örneklerinden izole ettiği *E. coli* ve *Staph. aureus*'un toksik türlerini, %0.02 sodyum sorbat, %0.04 sodyum nitrat ve %0.06 H₂O₂'yi ayrı ayrı içeren skim milk vasatlarına katarak mevcut etkileşimi incelemiştir. Sodyum sorbatın toksik mikroorganizma türlerinin bazılarında karşı yalnızca bakteriyostatik etki gösterdiği saptanmıştır.

Sorbatların, peynirlerde maya ve küfler üzerine olan etkileri bazı çalışmalarla ortaya konmaya çalışılmıştır. A.B.D.de yapılan bir çalışmada (184) ise, üretim artığı peynirlerden izole edilen küflerin sorbata karşı duyarlılıkları incelenmiştir. *Penicillium* genusuna ait küfler %0.30, 0.45, 0.60 ve 0.90 konsantrasyonunda sorbat ilave edilmiş YES brothlarda incelenmeye alınmış, izolatların sorbata karşı dirençliliği sırasıyla %77, 45, 3.6 ve 0 olarak bulunmuştur. Liewen ve Marth (110), sorbata direnç gösterebilen bazı küf türlerinin %0.3 oranında sorbat ihtiva eden peynirlerde mykotoksin üretmediğini saptarken; Yousef ve Marth (208), aynı ortamda sorbatın oranını sub-inhibitör seviyelere (%0.02 ve yukarısı) düşürmüşler ve mykotoksin üretiminin stimüle edildiğini tespit etmişlerdir.

Sims ve ark. ise (163), gıda zehirlenmelerine yol açan bazı bakterileri peynirlere deneysel olarak inokule ederek bu bakterilerin sorbik asit ihtiva eden (500-530 mg/kg) ve etmeyen ortamlardaki gelişmelerini farklı ısı derecelerinde incelemiştir. Çalışmada mikroorganizmaların tamamının sorbik asitsiz ortamda gelişme gösterdiği saptanmıştır. Sorbik asitli ortamlarda ise *Bacillus. cereus* ve *Staph. aureus* sayılarında düşüş gözlenirken *S. typhimurium* ve *Y. enterocolitica* oranlarının sabit kaldığı gözlenildi. Nielsen ve ark.

(126), bir küf olan *Neosartorya fischeri* ile potasyum sorbatın (75 mg/l) pH 3.5 de etkileşimini araştırmış, büyümenin bu şartlar altında durduğu ve toksin üretiminin meydana gelmediğini saptamıştır.

Sorbatlar, ayrıca peynirde yapı, kitle ve görünüm bozukluklarına sebep olan mikroorganizmalar üzerine etkiyerek iyi bir görünüme sahip ve tüketicinin beğenisini kazanabilecek bir yapıda peynirin elde edilmesine yardımcı olurlar. Magdoub ve ark. (114), *B. polymyxa* ile inokule edilmiş süttten yapılan domiati peynirine potasyum nitrat (%0.015), sodyum benzoat (%0.075) ve potasyum sorbatı (%0.15) tek veya kombine ilave ederek muhafaza süresi içerisinde bu koruyucuların peynirin yapı ve görünümü üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Özellikle potasyum sorbatın tek ve sodyum benzoat ile karışım halinde ilave edildiği gruplarda mikroorganizmalardan kaynaklanan görünüm bozukluklarının ortadan kalktığını saptamışlardır. Aynı araştırmacılar yaptıkları bir başka çalışmada (161), yine peynirlerde gaz yapıcı bir mikroorganizma olan *E. coli* tip I ile inokule ettikleri sütle taze ve salamura domiati peyniri üretip bir önceki çalışmada kullandıkları koruyucuları aynı miktar ve şekilde kullanmışlar, sonuçta bütün kombinasyonların her iki tip peynirde de gaz oluşumunu önleyici etkisinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, bu antibakteriyel tuzların koliform ve genel canlı sayısında düşüslere yol açtığı, titre edilebilir asidite değerini de azalttığı ifade edilmiştir. Bir başka çalışmada ise (13), Mozzarella peynirine potasyum sorbatın eklenmesiyle raf ömrünün uzatılması araştırılmıştır. Farklı şekillerde sorbat uygulaması yapılmış olan peynirlerin yapı ve görünümünün kontrol grubuna göre daha iyi olduğu, başta maya ve küfler olmak üzere mikrobiyal gelişmeyi inhibe ettiği ifade edilmiştir. Sorbat ilaveli peynirin kontrol grubu ile kıyaslandığında daha yüksek nem, pH değeri ve daha düşük asiditeye sahip olduğu; yağ, tuz ve toplam nitrogen değerlerinin farklı olmadığı; erimiş azot, non-protein azot ve total volatil yağ asitleri seviyesinin bir miktar yüksek olduğu araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir.

4. MATERYAL VE METOT

4. 1. Materyal

4. 1. 1. Süt Örnekleri

Tulum peyniri örneklerinin yapımında kullanılan çiğ koyun sütleri Maden ilçesine bağlı Gezin Kasabası'ndan temin edildi. Sabah erken saatlerde sağılan sütler güğümler içerisinde uygulamaların gerçekleştirildiği laboratuvara getirildi. Bu sütlerden yaklaşık 200 ml kadar steril bir cam kavanoza alınarak en kısa süre içerisinde kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan incelendi.

4. 1. 2. İnokülasyonda Kullanılan *Brucella melitensis* Suşu

Deneysel tulum peyniri örneklerinin yapımında çiğ koyun sütlerine inoküle edilen *Brucella melitensis* suşu, Elazığ'da satışa sunulan tulum peynirlerinden izole ve identifiye edildi. Bu suş, Pendik Araştırma ve Kontrol Enstitüsü'nden temin edilen referans suş ile doğrulanarak inokülasyonda kullanıldı.

4. 1. 3. Deneysel Peynir Örnekleri

Deneysel peynir örnekleri, F.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı. Örnekler, antibiyotik ve diğer inhibitör maddeleri içermeyen, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri Tablo 8 ve 9'da belirtilen çiğ koyun sütlerinden yapıldı. Her denemede yaklaşık 100 kg süt kullanıldı.

Sütler Tablo 5'de belirtildiği gibi 5 eşit gruba ayrıldı ve bunlardan A grubu kontrol oldu. B, C, D ve E ise *Brucella melitensis* suşu ile inoküle edildi. Bu işlemler 10-12 gün aralıklarla 4 defa tekrarlanarak toplam 20 adet örnek hazırlandı. Deneysel tulum peyniri örneklerinin yapımında kullanılan çiğ koyun sütlerine inoküle edilen *Brucella melitensis* miktarları Tablo 6'da belirtilmektedir.

Usulüne uygun olarak hazırlanan örnekler, olgunlaşmalarının 0, 15, 30, 45, 60 ve 90. günlerinde *Brucella melitensis* ile diğer mikroorganizmalar ve kimyasal yönden incelendi.

Tablo 5 : Peynir tiplerinde *Brucella melitensis*'in mevcudiyeti ve potasyum sorbat konsantrasyonları.

<u>Örneğin Tipi</u>	<u><i>Brucella melitensis</i> inokülasyonu</u>	<u>P.Sorbat Konsantrasyonu (%)</u>
A	-	-
B	+	0
C	+	0.05
D	+	0.10
E	+	0.20

Tablo 6. Tulum peyniri örneklerinin yapımında kullanılan çiğ koyun sütlerine inoküle edilen *Brucella melitensis* miktarları.

<u>Deneme Sayısı</u>	<u>Inokülasyon miktarı (kob/ml süt)</u>
1	2.7×10^5
2	5.3×10^5
3	7.6×10^5
4	9.9×10^5

Tablo 7. Tulum Peyniri Örneklerinin Yapım Aşamaları

Çiğ Süt : 1 kg tulum peyniri yapımı için 5-5.5 kg süzölmüş antibiyotik veya diğer inhibitör maddeleri içermeyen koyun sütü kullanıldı.

İnfekte Çiğ Süt Örnekleri : Çiğ koyun sütleri Tablo 5'de belirtildiği gibi 5 farklı gruba ayrıldı ve bunlardan biri kontrol grubunu (A) teşkil etti. Diğer gruplara ait süt örnekleri (B,C,D,E) ise *Brucella melitensis* suşu ile inokule edildi.

Rennet (Peynir mayası) İlavesi : Eşit miktarlarda 5 farklı gruba ayrılmış toplam 100 kg sütün ısısı 32 °C ye ayarlandı. 1/6000 gücündeki peynir mayasından yeterli miktarda alınarak 5-6 misli distile suyla seyreltildi ve süte ilave edilerek iyice karışması sağlandı.

Pıhtının Kesilmesi : Pıhtı tam olarak oluştuğunda (yaklaşık 90 dakika) ince bir çubuk vasıtasıyla parçalar halinde (4-5 cm) enine ve boyuna parçalandı.

Pıhtının İşlenmesi : Pıhtı parçalandıktan sonra uzunluğu ve genişliği 50 cm olan üçgen şeklinde dikilmiş süzek bezlerine eşit miktarlarda konuldu. Pıhtı ile doldurulan bezin açık olan uçları katlanarak dolanan uçlar alta gelmek suretiyle bir tepsi üzerine kondu. Bu şekilde 15-20 dakika bekletilen torbalar daha sonra başka bir tepsiye alındı. Bu işlemler 5-6 defa tekrarlandıktan sonra kelleler serin bir yerde 8-12 saat bekletildi.

Telemenin Baskıya Alınması : Bu sürenin sonunda elde edilen telemenin üzerine peynir suyunun yeterince ayrılması için ağırlık bırakılarak 24 saat baskıya alındı (1 baskı).

Sorbat İlavesi ve Tuzlama İşlemi : 24 saatlik birinci baskıdan sonra, telemeler süzek bezlerinden çıkarılarak temiz bir tepsi içerisine nohut büyüklüğünde parçalandı ve Tablo 5 de ifade edilen konsantrasyonlarda potasyum sorbat ilave edildi. Daha sonra üzerine %2 oranında tuz ilave edilerek iyice karıştırıldı ve tekrar süzek bezlerine konuldu. Birinci baskı işleminde olduğu gibi üzerine yeniden ağırlık bırakılarak 24 saat baskıda bekletildi (2. baskı). Bu sürenin sonunda telemeler süzek bezinden çıkartılıp tepsi içerisinde tekrar ufalandı ve üzerine %2 oranında tuz ilave edilip karıştırılarak yeniden süzek bezlerine alındı. 1. ve 2. baskılama işlemlerinde olduğu gibi 24 saat daha baskıda bekletildi (3. baskı). Üçüncü baskı sonunda, telemeler süzek bezinden çıkartılarak bir tepside iyice ufalandı ve sonra havadar bir yerde yeterince kurumaları sağlandı.

Telemenin Ambalajlanması ve Olgunlaştırılması : Telemeler yeteri miktarda kuruduktan sonra, plastik bidonlar içerisine (yaklaşık 500 g'lık) tahta tokmaklarla hava kalmayacak şekilde sıkıca dolduruldu. Bidonlara doldurulan peynirlerin ağızlarına jelatin kağıdı örtüldü.

Kapakları sıkıca kapatıldıktan sonra 4-6 °C de 90 gün süreyle olgunlaşmaya bırakıldı.

4. 2. Metot

4. 2. 1. Süt ve Peynir Örneklerinin Deneyle İçin Hazırlanması

Steril cam kavanozda bulunan süt örneği, 10-15 defa alt üst edilerek karışımı sağlandı. Aseptik şartlar altında süt örneğinden 1 ml alınarak 9 ml $\frac{1}{4}$ gücündeki Ringer çözeltilisine aktarıldı. Böylece 10^{-1} lik seyreltisi hazırlandı. Aynı seyrelticiyi kullanılarak örneğin 10^{-8} 'e kadar desimal seyreltileri hazırlandı. Arta kalan diğer çiğ sütler kimyasal analizlerde kullanıldı.

Tulum peyniri örnekleri ise, aseptik şartlar altında steril bir spatula yardımıyla 150-200 g kadar alınarak steril cam kavanozlar içerisine aktarıldı ve burada karıştırıldı. Mikrobiyolojik muayeneler için 10 g bir parçalayıcının (Bühler 51800/00) özel beherinde tartıldı. Örneğin üzerine steril %2'lik Na-citrate çözeltilisinden 90 ml konularak parçalandı. Bu şekilde örneğin 10^{-1} lik seyreltisi hazırlanmış oldu. Bu seyrelti 10 dakika bekletildikten sonra $\frac{1}{4}$ gücündeki Ringer solüsyonu kullanılarak 10^{-9} 'a kadar seyreltileri yapıldı. Geriye kalan peynir örnekleri 4 ± 1 °C'de kimyasal muayeneleri yapılmıncaya kadar bekletildi.

4. 2. 1. 1. Deneysel Peynir Örneklerinin Yapımı

Deneysel tulum peyniri örnekleri, belirtilen üretim şeması çerçevesinde çiğ koyun sütlerine Tablo 5 ve Tablo 6'da belirtilen miktar ve konsantrasyonlarda *Brucella melitensis* ve potasyum sorbat katılarak yapıldı. Örneklerin hazırlanmasında Tablo 7'de belirtilen teknik uygulandı.

4. 2. 2. Mikrobiyolojik Analizler

4. 2. 2. 1. *Brucella* Suşlarının İzolasyonu ve İdentifikasyonu

4. 2. 2. 1. 1. Kullanılan Besiyeri ve Hazırlanışı

Brucella melitensis'in izolasyonu için seçici vasat olarak serum-dekstroz agar tercih edildi. Serum-dekstroz agar besiyerinin hazırlanmasında da temel vasat olarak *Brucella* agar kullanıldı. Temel vasatın litresine filtrasyonla sterilize edilmiş 50 ml inaktive at serumu ve 40 ml (%25 w/v) D-glucose ilave edildi. Bunun yanında yine *Brucella* dışındaki mikroorganizmaların üremesini engellemek için bu besiyerine aşağıda verilen antibiyotikler belirtilen konsantrasyonlarda ilave edildi (10,11,189).

<u>Antibiyotikler</u>	<u>Miktarları</u>
Bacitracin	25 IU/ml
Cycloheximide	100 µg/ml
Vancomycin	20 µg/ml
Nalidixic asit	5 µg/ml
Polymyxin B Sulfate	5 µg/ml
Nystatin	100 IU/ml

Brucella agar hazırlanıp steril hale getirildikten sonra 56 °C ye soğutuldu. Bu ısıdaki besiyerine yukarıda belirtilen antibiyotikler ve diğer supplementler ilave edildi. Karışımı sağlanan vasat aseptik şartlarda derhal petrilere döküldü. Petrilere hazırlanan bu besiyerleri hava ve ışık almayacak şekilde plastik torbalar içine yerleştirilerek kullanım anına kadar bekletildi. Kullanılmadan önce 37 °C lik etüvde yaklaşık 24 saat bekletilerek sterilite kontrolü yapıldı.

4. 2. 2. 1. 2. Ekim ve İzolasyon İşlemi

Mikrobiyolojik ekim için hazırlanmış dilüsyonlardan 0.1'er ml alınarak önceden hazırlanarak kurutulmuş olan selektif besiyerine damlatıldı ve uygun bir cam baget (Drigalski spatülü) vasıtasıyla besiyerinin üzerine yayılarak ekimleri yapıldı. Çift seri olarak ekimi yapılan plakların bir serisi %10 CO₂ içeren etüve, diğer serisi de normal atmosfer şartlarında çalışan 37 °C lik etüvlere yerleştirildi ve 3-5 gün süreyle inkübasyona alındı. Oluşan koloniler izole edilerek morfolojik yönden incelendi ve identifikasyon işlemleri gerçekleştirildi. Bu süre içerisinde koloni oluşumu görülmeyen plaklar inkübasyonun 10. gününe kadar bekletildi (10,11,102).

4. 2. 2. 2. Kùltùrlerin Karakterizasyonu

4. 2. 2. 2. 1. Morfolojik Karakterler

Gram Reaksiyonu : Hucker'in modifiye ettiği Gram boyama metodu ile saptandı. İzole edilen kùltürler, buyyonlarda üretilerek preparatları hazırlandı ve mikroskopta incelenerek Gram reaksiyonu tespit edildi (10,11,81,102,189).

Genel Morfoloji : Kùltürlerin şekil, büyüklük ve dizilişleri gibi genel morfolojik özellikleri Gram boyama ile hazırlanmış preparatlarda saptadı (10,11,81,102,189).

Kùltürel Karakterleri : Kolonilerin genel görünüşleri, büyüklük, renk ve şekilleri ise izole edildikleri serum-dekstoz agar plaklarında belirlendi (10,11,81,102,189).

4. 2. 2. 2. 2. İdentifikasyonda Kullanılan Testler

Oksidaz Testi : Katı besiyerinde üretilen şüpheli koloniler üzerine tetrametil-p-fenilendiamin ayırıcından damlatıldı. Birkaç dakika içinde koyu mor renk gösteren koloniler oksidaz pozitif olarak kabul edildi (10,102).

Urease Testi : 48 saatlik kùltürden hazırlanan kesif süspansiyondan 1 ml alınarak, 1 ml miktarlarında tüplere dağıtılmış olan ürea brotha ilave edildi. İnoküle tüpler 37 °C deki su banyosunda inkübe edildi. 15, 30 ve 60. dakikalarda tüpler üreaz üretimi yönünden kontrol edildi. Pembe rengin oluşumu pozitif olarak kabul edildi. 60 dakika sonunda negatif olan tüpler 3-4 saat süreyle, saat başı kontrol edilerek pembe rengin oluşumu bakımından incelendi (102).

CO₂ Gereksinimi : Kùltürlerin steril tuzlu su ile hazırlanan süspansiyonundan serum dekstoz agar içeren iki yatık agar tüpüne inokülasyon yapıldı. Tüplerden biri normal, diğeri de %10 CO₂ içeren 37 °C deki etüvde 2-3 gün süreyle inkübe edildi. Üremelerin görüldüğü tüpler pozitif olarak değerlendirildi (10,11,189).

H₂S Oluşumu : Test edilecek olan kùltürler, yatık serum dekstoz agara inokule edildi. %10'luk kurşun asetata batırılmış ve kurutulmuş olan kağıt şeritler vasata değmeyecek şekilde tüplerin içine yerleştirilerek kapakları kapatıldı. Her kùltür için bu şekilde hazırlanan iki tüpten birisi normal, diğeri de %10 CO₂ içeren 37 °C deki etüve yerleştirilerek 4 gün süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kurşun asetatlı kağıtların uç kısmında H₂S oluşumuna bağlı olarak siyahlaşmanın meydana gelip gelmediği kontrol edilerek değerlendirildi (10,11,102).

Thionin ve Basic Fuchsinde Üreme : Thionin ve basic fuchsinin %0.1'lik stok solüsyonları hazırlandı. Bu stok solüsyonlardan temel vasatta son konsantrasyonları 1/25000, 1/50000 ve 1/100000 olacak şekilde ilave edildi. Steril pamuk eküvyonlar sıvı kültürlerle daldırıldı ve belirtilen konsantrasyonlardaki thionin ve basic fuchsin içeren vasatların yüzeyine bir hat şeklinde sürülerek inoküle edildi. Plaklar çift seri olarak hazırlandı ve inoküle edilen plakların yarısı normal yarısı da %10 CO₂ içeren 37 °C deki etüve yerleştirilerek 3-4 gün süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda plaklar üreme yönünden incelendi (10,11,81,189).

Lam aglütinasyon Testi : Lam üzerine öze yardımıyla alınan şüpheli kolonilerin üzerine bir damla fizyolojik tuzlu su ilave edilerek dilüe edildi. Bunların üzerine de birer damla monospesifik A (Abortus), M (Melitensis) ve R (Rough) serumlarından eklenerek çökelme reaksiyonu gözlemlendi (10,11,189).

Brucella Faj Testi : *Brucella* bakterileri izole edildikten sonra steril fizyolojik su ile süspansiyon edildi. Steril eküvyonlar kullanılarak serum dekstroz agar besiyerlerine yaydırıldı ve üzerlerine de RTD ve 10⁴ x RTD damlatılarak 37 °C deki normal ve %10 CO₂ içeren etüvlere yerleştirilerek 72-96 saat süre sonunda erimenin olup olmadığı kontrol edildi. Bu test için Tbilisi (Tb) ve R/C fajları kullanıldı (10,11,102,189).

4. 2. 2. 3. Türlerin Ayırımı

Brucella'ya benzerlik gösteren bazı Gram negatif mikroorganizmaların ayırım özellikleri Tablo 1'de, *Brucella* genusuna ait türlerin biyotip seviyesindeki özellikleri de Tablo 3'de belirtilmiştir.

4. 2. 2. 4. Diğer Mikroorganizma Gruplarının Sayımı

Deneysel tulum peyniri örnekleri *Brucella*'nın haricinde Total Mezofilik Aerob mikroorganizmalar, Koliform grubu bakteriler, Fekal streptokoklar, *Staphylococcus-Micrococcus*'lar ile Maya ve Küfler bakımından analiz edildi. Ekimler paralel olarak plak dökme metoduyla yapıldı. Üremeleri için optimal ısı zaman düzeninde inkübe edilen plaklarda 30-300 arası koloni içerenler değerlendirilmeye alındı.

Total Mezofilik Aerob Mikroorganizmaların Sayımı : Plate Count Agar (PCA) (Oxoid) besiyeri kullanıldı. Plaklar 30 ± 1 °C de 72 saat inkübe edildikten sonra değerlendirildi (34,81).

Koliform Grubu Bakterilerin Sayımı : Violet Red Bile Agar (VRBA) (Oxoid) kullanıldı. Çift kat dökülmüş besiyerini ihtiva eden plaklar 30 ± 1 °C de 24 saat inkübe edilerek oluşan koloniler sayıldı (81).

Fekal Streptococcus'ların Sayımı : Barnes'in Thallous Acetate Tetrazolium Glucose Agar'ı (TİTA) kullanıldı. Plaklar 45 ± 1 °C de 48 saat süreyle inkübe edildi ve süre sonunda oluşan tipik koloniler değerlendirildi (24,81).

Staphylococcus-Micrococcus'ların Sayımı : Mannitol Salt Agar (MSA) (Difco) kullanıldı. 37 ± 1 °C de 48 saat inkübasyona tabi tutulduktan sonra değerlendirildi (34,167).

Maya ve Küf Sayımı : Maya ve küflerin sayımında Potato Dekstrose Agar (PDA) (Merck) kullanıldı. Besiyerinin pH'sını 3.5'e düşürmek için %10'luk tartarik asit kullanıldı. Plaklar 22 ± 1 °C de 5 gün inkübe edildi. Bu süre sonunda oluşan koloniler sayıldı (34,81).

4. 2. 3. Kimyasal Analizler

4. 2. 3. 1. Süt Örneklerinin Analizleri

Asidite Değerinin Saptanması : Süt örneklerinin asitlik değerinin (% laktik asit cinsinden) hesaplanmasında TSE'nin önermiş olduğu metot esas alındı (187).

Yağ Miktarının Saptanması : Gerber metoduyla saptandı (180).

pH Değerinin Saptanması : pH metre (EDT, GP353) ile 25 ± 1 °C de tespit edildi (14).

Antibiyotik Kalıntılarının Saptanması : Deneysel tulum peyniri örneklerinin yapımında kullanılan çiğ sütlerden 50 ml alınarak kaynatıldı ve 42 °C ye soğutuldu. Bu ısıdaki süte %3 oranında yoğurt kültürü katılarak aynı ısıda inkübasyona terk edildi. İnkübasyona 1 saat devam edildi ve her 15 dakikada bir asitlik değeri saptanarak asitliğin gelişip gelişmediği kontrol edildi. Asitliğin yükselip yükselmeme durumu dikkate alınarak karar verildi (14,101).

4. 2. 3. 2. Peynir Örneklerinin Analizleri

Asidite Değerinin Saptanması : TSE'nin önermiş olduğu metoda göre tespit edildi (186).

pH Değerinin Saptanması : pH tayini 25 ± 1 °C ye ayarlı pH metrede (EDT, GP 353) gerçekleştirildi (14).

Tuz Miktarının Saptanması : Peynir örneklerindeki tuz miktarı Mohr metoduyla tespit edildi (180).

Kuru Madde Miktarının Saptanması : TSE 3001'e göre yapıldı (186).

4. 2. 4. İstatistiksel Analizler

Deneyssel olarak üretilen ve farklı nitelikte olan tulum peyniri örnekleri olgunlaşmalarının 0, 15, 30, 45, 60 ve 90. günlerinde elde edilen mikrobiyolojik ve kimyasal değerleri yönünden istatistiksel analizlere tabi tutuldular. Gruplara ait ortalama değerler arasındaki farklılığın önemi varyans analizi; grup içinde dönemler arasındaki farklılığın önem derecesi t testi ile saptandı (3,168).

5. BULGULAR

5. 1. Peynir Örneklerinin Yapımında Kullanılan Çiğ Sütlerin Nitelikleri

5. 1. 1. Mikrobiyolojik Nitelikleri

Deneyisel tulum peyniri örneklerinin yapımında kullanılan çiğ koyun sütlerinin içermiş olduğu mikroorganizmaların sayıları (kob/ml) ile geometrik ortalamaları Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Deneyisel Tulum Peyniri Örneklerinin Yapımında Kullanılan Çiğ Koyun Sütlerinde Saptanan Mikroorganizma Sayıları (kob/ml).

Mikroorganizma	Örneğin Numarası				Geo. Ort.
	1	2	3	4	
Toplam Mezofilik Aerob	6.1×10^8	5.9×10^7	1.2×10^8	6.7×10^7	1.3×10^8
Fekal Streptokok	1.9×10^5	1.7×10^6	7.8×10^5	1.1×10^6	7.3×10^5
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	6.8×10^5	4.4×10^5	1.6×10^4	3.4×10^5	2.0×10^5
Koliform Grubu Bakteri	1.3×10^7	2.5×10^7	1.2×10^6	8.7×10^6	7.6×10^6
Maya ve Küf	1.9×10^7	6.4×10^7	4.0×10^3	1.4×10^8	5.1×10^6
<i>Brucella</i> spp.	0	0	0	0	0

Çiğ sütlerde ortalama olarak 1.3×10^8 kob/ml toplam mezofilik aerob, 7.3×10^5 kob/ml fekal streptokok, 2.0×10^5 kob/ml *Staphylococcus-Micrococcus*, 7.0×10^6 kob/ml koliform grubu bakteri, 5.1×10^6 kob/ml maya ve küf tespit edilmiştir (Tablo 8). Süt örneklerinin hiçbir serisinde *Brucella* etkenleri tespit edilememiştir.

5. 1. 2. Kimyasal Nitelikleri

Peynir örneklerinin yapımında kullanılan çiğ koyun sütlerinin kimyasal niteliklerine ait analiz sonuçları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Deneysel Tulum Peyniri Örneklerinin Yapımında Kullanılan Çiğ Koyun Sütlerinin Bazı Kimyasal Nitelikleri

Nitelik	Örneğin Numarası				Ortalama ($\bar{x} \pm S_x$)
	1	2	3	4	
Asitlik (% laktik asit cins.)	0.198	0.207	0.198	0.189	0.198±0.007
pH	6.490	6.450	6.480	6.500	6.480±0.022
Yağ (%)	7.600	6.300	7.100	7.000	7.000±0.535
Kurumadde (%)	18.75	17.09	17.16	17.05	17.51±0.826

Tablo 9'da belirtildiği gibi, çiğ koyun sütlerinin asitlik değerleri (% l.a. cinsinden) en az 0.189 en çok 0.207; pH en az 6.45 en çok 6.50; yağ miktarı en az %6.3, en çok %7.6; kurumadde miktarı ise en az %17.05, en çok %18.75 olarak tespit edilmiştir. Bu verilerin ortalama değerleri ise sırasıyla %0.198±0.007, 6.48±0.022, %7.0±0.535 ve %17.51±0.826 olarak belirlenmiştir.

5. 2. Olgunlaşma Esnasında Meydana Gelen Değişimler

Çiğ süttten üretilen deneysel tulum peyniri örneklerinin olgunlaşma süresince (0, 15, 30, 45, 60 ve 90. günler) mikrobiyolojik niteliklerinde gözlenen değişimlere ait veriler Tablo 10-15 ile Şekil 1-6 da; kimyasal niteliklerinde gözlenen değişimler ise Tablo 19-22 ve Şekil 7-10 da sunulmuştur.

5. 2. 1. Mikrobiyolojik Değişimler

5. 2. 1. 1. Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayısı

Tulum peyniri örneklerinde toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayılarının olgunlaşma boyunca birbirlerine benzer şekilde seyrettiği gözlenmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcında (0. gün) tüm gruplarda en yüksek değerde olan mikroorganizma sayısı, ilerleyen günlerde azalma eğilimine girmiştir. E grubu hariç tüm gruplarda en düşük değerler olgunlaşmanın son gününde (90.) saptanmış olup E grubunda ise bu farklılık 45. günde yaşanmıştır.

Kontrol grubu olan A tipinde başlangıçta 1.2×10^7 kob/g olan toplam mezofilik aerob sayısı azalarak 45. günde 8.7×10^5 kob/g'a düşmüş 60. günde 1.0×10^6 kob/g ve 90. günde de 5.3×10^5 kob/g değerinde bulunmuştur. B, C, D ve E gruplarında ise 0. gündeki değerler sırasıyla 4.7×10^6 kob/g, 2.8×10^6 kob/g, 1.8×10^6 kob/g ve 1.6×10^6 kob/g olarak bulunmuş olup, 90. günde de 8.4×10^5 kob/g, 3.3×10^5 kob/g, 3.2×10^5 kob/g ve 3.9×10^5 kob/g şeklinde miktarlarında saptanmıştır. 0. ve 90. gündeki bu değerler toplam mezofilik aerobların en yüksek ve E grubu hariç en düşük değerleri olmuştur. E grubundaki en düşük değer ise 45. günde 1.8×10^5 kob/g olarak ortaya çıkmıştır.

Olgunlaşma boyunca tulum peyniri örneklerinde saptanan toplam mezofilik aerob mikroorganizmaların \log_{10} sayı/g olarak ifadeleri Şekil 1'de belirtilmiştir. Şekil 1'de gösterildiği gibi olgunlaşmanın başlangıcında A grubunda bulunan toplam mezofilik aerob mikroorganizma miktarının diğer gruplardaki değerlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Tüm gruplarda olgunlaşmanın başlangıcında toplam mezofilik aerob mikroorganizmaların \log_{10} sayıları 6.20-7.07 arasında değişmiş, B grubu haricinde kalan diğer gruplarda 60. günde gözlenen bir yükselişin haricinde tüm gruplarda genel bir düşüş saptanmıştır. Olgunlaşmanın 90. gününde bu değerler 5.51-5.92 aralığında ortaya çıkmıştır. 90. gün itibarıyla en yüksek etken miktarı 5.92 ile B grubunda saptanmıştır. Değişik oranlarda potasyum sorbat içeren C, D ve E gruplarındaki toplam mezofilik aerob mikroorganizma değerlerinin, tüm olgunlaşma boyunca genel olarak daha düşük bir seyir takip ettiği tespit edilmiştir.

Tablo 10. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarında (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	7.079 \pm 0.56	6.447 \pm 0.63	6.398 \pm 0.62	5.939 \pm 0.34	6.000 \pm 0.30	5.724 \pm 0.26
B	4	6.672 \pm 0.31	6.477 \pm 0.50	6.342 \pm 0.71	6.041 \pm 0.15	5.929 \pm 0.12	5.924 \pm 0.17
C	4	6.447 \pm 0.34	5.949 \pm 0.17	5.949 \pm 0.61	5.556 \pm 0.47	5.832 \pm 0.19	5.518 \pm 0.31
D	4	6.255 \pm 0.12	6.255 \pm 0.41	6.230 \pm 0.17	5.580 \pm 0.54	5.785 \pm 0.33	5.505 \pm 0.58
E	4	6.204 \pm 0.24	6.114 \pm 0.35	5.690 \pm 0.36	5.255 \pm 0.42	5.690 \pm 0.35	5.591 \pm 0.25
F değeri		1.005 ⁻	0.250 ⁻	0.309 ⁻	0.609 ⁻	0.233 ⁻	0.998 ⁻

— : Önemli değil

Günler itibariyle gruplar arasındaki farklılıkların sunulduğu Tablo 10 incelendiği zaman elde edilen değerlerde istatistiksel olarak bir farklılığın olmadığı görülmektedir ($p>0.05$).

Tablo 11. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

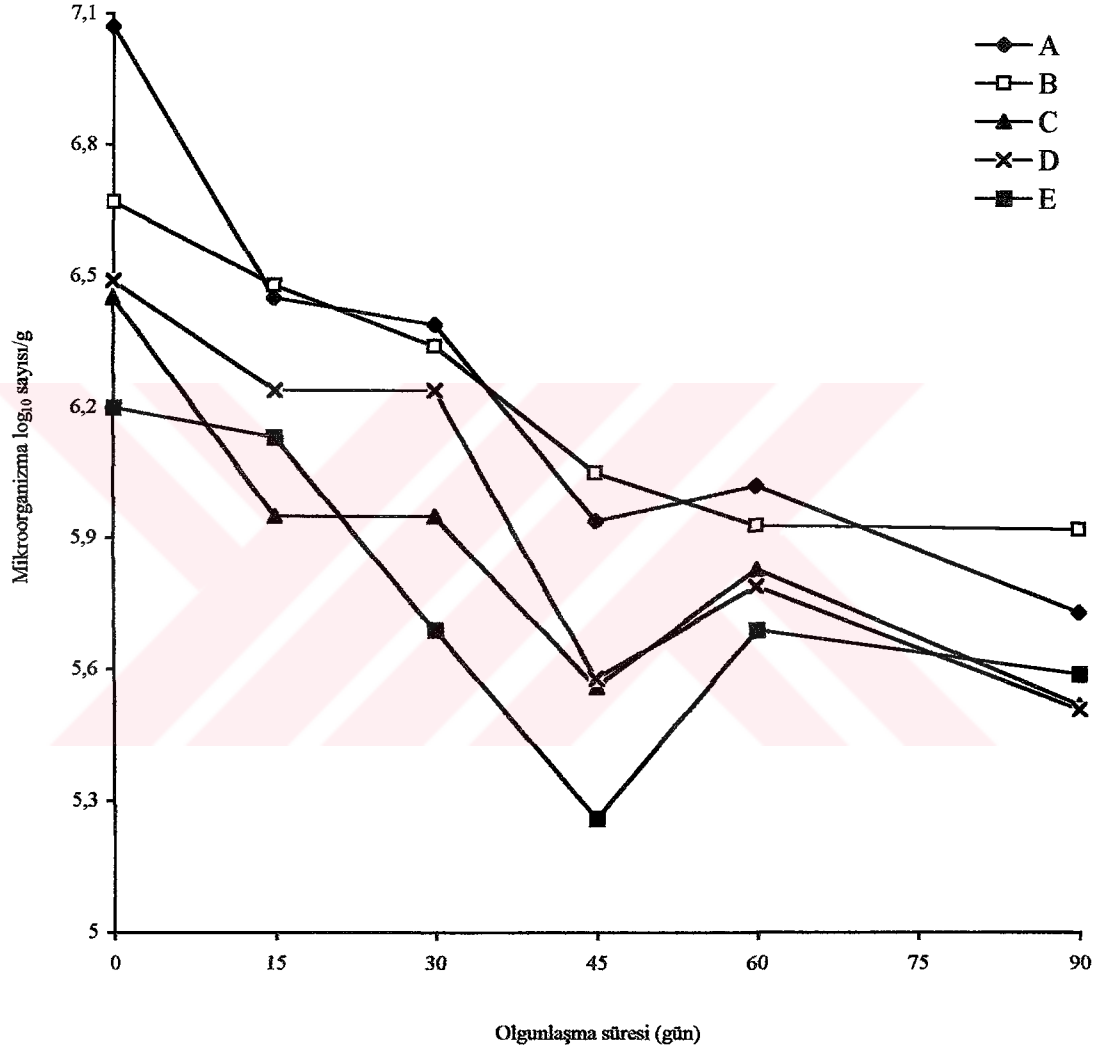
Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	—	—	*
15	—		—	—	—	—
30	—	—		—	—	—
45	—	—	—		—	—
60	—	—	—	—		—
90	*	—	—	—	—	

* : $p<0.05$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Şekil 1. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Total Aerob Mezofilik Mikroorganizma Sayılarında (\log_{10} kob/g) Meydana Gelen Değişimler



Tablo 12. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	—	—	—
15	—		—	—	—	*
30	—	—		—	—	—
45	*	—	—		—	—
60	—	—	—	—		—
90	—	—	—	—	—	

* : $p < 0.05$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 13. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Toplam Mezofilik Aerob Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	—	—				
45	—	—	—			
60	—	—	—	—		
90	—	—	—	—	—	

— : Önemli değil

Olgunlaşma süreci içerisinde grup içinde günler arasındaki farklılık Tablo 11, 12 ve 13'de sunulmuştur. A ve B grubunda olgunlaşmanın 0. gününde elde edilen değerlerin 90. günde elde edilen değerlerden farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Bu farklılık C grubunda 0 ile 45., D grubunda 15 ile 90. gün değerleri arasında görülmüştür ($p < 0.05$). E grubunda ise herhangi bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

5. 2. 1. 2. Fekal Streptokok Sayıları

Brucella melitensis ve potasyum sorbat içermeyen A grubu örneklerinde 0. günde 4.3×10^4 kob/g olan değer, 15. günde 2.2×10^4 kob/g, 30. günde 5.7×10^3 kob/g'a düşmüş, 60. günde 5.8×10^3 kob/g'a yükseldikten sonra 90. günde 1.7×10^3 kob/g'a inmiştir. Bu değişimler diğer 4 grupta da yaşanmış olup, B grubunda 0. günde 3.8×10^4 kob/g olan değer ileri günlerde azalarak 45. günde 7.6×10^3 kob/g değerinde tespit edilmiştir. Sonra 60. günde çok hafif bir artış göstererek 7.8×10^3 kob/g seviyesine ulaşmış ve 90. günde de ise 1.2×10^3 kob/g düzeyinde ortaya çıkmıştır. C grubu örneklerde de fekal streptokok sayılarında olgunlaşma sürecinde devamlı bir azalma görülmüştür. Başlangıçta 1.8×10^4 kob/g olan mikroorganizma sayısı 15. günde 5.8×10^3 , 30. günde 4.3×10^3 , 45. günde 2.0×10^3 , 60. günde 1.8×10^3 ve 90. günde <10 kob/g düzeyinde saptanmıştır. D grubunda ise bu değerler 0. günde 1.2×10^4 kob/g, 15. günde 4.4×10^3 kob/g, 30. günde 2.3×10^3 kob/g, 45. günde 2.6×10^3 kob/g, 60. günde 1.6×10^3 kob/g ve 90. günde <10 kob/g olarak tespit edilmiştir. E grubu örneklerde olgunlaşmanın başlangıcında 1.7×10^4 kob/g olarak tespit edilen mikroorganizma sayısı, ilerleyen günlerde düzenli bir azalma göstererek olgunlaşmanın son gününde <10 kob/g seviyesine inmiştir.

Olgunlaşma süresince fekal streptokok grubu mikroorganizmaların \log_{10} sayı/g olarak ifadeleri Şekil 2 de gösterilmiştir. Tüm örneklerde olgunlaşmanın başlangıcında 4.06-4.64 arasında olan mikroorganizmanın \log_{10} sayıları, genellikle 15-60. günlerde hemen hemen aynı düzeyde kalmış, 60. günden sonra ise hızlı bir şekilde azalmıştır. Fekal streptokokların 90. gündeki \log_{10} sayıları A grubunda 1.23, B grubunda 1.08, diğer gruplarda ise <10 olarak saptanmıştır. Şekil 2 de görüldüğü üzere, olgunlaşmanın tüm aşamalarında potasyum sorbat içermeyen A ve B grubunda saptanan fekal streptokok sayılarının diğer 3 gruba oranla daha yüksek düzeylerde seyrettiği tespit edilmiştir. C, D ve E gruplarında ise mikroorganizma sayıları olgunlaşma süresince birbirlerine yakın değerlerde bulunmuştur.

Tablo 14. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Fekal Streptokok Sayılarında (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	4.633 \pm 0.21	4.342 \pm 0.28	3.756 \pm 0.35	3.813 \pm 0.02	3.763 \pm 0.09	1.230 \pm 0.71
B	4	4.580 \pm 0.12	4.279 \pm 0.23	3.964 \pm 0.41	3.881 \pm 0.04	3.892 \pm 0.17	1.079 \pm 0.64
C	4	4.255 \pm 0.12	3.763 \pm 0.51	3.633 \pm 0.37	3.301 \pm 0.20	3.255 \pm 0.41	—
D	4	4.079 \pm 0.06	3.643 \pm 0.51	3.362 \pm 0.33	3.415 \pm 0.25	3.204 \pm 0.15	—
E	4	4.230 \pm 0.22	3.230 \pm 0.43	3.301 \pm 0.29	3.204 \pm 0.22	3.176 \pm 0.12	—
F değeri		2.389 ⁻	0.665 ⁻	0.430 ⁻	2.820 ⁻	2.288 ⁻	2.196 ⁻

— : Önemli değil

Tablo 14’de görüldüğü gibi olgunlaşma süreci içerisinde tespit edilen fekal streptokok mikroorganizma sayılarının gruplar arasında yapılan mukayesesinde farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 15. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0	—	—	—	**	**	*
15	—	—	—	—	—	**
30	—	—	—	—	—	*
45	*	—	—	—	—	*
60	*	—	—	—	—	*
90	*	**	**	*	*	*

* : $p<0.05$

** : $p<0.01$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 16. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	—	*	***
15	—		—	—	—	**
30	—	—		—	—	**
45	*	—	—		—	**
60	—	—	—	—		***
90	***	**	**	***	**	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

***: $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerleri yansıtmaktadır.

Tablo 17. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	—	—				
45	—	—	—			
60	*	—	—	—		
90	***	**	**	***	***	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

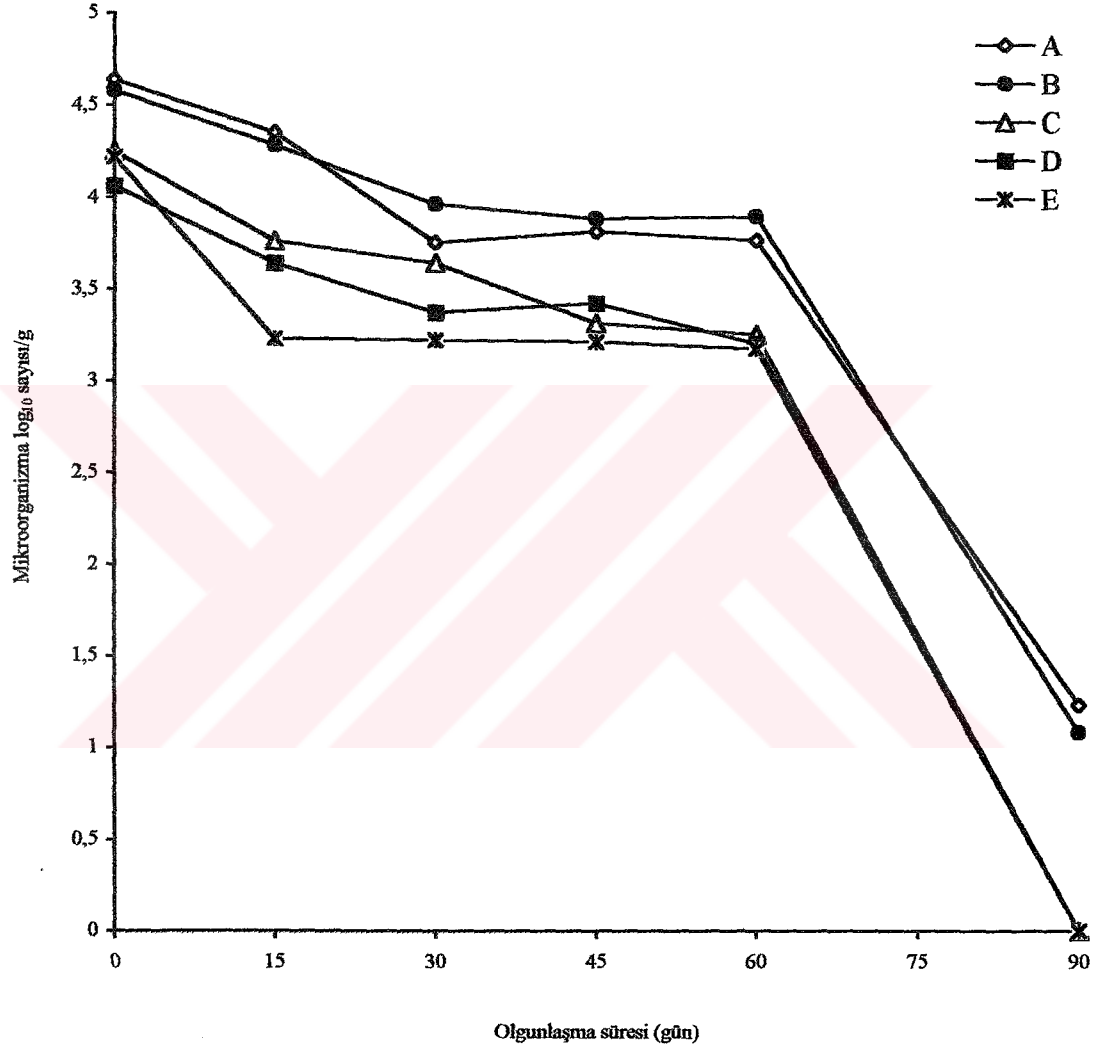
***: $p < 0.001$

— : Önemli değil

Fekal streptokok sayısında grup içi günler arasındaki farklılıklar Tablo 15, 16 ve 17'de verilmiştir. Her grubun olgunlaşma günleri itibariyle kendi içinde yapılan mukayesesinde A grubunda 0. günde elde edilen değerlerin 45, 60 ve 90. gün, 15, 30, 45 ve 60. gün değerlerinin ise 90. gün değerlerinden farklı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bu farklılık B grubunda 0. gün ile 45, 60 ve 90. gün değerleri, 15, 30, 45 ve 60. günkü değerlerle 90. gün değerleri arasında ortaya çıkmıştır ($p<0.05$). C grubu örneklerde 0 ile 45. gün ve D grubunda 0. ile 60. gün değerlerindeki farklılıkların yanı sıra her iki grupta da olgunlaşmanın her safhasında ortaya çıkan değerler 90. gün değerlerinden farklı olmuştur ($p<0.05$). E grubunda da aynı şekilde olgunlaşmanın her safhasında elde edilen sonuçlar 90. gün değerlerinden farklı bulunmuş, bunun yanında 0 ile 60. gün değerleri de farklılık arz etmiştir ($p<0.05$).



Şekil 2. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Fekal Streptokok Mikroorganizma Sayılarında (\log_{10} kob/g) Meydana Gelen Değişimler



5. 2. 1. 3. *Staphylococcus-Micrococcus* Mikroorganizmalar

Bütün gruplarda en yüksek *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı olgunlaşmanın ilk gününde, en düşük sayı ise son gününde saptanmıştır. Bu değerler 0. ve 90. günler itibariyle sırasıyla A grubunda 4.9×10^4 kob/g ve 0.7×10 kob/g, B grubunda 8.1×10^4 kob/g ve 1.4×10 kob/g, C grubunda 2.1×10^4 kob/g ve <10 kob/g, D grubunda 6.9×10^4 kob/g ve <10 kob/g, E grubunda 3.6×10^4 kob/g ve <10 kob/g olarak tespit edilmiştir.

Staphylococcus-Micrococcus mikroorganizmaların \log_{10} kob/g olarak tespit edilen değerleri ise Şekil 3'de belirtildiği gibi ortaya çıkmıştır. Bu grup mikroorganizmaların olgunlaşmanın başlangıcındaki \log_{10} sayıları 4.33-4.91 aralığında tespit edilmiştir. A grubunun 15. gününde gözlenen küçük bir yükselişin haricinde tüm gruplarda olgunlaşmanın sonuna kadar düşen *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları 90. günde 0-1.15 \log_{10} kob/g arasında saptanmıştır. Olgunlaşmanın başlangıcında en yüksek *Staphylococcus-Micrococcus* değerine sahip olan A grubu peynir örnekleri bu konumunu olgunlaşmanın son gününde de korumuştur. Olgunlaşmanın 15. gününden 90. gününe kadar A ve B grubu örneklerindeki *Staphylococcus-Micrococcus* sayılarının en yüksek seviyelerde seyrettiği gözlemlenmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcından sonuna kadar sorbatsız örneklere nazaran daha düşük seviyelerde seyreden C, D ve E grubu örneklerdeki *Staphylococcus-Micrococcus* mikroorganizma sayıları olgunlaşmanın 90. gününde <10 kob/g sayısında bulunmuştur.

Tablo 18. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında *Staphylococcus-Micrococcus* Mikroorganizma Sayılarında (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	4.690 \pm 0.31	4.813 \pm 0.27	4.342 \pm 0.23 ^{bc}	4.255 \pm 0.40	3.166 \pm 0.32 ^b	0.845 \pm 0.50
B	4	4.908 \pm 0.30	4.544 \pm 0.53	4.477 \pm 0.33 ^c	4.230 \pm 0.31	3.491 \pm 0.38 ^b	1.146 \pm 0.67
C	4	4.322 \pm 0.22	3.929 \pm 0.12	3.707 \pm 0.23 ^{ab}	3.255 \pm 0.35	2.447 \pm 0.34 ^{ab}	—
D	4	4.839 \pm 0.31	4.204 \pm 0.17	3.544 \pm 0.12 ^a	3.114 \pm 0.34	1.362 \pm 0.42 ^{ab}	—
E	4	4.556 \pm 0.42	4.398 \pm 0.38	3.398 \pm 0.23 ^a	3.114 \pm 0.29	2.491 \pm 0.23 ^a	—
F değeri		0.481 ⁻	1.032 ⁻	4.096 *	2.932 ⁻	3.120 *	2.245 ⁻

a, b, c : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir ($p < 0.05$).

* : $p < 0.05$

— : Önemli değil

Tablo 18 incelendiği zaman 30 ve 60. günler itibariyle gruplar arasında farklılıkların bulunduğu ve bu farklılığın 30. günde kontrol olan A grubu ile D ve E grupları, yine potasyum sorbat içermeyen B grubu ile farklı oranlarda sorbat ihtiva eden C, D ve E grupları arasında yaşandığı; 60. günde ise A ve B grubu örneklerdeki ortalamaların E grubu ortalamalarından farklı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Tablo 19. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki *Staphylococcus-Micrococcus* Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	—	*	*
15	—		—	—	—	—
30	—	—		—	*	*
45	—	—	—		**	*
60	*	***	*	*		—
90	*	*	*	*	—	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 20. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki *Staphylococcus-Micrococcus* Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		*	*	*	*	***
15	—		*	*	*	***
30	*	—		—	—	***
45	*	—	—		*	**
60	*	*	*	—		—
90	***	***	**	**	**	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 21. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki *Staphylococcus-Micrococcus* Mikroorganizma Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	*	*				
45	**	*	*			
60	*	*	*	—		
90	**	***	***	**	**	

* : $p < 0.05$

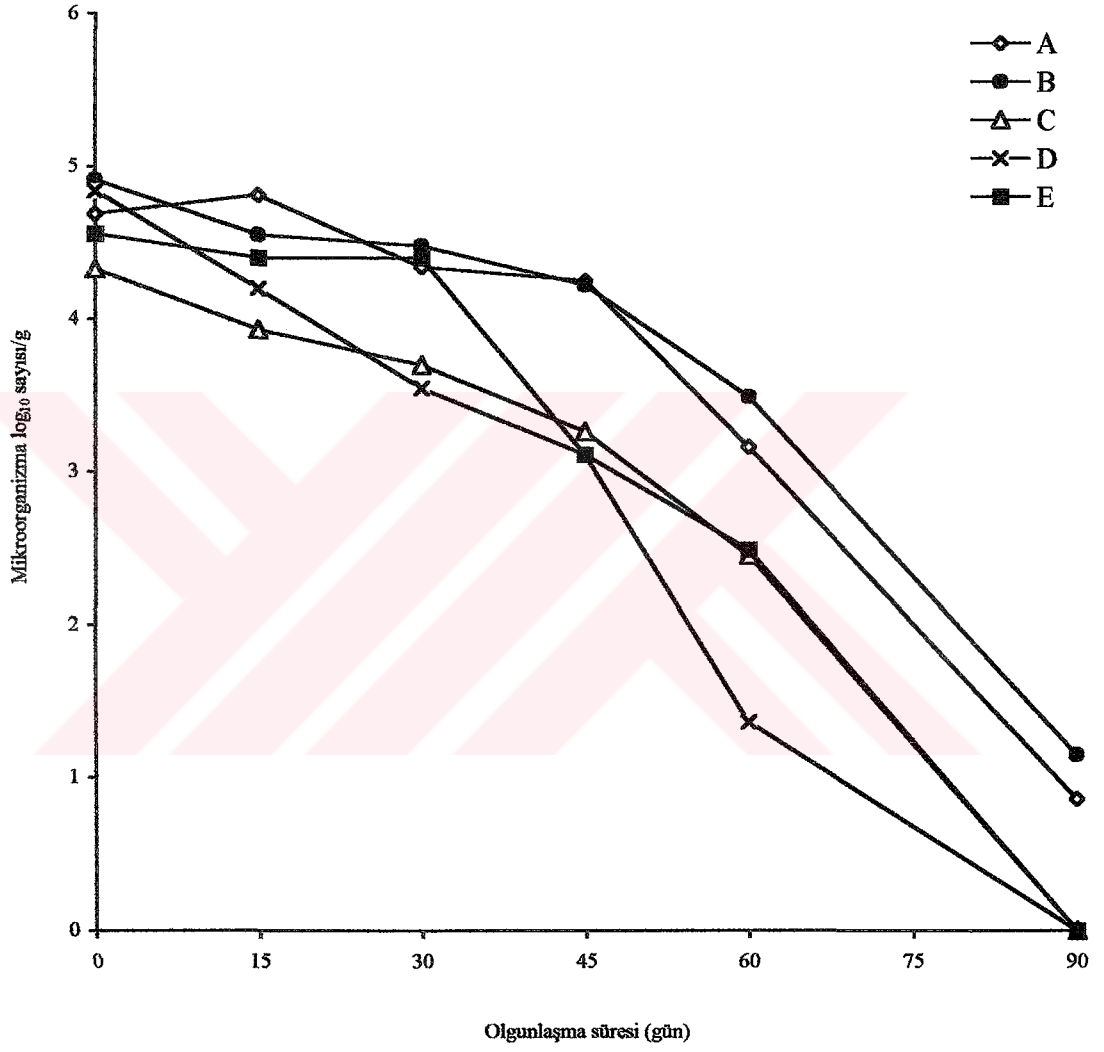
** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Staphylococcus-Micrococcus mikroorganizma sayılarının grup içi günler arasındaki farklılıkları Tablo 19, 20 ve 21'de verilmiştir. A grubu örneklerinde olgunlaşmanın 0, 15, 30 ve 45. gününde elde edilen değerlerin 90. gün değerlerinden farklı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). B grubu örneklerinde ise 0, 30 ve 45. gün değerlerinin 60 ve 90. gün değerleriyle farklılık arz ettiği saptanmıştır ($p < 0.05$). Bu farklılık C grubu örneklerinde 0. gün ile 30, 45, 60 ve 90., 15 ve 30. gün ile 60 ve 90., 45 ve 60. gün ile de 90. gün değerleri arasında ortaya çıkmıştır ($p < 0.05$). D grubu örneklerinde ise sadece 30. gün değerleri 45 ve 60. gün değerleri arasında farklılık bulunamamış, geri kalan bütün olgunlaşma günlerinde farklılık tespit edilmiştir ($p < 0.05$). E grubu örneklerinde 0 ile 15. ve 60 ile 90. gün değerlerinde farklılık görülmemiş, diğer olgunlaşma dönemlerinin tümünde farklılık ortaya çıkmıştır ($p < 0.05$).

Şekil 3. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında *Staphylococcus-Micrococcus* Mikroorganizma Sayılarında (\log_{10} kob/g) Meydana Gelen Değişimler



5. 2. 1. 4. Koliform Bakteriler

Koliformların en büyük değişim gösterdiği gruplar %0.10 potasyum sorbat içeren D grubu ile %0.20 oranında potasyum sorbat içeren E grubu tulum peyniri örnekleridir. A grubu örneklerinde 0. günde 1.7×10^5 kob/g, 15. günde 5.6×10^4 kob/g miktarında tespit edilen etkenler 30. günde 5.8×10^4 kob/g düzeyine çıkmış ve ilerleyen olgunlaşma periyodunda devamlı suretle azalarak 90. günde 0.6×10 kob/g olarak şekillenmiştir. B grubunda ise 0. günde en yüksek seviyede (2.1×10^5 kob/g) tespit edilen koliformlar düzenli bir azalış göstererek 90. günde en düşük seviyeye (0.4×10 kob/g) gelmişlerdir. Potasyum sorbat ihtiva eden C, D ve E grubu örneklerinde ise bu etkenler sırasıyla 0. günde en yüksek seviyeleri olan 2.5×10^4 kob/, 1.1×10^5 kob/g ve 4.1×10^4 kob/g miktarında saptanmış olup yine düzenli bir düşüş eğilimine girerek C grubunda 90., D ve E grubu örneklerde ise 60. günlerde tespit edilememişlerdir.

Koliform grubu mikroorganizmaların tulum peyniri örneklerinde olgunlaşma periyodunca ortaya koyduğu değişimlerin \log_{10} kob/g olarak ifadesi Şekil 4'de sunulmuştur. Olgunlaşma süresince örneklerdeki koliform sayılarının tüm gruplarda genel olarak bir düşüş gösterdiği Şekil 4'de görülmektedir. Olgunlaşmanın başlangıcında en yüksek \log_{10} sayıları 5.32 ile B ve 5.24 ile A grubu örneklerinde saptanmıştır. Olgunlaşma periyodu boyunca aynı seyrini devam ettiren bu iki grubun örneklerindeki \log_{10} sayıları 90. günde A grubunda 0.74, B grubunda ise 0.63 değerinde tespit edilmiştir. %0.05 oranında potasyum sorbat içeren C grubu örneklerinin 4.39 ile 0. günde en düşük koliform miktarlarına sahip olduğu görülmüştür. Özellikle 45. günden sonra hızlı bir düşüş gösteren bu grubun örneklerinde 60. günden sonra koliform grubu mikroorganizmalar <10 kob/g düzeyinde saptanmıştır. Potasyum sorbat oranları daha yüksek olan D ve E grubundaki örneklerin olgunlaşma sürecindeki analiz sonuçları birbirlerine oldukça yakın olarak ortaya çıkmıştır. Bu iki grupta da 45. günden sonra koliformlara rastlanamamıştır.

Tablo 22. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Koliform Bakteri Sayılarında (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	5.230 \pm 0.31	4.748 \pm 0.14 ^{bc}	4.763 \pm 0.19 ^b	3.230 \pm 0.39	3.000 \pm 0.33 ^b	0.778 \pm 0.74
B	4	5.322 \pm 0.25	4.881 \pm 0.15 ^c	4.826 \pm 0.53 ^b	3.740 \pm 0.35	3.653 \pm 0.40 ^b	0.602 \pm 0.63
C	4	4.398 \pm 0.37	4.079 \pm 0.17 ^a	3.322 \pm 0.39 ^{ab}	2.230 \pm 0.77	0.477 \pm 0.54 ^a	—
D	4	5.041 \pm 0.46	4.146 \pm 0.25 ^{ab}	2.982 \pm 0.67 ^a	1.230 \pm 0.73	—	—
E	4	4.613 \pm 0.55	4.000 \pm 0.26 ^a	2.987 \pm 0.46 ^a	1.431 \pm 0.88	—	—
F değeri		0.990 ⁻	3.974 *	3.878 *	2.755 ⁻	25.770***	0.753 ⁻

a, b, c : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir ($p<0.05$).

* : $p<0.05$

** : $p<0.01$

— : Önemli değil

Koliform bakteri sayılarında gruplar arasındaki farklılıklar ve bunların önem dereceleri Tablo 22'de verilmiştir. Olgunlaşmanın 15. gününde A grubu örneklerinde ortaya çıkan değerler C ve E grubu, B grubu değerleri ise C, D ve E grubu ile farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Bu farklılık 30. günde A ve B grubu değerlerinin D ve E grubu değerleri ile farklı çıkması şeklinde yaşanmıştır ($p<0.05$). 60. günde ise A ve B grubu örneklerinde tespit edilen değerler C, D ve E grubuna göre farklı bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 23. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Koliform Bakteri Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0	—	—	—	***	**	**
15	—	—	—	*	—	**
30	—	—	—	*	**	**
45	*	*	*	—	—	*
60	**	*	**	*	—	**
90	**	*	**	*	*	—

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 24. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Koliform Bakteri Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0	—	—	**	**	**	**
15	—	—	—	**	***	***
30	***	—	—	*	*	*
45	—	—	—	—	—	—
60	**	*	*	—	—	—
90	***	***	**	—	—	—

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 25. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Koliform Bakteri Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	*	—				
45	*	—	*			
60	**	***	**	—		
90	**	***	**	—	—	

* : $p < 0.05$

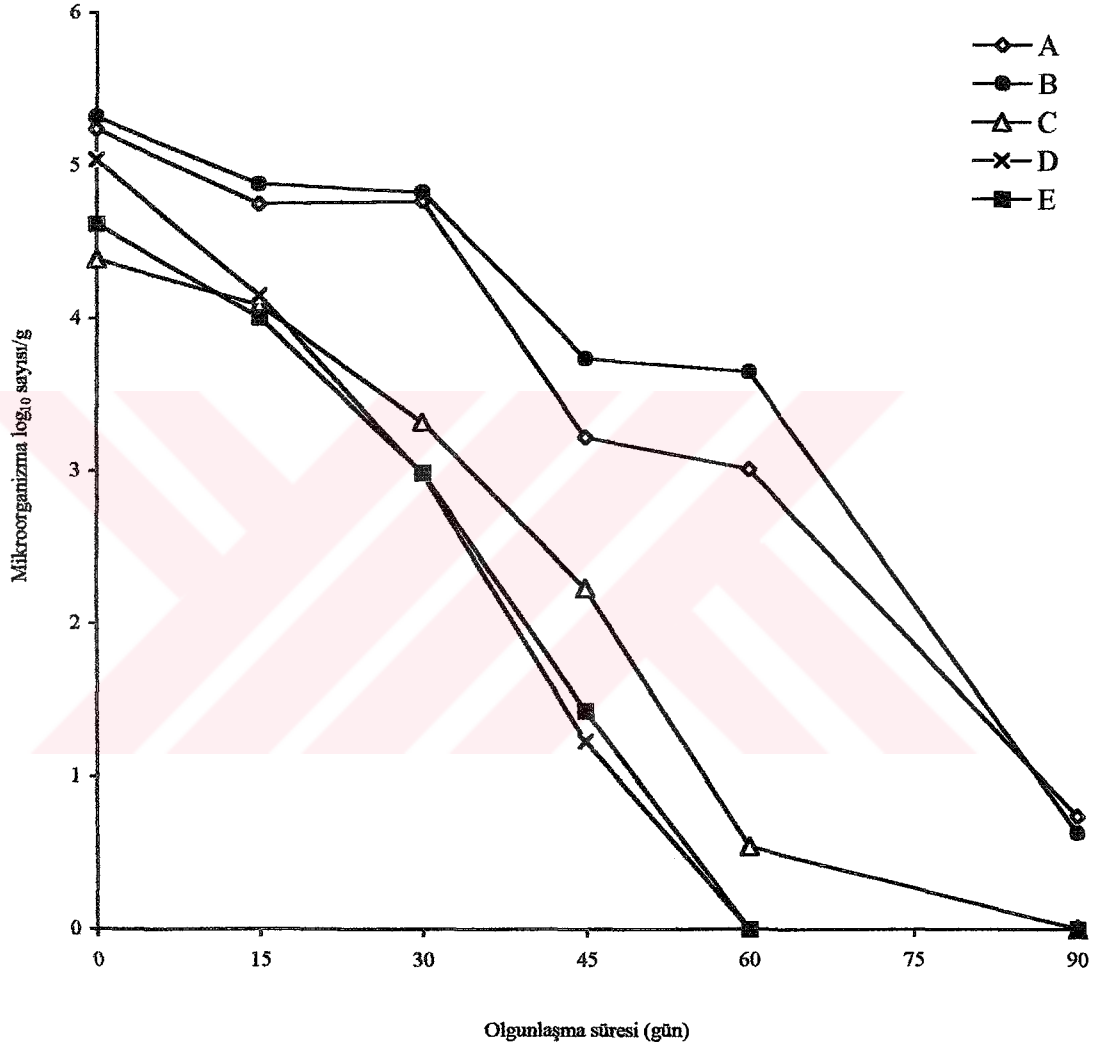
** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Koliform bakteri sayılarında grup içi dönemler arasında yapılan karşılaştırma Tablo 23, 24 ve 25’de verilmiştir. A grubu örneklerinde 0. gün ile 15 ve 30., 15. gün ile 30 gün değerleri arasında bir farklılık gözlenmemiştir. Aynı durum B grubu örneklerinde de 0. gün ile 15 ve 30., 15. gün ile 30 ve 60., 45. gün ile 60. gün değerleri arasında yaşanmıştır. Her iki grupta da geri kalan günlerin mukayeselerinde farklılık ortaya çıkmıştır ($p < 0.05$). C grubu tulum peyniri örneklerinde 0. gün ile 30, 60 ve 90., 15 ve 30. gün değerleri ile de 60 ve 90. gün değerleri farklı bulunmuştur ($p < 0.05$). D grubu örneklerinde 0 ile 15., 15 ile 30., 45 ile 60 ve 90., 60 ile 90. gün değerlerinin haricinde kalan tüm mukayeselerde farklılık olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). E grubu örneklerde 0. gün değerleri 30, 45, 60 ve 90., 15. gün değerleri 60 ve 90., 30 gün değerleri ise 45, 60 ve 90. gün değerleri ile farklılık arz etmiştir ($p < 0.05$).

Şekil 4. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Koliform Bakteri Sayılarında (\log_{10} kob/g) Meydana Gelen Değişimler



5. 2. 1. 5. Maya ve Küfler

En yüksek maya ve küf sayısı C, D ve E gruplarında olgunlaşmanın 0., A grubunda 15., B grubunda ise 45. gününde saptanmıştır. A grubunda olgunlaşma süreci içerisinde düzensiz bir seyir gösteren maya ve küfler 0. günde 4.2×10^6 kob/g, 15. günde 6.5×10^6 kob/g, 30. günde 5.3×10^5 kob/g, 45. günde 7.7×10^5 kob/g, 60. günde 1.2×10^4 kob ve 90. günde 5.3×10^3 kob/g olarak tespit edilmiştir. B grubunda başlangıçta 2.1×10^6 kob/g olarak saptanan etkenler 45. güne kadar azalmış, bu günde yükselerek 2.7×10^6 kob/g seviyesine eriştikten sonra azalarak 90. günde 2.0×10^4 kob/g düzeyine inmiştir. Değişik oranlarda potasyum sorbat ihtiva eden C, D ve E grubu örneklerde ise sırasıyla 90., 60. ve yine 60. günlerde örneklerden maya ve küf etkenleri <10 kob/g düzeyinde saptanmıştır.

Örneklerdeki maya ve küf sayıları Şekil 5'de verilmiştir. Grafikte de çok bariz bir şekilde görüldüğü üzere sorbatlı gruplarla (A,B) sorbatsız gruplar (C,D,E) arasında maya ve küf sayıları bakımından olgunlaşma periyodu boyunca çok belirgin farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bu etkenlerin 0. gündeki \log_{10} sayıları tüm gruplarda 4.79-6.62 aralığında saptanmış, bu aralık 15. günde 4.24-6.81, 30. günde 2.51-5.85, 45. günde 1.04-6.44, 60. günde 0-4.53 ve 90. günde 0-4.29 şeklinde ortaya çıkmıştır. Potasyum sorbat ihtiva etmeyen A ve B grubu örneklerinde maya ve küf miktarı olgunlaşma boyunca diğer 3 gruptan daha yüksek miktarlarda tespit edilmiştir. Başlangıçta A grubundan daha az miktarda etken ihtiva eden B grubu örneklerinin 90. günde daha fazla miktarda etken barındırdığı saptanmıştır. Potasyum sorbat ihtiva eden C, D ve E grubuna ait tulum peyniri örnekleri ise 45. güne kadar benzer bir seyir izlemişlerdir. Bu analiz gününden sonra D ve E grubu peynirlerinde maya ve küf belirlenememiştir. C grubunda ise olgunlaşmanın 60. gününde düşük bir düzeyde tespit edilen etkenlerin bu dönemden sonra yıkımlandıkları analizler neticesinde ortaya çıkmıştır.

Tablo 26. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Maya ve Küf Sayılarında (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	6.623 \pm 0.38 ^b	6.812 \pm 0.9	5.724 \pm 0.45 ^b	5.886 \pm 0.51 ^b	4.079 \pm 0.13 ^b	3.724 \pm 0.10 ^b
B	4	6.322 \pm 0.57 ^b	5.959 \pm 0.7	5.851 \pm 0.74 ^b	6.431 \pm 0.42 ^b	4.531 \pm 1.03 ^b	4.301 \pm 0.43 ^b
C	4	4.973 \pm 0.41 ^a	4.832 \pm 0.4	3.663 \pm 0.15 ^a	1.431 \pm 0.86 ^a	0.699 \pm 0.73 ^a	—
D	4	4.785 \pm 0.37 ^a	4.255 \pm 0.4	2.518 \pm 0.85 ^a	1.230 \pm 0.72 ^a	—	—
E	4	4.819 \pm 0.39 ^a	4.778 \pm 0.5	2.699 \pm 0.90 ^a	1.041 \pm 0.68 ^a	—	—
F değeri		4.345 *	1.460 ⁻	5.632 **	16.878 ***	16.606 ***	121.323 ***

a, b : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir.

* : p<0.05

** : p<0.01

*** : p<0.001

— : Önemli değil

Maya ve küf sayılarında olgunlaşma süreci içerisinde ortaya çıkan değişimlerin gruplar itibariyle dağılımı Tablo 26'da sunulmuştur. Olgunlaşmanın 15. günü hariç diğer günlerde tüm gruplar birbiriyle farklılık göstermiştir ve bu farklılık potasyum sorbat içermeyen A ve B grubu örneklerinin farklı oranlarda potasyum sorbat içeren C, D ve E grubu örneklerinden farklı olması şeklinde ortaya çıkmıştır (p<0.05).

Tablo 27. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Maya ve Küf Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0	—	—	—	—	—	*
15	—	—	—	—	—	*
30	**	—	—	—	—	—
45	—	—	—	—	—	***
60	**	—	*	*	—	—
90	**	—	*	*	—	—

* : p<0.05

** : p<0.01

*** : p<0.001

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 28. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Maya ve Küf Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	**	***	***
15	—		*	**	**	**
30	*	*		—	—	—
45	—	*	—		—	—
60	*	*	*	—		—
90	***	**	***	—	—	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 29. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Maya ve Küf Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	—	*				
45	**	**	—			
60	***	**	—	—		
90	***	**	—	—	—	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

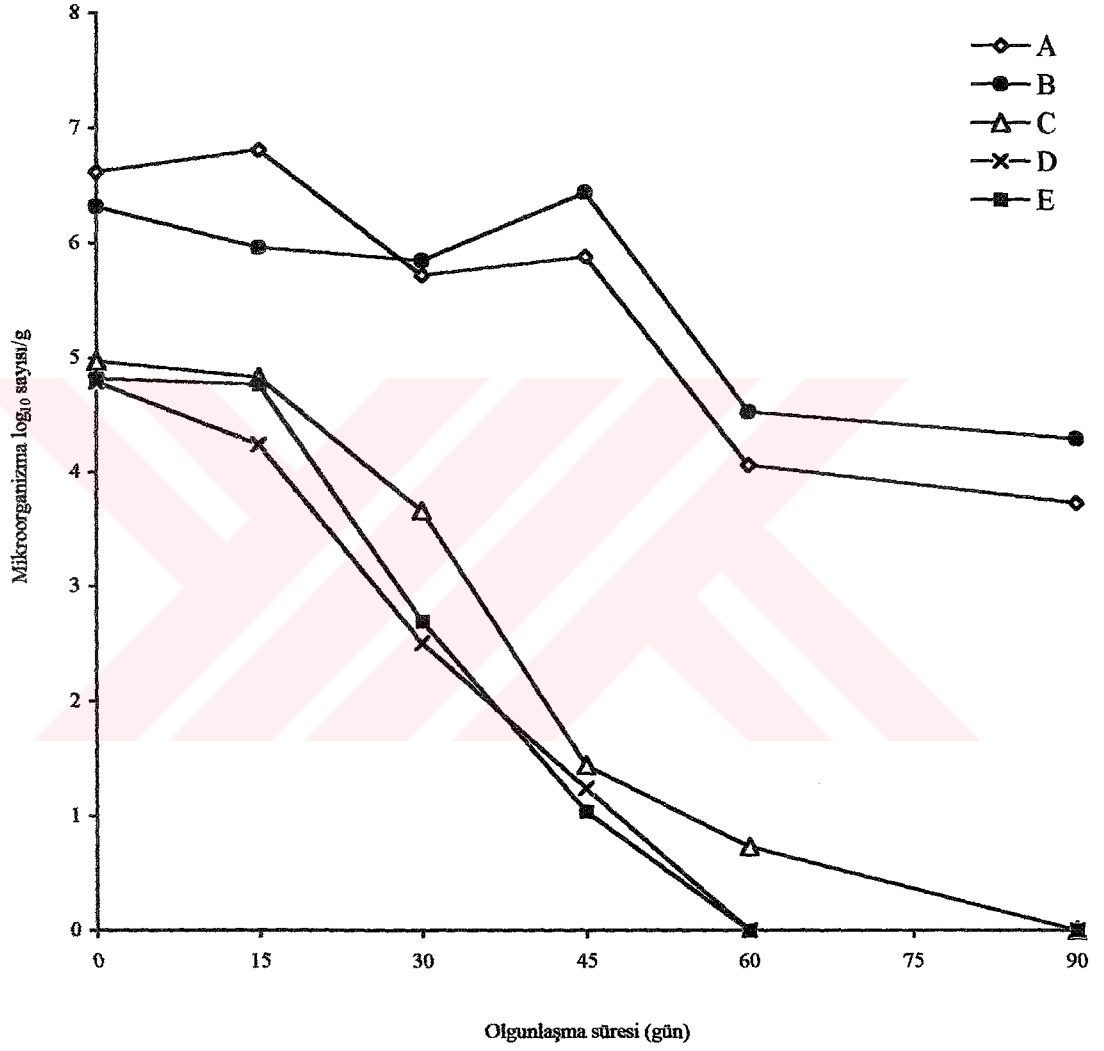
*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Maya ve küf sayısı bakımından grup içinde dönmeler arasındaki farklılık Tablo 30, 31 ve 32'de verilmiştir. A grubunda olgunlaşmanın 0. gününde tespit edilen değerlerin 30, 60 ve 90., 30 ve 45. gün değerlerinin de 60 ve 90. gün değerlerinden farklı olduğu, bu farklılığın B grubu örneklerinde 0, 15 ve 45. gün değerlerinin 90. gün değerleri ile farklı olması şeklinde ortaya çıktığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). Aynı değerlendirme C grubu için yapıldığında 0. gün değerlerinin 30, 60 ve 90., 15. gün değerlerinin 0. günün haricindeki diğer tüm olgunlaşma günlerinden, 30 gün değerlerinin 60 ve 90. gün değerlerinden farklı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). D grubu örneklerinde ise 0. günde elde edilen değerler 45, 60 ve 90., 15. gün değerleri de 30, 45, 60 ve 90. gündeki değerlerden farklı olmuştur ($p<0.05$). E grubu örneklerinde 0. gün ile 45, 60 ve 90., 15. gün ile 30, 45, 60 ve 90. gün değerlerinin farklılık arzettiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 5. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Maya ve Küf Sayılarında (\log_{10} kob/g) Meydana Gelen Değişimler

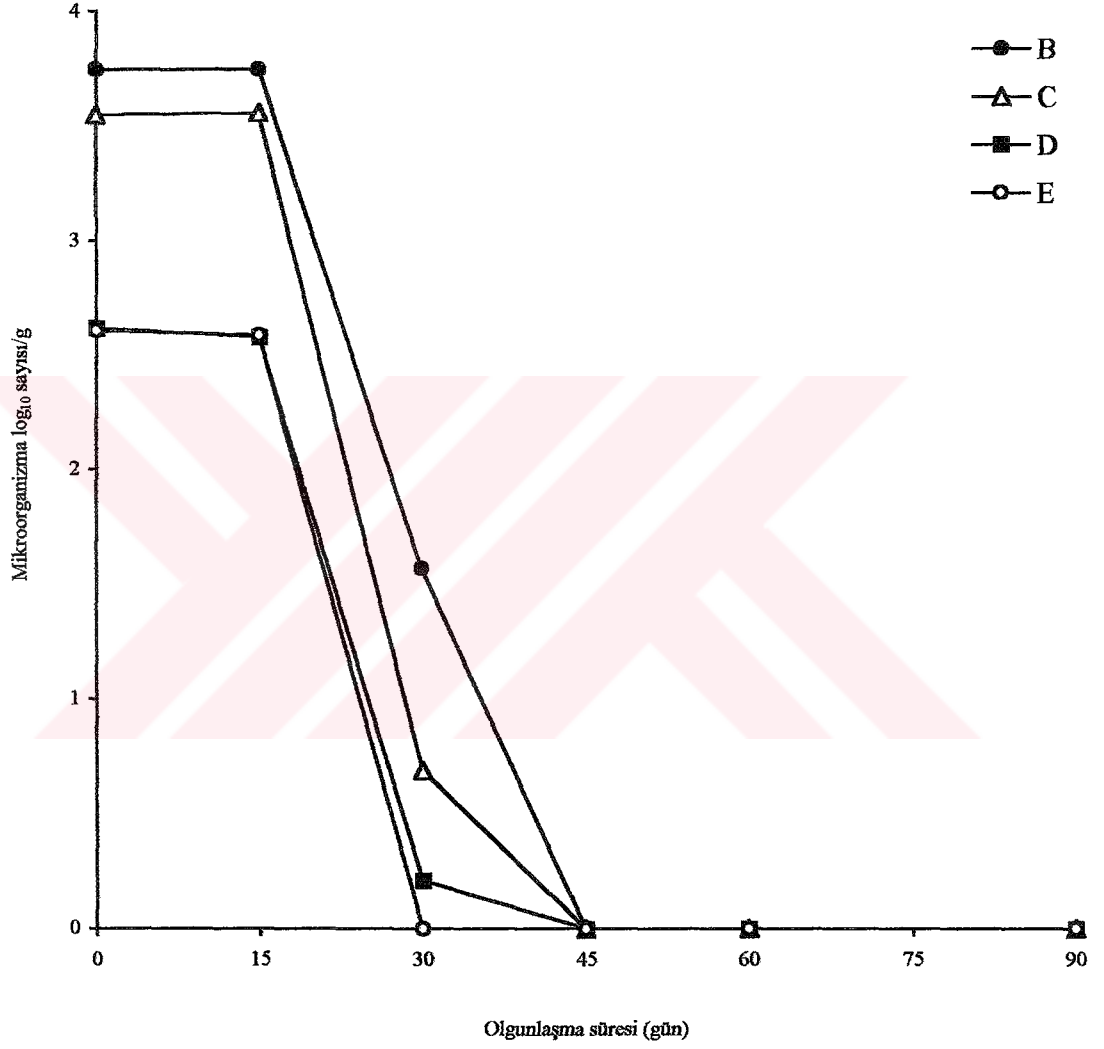


5. 2. 1. 6. *Brucella melitensis*

Potasyum sorbat içermeyen B grubu örneklerde *Brucella melitensis* sayısı; 0. günde 5.7×10^3 kob/g, 15. günde 5.6×10^3 kob/g ve 30. günde 3.8×10 kob/g miktarlarında saptanmıştır. Bu tip örneklerde *Brucella* mikroorganizmaları 45. ve daha sonraki olgunlaşma günlerinde saptanamadı. %0.05 oranında potasyum sorbat ihtiva eden C grubu peynir örneklerinde 0. günde 3.5×10^3 kob/g miktarında tespit edilen etken, 15. günde 3.7×10^3 kob/g seviyesine çıkmıştır. 30. günde 0.5×10 kob/g düzeyinde bulunan *Brucella* sayısı daha sonraki olgunlaşma gününde (45. gün) <10 kob/g olarak tespit edilmiştir. %0.10 düzeyinde potasyum sorbat içeren D grubu örneklerde 0. günde 4.2×10^2 kob/g, 15. günde 3.8×10^2 kob/g düzeyinde tespit edilen etken, 30. günde 4 deneme grubunun yalnız birinde 0.7×10 kob/g değerinde saptanmıştır. Sonraki olgunlaşma günlerinde ise *Brucella* mikroorganizmalarına rastlanmamıştır. %0.20 oranında potasyum sorbat içeren E grubunda ise 0. günde 4.1×10^2 kob/g, 15. günde 3.9×10^2 kob/g olarak tespit edilen *Brucella melitensis*, daha sonraki olgunlaşma sürecinde saptanamamıştır.

Deneysel tulum peyniri örneklerindeki *Brucella melitensis* suşunun ortalama \log_{10} kob/g düzeyi Şekil 6'da sunulmuştur. Şekil 6'da görüldüğü gibi tüm gruplarda *Brucella melitensis*'in \log_{10} sayıları 0. günde 2.61-3.75, 15. günde 2.58-3.75, 30. günde <10 -1.57 aralığında tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince zamana bağlı olarak azalan mikroorganizma sayısı, tüm gruplarda 30-45. günlerde <10 kob/g olarak saptanmıştır. Olgunlaşmanın başlangıcında en yüksek sayı potasyum sorbat ihtiva etmeyen B grubu örneklerde bulunmuştur. Bu grup örneklerdeki mikroorganizma sayısı, 15. güne kadar aynı düzeyde kaldıktan sonra 30. günde hızlı bir şekilde azalarak en düşük seviyeye inmiş ve olgunlaşmanın 45. gününde izole edilememiştir. %0.05 oranında potasyum sorbat içeren C grubu örneklerde ise başlangıçta B grubundan daha düşük miktarda saptanan *Brucella melitensis* sayısı, 15. güne kadar B grubuna paralel bir seyir izlemiş, olgunlaşmanın 30. gününden sonra ise tamamem yıkılmıştır. Sırasıyla %0.10 ve %0.20 oranlarında sorbat ihtiva eden D ve E gruplarında *Brucella*'lar 0. ve 15. günlerde hemen hemen aynı miktarlarda tespit edilmiş olup, E grubu örneklerde 30., D grubundakilerde ise 45. günde saptanamamıştır.

Şekil 6. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında *Brucella melitensis* Sayılarında (\log_{10} kob/g) Meydana Gelen Değişimler



Tablo 30. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında *Brucella melitensis* Sayılarında (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler		
		0	15	30
B	4	3.756 \pm 0.09 ^b	3.748 \pm 0.09 ^b	1.580 \pm 0.14 ^b
C	4	3.544 \pm 0.09 ^b	3.568 \pm 0.07 ^b	0.699 \pm 0.08 ^a
D	4	2.623 \pm 0.03 ^a	2.580 \pm 0.04 ^a	0.301 \pm 0.04 ^a
E	4	2.613 \pm 0.06 ^a	2.591 \pm 0.06 ^a	—
F değeri		70.206 ***	79.458 ***	12.847 ***

a, b : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir.

*** : p<0.001

— : Önemli değil

Tablo 30'da görüldüğü gibi potasyum sorbat yönünden negatif olan B ve %0.05 oranında potasyum sorbat içeren C grubu ile potasyum sorbat oranları sırasıyla %0.10 ve %0.20 olan D ve E grupları arasında farklılık görülmektedir (p<0.05). 0. gündeki bu farklılık 15. günde de aynı şekilde devam etmiştir. Olgunlaşmanın 30. gününde B grubunda saptanan değerlerin C ve D grubundaki değerlerle istatistiksel olarak farklı olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Olgunlaşmanın bundan sonraki günlerinde ise grupların hiçbirinde etken saptanamamıştır(p>0.05).

Tablo 31. Olgunlaşma Sırasında B ve C Grubundaki *Brucella melitensis* Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0	—	—	***	***	***	***
15	—	—	***	***	***	***
30	***	***	—	—	—	—
45	***	***	*	—	—	—
60	***	***	*	—	—	—
90	***	***	*	—	—	—

* : p<0.05

***: p<0.001

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı B grubu üst tarafı C grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 32. Olgunlaşma Sırasında D ve E Grubundaki *Brucella melitensis* Sayılarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	***	***	***	***
15	*		***	***	***	***
30	***	***		—	—	—
45	***	***	—		—	—
60	***	***	—	—		—
90	***	***	—	—	—	

* : $p < 0.05$

***: $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı D grubu üst tarafı E grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Her grubun olgunlaşma günleri itibariyle kendi içinde yapılan mukayesesi Tablo 31 ve 32'de sunulmuştur. B ve E grubu örneklerinden olgunlaşmanın 0. gününde tespit edilen değerlerin 15. gündeki değerlerden farksız çıkmasının haricinde geri kalan tüm dönemlerde farklılık saptanmıştır ($p < 0.05$). C grubunda 0 ile 15., 30 ile 45., 30 ile 60., 30 ile 90. gün değerlerinde farklılık bulunmamış, diğer dönemlerdeki değerlerin birbirinden farklı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). C grubunda ortaya çıkan bu farklılıkların aynısı D grubunda tespit edilen değerlerde de yaşanmıştır ($p < 0.05$).

5. 2. 2. Kimyasal Değişimler

5. 2. 2. 1. Asidite

Bütün gruplarda olgunlaşma süresince asitlik miktarları genellikle artarak olgunlaşmanın 90. gününde en yüksek seviyeye ulaşmıştır.

A, B, C, D ve E gruplarında ortalama olarak 0. günde sırasıyla %1.47, %1.41, %1.42, %1.48 ve %1.52 değerlerinde olan asitlik, 15. günde sırasıyla %1.52, %1.48, %1.57, %1.65 ve %1.57'ye yükselmiştir. Daha sonraki olgunlaşma günlerinde artan asitlik 90. günde yine sırasıyla %1.77, %1.75, %1.83, %1.83 ve %1.80 olarak saptanmıştır.

Asitlik değerlerinde saptanan değişimlerin grafiksel olarak ifadesi Şekil 7'de verilmiştir. Şekil 7'de görüldüğü üzere olgunlaşmanın başlangıcında en düşük asitlik değerlerine sahip olan A ve B grupları olgunlaşmanın sonunda da aynı şekilde en düşük değerleri göstermişlerdir. Olgunlaşmanın 0. gününde en yüksek asitlik değeri E grubu örneklerinde ortaya çıkmıştır. Olgunlaşmanın 90. gününde ise C ve D grubu örnekleri en yüksek değere sahip olan gruplar olarak tespit edilmişlerdir. Şekil 7'dede açık olarak görüldüğü gibi asitlik değerleri olgunlaşma sürecinde genel olarak düzenli bir artış eğiliminde olmuştur. D grubunun 15, 30 ve 45., E grubunun ise 30 ve 45 ile 60 ve 90. günlük değerlerinde bir değişiklik saptanmamıştır.

Tablo 33. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Asitlik Değerlerinde (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	1.472 \pm 0.04	1.520 \pm 0.02a	1.607 \pm 0.05	1.677 \pm 0.06	1.727 \pm 0.06	1.767 \pm 0.03
B	4	1.410 \pm 0.03	1.480 \pm 0.03a	1.547 \pm 0.06	1.620 \pm 0.05	1.727 \pm 0.04	1.752 \pm 0.04
C	4	1.417 \pm 0.05	1.575 \pm 0.02ab	1.567 \pm 0.03	1.622 \pm 0.02	1.800 \pm 0.02	1.830 \pm 0.02
D	4	1.475 \pm 0.07	1.647 \pm 0.03b	1.645 \pm 0.03	1.652 \pm 0.03	1.715 \pm 0.03	1.827 \pm 0.03
E	4	1.517 \pm 0.05	1.570 \pm 0.05ab	1.607 \pm 0.03	1.607 \pm 0.03	1.795 \pm 0.03	1.797 \pm 0.04
F değeri		0.780 ⁻	3.566 *	0.809 ⁻	0.488 ⁻	1.113 ⁻	1.020 ⁻

a, b : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir.

* : $p < 0.05$

— : Önemli değil

Asitlik değerleri bakımından gruplar arasındaki farklılık Tablo 33'de verilmiştir. Tulum peyniri örneklerinde A ve B grubunda olgunlaşmanın 15. gününde elde edilen asitlik değerlerinin D grubundan farklı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Tablo 34. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Asitlik Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	**	***	***
15	—		—	—	*	*
30	—	—		*	**	**
45	—	—	—		**	**
60	*	—	*	**		—
90	***	*	—	—	—	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 35. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Asitlik Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	*	*	*	*
15	—		—	—	—	*
30	*	—		—	—	*
45	*	*	—		—	*
60	*	*	*	*		**
90	**	**	*	*	*	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 36. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Asitlik Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	—	—				
45	—	—	—			
60	*	—	*	*		
90	*	—	*	*	—	

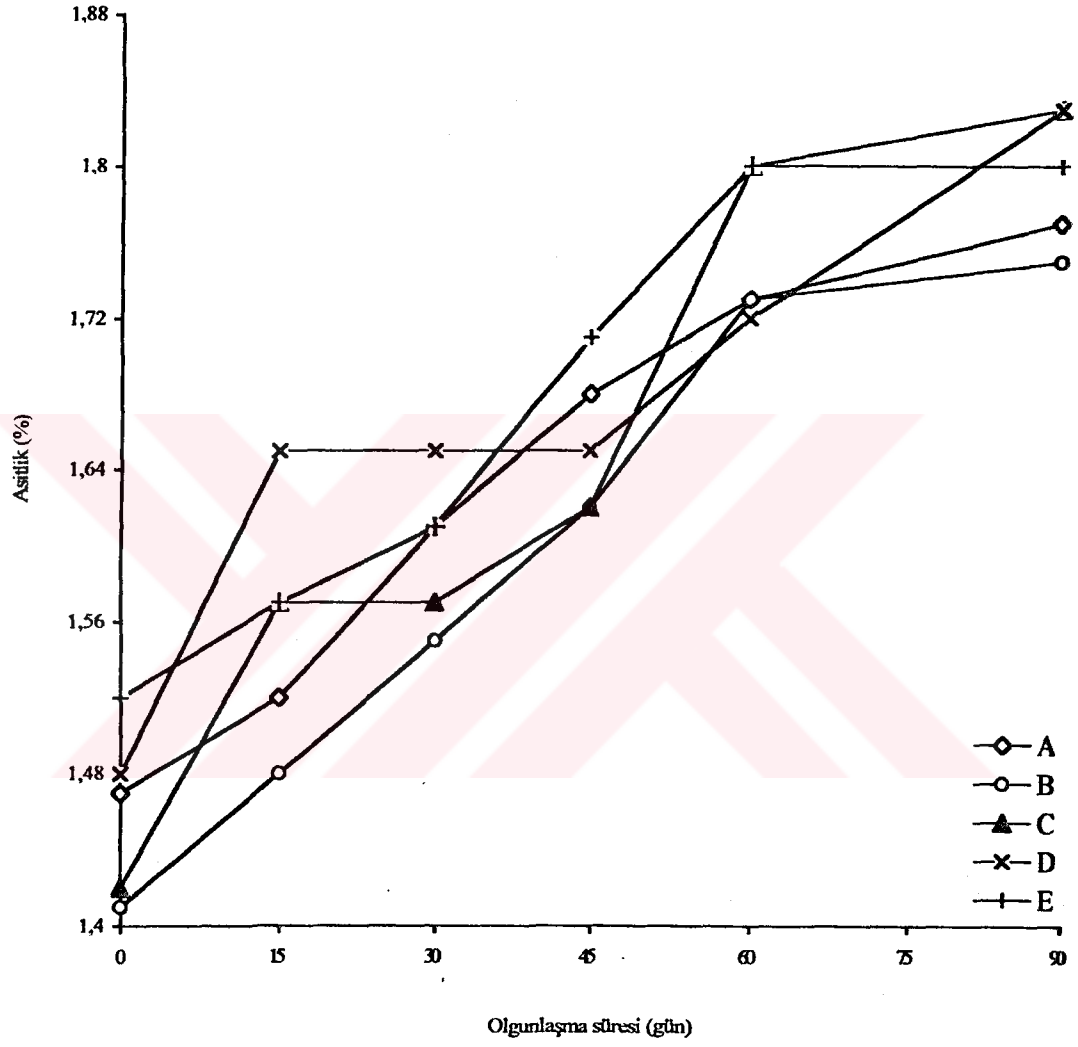
* : $p < 0.05$

— : Önemli değil

Asitlik değerlerinin grup içindeki günler itibariyle yapılan mukayesesi Tablo 34, 35 ve 36'da sunulmuştur. A grubu örneklerinde 0. günde elde edilen değerlerin 60 ve 90., 15 gün değerinin 90., 30 ve 45. gün değerlerinin de 60. gün değerlerinden farklı olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). B grubunda 0. günün 45, 60 ve 90., 15. günün 60 ve 90., 30. günün 45, 60 ve 90., 45. gün değerlerinin 60 ve 90. gün değerlerinden farklı olduğu ortaya çıkmıştır ($p<0.05$). C grubu örneklerinde 0. günün 15., 15. günün 30. ve 30. günün 45. günde elde edilen asitlik değerlerinden farklı çıkmadığı geri kalan olgunlaşma günlerinin birbiriyle farklılık arzettiği, bu farklılığın E grubunda 0, 30 ve 45. gün değerlerinin 60 ve 90. gün değerleriyle farklı olması şeklinde ortaya çıktığı tespit edilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 7. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Asitlik Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler



5. 2. 2. 2. pH

Örneklerdeki en yüksek pH değerleri tüm gruplarda olgunlaşmanın 0. gününde elde edilmiştir. Bu değerler A, B, C, D ve E gruplarında sırasıyla 4.94, 4.77, 4.76, 4.66 ve 4.63 olarak belirlenmiştir. En düşük pH değerleri ise B, C ve D gruplarında olgunlaşmanın 60. gününde sırasıyla 4.42, 4.35 ve 4.33; A ve E gruplarında ise olgunlaşmanın 90. gününde 4.54 ve 4.40 olarak tespit edilmiştir.

Olgunlaşma süresince, peynir örneklerinin pH değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 8'de sunulmuştur. Potasyum sorbat ihtiva etmeyen A ve B gruplarındaki örneklerde saptanan değerlerin olgunlaşmanın başlangıcında diğer sorbatlı gruplara göre daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Şekil 8'de görüldüğü gibi olgunlaşmanın 0. gününden 45. güne kadar pH değerleri tüm gruplarda düşüş göstermiştir. Olgunlaşmanın 45. gününden sonra A grubu hariç diğer örneklerin değerlerinde genel olarak bir düşüşle birlikte büyük değişimlerin meydana gelmediği gözlenmiş, A grubunun pH değerlerinde ise belirli bir yükselme meydana geldiği belirlenmiştir. Olgunlaşmanın sonu itibariyle en yüksek pH değerleri sorbatsız örneklerde tespit edilmiştir. Değişik oranlarda sorbat ihtiva eden gruplardaki son gün değerleri birbirlerine çok yakın olmakla beraber en düşük değer %0.10 oranında potasyum sorbat içeren D grubunda saptanmıştır.

Tablo 37. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında pH Değerlerinde (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	4.937 \pm 0.18	4.892 \pm 0.20	4.615 \pm 0.02	4.470 \pm 0.11	4.580 \pm 0.03 ^b	4.537 \pm 0.03
B	4	4.637 \pm 0.15	4.637 \pm 0.15	4.550 \pm 0.12	4.465 \pm 0.11	4.420 \pm 0.09 ^{ab}	4.430 \pm 0.04
C	4	4.755 \pm 0.12	4.622 \pm 0.04	4.550 \pm 0.02	4.440 \pm 0.06	4.350 \pm 0.06 ^a	4.380 \pm 0.04
D	4	4.660 \pm 0.17	4.500 \pm 0.04	4.520 \pm 0.02	4.377 \pm 0.02	4.330 \pm 0.04 ^a	4.372 \pm 0.02
E	4	4.632 \pm 0.07	4.602 \pm 0.09	4.542 \pm 0.05	4.430 \pm 0.05	4.442 \pm 0.02 ^{ab}	4.400 \pm 0.05
F değeri		0.813 ⁻	1.473 ⁻	0.320 ⁻	0.213 ⁻	3.185 [*]	2.976 ⁻

a, b : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler arasındaki farklar önemlidir.

* : $p < 0.05$

— : Önemli değil

pH değerlerinde günler itibariyle gruplar arasında ortaya çıkan farklılıkların sunulduğu Tablo 37 incelendiğinde yalnızca olgunlaşmanın 60. gününde kontrol olan A grubu örneğinin C ve D grubu örneklerinden farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$).

Tablo 38. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki pH Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0	—	—	—	—	—	—
15	—	—	—	—	—	—
30	—	—	—	—	—	—
45	—	*	—	—	—	—
60	—	—	—	—	—	—
90	—	—	—	—	—	—

* : $p < 0.05$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 39. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki pH Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	—	—	—
15	—		—	—	*	—
30	—	—		*	—	*
45	*	**	—		—	—
60	*	—	—	—		—
90	*	*	*	—	—	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerlerini yansıtmaktadır.

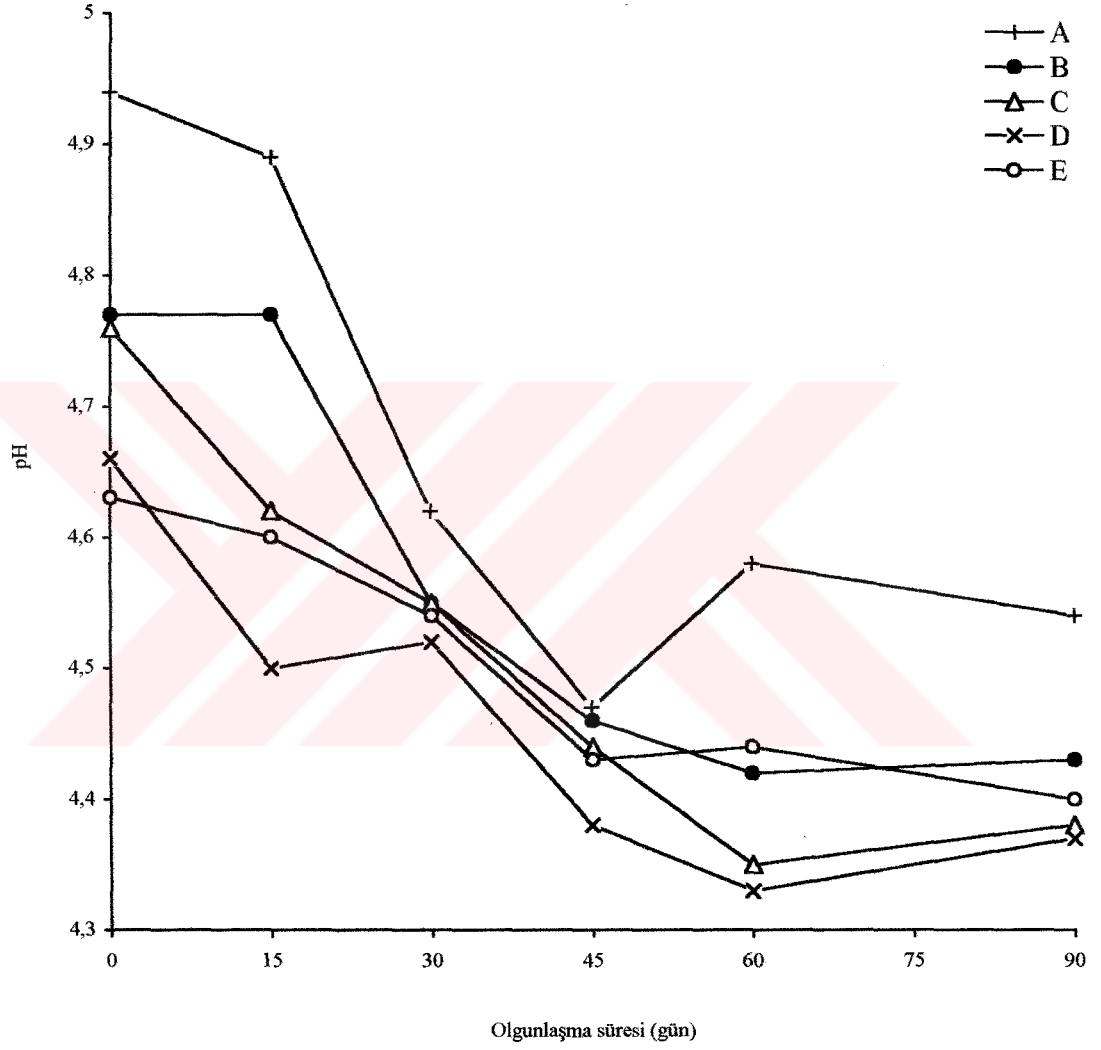
Tablo 40. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki pH Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	*	—				
45	—	—	—			
60	*	—	*	—		
90	*	—	*	—	—	

* : $p < 0.05$

— : Önemli değil

Şekil 8. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında pH Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler



5. 2. 2. 3. Tuz

Tüm gruplarda en düşük tuz değerleri olgunlaşmanın 0. gününde, en yüksek değerler ise 90. günde saptanmıştır. A grubunda 0. günde %5.67 olarak tespit edilen bu değer olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde düzenli bir artış göstererek 90. günde %6.61'e erişmiştir. B grubu örneklerinde 0. günde saptanan %5.73'lük değer 15. ve 30. günlerde artmış, 45. günde hafif bir azalma gösterdikten sonra tekrar yükselerek 90. günde %6.64 olarak şekillenmiştir. %0.05 oranında sorbat ihtiva eden C grubunda da devamlı suretle yükselen tuz miktarı 0. günde %5.88, 90. günde ise %6.64 şeklinde ortaya çıkmıştır. Sorbat konsantrasyonu sırasıyla %0.10 ve %0.20 olan D ve E gruplarında 0. günde sırasıyla %5.67 ve %5.61 olan tuz miktarı devamlı suretle artarak 90. günde sırasıyla %6.93 ve %6.44 seviyesine erişmiştir. E grubundaki değerler gözlenecek olursa 30. ve 45. gündeki değerlerin birbiriyle aynı olduğu tespit edilecektir.

Şekil 9'da da görüleceği üzere, peynir örneklerinde tespit edilen tuz değerlerinin bazı dönemlerde potasyum sorbatlı (C, D, E) bazı dönemlerde ise sorbatsız (A, B) örneklerde daha yüksek ve daha düşük miktarlarda ortaya çıktığı saptanmıştır. Olgunlaşmanın 0. gününde en yüksek tuz miktarına sahip olan C grubu örneklerin olgunlaşmanın sonunda E grubuyla birlikte en düşük değere sahip olduğu tespit edilmiştir. Yine olgunlaşmanın başlangıcında en düşük tuz değerine E grubu örneklerin sahip olduğu görülmektedir.

Tablo 41. Örneklerin Olgunlaşması Sırasında Tuz Değerlerinde (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	5.670 \pm 0.04	5.767 \pm 0.13	5.902 \pm 0.16	6.032 \pm 0.05	6.252 \pm 0.1	6.612 \pm 0.24
B	4	5.730 \pm 0.08	5.855 \pm 0.08	6.112 \pm 0.20	6.035 \pm 0.07	6.630 \pm 0.2	6.635 \pm 0.26
C	4	5.880 \pm 0.12	5.955 \pm 0.10	6.262 \pm 0.03	6.270 \pm 0.07	6.290 \pm 0.2	6.435 \pm 0.31
D	4	5.667 \pm 0.12	5.822 \pm 0.17	6.167 \pm 0.23	6.365 \pm 0.14	6.767 \pm 0.3	6.932 \pm 0.28
E	4	5.605 \pm 0.15	5.702 \pm 0.18	6.115 \pm 0.22	6.115 \pm 0.07	6.302 \pm 0.1	6.435 \pm 0.24
F değeri		0.887 ⁻	0.477 ⁻	0.514 ⁻	2.983 ⁻	0.710 ⁻	0.576 ⁻

— : Önemli değil

Deneysel tulum peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince elde edilen tuz değerlerinin günler itibariyle gruplar arasında herhangi bir farklılık arz etmediği Tablo 41'de görülmektedir ($p>0.05$).

Tablo 42. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Tuz Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	—	—	*
15	—		—	—	—	—
30	—	—		—	—	—
45	*	—	—		—	—
60	—	—	**	—		—
90	*	*	*	—	—	

* : $p<0.05$

** : $p<0.01$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 43. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Tuz Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	*	*	**
15	—		—	—	—	—
30	—	—		—	—	—
45	—	—	—		—	—
60	—	—	—	—		—
90	—	—	—	—	—	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 44. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Tuz Değerlerinin Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

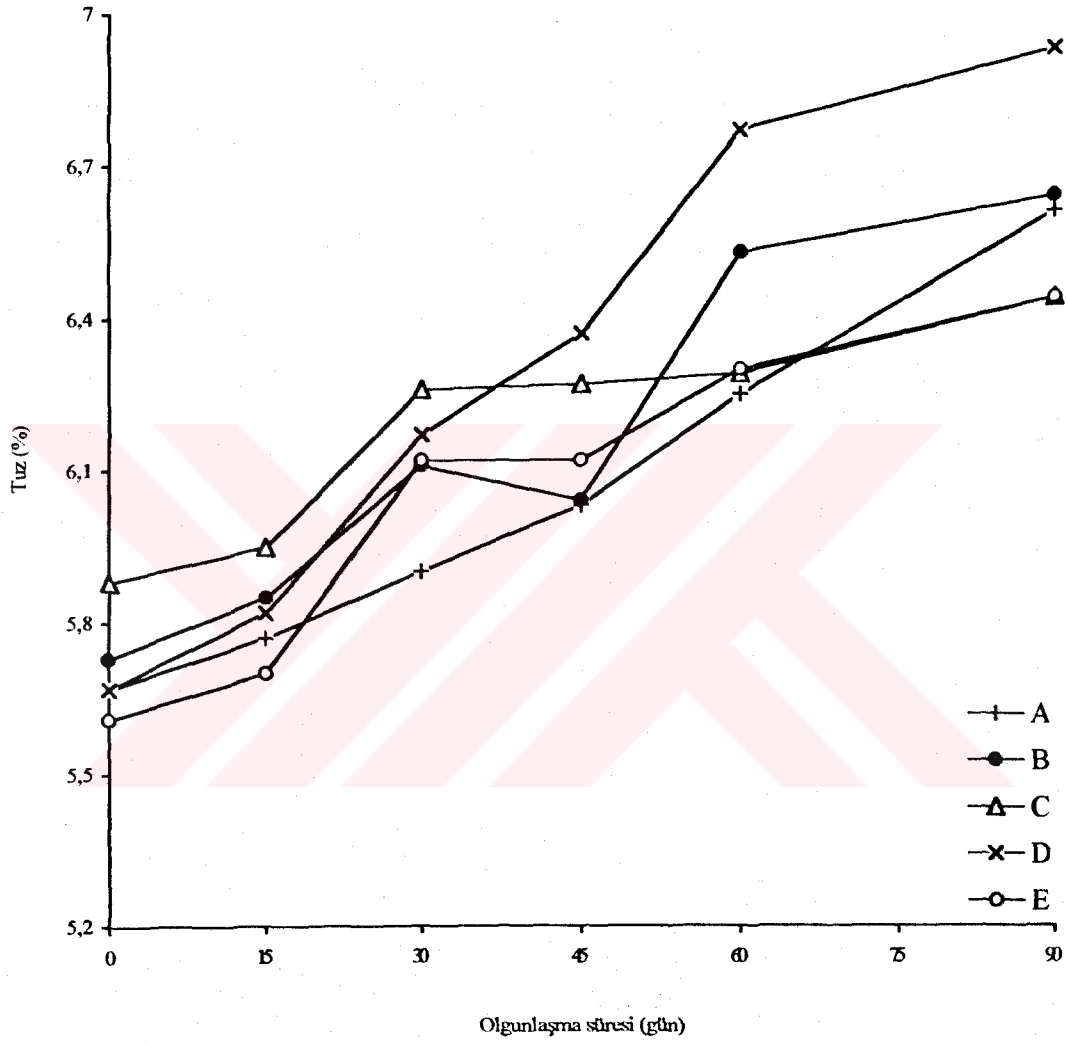
Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	—	—				
45	*	—	—			
60	*	—	—	—		
90	—	—	—	—	—	

* : $p < 0.05$

— : Önemli değil

Olgunlaşma süresince elde edilen tuz değerlerinin grup içi günler arasında yapılan mukayeseleri Tablo 42, 43 ve 44'te sunulmuştur. A grubu örneklerinde 0. gün değerlerinin 45 ve 90., 15. günün 90., 30. günün 60 ve 90.; B grubu örneklerinde 0. gün değerinin 90.; D grubu örneklerde 0. gün değerinin 45, 60 ve 90.; E grubu örneklerinde ise 0. gün değerinin 45 ve 60. gündeki değerlerden farklı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Şekil 9. Örneklerde Olgunlaşma Sırasında Tuz Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler



5. 2. 2. 4. Rutubet Miktarı

Tüm gruplarda (A, B, C, D ve E) en yüksek rutubet miktarları 0. günde, en düşük rutubet miktarları ise 90. günde ortaya çıkmıştır. Bütün gruplarda olgunlaşmanın ilk gününde tespit edilen değerler devamlı azalarak olgunlaşmanın son gününde en düşük seviyelerine inmişlerdir. Bu değerler belirtilen gruplarda 0. günde sırasıyla %32.66, %33.39, %34.56, %31.20 ve %36.60 olarak saptanmış olup 90. günde ise sırasıyla %28.75, %30.29, %30.23, %26.82 ve %32.26 değerlerinde tespit edilmişlerdir.

Rutubet miktarlarının olgunlaşma sürecindeki ortalama değerlerinin grafiksel olarak ifadesi Şekil 10'da gösterilmiştir. Olgunlaşma süresince tüm gruplardaki örnekler rutubet miktarları itibariyle birbirlerine hemen hemen paralel bir seyir göstermişlerdir. Yalnızca C ve E grubundaki örneklerin 15. olgunlaşma gününde göstermiş oldukları düşüşün diğer gruplara oranla biraz daha yüksek miktarlarda şekillendiği gözlenmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcında en düşük ve en yüksek rutubet miktarlarına sahip olan gruplar sırasıyla %0.10 oranında sorbat içeren D ile %0.20 oranında sorbat içeren E grubu olmuştur. Bu gruplar olgunlaşmanın 90. gününde de aynı konumlarını muhafaza etmişlerdir.

Tablo 45. Örneklerin Olgunlaşması Sırasında İçermiş Oldukları Rutubet Miktarlarında (\log_{10} kob/g \pm Sd) Meydana Gelen Değişimler ile Gruplar Arasındaki Farklılıklar.

Gruplar	n	Günler					
		0	15	30	45	60	90
A	4	32.657 \pm 2.24	32.542 \pm 2.20	31.150 \pm 0.40	29.557 \pm 2.64	29.017 \pm 2.56	28.752 \pm 2.53
B	4	33.390 \pm 3.49	33.162 \pm 3.96	32.065 \pm 4.00	31.332 \pm 4.20	30.650 \pm 3.71	30.295 \pm 3.63
C	4	34.560 \pm 0.79	32.845 \pm 0.45	32.190 \pm 1.09	30.882 \pm 0.96	30.412 \pm 0.93	30.230 \pm 0.93
D	4	31.200 \pm 1.40	30.550 \pm 1.03	28.910 \pm 1.50	28.085 \pm 1.39	27.040 \pm 1.32	26.820 \pm 1.23
E	4	36.605 \pm 2.10	35.242 \pm 1.85	33.860 \pm 2.10	32.642 \pm 2.25	32.282 \pm 2.33	32.260 \pm 2.07
F değeri		0.858 ⁻	0.554 ⁻	0.816 ⁻	0.466 ⁻	0.681 ⁻	0.779 ⁻

— : Önemli değil

Deneysel tulum peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince elde edilen rutubet değerlerinin günler itibariyle gruplar arasında herhangi bir farklılık arz etmediği Tablo 45'de görülmektedir ($p>0.05$).

Tablo 46. Olgunlaşma Sırasında A ve B Grubundaki Rutubet Miktarlarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	—	—	*	*
15	—		*	*	—	—
30	—	—		—	—	—
45	*	*	—		—	—
60	*	*	—	*		*
90	*	**	—	*	—	

* : $p<0.05$

** : $p<0.01$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı A, üst tarafı B grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 47. Olgunlaşma Sırasında C ve D Grubundaki Rutubet Miktarlarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0		—	*	*	**	**
15	—		—	*	**	***
30	—	—		—	*	*
45	*	—	*		—	—
60	*	*	*	—		—
90	*	*	*	—	—	

* : $p < 0.05$

** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Vertikal çizginin alt tarafı C, üst tarafı D grubu değerlerini yansıtmaktadır.

Tablo 48. Olgunlaşma Sırasında E Grubundaki Rutubet Miktarlarının Grup İçi Günler Arasındaki Farklılıklarının Karşılaştırılması

Gün	0	15	30	45	60	90
0						
15	—					
30	**	—				
45	**	*	**			
60	***	*	*	—		
90	***	**	*	—	—	

* : $p < 0.05$

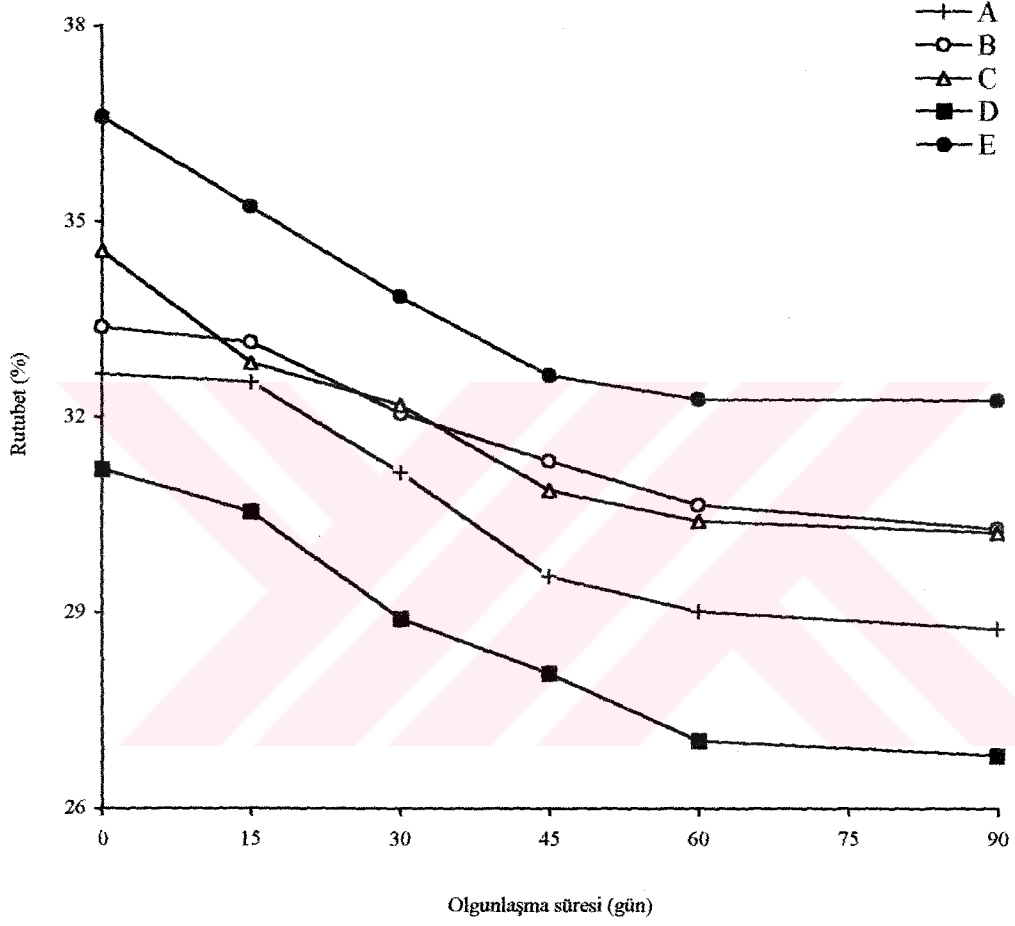
** : $p < 0.01$

*** : $p < 0.001$

— : Önemli değil

Rutubet değerleri bakımından grup içi günler arasında yapılan karşılaştırmalar Tablo 45, 46 ve 47'de verilmiştir. A grubunda olgunlaşmanın 0 ve 15. gününde elde edilen değerlerin 45, 60 ve 90. günde elde edilen değerlerden, 45. günde elde edilen değerlerin 60 ve 90. günde elde edilenlerden farklı olduğu ($p<0.05$), bu farklılığın B grubu örneklerde 0 ile 60 ve 90., 15 ile 30 ve 45. gün değerlerinde yaşandığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). D grubu örneklerinde 0. ve 30. gün verilerinin 45, 60 ve 90., 15 gün verilerinin 60 ve 90. gün verilerinden farklı olduğu saptanmıştır. D grubunda ise bu farklılıklar 0. ile 30, 45, 60 ve 90., 15. ile 45, 60 ve 90., 30. ile 60 ve 90. gün değerleri arasında ortaya çıkmıştır ($p<0.05$). E grubu örneklerinde 30 ile 45. gün değerlerinde yaşanan farklılığın haricinde diğer veriler D grubuyla benzerlik arz etmiştir ($p<0.05$).

Şekil 10. Örneklerin Olgunlaşması Sırasında Rutubet Miktarlarında Meydana Gelen Değişimler



6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda potasyum sorbat ilavesi ve farklı düzeylerde *Brucella melitensis* suşu inoküle edilerek çiğ koyun sütlerinden yapılan tulum peyniri örneklerinin olgunlaşması sırasında, adı geçen mikroorganizmanın yaşam süreleri ile üründe meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler incelenmiştir.

Çalışmada incelenen potasyum sorbatsız (A, B) ve sorbatlı (C, D ve E) gruplar arasında çok büyük farklılıklar görülmemesine rağmen yinede olgunlaşmanın her safhasında sorbatsız gruplardaki toplam mezofilik aerob sayısı sorbatlı gruplara göre daha yüksek oranlarda ortaya çıktı, fakat bu farklılık istatistiksel boyutta önem arzemedi (Tablo 10, Şekil 1). Olgunlaşmanın 0. gününde A, B, C, D ve E gruplarında sırasıyla 1.2×10^7 kob/g, 4.7×10^6 kob/g, 2.8×10^6 /g, 1.8×10^6 kob/g ve 1.6×10^6 kob/g düzeyinde tespit edilen etken miktarı 90. günde yine aynı grup sırasıyla 5.3×10^5 kob/g, 8.4×10^5 kob/g, 3.3×10^5 kob/g, 3.2×10^5 kob/g ve 4.9×10^5 kob/g miktarlarında tespit edildi. Sorbat içermeyen tulum peynirleri üzerinde bazı araştırmacıların (19,30,31,106,132) gerçekleştirdikleri çalışmalarda elde ettikleri toplam mezofilik aerob mikroorganizma sayılarının genelde daha yüksek oranlarda olduğu görülmektedir. Shehata (161), sorbat ilavesinin genel canlı sayısında düşüslere yol açacağını bildirmekle beraber, Doğruer ve ark. (55), farklı bulgular saptamış olup sorbat ilaveli peynirlerde genel canlı sayısı üzerine sorbatın herhangi bir etkisini tespit edememişlerdir. Olgunlaşmanın başlangıcından itibaren düşüş gösteren toplam mezofilik aerob sayısının olgunlaşmanın ortalarından itibaren belli bir yükseliş gösterdikten sonra tekrar düşmesi laktik asit bakterilerinin faaliyetleri esnasında ortaya çıkarmış oldukları bazı metabolitlerin etkisine bağlanabilir. Bunun yanında diğer mikroorganizmaların özellikle patojen karakterli mikroorganizmaların sayılarında ortaya çıkan değişimlerde bu duruma etki ederler (158). Sorbatlı gruplarda genel canlı sayısının bir miktar daha düşük bulunması ortam asitliğinin yüksek, rutubet miktarının oldukça düşük olması neticesinde sorbatların genel olarak ortaya koyduğu daha kuvvetli antibakteriyel etki mekanizması ile açıklanabilir (98,165,109). Farklı peynir türleri üzerinde yapılan çalışmalarda bazı araştırmacılar (30,83,173) genel canlı sayısının olgunlaşma süreci içerisinde sürekli azaldığını bildirmişlerdir.

Olgunlaşma süreci içerisinde fekal streptokok sayıları hem sorbat ihtiva eden hem de sorbatsız peynir örneklerinde devamlı olarak azaldı (Tablo 14, Şekil 2). Sorbat

ihativa etmeyen A ve B grubu örneklerde olgunlaşmanın ilk gününde sırasıyla 4.3×10^4 kob/g ve 3.8×10^4 kob/g olan fekal streptokok sayısının 90. günde 1.7×10^4 kob/g ve 1.2×10^4 kob/g olarak ortaya çıktığı; sorbat ihtiva eden C, D ve E grubu örneklerinde ise bu rakamlar sırasıyla 0. günde 1.8×10^4 kob/g, 1.2×10^4 kob/g ve 1.7×10^4 kob/g, 90. günde ise tüm gruplarda <10 kob/g olarak tespit edildi. Özellikle olgunlaşmanın 60. gününden sonra fekal streptokok sayılarında önemli azalmalar meydana geldi. Doğruer (55), sorbat ihtiva eden peynir gruplarında benzer bulgular tespit etmiştir. Sorbat ihtiva etmeyen A ve B grubu peynir örneklerinde fekal streptokok düzeyinin olgunlaşma süresinin sonuna kadar <10 kob/g'a düşmediği fakat çok düşük miktarlarda şekillendiği saptandı. Genel olarak, elde edilen fekal streptokok sayıları göz önüne alındığında, ortaya çıkan rakamların Patır ve ark. (138) ile Keleş ve Atasever (93)'in tespit ettiği miktarlardan daha düşük; Ateş ve Bostan (19,30)'inkilerle uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Fekal streptokokların sürekli şekilde azalarak olgunlaşmanın belirli dönemlerinde ortamdan kaybolması bazı araştırmacıların (30,138) bulgularıyla uyumluluk göstermesine karşın; bu etkenin olgunlaşmanın farklı günlerinde düzensiz grafikler ortaya koyduğunu bildiren bazı araştırmacıların (44,135) verileriyle de farklılık göstermektedir. Bu durum peynir yapımında uygulanan tekniklerinin farklı olması ile birlikte sorbatlı gruplarda bu antimikrobiyalin fekal streptokoklar üzerine olan etkisine bağlanabilir (55).

Deneysel tulum peyniri örneklerinde *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları olgunlaşmanın 0. gününde tüm örneklerde birbirleriyle benzer düzeylerde saptanmıştır. Ancak, olgunlaşmanın 15. gününden itibaren sorbatlı gruplarla sorbat ihtiva etmeyen gruplar arasında belirgin farklılıklar ortaya çıkmaya başlamış ve bu durum 90. güne kadar devam etmiştir (Tablo 18, Şekil 3). Sorbat ihtiva etmeyen A grubu peynir örneklerinde 0. günde 4.9×10^4 kob/g düzeyinde tespit edilen *Staphylococcus-Micrococcus* miktarının 15. günde 6.5×10^4 kob/g seviyesine yükselmiş olmasının haricinde tüm grup ve dönemlerde etken miktarının sürekli olarak azaldığı belirlendi. A ve B grubu örneklerde bu mikroorganizmanın düzeyi 90. günde sırasıyla 0.7×10^4 kob/g ve 1.4×10^4 kob/g olarak tespit edildi. Bunun yanında sorbat miktarları %0.05 olan C, %0.10 olan D ve %0.20 olan E grubu peynir örneklerinde olgunlaşmanın ilk gününde sırasıyla bu değerler 2.1×10^4 kob/g, 6.9×10^4 kob/g ve 3.6×10^4 kob/g olarak saptandıktan sonra *Staphylococcus-Micrococcus* miktarları 90. günde bu üç grup tümünde <10 kob/g

olarak ortaya çıktı. Sorbat ihtiva eden peynir türleri üzerinde yapılan çalışmalarda (1,55,60,163), *Staphylococcus-Micrococcus*'ların bu antimikrobiyal maddeden etkilendiği ve sayılarında belirgin düşüşler yaşandığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda olgunlaşmanın sonu itibariyle en büyük etkileşimin %0.10 oranında sorbat ihtiva eden tulum peyniri örneklerinde gerçekleştiği saptandı. *Staphylococcus-Micrococcus*'ların hem sorbatlı hem de sorbatsız peynir gruplarında tespit edilen sayılarının, genel olarak diğer bazı araştırmacıların (17,19,31,138,176) benzer çalışmalarda elde ettiği değerlerden daha düşük olduğu görüldü. Çevreden bulaşma ihtimali yüksek olan bu etkenin olgunlaşmanın ilk anından itibaren diğer çalışma değerlerine göre daha düşük oranda tespit edilmesi çalışmada hijyenik kurallara daha fazla riayet edilmesi, çiğ sütteki başlangıç *Staphylococcus-Micrococcus* miktarının daha düşük olması ve asitlik miktarının daha yüksek olması nedenlerine dayanabilir. *Staphylococcus-Micrococcus* grubu mikroorganizmaların olgunlaşma periyodunca sürekli azalması ve bu periyodun sonuna doğru ortamdan kaybolması birçok araştırmacının (17,30,44,138) bulgularıyla da benzerlik göstermektedir.

Koliform grubu mikroorganizmalar, olgunlaşmanın ilk gününden itibaren sorbatlı ve sorbatsız peynir örnekleri arasında sayıca belirgin farklılıklar gösterdi ve bu farklılık olgunlaşmanın son gününe kadar aynı şekilde devam etti (Tablo 22, Şekil 4). Bununla birlikte sorbat ihtiva etmeyen A grubu örneklerinde 30. günde tespit edilen hafif bir yükselmenin haricinde tüm gruplarda olgunlaşmanın başlangıcından itibaren son olgunlaşma gününe kadar belirgin düşüşler yaşandı. Koliform değerleri olgunlaşma periyodunun 0. gününde A, B, C, D ve E grubu peynirlerde sırasıyla 1.7×10^5 kob/g, 2.1×10^5 kob/g, 2.5×10^4 kob/g, 1.1×10^5 kob/g ve 4.1×10^4 kob/g olarak saptandıktan sonra 60. olgunlaşma gününde 1.0×10^3 kob/g, 4.5×10^3 kob/g, 0.3×10 kob/g, <10 kob/g ve <10 kob/g; 90. günde ise $0.6 \times 10/g$, $0.4 \times 10/g$, <10 kob/g, <10 kob/g ve <10 kob/g düzeyinde tespit edildi. Bu düşüşün özellikle potasyum sorbat konsantrasyonu %0.10 olan D grubu ile %0.20 olan E grubu peynir örneklerinde çok daha keskin olarak yaşandığı görüldü. Sorbat ihtiva eden peynir örneklerinde çalışma yapmış olan bazı araştırmacılar (55,60,161), bu antimikrobiyalin bulunduğu ortamlarda koliform sayılarında kontrol gruplarına göre daha yüksek oranlarda düşüşlerin gerçekleştiği ve olgunlaşmanın farklı dönemlerinde tamamen yıkımlandığı bildirilmiştir. Bu durum elde ettiğimiz verilere uyum göstermektedir. Sorbatlı ve sorbatsız gruplar arasındaki bu farklılık sorbatın

koliformlar üzerinde gösterdiği inhibisyon etkisiyle açıklanabilir. Sorbat ihtiva etmeyen grupların koliform sayılarında da sorbatlı peynir örneklerinde olduğu kadar yüksek düzeyde olmasa da belirgin azalmaların meydana geldiği ve 90. günde çok düşük seviyelere indiği tespit edildi. Olgunlaşmanın sonuna doğru tüm peynir örneklerimizde koliform sayılarının <10 kob/g veya bu değere çok yakın seviyelere düşmüş olması birçok araştırmacının (17,135,138) bulgularıyla benzerlik göstermekle birlikte bu etkenin olgunlaşmanın daha erken dönemlerinde yıkımlandığını ifade eden bazı araştırmacıların (30,44) verileriyle de farklılık arz etmektedir. Bu farklılık kullanılan sütün niteliğine ve uygulanan teknolojik işlemlerdeki farklılığa bağlanabilir.

DeneySEL tulum peyniri örneklerinde sorbatlı ve sorbatsız gruplar arasında maya ve küf sayıları bakımından büyük farklılıklar yaşandığı görüldü (Tablo 26, Şekil 5). Sorbat ihtiva etmeyen A ve B grubu ile sorbat içeren C, D ve E grupları arasındaki bu farklılık olgunlaşmanın ilk gününden başlayarak son gününe kadar artan boyutlarda devam etti. Olgunlaşmanın 0. gününde A'da 4.2×10^6 kob/g, B'de 2.1×10^6 kob/g düzeyinde tespit edilen etken miktarı sorbat ihtiva eden C, D ve E gruplarında sırasıyla 9.4×10^4 kob/g, 6.1×10^4 kob/g ve 6.6×10^4 kob/g şeklinde ortaya çıktı. A ve B grubunda olgunlaşma esnasında hafif dalgalanmalar ortaya çıkmış olsada olgunlaşmanın sonu itibariyle başlangıca göre etken miktarının azalmış olduğu saptandı. C, D ve E gruplarında ise maya ve küf sayısı olgunlaşma süresince devamlı düşüş gösterdi. Olgunlaşma periyodunda birbirlerine çok yakın değerler ortaya koyan D ve E grubu peynir örneklerinde 60. günde etken izolasyonu yapılamadı. C grubunda ise 60. günde 0.5×10^4 kob/g düzeyinde tespit edilen bu mikroorganizmaların düzeyi 90. günde <10 kob/g olarak ortaya çıktı. Potasyum sorbatın mikroorganizmalar içerisinde en büyük etkiyi maya ve küfler üzerinde gösterdiği bilinmektedir (57,98,109,165). Peynirlerde, sorbatın maya ve küfler üzerindeki etkisini ortaya koyan bazı araştırmalar (13,55,110,126,184) yapılmış ve sonuçta bu antimikrobiyel maddenin etkinliği açık olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmalar bizim bulgularımızı destekler niteliktedir. Sorbat ihtiva etmeyen gruplarda maya ve küf sayıları 15, 30 ve 45. günlerde belli dalgalanmalar göstermiş olmalarına rağmen en yüksek sayılarının olgunlaşmanın 0. gününde ortaya çıktığı ve olgunlaşmanın 45. gününden sonrada düzenli bir düşüş eğilimine girdikleri saptandı. Bu durum bazı araştırmacıların (44,61,199) bulgularıyla bağdaşmakla beraber, olgunlaşmanın başlangıcından itibaren bu etkenin sayısında sürekli azalmanın meydana

geldiğini bildiren bazı diğer araştırmacıların (30,72,135,137) bulgularıyla farklılık arz etmektedir. A ve B grubu örneklerde olgunlaşmanın sonunda yüksek miktarda maya ve küf tespit edilmesi bu etkenin geniş bir pH, sıcaklık ve su aktivitesi aralığında gelişebilme özelliği ile açıklanabilir (15).

Bu çalışmada temel amaç, deneysel olarak üretilen tulum peyniri örneklerinde *Brucella melitensis*'in yaşam süresi ile farklı dozlarda ilave edilen potasyum sorbatın etkisini saptamaktır. Kontrol grubu (A) hariç diğer 4 gruba her tekrarda artan dozlarda olmak kaydıyla *Brucella* inokulasyonu yapıldı ve bu 4 grubun 3'üne de (C, D ve E) farklı dozlarda potasyum sorbat ilavesi yapıldı. Ortaya çıkan tabloda veriler incelenecek olursa mikroorganizmanın mevcudiyeti ile sorbatın varlığı arasında bir ilişkinin olduğu göze çarpmaktadır (Tablo 30, Şekil 6). Sorbat ihtiva etmeyen B grubu örneklerinde *Brucella melitensis* miktarı, 0. günde 5.7×10^3 kob/g, %0.05 oranında sorbat içeren C grubu örneklerinde 3.5×10^3 kob/g, %0.10 oranında sorbat ihtiva eden D grubunda 4.2×10^2 kob/g ve %0.20 oranında sorbat içeren E grubu örneklerinde ise 4.1×10^2 kob/g düzeyinde tespit edildi. Bu değerler 15. günde B'de 5.6×10^3 kob/g, C'de 3.7×10^3 kob/g, D'de 3.8×10^2 kob/g ve E'de 3.9×10^2 kob/g; 30. günde B'de 3.8×10^3 kob/g, C'de 0.5×10^3 kob/g, D'de 0.2×10^3 kob/g ve E'de $<10^3$ kob/g; olgunlaşmanın bundan sonraki dönemlerinde ise tüm gruplarda $<10^3$ kob/g olarak ortaya çıktı. Şu ana kadar *Brucella* grubu mikroorganizmalara karşı potasyum sorbat dahil herhangi bir antimikrobiyalin etkisinin incelendiği bir araştırma, bununla ilgili bir veri ve bilgiye rastlanmamıştır. Fakat sorbatlarla bazı gıda patojenlerinin etkileşiminin incelendiği birkaç araştırma mevcuttur. Bunlardan birinde Kasrazadeh ve Genigeorgis (90), %0.3 oranında potasyum sorbat içeren ve pH'ı 6 olan peynir grubunda *Salmonella* türlerinin gelişiminin önemli ölçüde engellendiği bildirilmiştir. Abdalla (1), %4 tuzlu pastörize süttten yapılan ve 4 °C de 60 gün boyunca muhafaza edilen beyaz salamura peynirlerde ortam pH'sının 5.5'in üzerinde olduğu şartlarda *L. monocytogenes* ve *S. typhimurium*'un potasyum sorbat tarafından yıkımlanamadığını tespit etmiştir. Yine Piccinin ve Shelef (140), sorbat içeren süzme peynirlere deneysel olarak *L. monocytogenes* katıp 5 °C de 24 gün boyunca incelemişlerdir. Sorbatın etken sayısında düşürlere yol açmakla beraber bu süre sonunda antilisterial bir etki ortaya koymadığı saptanmıştır. Sims ve ark. (163), 500-530 mg/kg düzeyinde sorbik asit ihtiva eden peynirlerde, olgunlaşma süresince *S. typhimurium* miktarında bir değişme meydana

gelmediğini, dolayısıyla bu dozdaki sorbik asitin *S. typhimurium* üzerinde bakteriostatik bir etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu ve buna benzer çalışmalarda sorbatların patojenler üzerine etkimesinin mikroorganizmanın türüne ve ortam şartlarındaki farklılıklara bağlı olarak değiştiği görülmektedir. *Brucella* etkenlerinin herhangi bir antimikrobiyal madde içermeyen peynir türlerinde yaşam süreçlerinin incelendiği araştırmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Öztürk ve Nazlı (132), *Brucella melitensis* ilave ettikleri koyun ve inek sütleriyle gerçekleştirdikleri deneysel tulum peyniri üretiminde, başlangıçta 1.5×10^9 kob/g ve 2.0×10^9 kob/g olan etken sayısının olgunlaşmanın 30. gününde <10 kob/g'a düştüğünü tespit etmişlerdir. Sancak ve ark. (153), ise *Brucella melitensis*'le infekte olduğu tespit edilen koyun sütleriyle deneysel olarak yaptıkları otlu peynirlerini %16 tuz içeren salamura ve 4 °C lik ortamda muhafazaya aldıklarını, etkenin 40 gün kadar canlılığını devam ettirdiğini rapor etmişlerdir. Altieri ve ark (8), deneysel olarak inokule ettikleri *Brucella* etkenlerinin Mozzarella peynirlerindeki gelişimini takip etmişler ve olgunlaşma boyunca peynir örneklerinde *Brucella* türlerini izole edemediklerini bildirmişlerdir. Cosseddu ve Pisanu (41), *Brucella melitensis*'le infekte keçi sütü peynirlerinde 45. ve 50. günlerden sonra etkeni tespit edemediklerini; Erol'un (64) bildirdiğine göre Kleer'in deneysel olarak *Brucella* ile kontamine ettiği beyaz peynirlerde etkenin 8 °C de 20 hafta boyunca canlı kaldığını; Ünel ve ark (193), %10 tuzlu salamura ve 4 °C lik ortamda muhafaza ettikleri peynirlerde *Brucella melitensis*'in 8-9 hafta canlılığını muhafaza ettiğini, aynı etkenin infekte çiğ koyun sütlerinden yapılan ve %7 oranında tuz ihtiva eden salamurada olgunlaştırılan peynirlerde 46 gün, tuz oranı %17 olan salamurada olgunlaştırılanlarda ise 30 gün canlı kaldığını saptamışlardır. Bu konuyla ilgili yapılan daha birçok araştırmada (37,64,83,141,142,151), *Brucella* etkenleri ile ilgili farklı yaşam süreçleri ortaya konmuştur. Veriler arasında değişkenlikler ortaya koyan bu çalışmaların çoğunda başta peynir yapımında kullanılan sütün türü ve niteliği olmak üzere, ortamdaki başlangıç *Brucella* miktarı ve tipi, olgunlaşma süreci ve üretim teknolojilerindeki farklılıklar bu değişkenliklerin başlıca nedenleri olmuştur. Tulum peynirlerinde *Brucella melitensis*'in yaşam sürecini inceleyen Öztürk ve Nazlı'nın (132) verileri bizim bulgularımızla uyum içerisindedir. %0.20 oranında potasyum sorbat ihtiva eden E grubundaki peynir örneklerinde *Brucella* etkeninin daha kısa süre içerisinde ortamdaki yok olması, sorbatın konsantrasyonuna, bu grup peynirlerde ortaya çıkan pH ve asitlik

derecelerinin sorbatın maksimum aktivite gösterdiği değerlere yakın olması ve yine sorbatların patojenler üzerinde gösterdikleri spesifik antibakteriyel etki mekanizmalarıyla izah edilebilir. Bunun yanında bu etkenin kısa süre içerisinde yıkımlanması, toplam mezofilik aerob bakteri sayısında azalmalara neden olan faktörler, ürünlerdeki rutubet miktarı ve su aktivitesinde ortaya çıkan azalma, kurumadde miktarının daha yüksek olması, 4 °C lik muhafaza ısısı, düşük pH gibi etkenler ile olgunlaşma esnasında açığa çıkan bazı parçalanma ürünlerinin *Brucella* üzerinde etkimiş olmasına bağlanmaktadır (35,84,118,172,188,193). Sorbat içermeyen B grubu ile sorbat ihtiva eden C ve D grubu peynir örneklerinde olgunlaşmanın 30. gününden sonra *Brucella melitensis*'in tespit edilememesi, yukarıda ifade edilen nedenlerin bu grup peynirler üzerinde de aynı etkiyi göstermiş olmasıyla ilişkilendirilebilir.

Deneyisel tulum peyniri örneklerinde elde edilen kimyasal verilerde gruplar arasındaki değişimlerin mikrobiyolojik verilerde olduğu kadar büyük olmadığı ve gruplar arasında, örneklerin niteliğine göre büyük farklılıkların yaşanmadığı saptandı. Bütün tulum peyniri örneklerinde olgunlaşmanın başlangıcından sonuna kadar asitlik değerlerinin bazı dönemlerde yaşanan sabitelerin haricinde devamlı olarak yükseldiği tespit edildi (Tablo 33, Şekil 7). Potasyum sorbat ihtiva etmeyen A ve B grubunda olgunlaşmanın başlangıcında %1.47 ve %1.41 olarak tespit edilen değer 90. günde %1.77 ve %1.75 olarak saptandı. Bunun yanında sorbat ihtiva eden C, D ve E gruplarında 0. günde sırasıyla %1.42, %1.48 ve %1.52 olarak ortaya çıkan asitlik değerleri 90. günde sırasıyla %1.83, %1.83 ve %1.80 olarak şekillendi. Sorbatlı gruplarda saptanan asitlik değerlerinin bazı araştırmacıların (55,103,161) sorbatlı peynir örneklerinden elde ettiği değerlerden daha yüksek olduğu belirlendi. Sorbatlı örneklerdeki bu farklılığın diğer araştırmacıların bu değerleri farklı peynir örneklerinden elde etmiş olmasına bağlanabilir. Sorbatsız gruplarda ortaya çıkan asitlik değerlerinin de bazı araştırmacıların (19,30,44,132) elde ettiği değerlerden yüksek olduğu görüldü. Hem sorbatlı hem sorbatsız gruplardaki bu farklılık, yine üretim için kullandığımız sütün daha asidik karakterde olması ve tulum peyniri üretiminin gerçekleştirildiği ortamın ısısının normalden daha yüksek olması nedenleriyle ilişkilendirilebilir. Bununla beraber elde edilen veriler birçok araştırmacının (4,17,31,52,94,107) verileriyle de uyum göstermektedir.

Tulum peyniri örneklerinde en yüksek pH değerlerinin olgunlaşmanın 0., en düşük değerlerin ise 90. günde ortaya çıktığı tespit edildi (Tablo 37, Şekil 8). Tüm gruplarda 60. güne kadar düzenli bir düşüş eğilimi tespit edildi. A grubunda 60., C ve D grubu örneklerde ise olgunlaşmanın 90. gününde küçük miktarlarda pH yükselmeleri saptandı. 0. günde sorbat ihtiva etmeyen A ve B grubunda sırasıyla 4.94 ve 4.64 olarak tespit edilen bu değerler 90. günde sırasıyla 4.54 ve 4.43; değişik oranlarda sorbat ihtiva eden C, D ve E gruplarında ise bu değerler 0. günde sırasıyla 4.76, 4.66 ve 4.63; 90. günde ise yine sırasıyla 4.38, 4.37 ve 4.40 düzeyinde ortaya çıktı. Gerek olgunlaşmanın başlangıcında gerekse sonunda sorbatlı gruplardaki pH değerlerinin sorbatsız gruplardan daha düşük olduğu görüldü. Sorbatlı tulum peyniri örneklerindeki bu pH yüksekliği farklı peynir türlerine sorbat katarak pH seviyesini tespit eden bazı araştırmacıların (1,13,55,103) bulgularıyla uyum göstermektedir. Bu durum özellikle sorbatlı peynir örneklerinin diğer gruplara göre başlangıçta daha düşük pH değerine sahip olması, diğer araştırmacıların bulgularını farklı teknolojik işlemlere tabi tutulmuş peynir örneklerinden elde etmesi ve kullanılan sorbat miktarlarındaki farklılıklardan kaynaklanabilir. Ayrıca Tablo 20'deki değerler ve Şekil 8'deki grafiğe dikkat edilecek olunursa sorbat ihtiva etmeyen peynir örneklerindeki pH düşüşünün sorbatlı gruplardan daha hızlı olduğu görülecektir. *Brucella melitensis* suşunu ihtiva eden sorbatsız B grubu örnekleri ile sorbatlı C, D ve E grubu örneklerindeki pH değerlerinin tüm olgunlaşma süreci boyunca bu mikroorganizmayı ve sorbatı ihtiva etmeyen A grubu örneklerindeki değerlerden daha düşük olduğu saptandı. Buda bu etkenin, bulunduğu peynir örneklerinde pH'ın düşmesinde rol oynayabileceği kanısını doğrular. Genel olarak tüm gruplarda olgunlaşma sürecinde ortaya çıkan pH değerlerinin düşüklüğü birçok araştırmacının (19,30,44,132) bulgularıyla farklı düşmekle birlikte pH'ın olgunlaşma sürecinin bazı dönemlerindeki düzensizliklerle birlikte düşüş gösterdiğini bildiren bazı araştırmacıların (19,61,150,172,199) bulgularıyla uyum göstermektedir.

Olgunlaşma sürecinde ortaya çıkan tuz değerlerinin, C grubunun 45. gününde yaşanan hafif bir azalmanın haricinde tüm grup ve dönemlerde devamlı suretle arttığı ve 90. günde en yüksek seviyeye ulaştığı saptandı (Tablo 41, Şekil 9). Olgunlaşmanın 0. gününde A, B, C, D ve E gruplarında sırasıyla %5.67, %5.73, %5.88, %5.67 ve %5.61 olarak belirlenen değerler 90. günde sırasıyla %6.61, %6.64, %6.44, %6.93 ve %6.44 olarak tespit edildi. Tuz miktarında olgunlaşma boyunca görülen bu düzenli ve sürekli

artış birçok araştırmacının (17,92,132,135,191) bulgularıyla uyumlu görülmektedir. Olgunlaşma periyodunda sorbatlı ve sorbatsız gruplar arasında tuz değerleri bakımından büyük farklılıklar görülmedi. Aly (13), sorbat ihtiva eden Mozzarella peyniri üzerinde gerçekleştirdiği bir çalışmada, sorbat ilaveli peynirdeki tuz değerlerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında farklı olmadığını saptamıştır. Genel olarak ortaya çıkan bu değerlerin, bazı araştırmacıların (4,19,31,75,94,139,200) elde ettiği verilerden daha yüksek olduğu belirlendi. Buda tulum peyniri örneklerimizdeki kurumadde miktarı ile asitlik değerlerinin bu çalışmalarda elde edilen değerlerden daha yüksek olması, kullanılan çiğ süt ve teknolojik işlemlerdeki farklılık, bu peynir türlerine katılan tuz miktarlarının bir örneklik arzmemesi, araştırmacıların örnek alımını olgunlaştırmanın farklı zamanlarında gerçekleştirmiş olması ile ilişkilendirilebilir. Tuz miktarının olgunlaştırma süresi içerisinde genellikle yavaş bir şekilde yükseldiği, rutubet, pH, sıcaklık ve protein miktarlarındaki değişimlerin tuz miktarı üzerine etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (44,132,135,176).

Tulum peyniri örnekleri üzerinde gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada, sorbat ihtiva eden gruplarla sorbat ihtiva etmeyen gruplar arasında rutubet miktarları bakımından istatistiksel olarak bir farklılığın oluşmadığı gözlemlendi (Tablo 45, Şekil 10). Olgunlaşmanın 0. gününde en yüksek değer %36.60 ile E grubu, en düşük değer %31.20 ile D grubu peynir örneklerinde ortaya çıkmış olup, 90. günde ise yine aynı grup peynir örnekleri en yüksek ve en düşük rutubet değerlerini sergilediler. Olgunlaşma sürecinde rutubet miktarının tüm gruplarda devamlı olarak azaldığı saptandı. Ortaya çıkan bu tablo birçok araştırmacının (19,30,132,137,138) bulgularıyla uyumaktadır. Aynı zamanda rutubet değerlerimizin yine aynı araştırmacıların elde ettiği değerlerden daha düşük olduğu görüldü. Tulum peyniri yapım aşamasında uygulanan baskı işlemi ve peynirde oluşan asitliğin artması, peynir kitlesinin sertleşmesine ve kurumadde miktarının artmasına neden olmaktadır (30,182). Ayrıca çiğ süttten yapılan peynirlerde kurumadde miktarının pastörize sütlerden yapılanlara göre daha yüksek oranda olduğu bildirilmektedir (30). Yine tuz miktarındaki artışa bağlı olarak su aktivitesi miktarında azalma ve dolayısıyla rutubet miktarında da azalma meydana gelmektedir (72,156,192). Üretimini gerçekleştirdiğimiz deneysel tulum peyniri örneklerindeki rutubet miktarının diğer çalışmalara oranla daha düşük oranlarda saptanması, çalışmamızda elde ettiğimiz asitlik derecelerinin daha yüksek olması ve üretimde çiğ süt kullanılması ile birlikte

üretim koşulları, olgunlaştırma şartları, tuz oranı gibi faktörlerin farklılık arzemesi esasına dayanabilir. Sorbatlı peynir örnekleriyle gerçekleştirilen çalışmalarda ise rutubet miktarının artması veya azalması ile bu prezervatifin herhangi bir ilişkisinin olduğuna dair bir veriye rastlanmamıştır.

Bu araştırmada, tulum peynirlerinde *Brucella melitensis* suşunun mevcudiyeti üzerine farklı dozlardaki potasyum sorbatın etkisi incelendi. Ayrıca tulum peynirinin olgunlaşması esnasında mikrobiyolojik ve kimyasal niteliklerinde meydana gelen değişimler tespit edildi. Potasyum sorbat ihtiva eden peynir örneklerindeki *Brucella* miktarları, sorbat içermeyen örneklerle kıyaslandığında, olgunlaşma süreci içerisinde adı geçen etkenin sorbatlı örneklerde daha düşük seviyelerde kaldığı ve %0.20 oranında potasyum sorbat içeren tulum peyniri örneklerinde *Brucella melitensis*'in daha kısa süre içerisinde yıkımlandığı ortaya çıktı. İstatistiksel olarak da sorbatlı gruplarla sorbatsız gruplar arasında önemli farklılıklar olduğu saptandı. Bununla birlikte, sorbat içermeyen peynir gruplarında fekal streptokok, *Staphylococcus-Micrococcus*, koliform, maya-küf mikroorganizma sayılarının sorbat ihtiva eden örneklerden sayıca daha yüksek oranlarda bulunduğu saptandı. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak *Staphylococcus-Micrococcus*, koliform ile maya-küf mikroorganizmaları açısından önemlilik arz ettiği tespit edildi. Sonuç olarak, elde edilen veriler değerlendirildiğinde, tulum peyniri üretiminde potasyum sorbat kullanımının yararlı olduğu, olgunlaşma esnasında mikrobiyolojik kaliteyi olumlu yönde etkilediği, dolayısıyla halk sağlığı açısından daha güvenilir ürünlerin elde edilebileceği kanaatine varıldı.

7. KAYNAKLAR

1. Abdalla, O.M., Davidson, P.M. and Christen, G.L. (1993). Survival of selected pathogenic bacteria in white pickled cheese made with lactic acid bacteria or antimicrobials. *J. of Food Prot.*, 56 (11), 972-976.
2. Acedo, E., Diaz, M.E. and Leon, A.B. (1997). Incidence of *Brucella* spp. In raw milk and fresh cheese. *Alimentaria*, 35 (281), 57-60.
3. Akgül, A. (1997). *Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri "SPSS Uygulamaları"*. YÖK Matbaası, Ankara.
4. Akyüz, N. (1981). Erzincan (şavak) tulum peynirinin yapılışı ve bileşimi. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 12 (1), 85-111.
5. Alkış, N. (1982). *Gıda Mikrobiyolojisi*. Yeni İnci Matbaacılık, Ankara.
6. Alpar, S. (1987). Bruselloz (Bang Hastalığı, Malta Humması, Dalgalı Humma). *Vet. Hek. Dern. Derg.*, 57 (1), 80-83.
7. Altan, N. (1987). Brucellosis epidemiyolojisi. I. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı, Eds: Tümbay, H., Anđ, Ö. ve Karakartal, G., İzmir Bilgehan Basımevi, No. 158, İzmir.
8. Altieri, C., Mantieri, A. and Giudici, B. (1994). Microbial contents of cow's milk Mozzarella as a function of the production process. *Latte*, 19 (12), 1252-1256.
9. Alton, G.G. (1990). *Brucella melitensis*. p. 383-409. *Animal Brucellosis*, ed: Nielsen, K. and Duncan, J.R. CRC Press, Boca Raton, Boston, USA.
10. Alton, G.G., Jone, L.M., Angus, R.D. and Verger, J.M. (1980). Techniques for the Brucellosis Laboratory. INRA, 75007 Paris.
11. Alton, G.G., Jones, L.M. and Pietz, D.E. (1975). *Laboratory Techniques in Brucellosis*. Second Ed. World Health Organization Monograph Series, No:55, Geneva.
12. Altuğ, T., Boyacıoğlu, D., Kurtcan, Ü. Ve Demirağ, K. (1990). *Gıda Katkı Maddeleri Analiz Yöntemleri*. Ege Üniv. Müh. Fak. Yayınları No: 22, Bornova-İzmir.
13. Aly, M.E. (1996). Prolongation of the keeping quality of Mozzarella cheese by treatment with sorbate. *Nahrung-Food*, 40 (4), 194-200.

14. American Public Health Association. (1974). Standards Methods for the Examination of Dairy Products. 13th Ed. American Public Health Association, Newyork, USA.
15. Aran, N., Eke, D. ve Alperden, İ. (1986). Yarı sert karakterdeki Türk peynirlerinde küf florası. Ege Üniv. Müh. Fak. Derg., 4 (2), 1-10.
16. Arda, M., Akay, Ö. ve Esendal, Ö. (1989). Brusellosis'in immünolojisi. Uluslararası Brusellosis Sempozyumu, Pendik Hay. Hast. Merk. Araşt. Enst. Yay., 9, 90-97.
17. Arıcı, M. ve Şimşek, O. (1991). Kültür kullanımının tulum peynirinin duyuşal, fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. Gıda, 16 (1), 53-62.
18. Arslan A. ve Kök, F. (2000). Et Muayenesi ve Et Ürünleri Teknolojisi, Ders Teksiri. No:46, Fırat Üniv. Veteriner Fak. Fırat Üniv. Veteriner Fak. Besin Hijyeni ve Tek. A.B.D., Elazığ.
19. Ateş, G. ve Patır, B. (2001). Starter kültürlü tulum peynirinin olgunlaşması sırasında duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik niteliklerinde meydana gelen değişimler üzerine araştırmalar. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Enst. Derg., 15 (1), 45-56.
20. Atılğan, T. (1962). Brucellosis. Koyun Hastalıkları. Ege Üniv. Matbaası, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Yayınları:4, İzmir.
21. Ayaz, Y. (1986). Ankara piyasasında satılan beyaz peynirlerde Brucellosis etkenlerinin araştırılması. Etlik Vet. Mikrob. Derg., 5 (10-11-12), 109-116.
22. Aydın, N., Erdeğer, J. ve Yardımcı, H. (1989). Brusella mikroorganizmaları ile diğer mikroorganizmalar arasındaki antijenik ilişkiler. Uluslararası Brusellosis Sempozyumu, Pendik Hay. Hast. Merk. Araşt. Enst. Yay., 9, 47-54.
23. Banai, M., Mayer, I. and Cohen, A. (1990). Isolation, identification and characterization in Israel of *Brucella melitensis* biovar 1 atypical strains susceptible to dyes and penicillin, indicating the evolution of a new variant. Journal of Clinical Microbiology, 28 (5), 1057-1059.
24. Barnes, E.M. (1959). Differential and selective media for the fecal streptococci. J. Sci. Food Agric., 10, 656-662.

25. Baysal, B., Kırca, N.K. ve Baykan, M. (1989). *Brucella* antikorlarının araştırılmasında Spot, Rose-Bengal, Wright Aglutinasyon testlerinin karşılaştırılması. Selçuk Üniv. Tıp Fak. Derg., 5 (2), 80-83.
26. Beuchat, L.R. (1981). Combined effects of solutes and food preservatives on rates of inactivation of and colony formation by heated spores and vegetative cells of molds. Appl. Environ. Mic., 41, 472-477.
27. Beuchat, L.R. (1981). Effects of potassium sorbate and sodium benzoate on inactivating yeasts in broths containing NaCl and sucrose. J. Food Prot., 44, 765-769.
28. Bilgehan, H. (1986). Klinik Mikrobiyoloji. Bilgehan Basımevi, İzmir.
29. Blasco, J.M. (1992). Prevention of Brucellosis in the Mediterranean countries, Diagnosis of *Brucella melitensis* infection in small ruminants. p. 272-278. ed: Plomet, M. CIHEAM Publication No. 1, Wageningen.
30. Bostan, K. (1991). Tulum Peynirlerinde Starter Kültür Kullanılabilirliği Üzerine Bir Araştırma. Doktora tezi, Teksir, İstanbul Üniv. Veteriner Fak. Besin Hij. Ve Tek. A.B.D., İstanbul.
31. Bostan, K., Uğur, M. ve Aksu, H. (1992). Deri ve plastik bidonlar içinde satışı sunulan tulum peynirlerinin duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. Pendik Hayv. Hast. Merk. Araştırma Enst. Derg., 23 (1), 75-83.
32. Bostan, K., Uğur, M. ve Çiftçioğlu, G. (1992). Tulum peynirlerinde laktik asit bakterileri ve küf florası. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 17 (2), 111-118.
33. Boyd, R.F and Hoerly, B.G. (1991). Basic Medical Microbiology. Fourth ed., Newyork, USA.
34. British Standards Institution (1970). Methods of Microbiological Examination of Milk Products, Supplement No:1, to British Standard 4285, British Standards Institution, London.
35. Buchanen, R.E. and Gibbons, N.E. (1974). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eighth edition, p. 278-282, Baltimore, USA.
36. Carter, G.R., Chengappa, M.M. and Roberts, A.W. (1995). *Brucella*. p. 199-204. Essentials of Veterinary Microbiolgy, Williams and Wilkins, Baltimore, London.

37. Centeno, J.A., Franco, C.M., Bande, A.L., Quinto, E. and Cepeda, A. (1990). Development of *Brucella abortus* 19 in Galician soft cheese (Ulloa type) made from artificially contaminated raw milk. *Alimentaria*, 212, 105-107.
38. Centeno, J.A., Rodriguez, O.J.L. and Cepeda, A. (1994). Microbiological study of Arzua cheese (NW Spain) throughout cheesemaking and ripening. *J. of Food Safety*, 14 (3), 229-241.
39. Chia, J.K.S., Kennedy, C.A. and Pansillo, M.A. (1990). Fever hepatomegaly and pancytopenia in a 39 year-old hispanic women. *Reviews of Infectious Diseases*, 12 (4), 636-643.
40. Cogan, T.M. and Daly, C. (1987). Cheese Starter Cultures. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 1, Ed: F. Fox. Elsevier App. Sci. Pub. Lodon and Newyork.
41. Cosseddu, A.M. and Pisanu, S. (1985). Survival of *Brucella melitensis* in goats's milk cheese. *Atti della Societa Italiana delle Scienze Veterinarie*, 39 (11), 624-626.
42. Cruichshank, R., Duguid, J.P., Marmion, B.P. and Swain R.A.H. (1973). *Brucella*. p. 350-355. *Medical Microbiology*, 12th Ed. Vol. I-II, Churchill Livingstone, London.
43. Çakmakçı, S. ve Çelik, İ. (1995). Gıda Katkı Maddeleri. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ders Notu, No: 164, Erzurum.
44. Çelik, C. (1982). Çeşitli Starter Kültürleri Kullanarak Salamura Beyaz Peynirin (Edirne Tipi) Standardizasyonu Üzerinde Araştırmalar. *Tekser*. Fırat Üniv. Vet. Fak. Besin Hij. Ve Tek. A.B.D., Elazığ.
45. Çetin, E.T., Çoral, B., Bilgiç, A., Bilgehan, H., Sipahioğlu, Ü., Gürel, M., Kılıçturgay, K., Arıkan, E., Özenci, H., Babacan, M., Mutlu, G., Yılmaz, S., Sarısayın, F. ve Eroğlu, M. (1990). Türkiye'de insanda Bruselloz insidensinin saptanması. *Doğa-Tr. J. of Medical Sciences*, 14, 324-334.
46. Çetinkaya, B., Öngör, H., Muz, H., Ertaş, H.B., Kalender, H. and Erdogan, H.M. (1999). Detection of *Brucella* species DNA in the stomach content of aborted sheep fetuses by PCR. *The Veterinary Record*, 44, 239-240.

47. Çoker, A. (1992). Türkiye’de İzole Edilen *Brucella* Suşlarının Bazı *Brucella* Fajları ile Tiplendirilmesi, Doktora tezi, İstanbul Üniv. Veteriner Fak, Besin Hijyeni ve Tek. A.B.D., İstanbul.
48. De Klerk, E. and Anderson, R. (1985). Comparative Evaluation of the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in the Laboratory Diagnosis of Brucellosis. J. Clin. Microbiol., 21, 381-386.
49. Demirci, M. (1988). Ülkemizdeki önemli peynir çeşitlerinin mineral madde düzeyi ve kalori değerleri. Gıda, 13 (1), 17-21.
50. Desrosier, N.W. (1977). The Technology of Food Preservation. Fourth Edition, The Avi Publishing Company, Inc, Westport-Connecticut, USA.
51. Devlet İstatistik Enstitüsü. (2000). Türkiye İstatistik Yıllığı, 2000. T.C. Başbakanlık, Ankara.
52. Dığrak, M., Yılmaz, Ö. ve Özçelik, S. (1994). Elazığ kapalı çarşısında satışı sunulan Erzincan tulum (şavak) peynirlerinin mikrobiyolojik ve bazı fiziksel-kimyasal özellikleri. Gıda, 19 (6), 381-387.
53. Difco (1974). Difco Manual of Dehydrated Cultur Media and Reagents for Microbiological and Chemical Laboratory Procedures. 9th. Ed. Difco Laboratories Inc., Detroit and Michigan, USA.
54. Dinçer, B. (1997). Veteriner Hekimliğinde Halk Sağlığı, Ders Notları. Ankara Üniv. Veteriner Fak. Besin Hij. Ve Tek. A.B.D., Ankara.
55. Doğruer, Y., Gürbüz, Ü. ve Nizamlıoğlu, M. (1996). Potasyum sorbatın beyaz peynirin kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesine etkisi. Vet. Bil. Derg., 12 (1), 109-116.
56. Durmaz, R. (1990). Malatya’daki kasaplarda inapran Brucelloz sıklığı. İnfeksiyon Derg, 4 (2), 231-234.
57. Dziezek, J.D. (1986). Antimicrobial agents. Food Technology, 40 (9), 104-111.
58. Elliot, P.H. and Gray, R.J.H. (1981). *Salmonella* sensitivitiy in a sorbate-modified atmoosphere combination system. J. Food Prot., 44, 903-908.
59. Elliot, P.H., Tomlins, R.I. and Gray, R.J.H. (1982). Inhibition and inactivation of *Staph. aureus* in a sorbate-modified atmoosphere combination system. J. Food Prot., 45, 1112-1116.

60. El-Zayat, A.T. (1988). Toxic bacteria in soft cheese. Egyptian J. of Food Sci., 16 (1/2), 127-134.
61. Ergüllü, E. (1980). Beyaz Peynirin Olgunlaşması Sırasında Mikrofloranın Özellikle Gaz Yapan Bakterilerin Değişimi Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak., Süt Tek. Kürsüsü, Teksir, İzmir.
62. Ergüllü, E. (1983). Koliform grubu bakteriler ve peynir teknolojisindeki zararlı etkileri. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 20 (2), 93-99.
63. Eroğlu, M. (1989). Türkiye'deki *Brucella* tipleri. Uluslararası Brusellosis Sempozyumu, Pendik Hay. Hast. Merk. Araşt. Enst. Yay., 9, 8-12.
64. Erol, İ. (1997). Gıda kaynaklı *Brucella* infeksiyonlarının halk sağlığı yönünden önemi. Üretim, 3-4, 33-37.
65. Eyles, M. (1992). Raw milk cheese: the issues. Australian Journal of Dairy Technology, 47 (2), 102-105.
66. Farrell, I.D. (1974). The development of a new selective medium for the isolation of *Brucella abortus* from contaminated sources. Res. Vet. Science, 16, 280-286.
67. Fazlı, A. Bruselloz'da diagnoz. p.73-77. XXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kayseri.
68. Fazlı, Ş.A., Özbal, Y., Dalkılıç, E., Kılıç, H. ve Sümer, İ. (1989). Kayseri ve yöresinde son beş yılda brucellos kuşkusu ile incelenen hastalıkların serolojik bulguları. İnfeksiyon Derg., 3 (2), 157-160.
69. Felek, S. (1992). Bruselloz'un Elisa ile Tanısı ve Diğer Serolojik Yöntemlerle Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Fırat Üniv. Tıp Fak., Elazığ.
70. Freese, E., Sheu, C.W. and Galliers, E. (1973). Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. Nature, 241, 321-325.
71. Garın-Bastuji, B. (1992). Reliability of serological tests in the diagnosis and control of Brucellosis with regard to species and herd prevalence. Review of current research. p. 1-31. Expert Consultation on Strategie in Diagnosis and Control of Brucellosis in Asia, 5-9 October, Beijing.
72. Gökovalı, T. (1980). Salamuralı Tulum Peynirlerinin Olgunlaşması Sırasında Meydana Gelen Mikrobiyolojik Değişiklikler Üzerinde Araştırma. İhtisas Tezi, Teksir, Bornova-İzmir.

73. Göktaş, P. (1990). Erzincan bölgesinde Brucellos bulgularında artış. *İnfeksiyon Derg.*, 4 (3), 475-482.
74. Göktaş, P., Sümer, S., Oktay, E. ve Göktaş, S. (1991). Brucelloz tanısında iki testin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyolojisi Cem. Derg.*, 21 (2), 199-203.
75. Gönç, S. (1974). Divle tulum peynirinin teknolojisi ve bileşimi üzerine araştırmalar. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 12 (3), 515-533.
76. Güneş, T. ve Albayrak, M. (1991). AT karşısında Türkiye peynirlerinin pazarlanmasında ambalajlama hizmetleri. II. Milli Süt Ürünleri Sempozyumu. *Trakya Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 125*, 212-237.
77. Günhan, C., Ertem, E., Şerifian, E., Karakartal, G., Yüce, K., Serter, D. Ve Buke, M. (1990). İzmir-Bornova Kayadibi köyünde Brucelloz olguları. 4 (37), 483-486.
78. Günhan, C., Karakartal, G., Buke, M., Serter, D., Yüce, K., Tanyalçın, O. ve Ertem, E. (1988). Sığır yetitiriciliğinde Brucelloz sıklığı. *İnfeksiyon Derg.*, 2 (2), 483-486.
79. Güven, M. ve Kanar, A. (1994). İnek sütlerinden üretilen ve farklı ambalajlarda olgunlaştırılan tulum peynirlerinin mikrobiyolojik özellikleri. *Gıda*, 19 (3), 179-185.
80. Hadad, J.J., Hammed, D.A. and Alaboudi, A.R. (1997). Isolation of *Brucella* strains from dairy products in Ninevah Province, Iraq. *Iraqi J. of Veterinary Sci.*, 10 (1), 39-44.
81. Harrigan, W.F. and McCance, M.E. (1976). *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. Revised ed. Academic Press, London.
82. Haspolat, K., Donma, M., Uslu, T. ve Hasoğlu, S. (1990). Dicle Üniv. Tıp Fakültesi Çocuk Kliniği'nde Brucelloz'lu olguların değerlendirilmesi. *Dicle Üniv. Tıp Fak. Derg.*, 17 (1-2), 21-24.
83. Ingram, M., Bray, D.F., Clark, D.S., Dolman, C.E., Elliot, R.P. and Thachers, F.S. (1982). *Microorganism on foods 2*. University of Press, reprinted, Toronto, Canada.
84. İnal, T. (1990). *Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi*. Final Ofset A.Ş., İstanbul.

85. İnci, R. (1990). Brucelloz için yeni bir risk grubu, Köy posta dağıtıcılarında Brucelloz. *İnfeksiyon Derg.* 4 (3), 499-502.
86. İnci, R. (1990). Göçerler ve Brucelloz. *İnfeksiyon Derg.* 4 (3), 493-497.
87. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Brooks, G.F., Butel, J.S., Qrnstone, L.N. (1989). *Medical Microbiology*, Eighteenth edition, Newyork, USA.
88. Karakuş, M. (1990). Fermente süt ürünleri üretiminde önemli mikroorganizmalar ve starter kültürler. *Gıda Sanayii Derg.*, 3 (6), 47-53.
89. Karakuzu, M. ve Yüce, K. (1989). Koleztazla seyreden bir Brucelloz olgusu. *İnfeksiyon Derg.*, 3 (2), 161-164.
90. Kasrazadeh, M. and Genigeorgis, C. (1994). Potential growth and control of *Salmonella* in Hispanic thpe soft cheese. *Int. J. of Food Mic.*, 22 (2/3), 127-140.
91. Kavaklı, K., Özkınay, C., Çetingül, N. ve Bilgiç, A. (1990). Çocukluk çağı *Brucella* artritleri. *İnfeksiyon Derg.*, 4 (1), 39-42.
92. Kaymaz, Ş. (1979). İnek Sütü ile Yapılan Starterli ve Startersiz Salamura Beyaz Peynirlerin Olgunlaşma Süreleri Sırasında Bazı Serbest Amino asitlerin (Arginine, Isoleucine, Leucine, Methionine, Phenylalanine, Tryptophan) Miktarları Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Hayvan Yetiştiriciliği ve Sağlık Bilimleri Uzmanlık Yüksek Okulu, Besin Kontrolü ve Tek. Bilim Dalı, Teksir, Ankara.
93. Keleş, A. ve Atasever, M. (1996). Dvle tulum peynirlerinin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal kalite nitelikleri. *Süt Teknolojisi*, 1 (1), 47-53.
94. Kılıç, S. ve Gönç, S. (1990). İzmir tulum peynirinin mikrobiyolojik özellikleri üzerinde araştırmalar (II). *Ege Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 27 (3), 169-185.
95. Kılıç, S. ve Gönç, S. (1990). İzmir tulum peynirlerinin kimi özellikleri üzerinde araştırmalar (I). *Ege Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 27 (3), 155-167.
96. Kılıçturgay, K. (1990). Brucellosis'in kliniği. p.69-72. XXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kayseri.
97. Kıvanç, M. (1989). Gıda koruyucusu olarak sorbik asit ve tuzları: I. Genel özellikleri. *Gıda*, 14 (5), 315-320.
98. Kıvanç, M. (1991). Gıda koruyucusu olarak sorbik asit ve tuzları: III. Genel özellikleri. *Gıda*, 16 (1), 39-45.

99. Kocabeyoğlu, Ö., Koşan, E., Öztürkeri, H., Emekdaş, G., Yılmaz, M. ve Durgun, E.T. (1994). Bruselloz tanısında çeşitli testlerin birlikte uygulanması ve sonuçların karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cem. Derg.*, 24, 30-33.
100. Koç, A., Yücesoy, M., Başar, E., Gönen, Ö. ve Erdoğan, Y. (1989). Kayseri bölgesinde Brucellozlu 38 hastanın değerlendirilmesi. *İnfeksiyon Derg.*, 15 (3-4), 501-508.
101. Kosikowski, F. (1977). *Cheese and Fermented Milks*. 2nd ed. Edwards Brothers Inc. Ann Arbor and Michigan.
102. Krieg, N.R. and Holt, G.H. (1984). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 1, Section 4. Gram-Negative Aerobic Rods and Cocci. Baltimore, U.S.A.
103. Kurt, A. ve Özdemir, S. (1995). Farklı dozlarda hidrojen peroksit (H₂O₂) ve potasyum sorbat katılarak muhafaza edilmiş koyun sütlerinden yapılan beyaz peynirlerin randımanı ve bileşimi. *Tr. J. of Vet. And Animal Sci.*, 19, 51-57.
104. Kurt, A. ve Öztekin, L. (1984). Şavak tulum peynirinin yapım tekniği üzerine araştırmalar. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 15 (3-4), 65-77.
105. Kurt, A., Akyüz, N., Çağlar, A. ve Gülümser, S. (1989). Erzincan tulum (şavak) peynirinin mikrobiyolojik özellikleri. *Kükem Derg.*, 12 (2), 18.
106. Kurt, A., Çağlar, A., Çakmakçı, S. ve Akyüz, N. (1991). Erzincan tulum (şavak) peynirinin mikrobiyolojik özellikleri. *Doğa*, 16, 41-50.
107. Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar, A. (1991). Erzincan tulum (şavak) peynirinin yapılışı, duyuşal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinde bir araştırma. *Gıda*, 16 (5), 295-302.
108. Law, B.A. (1984). Development in Cheese. In *Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*. Ed: Davies, F.L. and Law, B.A. Elsevier App. Sci. Pub., London and Newyork.
109. Liewen, M.B. and Marth, E.H. (1985). Growth and inhibition of microorganisms in the presence of sorbic acid: A review. *Journal of Food Protection*, 48 (4), 364-375.
110. Liewen, M.B. and Marth, E.H. (1985). Production of mycotoxins by sorbate-resistant molds. *J. of Food Prot.*, 48, 156-157.

111. Lück, E. (1980). Antimicrobial Food Additives. Springer-Verlag, p. 183-189, Newyork, USA.
112. Macmillan, A.F. (1989). Recent developments in the serological diagnosis of bovine Brucellosis. International Symposium on Brucellosis. Pendik Animal Disease Central Research Institute. Publishing No:9, İstanbul, 112-115.
113. Macmillan, A.F. (1989). Sığırlarda Brusellosis'in serolojik teşhisinde son gelişmeler. Uluslararası Brusellosis Sempozyumu, Pendik Hay. Hast. Merk. Araşt. Enst. Yay., 9, 108.-111.
114. Magdoub, M.N.T., Shehata, A.E. and Fayed, E.O. (1988). Effect of adding some gasformers inhibiting salts to cheese milk on the chemical properties and bacteriological quality of Domiati cheese. Egyptian J. of Mic., 23 (2), 287-299.
115. Marin, C.M., Jimenez de Bagües, M.P., Barberan, J.M. and Blasco, J.M. (1996). Comparison of two selective media for the isolation of *Brucella melitensis* from naturally infected sheep and goats. The Veterinary Record, 138, 409-411.
116. Marriot, N.G., Lechowich, R.V. and Pierson, M.D. (1981). Use of nitrite and nitrite-sparing agents in meats: A review. J. Food Prot., 44, 881-885.
117. Merck. (1998). Gıda Mikrobiyolojisi ' 98. Armoni Matbaacılık Ltd. Şti., Kızılay-Ankara.
118. Metin, M. (1977). Süt ve mamullerinde kalite kontrolü. Ankara Ticaret Borsası Yayınları, No:1, Baylan matbaası, Ankara.
119. Mahajan, N.K. and Kulshrestha, R.C. (1991). Comparison of Serological Tests for *Brucella melitensis* infection in sheep. Trop. Anim. Hlth. Prod., 23, 11-16.
120. Mikolich, D.J. and Boyce, J.M. (1990). *Brucella* Species, p. 1735-1739. Eds: Mandell, G.L., Dougloas, R.G. and Bonnett, J.E. Principles and Practice of Infectious Diseases, 3rd ed. Churchill Living Stone Inc., Newyork, USA.
121. Minor, T.E. and Marth, E.H. (1972). Staph. *aureus* and Staphylococcal food intoxications. J. Milk Food Technol., 30, 77-78.
122. Morad, M.M., Branen, A.L. and Brekke, C.J. (1982). Antimicrobial activity of buthylated hydroxyanisole and potassium sorbate against natural microflora in raw turkey meat and *Salmonella typhimurium* in cooked turkey meat. J. Food Prot., 45, 1038-1040.

123. Nelson, K.A, Busta, F.F., Sofos, J.N. and Wagner, M.K. (1983). Effect of polyphosphates in combination with nitrite-sorbate or sorbate on *Cl. botulinum* growth and toxin production. *J. Food Prot.*, 46, 846-850.
124. Nicoletti, P. (1988). Bovine Brucellosis. International Symposium on Brucellosis. Eds: Demirözü, K. ve Mete, K. Istanbul Publication of Pendik Research and Control Institute of Animal Diseases. 5-7.
125. Nicoletti, P. and Muraschi, T.F. (1966). Bacteriologic evaluation of serologic test Procedures for the diagnosis of Brucellosis in problem cattle herds. *Am. J. Vet. Res.*, 27, (118), 689-694.
126. Nielsen, P.V., Beuchat, L.R. and Frisvad, J.C. (1989). Growth and fumitremorgin production by *Neosartorya fischeri* as affected by food preservatives and organic acids. *J. of Applied Bacteriology.*, 66 (3), 197-207.
127. Nunez, M., Medina, M. and Gaya P. (1989). Ewes' milk cheese: technology, microbiology and chemistry. Review article. *Journal of Dairy Research*, 56, 303-321.
128. Olds, R.J. (1989). Orta Doğu Ülkelerinde Brusellosis ve kontrolü. Uluslararası Brusellosis Sempozyumu, Pendik Hay. Hast. Merk. Araşt. Enst. Yay., 9, 28-35.
129. Ölez, N. ve Güler, Ç. (1981). Halk sağlığı sorunu olarak Brusella. *Vet. Hek. Dern. Derg.*, 51 (1-2), 20-29.
130. Öngör, H. (1999). Elazığ Yöresinde Atık Yapmış Koyunlarda Brucellosis'in Kan Serumunda ELISA ile Teşhisi ve Diğer Serolojik Testlerle Karşılaştırılması Araştırması. Doktora tezi, teksir, Fırat Üniv. Veteriner Fak. Mikrobiyoloji A.B.D., Elazığ.
131. Özsan, K. (1990). Brucellosis'in tarihçe ve etiyolojisi. p.57-67. XXIV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kayseri.
132. Öztürk, G.Y. ve Nazlı, B. (1996). Deneysel olarak infekte edilen sütle yapılan tulum peynirlerinde *Brucella melitensis*'in mevcudiyeti üzerine araştırmalar. *Pendik Vet. Mik. Derg.*, 27 (2), 123-142.
133. Pala, M. (1993). Gıda Sanayinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları. Tübitak-Marmara Araştırma Merkezi, Yayın no: 124, Gebze, Kocaeli.
134. Park, H.S. and Marth, E.H. (1972). Inactivation of *Salmonella tyhphimurium* by sorbic acid. *J. Milk Food Tech.*, 35, 532-539.

135. Patır, B. (1987). Şavak Salamura Beyaz Peynirlerinin Olgunlaşması Sırasında Enterotoksijenik Koagulaz Pozitif *Staphylococcus aureus*'un Yaşam Süreleri ile Mikrobiyolojik ve Kimyasal Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler. Doktora tezi, Teksir, Elazığ.
136. Patır, B. ve Dinçoğlu, A.H. (2001). Elazığ'da tüketime sunulan taze beyaz peynirler ile tulum peynirlerinde *Brucella spp.*'nin varlığı üzerine araştırmalar. Fırat Üniv. Sağlık Bilimleri Derg., 15 (1), 15-22.
137. Patır, B. ve Güven, A.M. (1995). Şavak Salamura Beyaz Peynirinin Olgunlaşması Sırasında *Listeria monocytogenes*'in Yaşam Süreleri Üzerine Araştırmalar. Proje no: VHAG-1024, Elazığ.
138. Patır, B., Ateş, G. ve Dinçoğlu, A. (2001). Geleneksel yöntemle üretilen tulum peynirinin olgunlaşması sırasında meydana gelen mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler üzerine araştırmalar. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg., 15 (1), 1-8.
139. Patır, B., Ateş, G. ve Dinçoğlu, A.H. ve Kök, F. (2000). Elazığ'da tüketime sunulan tulum peynirinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi ile laktik asit bakterileri üzerine araştırmalar. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg., 14 (1), 75-83.
140. Piccinin, D.M. and Shelef, A. (1995). Survival of *Listeria monocytogenes* in cottage cheese. J. of Food Prot., 58 (2), 128-131.
141. Plommet, M., Fensterbank, R., Vassal, L., Auclair, J., Mocquot, G. and Musset, D. (1988). Survival of *Brucella abortus* in ripened soft cheese made from naturally infected cow's milk. Lait, 68 (2), 115-120.
142. Rammel, C.G.J. (1967). *Brucella* in Dairy Products. A review. Aust. J. Dairy Tech., 22, 40-43.
143. Ribeiro, L.M.M., Herr, S., Chaparro, F. and Van Der Vyver, F.H. (1990). The isolation and serology of *Brucella melitensis* in a flock of goats in central RSA. Onderstepoort J. Vet. Res., 57, 143-145.
144. Robach, M.C. and Sofos, J.N. (1982). Use of sorbates in meat products, fresh poultry and poultry products: A review¹. Journal of Food Protection, 45 (4), 374-383.
145. Robach, M.C. and Stateler, C.L. (1980). Inhibiton of *Staph. aureus* by potassium sorbate in combination with sodium chloride, tertiary butylhydroquinone,

- butylated hydroxyanisole or ethylenediamine tetraacetic acid. J. Food Prot., 43, 208-211.
146. Roux, J. (1988). Public health importance of Brucellosis. International Symposium on Brucellosis. Eds: Demirözü, K. ve Mete, K. İstanbul Publication of Pendik Research and Control Institute of Animal Diseases. 84-89.
147. Sabbaghian, H. and Nadim, A. Epidemiology of human Brucellosis in Isfahan, Iran. J. of Hygiene, 73 (2), 221-228.
148. Sağlam, Ö.F. (1999). Türk Gıda Mevzuatı. AB Ofset, Ankara.
149. Saldamlı, İ. (1985). Gıda Katkı Maddeleri ve İngrediyenler. Hacettepe Üniv. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl., Ankara.
150. Saleem, R.A., Abd El-Salam, M.H., Nagmouh, M.R. and Abd El-Salam, M.M. (1978). Effect of concentration of brine and calcium chlorid added. Egyptian J. Dairy Sci., 6, 207-220.
151. Salem, A.A., Nour, M.A., Shawkat, M.E. and Fayed, A.A. (1979). Viability of *Brucella abortus* in white cheese. Veterinary Med. J., 25, 215-220.
152. Salmanoğlu, M.R. (1989). Brucellosis. Vet. Hek. Dern. Derg., 59 (1-2), 75-82.
153. Sancak, C.Y., Boynukara, B. ve Yardımcı, H. (1993). Van otlı peynirlerinde *Brucella*'ların varlığı ve dayanma süresi üzerine bir araştırma. Veterinarium, 4 (1), 1-3.
154. Sarısayın, F. ve Eroğlu, M. (1978). Marmara ve Trakya bölgelerinde üretilen tereyağı, krema (kaymak), ile bunlardan yapılan pasta ve dondurmanın insanlardaki *Brucella* infeksiyonu yönünden rolü. Pendik Vet. Bak. ve Seroloji Enst. Derg., 10 (1), 22-29.
155. Sarno, A, İzzi, R., Sandulli, S. and Santagata, N. (1992). Isolation of *Brucella melitensis* from fresh ewe's milk cheese. Aetiology and epidemiology. Industrie Alimentari, 31 (302), 211-213.
156. Scott, R. (1986). Cheese Making Practice. 2nd edition. Elsevier App. Sci. Pub. London and Newyork.
157. Serdaroğlu, M., Tömek, S.O. and Bulgay, A. (1992). The effect of using sorbic cid on the shelf life of chilled turkey meat. 38th ICoMST, Clermont-Ferrand, France.

158. Sert, S. ve Kıvanç, M. (1984). Erzurum piyasasında tüketime sunulan beyaz peynirlerin hijyenik kaliteleri üzerine bir araştırma. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg., 15 (3-4), 78-89.
159. Sert, S. ve Kıvanç, M. (1985). Taze civil ve lor peynirleri üzerinde mikrobiyolojik çalışmalar. Gıda, 10 (5), 287-291.
160. Seward, R.A., Deibel, R.H. and Lindsay, R.C. (1982). Effect of potassium sorbate and other antibotulinal agents on germination and outgrowth *Cl. botulinum* type E spores in microcultures. Appl. Environ. Mic., 44, 1212-1221.
161. Shehata, A.E., Magdoub, M.N.T. and Fayed, E.O. (1987). Chemical characteristics and bacteriological quality of Domiati cheese containing gasformers inhibiting salts. Egyptian J. of Mic., 22 (2), 303-316.
162. Simos, E. and Papadopoulos, G. (1989). Akdeniz ve Arap yarımadası ülkelerinde Brusellosis'in halihazır durumu. Uluslararası Brusellosis Sempozyumu, Pendik Hay. Hast. Merk. Araşt. Enst. Yay., 9, 65-67.
163. Sims, G.R., Glenister, D.A., Brocklehurst, T.F. and Lund, B.M. (1989). Survival and growth of food poisoning bacteria following into Cottage cheese varieties. Int. J. of Food Mic., 9 (3), 173-195.
164. Sofos, J.N. and Busta, F.F. (1980). Alternatives to the use of nitrite as an antibotulinal agent. Food Tech., 34, 244-251.
165. Sofos, J.N. and Busta, F.F. (1981). Antimicrobial activity of sorbate. Journal of Food Protection, 44 (8), 614-622.
166. Sözen, T.M. (1984). Brusellosis tanı ve tedavi prensipleri. Türkiye Klinikleri, 4 (3), 227-230.
167. Stiles, M.E. (1977). Reability of selective media for recovery Staphylococci from cheese. J. Food Protec., 40, 11-16.
168. Sümbüloğlu, K. ve Sümbüloğlu, V. (1989). Biyoistatistik. 2. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara.
169. T.C. Resmi Gazete (1990). Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, 7 haziran 1990. Sayı: 205141, Başbakanlık Basımevi, Ankara.
170. Tarım ve Köylüleri Bakanlığı. (1998). I. Hayvancılık Kongresi Sonuç Raporu. 4-5 Kasım 1998, Ankara.

171. Tekinşen, O.C. (1976). Suyun Bakteriyolojik Muayenesi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları: 324, Ankara.
172. Tekinşen, O.C. (1978). Kaşar peynirinin olgunlaşması sırasında mikrofloranın özellikle laktik asit bakterilerinin lezzete etkisi ve İç Anadolu Bölgesi'nde üretilen kaşar peynirinin kalitesi üzerine incelemeler. TÜBİTAK proje no: VHAG-354, Teksir, Ankara.
173. Tekinşen, O.C. (1983). Beyaz peynir yapım metodları üzerine karşılaştırılmalı incelemeler. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 30 (3), 449-466.
174. Tekinşen, O.C. (1996). Süt Ürünleri Teknolojisi. Selçuk Üniv. Basımevi, Konya.
175. Tekinşen, O.C. (2000). Süt Ürünleri Teknolojisi. 3.baskı, Selçuk Üniv. Basımevi, Konya.
176. Tekinşen, O.C. ve Çelik, C. (1979). Şavak peynirinde Staphylococcus'lar ve Micrococcus'lar. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 26 (3-4), 47-63.
177. Tekinşen, O.C., Atasever, M. ve Keleş, A. (1997). Süt Ürünleri Üretim Kontrol. Selçuk Üniv. Vet. Fak., Konya.
178. Teuber, M. and Geis, A. (1981). The Streptococcaceae. In the Prokaryotes, A Handbook on Habitats Isolation and Identification of Bacteria. Vol. 2. Ed: Starr, M.P., Balows, A., Stolp, H., Schlegel, H.G., Trüper, H.G. Springer Verlag, Berlin.
179. Thoen, C.O. and Enright, F. (1988). *Brucella*, Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. p. 160-171. eds: Gyles, C.L. and Thoen, C.O., Iowa State University Press, Ames.
180. Tolgay, Z. ve Tetik, İ. Muhtasar Gıda Kontrolü ve Analizleri Klavuzu. Ege Matbaası, Ankara.
181. Topçu, A.W., Söyletir, G. ve Doğanay, M. (1996). Bruselloz, Hematopoetik ve Lenforetiküler Sistem Hastalıkları. p. 486-491. Enfeksiyon Hastalıkları, Nobel Tıp Kitabevleri.
182. Töral, A.R. (1969). Elazığ Peynirlerinde Kimyevi Araştırmalar. Güven matbaası, Ankara.
183. Töre, O. (1987). Bruselloz tanısına ilişkin sorunlar. I. Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kitabı. Ed: Tümbay, E., Anğ, Ö. ve Karakartal, G., İzmir Bilgehan Basımevi, No. 183, İzmir.

184. Tsai, W.Y.J., Liewen, M.B. and Bullerman, L.B. (1988). Toxicity and sorbate sensitivity of molds isolated from surplus commodity cheeses. *J. of Food Prot.*, 51 (6), 457-462.
185. Tunçbilek, M. (1992). Ankara Piyasasında Satılan Taze Peynirlerin Brucellosis Riski Yönünden İncelenmesi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Ens., Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
186. Türk Standardları Enstitüsü. (1978). Tulum Peyniri. TS.3001, TSE, Ankara.
187. Türk Standardları Enstitüsü. (1981). Çiğ Süt. TS. 1018, TSE, Ankara.
188. Unat, E.K. (1982). Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi. Dergah Tıp Yayınları. No:2, İstanbul.
189. USDA, APHIS, NVLS. (1985). Laboratory Procedures for Isolating Identifying and Typing *Brucella*. IA 50010, Ames.
190. Usluer, G., Çolak, H., Yıldırım, N., Koçoğlu, T., Özgüneş, İ. ve Başbüyük, N. (1991). Lokalize Brucelloz; Bir olgu nedeniyle. *İnfeksiyon Derg.*, 5 (1), 75-77.
191. Üçüncü, M. (1971). Çeşitli Starterlerle İşlenen Beyaz Peynirlerin Nitelikleri Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniv. Ziraat Fak., Doktora Tezi, Teksir, Ankara.
192. Üçüncü, M. (1987). Peynir teknolojisinde tuz ve tuzlama işlemleri. *Gıda Sanayi*, 3, 32-41.
193. Ünel, S., Williams, C.F. and Stableforth, A.W. (1968). Balıkesir bölgesinde süt, krema ile imalathane ve köylü beyaz peynirlerinde *Brucella melitensis*'in kalma süresi. *Pendik Mikrobiyoloji Enst. Derg.*, 2 (1), 67-72.
194. Villani, F., Coppola, R., Capilongo, V., Salzano, G. and Sorrantino, E. (1991). Microbiological aspects of unripened Mozzarella cheese made in Molise. *Annali di Microbiologia ed Enzimologia*, 41 (2), 243-253.
195. Wallach, J.C., Samartino, L.E., Adriana, E. and Baldi, P.C. (1998). Human infection by *Brucella melitensis*: an outbreak attributed to contact with infected goats. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 19, 315-321.
196. WHO. (1992). Report of MZCP consultation on the epidemiology and surveillance of Brucellosis involving human health care. 19-22 October, Heraklion, Greece.

197. WHO. (1998). Report of the MZCP/Workshop on Zoonoses Surveillance and Control in the Mediterranean Region. 30-31 March 1988, Cephalonia Island, Greece.
198. WHO. (1998). The MZCP Report on the Third Workshop on Human and Brucellosis Epidemiological Surveillance in the MZCP Countries. 4-5 May 1998, Damascus, Syrian Arab Republic.
199. Yanai, Y., Rosen, B. and Pinsky, A. (1977). The microbiology of pickled cheese during manufacture and maturation. J. Dairy Res., 44, 149-153.
200. Yaygın, H. (1971). Salamuralı tulum peynirinin yapılışı ve özellikleri üzerinde araştırmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 8 (1), 91-124.
201. Yaygın, H. ve Kılıç, S. (1988). Gıda ve süt endüstrisinde yararlanılan mikroorganizmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 25 (2), 363-373.
202. Yentür, G. ve Bayhan, A. (1990). Bazı gıda maddelerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının araştırılması. Gıda, 15 (2), 79-82.
203. Yentür, G. ve Bayhan, A. (1991). Gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan yapay tatlandırıcılar. Gıda, 16 (1), 47-51.
204. Yetim, H. (1996). Sorbik asit ve taze balık muhafazasında kullanım imkanları. Gıda, 21 (3), 205-213.
205. Yılmaz, M., Orak, S. ve Kılıç, S.S. (1989). Elazığ ve yöresinde Brucelloz sıklığı. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg., 3 (2), 21-24.
206. Yılmaz, S. (1989). Türkiye'de *Brucella* mücadelesi. Uluslararası Brusellosis Sempozyumu, Pendik Hay. Hast. Merk. Araşt. Enst. Yay., 9, 116-118.
207. Young, J.E. (1991). Serolojik diagnosis of human Brucellosis analysis of 214 cases by agglutination tests and review of the literature. Reviews of Infections Diseases, 13, 359-372.
208. Yousef, A.E. and Marth, E.H. (1981). Growth and synthesis of aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the presence of sorbic acid. J. of Food Prot., 44, 736-741.
209. Yousef, A.E. and Marth, E.H. (1983). Incorporation of (¹⁴C) acetate by *Aspergillus parasiticus* in presence of antifungal agents. Eur. J. Appl. Mic. Biotech., 18, 103-108.

210. Zowghi, E., Ebadi, A. and Mchseni, B. (1990). Isolation of *Brucella* organisms from the milk of serogenitif Cows. Rev. Science Tech., 9 (4), 1175-1178.



8. ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise tahsilimi Elazığ ilindeki muhtelif okullarda tamamladıktan sonra 1989 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girmeye hak kazandım. Üniversite öğrenimimi 1994 yılında tamamladım. 1995 sonbaharında aynı üniversite ve fakültenin Besin Hijyeni ve Teknolojisi A.B.D.'ında doktora yapmaya başladım. 1996 yılında Araştırma Görevliliği kadrosuna atandım. Halen aynı kadrom devam etmektedir. Evli ve bir çocuk babasıyım.

