

A.Ü. Veteriner Fakültesi Besin Kontrolu ve Teknolojisi Kürsüsü
Prof. Dr. Zeki Tolgay

İNEK SÜTÜ İLE YAPILAN SALAMURA BEYAZ PEYNİRLERDE HİJYEN İNDEKSİ BAZI MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNDE ARAŞTIRMA

Ergün Özalp* Şerif Kaymaz** Ahmet Yücel** Sadi Akgün**

Contribution à l'étude des certains microorganismes considérés comme l'indice d'hygiène dans les fromages blanc affinés en saumure fabriqués à partir du lait de vache.

Résumé: Les nombres des certains microorganismes considérés comme l'indice d'hygiène ont été déterminés dans les fromages affinés en saumure fabriqués à partir du lait cru, à partir du lait pasteurisé non ensemencé et ensemencé en ferments lactiques (*S. cremoris* 95-98 %; *S. lactis* 2-5 %) au cours de la maturation.

Le nombre des germes totaux est de 1.5×10^9 /g dans les fromages fabriqués à partir du lait pasteurisé, de 1.8×10^9 /g dans les fromages fabriqués à partir du lait pasteurisé ensemencé en ferments lactiques, de 8.8×10^9 /g dans celui du lait cru en 15 jours, atteignant respectivement 1.0×10^8 /g, 8.8×10^7 /g et 1.1×10^8 /g en 90 jours.

Pour le même ordre, le nombre des coliformes sont de 3.5×10^5 /g, 3.3×10^4 /g, 8.3×10^5 /g en 15 jours et 2.6×10^4 /g, 4.0×10^2 /g, 7.5×10^4 /g en 90 jours. Quant au nombre des staphylococcus sont respectivement 2.5×10^5 /g, 3.5×10^4 /g, 8.0×10^5 /g en 15 jours et 3.0×10^3 /g, 1.5×10^3 /g, 4.2×10^4 /g en 90 jours. Des levures et des moisissures ont été aussi comptés. Leurs nombres : 1.5×10^3 /g, 9.0×10^3 /g, 1.1×10^4 /g en 15 jours et 5.0×10^3 /g, 2.0×10^3 /g, 1.5×10^3 /g en 90 jours.

* Doç. Dr. A. Ü. Veteriner Fakültesi, Besin Kontrolu ve Teknoloji Kürsüsü
Ankara-Türkiye

** Dr. Med. Vet. A. Ü. Veteriner Fakültesi, Besin Kontrolu ve Teknoloji Kürsüsü
Ankara-Türkiye

Özet: İnek sütünden çiğ olarak, pastörize edilerek ve pastörize süte starter ilâve edilerek (*S. cremoris* % 95-98; *S. lactis* % 2-5) yapılan salamura beyaz peynirlerde, olgunlaşma süresince hijyen indeksi bazı mikroorganizmaların sayıları saptanmıştır.

Genel mikroorganizma sayıları 15 günlük pastörize süt peynirlerinde 1.5×10^9 /g, starter ilâve edilmiş pastörize süt peynirlerinde 1.8×10^9 /g, çiğ süt peynirlerinde 8.8×10^9 /g iken 90 günlük peynirlerde sırasıyla 1.0×10^8 /g, 8.8×10^7 /g ve 1.1×10^8 /g olarak bulunmuştur.

Aynı sıra dahilinde koliform bakteri sayısı 15 günlük peynirlerde 3.5×10^5 /g, 3.3×10^4 /g, 8.3×10^5 /g, 90 günlük peynirlerde 2.6×10^4 /g, 4.0×10^2 /g, 7.5×10^4 /g; stafilokok'ların sayıları 15 günlük peynirlerde 2.5×10^5 /g, 3.5×10^4 /g, 8.0×10^5 /g; 90 günlük peynirlerde 3.0×10^3 /g, 1.5×10^3 /g, 4.2×10^4 /g; maya ve küf sayıları 15 günlük peynirlerde 1.5×10^3 /g, 9.0×10^3 /g, 1.1×10^4 /g; 90 günlük peynirlerde 5.0×10^3 /g, 2.0×10^3 /g ve 1.5×10^3 /g olarak saptanmıştır.

Giriş

Az olgun peynir olarak nitelendirilen salamura beyaz peynirlerimizde (16) hijyen indeksi bazı mikroorganizma sayılarının, olgunlaşma süresince ne gibi bir değişikliğe uğradığını belirleyen bir çalışma yurdumuzda bugüne değin yapılmamıştır.

Bu araştırma ile çiğ ve pastörize sütle yapılan beyaz peynirlerde, hijyen indeksi bazı mikroorganizmaların, olgunlaşma süresince sayısal durumları ve imalatta kullanılacak starter kültürün bu açıdan ne derece etkili olabileceği saptanmaya çalışılmıştır.

Beyaz peynirlerde 15 inci günde 35 milyon/g. olan genel mikroorganizma sayısının 15-60 ncı günler arasında dalgalanma gösterdiği ve 60 ncı günden sonra azaldığı (17), pastörize süttten yapılan ve polietilen torbalarda 15-20°C'de saklanan aynı tip peynirlerde ise 7 nci günde 1.200-17.000/g. iken 21 nci günde 18.000-113.000/g. olduğu (1), Caciocavallo peynirlerinde 5 nci günde 1.39×10^9 /g. olan genel mikroorganizma sayısının 70 nci günde 4.25×10^7 /g. a düştüğü, 180 nci günde ise 4.26×10^7 /g. olduğu (9), Kareish peynirlerinde 1.54×10^6 /g. bulunduğu (2) bildirmiştir.

1946-1948 yılları arasında Ankara'da 69 peynir örneğinin % 40,6 sında, İstanbul'da 7 örneğin tümünde koliform bakteri bulunduğu (22), İran'da 42 peynir örneğinin 34 ünde *E. coli* (6×10^8 /g) tespit edildiği (19), Bulgaristan'da 109 beyaz peynir örneğinin ancak % 1

inde 10-100/g. arasında koliform bakteriye rastlandığı (15) ve 219 örneğin % 84 ünde 10/g. dan çok koliform bakteri ürediği (14), Fransa'da deneysel olarak yapılan beyaz peynirlerde koliform bakteri bulunmadığı (17), $2.00 \times 10^4 - 2.10 \times 10^6$ /ml. koliform bakteri içeren kötü kaliteli sütlerden yapılan cheddar peynirlerinde, bu mikroorganizma sayılarının $9.90 \times 10^6/g - 4.10 \times 10^8/g$ arasında değiştiği ve canlı kalma sürelerinin 12 aydan fazla sürdüğü (26), Kareish peynirlerinde $4.24 \times 10^5/g$. koliform bakteri bulunduğu (2) ileri sürülmüştür.

Peynir pH sınırın stafilocokların üreme ve canlı kalmaları üzerinde etkili olduğu, pH'nın 5.3'ten 5.1'e düşmesi ile stafilocok sayısında önemli derecede azalma olacağı, pH: 5.0'de ise çok çabuk yok olacakları (18), taze İran peynirlerinde 42 örnekten 14 ünde *S. aureus* izole edildiği (19), aynı tip peynirlerden 212 örnekten 79 unda koagülaz pozitif stafilocok ürediği (12), A.B.D.'de 20 çeşit peynirden oluşan 125 örneğin % 76 sınırın stafilocok içerdiği (20) İngiltere ve Galler ülkesinden alınan 910 örneğin % 9 unda $5.00 \times 10^5/g$. stafilocok bulunduğu (23), çiğ sütlerden yapılan Kanada Cheddar peynirinin % 36'sının $1.00 \times 10^4/g$, % 6'sının $5.00 \times 10^5/g$. stafilocok içerdiği, pastörize sütle yapılan 20 örnekten 19 unda $1.00 \times 10^2/g$, 1'inde ise $1.80 \times 10^4/g$. stafilocok bulunduğu (24) bildirilmiştir.

Deneysel olarak yapılan salamura beyaz peynirlerde, maya sayısının başlangıçta az olmasına karşın, 18 nci güne kadar bu sayının arttığı ve başlangıçta kıyasla 2-3 katına ulaştığı, daha sonra azalarak 120 nci günde 650.000/g'a düştüğü (17), taze İran peynirlerinde maya ve küf sayısının fazla olduğu (19), kareish peynirlerinde ise $7.64 \times 10^6/g$. olarak saptandığı (12) ileri sürülmüştür.

Materyal ve Metot

Deneysel materyaller:

Gıda-Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Suni-Tabii Tohumlama ve Nesil İslah Genel Müdürlüğü Lalahan Zootečni Araştırma Enstitüsü hayvanlarından sağılan inek sütlerinden, aynı müessesenin süt tesislerinde:

- Çiğ olarak,
- Pastörize edilerek
- Pastörize süte starter ilâve edilerek ve her birinden dörder kez yapılan salamura beyaz peynirler materyal olarak kullanıldı. Peynir-

ler tenekelendikten sonra $+4^{\circ} \pm 1$ C de olgunlaşmaya bırakıldı. Her seri peynir, imalatı takip eden 15, 30, 45, 60 ve 90 ncı günlerde denemeye alındı.

Metot:

Salamura beyaz peynirin yapılışı:

a) Yapımında kullanılan tüm malzeme iyice yıkandıktan sonra ya su buharından geçirildi veya kaynatıldı.

b) Süthaneye gelen 450 litre sabah sütü süzüldü. Çift cidarlı buhar kazanında 35°C ye kadar ısıtıldı. 150 litresi hemen mayalama kazanına aktarıldı.

c) Kalan 300 litre süt 63°C 'de 30' ısıtıldı ve $30-33^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutuldu.

d) Sütün mayalanması:

1- Çiğ süt ve pastörize sütün 150 litresi ayrı kazanlarda $28-30^{\circ}\text{C}$ ' de 1/10.000 kuvvetindeki peynir mayası ile 15 ml/100 lt. hesabiyle mayalanarak karıştırıldı.

2- Pastörize sütün kalan 150 litresine, 32°C 'de iken (10) % 2 oranında laktik kültür (S. cremoris % 95-98, S. lactis % 2-5) ilâve edildi (8). 30 dakika bekletildikten sonra maya ilâve edildi.

e) Pıhtının kesilmesi ve işlenmesi

Mayalanan sütlerde spatülle flokül oluşumu gözlemlendi Bu amaç için geçen zaman 4 ile çarpılarak kesim zamanı saptandı (3, 25).

Kesilen pıhtı 30 dakika bekletildi. Cendere bezine aktarıldı ve süzme işlemi 2-2,5 saatte tamamlanacak şekilde baskıya alındı. Pıhtının yüksekliği 7 cm. ye düştüğünde 7×7 cm² büyüklüğünde kalıplar halinde kesildi.

f- Tuzlama ve tenekeleme:

Peynir kalıpları % 15 lik tuz salamaurasında 12 saat bekletildikten sonra, tenekelere yerleştirildi. Her sıra arasına kuru tuz serpilerek bir gün dinlendirildi. Süzülen su döküldü. Kendi salamurası ile tenekeler dolduruldu. Lehimlendi ve $+4^{\circ} \pm 1$ C'de olgunlaşmaya bırakıldı.

Mikroorganizmaların sayılarının saptanması:

Mikroorganizma kolonilerinin sayısı, hazırlanan seyreltilerden birer ml. kullanılarak, üç seri halinde ve çift plağa ekim yapılarak, pet-

ri kutusuna dökme metodu ile saptandı. 30 ilâ 300 arasında koloni içeren plâklardaki koloniler sayılarak değerlendirildi (4, 13).

Genel mikroorganizma sayımı

Genel mikroorganizma sayımı için yeast glucose agar kullanıldı (13). Plâklar $30 \pm 1^\circ\text{C}$ de 72 ± 2 saat bekletildikten sonra koloniler sayıldı (5, 13).

Koliform grubu mikroorganizmaların sayımı :

Koliform grubu mikroorganizmalar Oxoid'in Violet red bile agarda sayıldı. Plaklar $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. Koyu kırmızı koloniler koliform grubu mikroorganizmalar olarak değerlendirildi (4, 13).

Stafilokok'ların sayımı :

Difco'nun dehidre Staphylococcus Medium 110 besiyecine (11) yumurta sarısı ilâve edilerek (6, 21) ekim yapıldı. $44 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyondan sonra açık sarı renkte koloniler sayıldı.

Maya ve Küflerin sayımı :

Potato dextrose agar (Oxoid) kullanıldı. Besiyeri kullanılmadan önce pH'sı % 10'luk steril tartarik asitiyle 3.5 ± 1.0 'e ayarlandı. Plâklar $21 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 5 gün inkübe edildi (4).

Bulgular

Genel Mikroorganizma sayıları :

Değişik üç tip beyaz peynirde olgunlaşma süresince genel mikroorganizma sayıları ortalamaları Çizelge 1'de gösterilmiştir.

ÇİZELGE 1. Olgunlaşma süresince beyaz peynirlerde Genel mikroorganizma sayıları (Ortalama/g.)

Gün	Pastörize süt peyniri	Starter ilave edilmiş pastörize süt peyniri	Çiğ süt peyniri
15	1.5×10^9	1.8×10^9	8.8×10^9
30	6.5×10^8	7.5×10^8	7.5×10^9
45	5.3×10^8	2.5×10^8	1.2×10^9
60	4.3×10^8	2.5×10^8	3.3×10^8
90	1.0×10^8	8.8×10^7	1.1×10^8

Koliform mikroorganizma sayıları :

Aynı peynirlerde, olgunlaşma süresince koliform mikroorganizma sayılarının ortalamaları Çizelge 2'de gösterilmiştir.

ÇİZELGE 2. Olgunlaşma süresince beyaz peynirlerde Koliform mikroorganizma sayıları (ortalama/g.)

Gün	Pastörize süt peyniri	Starter ilâve edilmiş pastörize süt peyniri	Çiğ süt peyniri
15	3.5×10^5	3.3×10^4	8.3×10^5
30	3.5×10^5	4.5×10^3	4.4×10^5
45	1.5×10^5	4.0×10^2	3.1×10^5
60	1.5×10^5	4.0×10^2	2.0×10^5
90	2.6×10^4	4.0×10^2	7.5×10^4

Stafilokok sayıları ;

Bu peynirlerdeki stafilocok sayılarının ortalamalarının olgunlaşma süresince gösterdiği seyir Çizelge 3'de gösterilmiştir.

ÇİZELGE 3. Olgunlaşma süresince beyaz peynirlerde stafilocok sayıları (Ortalama/g.)

Gün	Pastörize süt peyniri	Starter ilâve edilmiş pastörize süt peyniri	Çiğ süt peyniri
15	2.5×10^5	3.5×10^4	8.0×10^5
30	2.5×10^5	1.6×10^4	6.0×10^5
45	3.0×10^4	3.0×10^3	4.0×10^5
60	1.5×10^4	1.5×10^3	2.5×10^5
90	3.0×10^3	1.5×10^3	4.2×10^6

Maya ve Küflerin sayıları :

Peynirlerdeki maya-küf sayılarının olgunlaşma süresince sayıları Çizelge 4'de gösterilmiştir.

ÇİZELGE 4. Olgunlaşma süresince beyaz peynirlerde maya-küflerin sayıları (Ortalama/g.)

Gün	Pastörize süt peyniri	Starter ilâve edilmiş pastörize süt peyniri	Çiğ süt peyniri
15	1.5×10^3	9.0×10^3	1.1×10^4
30	1.0×10^4	7.5×10^3	2.0×10^4
45	3.5×10^5	3.0×10^4	3.0×10^4
60	8.5×10^2	3.7×10^2	1.0×10^3
90	5.0×10^3	2.0×10^3	1.5×10^3

Tartışma

Çiğ süttten yapılan beyaz peynirler yüksek düzeyde genel mikroorganizma içermektedir (Çizelge: 1). Ancak, pastörize süt peynirlerindeki bu sayının çiğ süt peynirlerine yakın oluşu normal imalathane koşullarında kontaminasyona engel olunamadığını göstermektedir. Starter ilâve edilmiş pastörize süt peynirlerinde, pastörize süt peynirlerine kıyasla genel mikroorganizma sayısının biraz daha fazla olması ilâve edilen startere bağlanabilir. Her üç tip peynirde de olgunlaşma sü-

resince az da olsa bir mikrop redüksiyonu görülmektedir. Ancak 90 günlük olgun peynirlerde dahi genel mikroorganizma sayısının oldukça yüksek düzeyde oluşu salamura beyaz peynirlerin yeterince olgunlaşmadığını kanıtlamaktadır (16). Bulgularımız beyaz peynirler (17) caciovala peynirleri (9) ve kareish peynirleri (2) üzerinde yapılan araştırmalarda elde edilen neticelere uymaktadır. Polietilen torbalarda muhafaza edilen beyaz peynirlerde (1) ise genel mikroorganizma sayılarının daha düşük oluşu, teknolojik farktan ileri gelebilir.

Koliform mikroorganizmalarda genel mikroorganizma sayılarında olduğu gibi en yüksek miktarda çiğ süt peynirlerinde bulunmaktadır (Çizelge: 2). Pastörize süt peynirlerinde de oldukça yüksek düzeyde bulunuşu, üretimde, pastörizasyondan sonraki safalardaki kontaminasyona bağlanabilir. Starter ilâve edilmiş pastörize süt peynirlerinin daha az miktarda koliform bakteri içermesi, starterin asit oluşturma etkisine bağlanabilir. Nitekim olgunlaşmanın 45 nci gününde starterli peynirlerde koliform bakterilerin 400/g. a düşmesi, diğerlerinde ise 150.000/g. - 300.000/g. oluşu bu görünüşü doğrulamaktadır. 90 günlük peynirlerde dahi koliform bakterilerinin bulunuşu salamura beyaz peynirlerinin yeterince olgunlaşmadığı görüşünü kanıtlamaktadır. Peynirlerde bu mikroorganizmaların bulunuşu (14, 19, 22, 26) ve Cheddar peynirinde dahi 12 aydan daha uzun süre canlı kaldığı (26), bulgularımızı doğrulamaktadır.

Stafilokoklar yönünden bulgularımız (Çizelge: 3), genel mikroorganizma ve koliform bakteri sayıları açısından ileri sürdüğümüz görüşleri doğrular niteliktedir. Bu mikroorganizmalar da beyaz peynirlerde bol miktarda bulunmakta ve 90 gün sonunda dahi belirgin bir azalma görülmektedir. Peynirlerde bol miktarda stafilokokların bulunduğu (12, 19, 20, 23, 24) görüşü bulgularımızla paralellik göstermektedir. Yine beyaz peynirlerde bu mikroorganizmaların bulunuşu, yetersiz olgunlaşma ile izah olunabilir (18).

Maya ve küf sayısı açısından da aynı durumlar dikkati çekmekte, gerek taze gerek 90 günlük peynirler çok sayıda maya ve küf içermektedir (Çizelge: 4). Beyaz peynirler (17) ve beyaz peynirler gibi yeterli olgunluk kazanamayan diğer peynirlerde de (2, 19) bu durum görülmektedir.

Sonuç olarak, inek sütü ile yapılan salamura beyaz peynirler, hijyen indeksi mikroorganizmaları oldukça yüksek düzeyde içermektedir. Bu durum özellikle, beyaz peynirlerin yeterli olgunluk düzeyine erişememesine bağlanabilir.

Literatür

1. **Abo-Elnaga, I. G.** (1974): *Bacteria associated with slimy surface defect of white cheese*, *Milchwissenschaft*, **29** (2) 84-87.
2. **Abou-Donia, S. A. -Sirry, I. -Abd-El-Rahman, S. M.** (1975): *Chemical and microbiological studies on Kareish cheese*, *Alexandre J. of Agric. Resc.*, **23** (2) 243-247.
3. **Akgün, S.** (1975): *Influence du pH du lait sur la cinétique de l'égouttage du caillé présure*, D. E. A. Université Nancy I.U.E.R. Alimentation-Nutrition.
4. **American Public Health Association** (1974): *Standard methods for the examination of dairy products* American Public Health Association, New York.
5. **British Standard** (1970): *Methods of microbiological examination of milk products* Supplement No: 1 (1970), British Standards Institution, London.
6. **Carter, C. H.** (1960): *Egg-Yolk agar for isolation of coagulase positive staphylococci*, *J. Bact.* **79**, 752.
7. **Chapman, G. H.** (1945): *The significance of sodium chloride in studies of staphylococci*, *J. Bact.*, **50**, 201-203.
8. **Chr. Hansen's Laboratoriom A/S.** (1977): *Declaration for mesophilic lactic ferment cultures*. Chr. Hansen's Lab. A/S., Copenhagen.
9. **Corberi, E.** (1959): *Contributo alle ricerche sulla microflora dei formaggi italiani, II üCaciocavallo*". *Ann. Microbiol. Milano*, **9**, 141-149.
10. **Denkov, Ts.** (1973): *Effect of biological ripening of cow's milk on, quality of white pickled cheese*, *Izv. Nauch. ova Telski Inst. po mlechna Prom.*, **7**, 47-56, "As quoted" *Dairy Sci Abstr.*, **36**, 631 (1974).
11. **Difco** (1974): *Difco manual of dehydrated cultur medie and reagents for microbiological and chemical laboratory procedures*, Ninth Edition, Difco Laboratories Incorporated, Detroit, Michigan.
12. **Ghazvinian, R. -Farkhonden, A. -Lachal, Ph. -Kochnechari, M.** (1975): *Dénombrement des germes totaux et détermination du taux de contamination en staphylocoques coagulase-positives du fromage iranien frais, non salé, mis en vente dans l'agglomération de Téhéran* *Le Lait*, **55** (541-542) 95-100.

13. **Harrigan, W. F. and Mc Cance, M. E.** (1976): *Laboratory methods in food and dairy microbiology*, Revised ed., Acedemic Prees., London.
14. **İkonomov, L.** (1975): *Coliform in perishable milk products*, Veterinar nomeditsinski Nauki, **11** (4) 47-52, "As quoted" Food Sci. Tech. Alim. **6**, 10-1506 (1974):
15. **İkonomov, L. -Iotov, I. -Todorov, D. -Slavchec, G.** (1976): *Coliform microflora of market white pickled cheese*, Veterinarnomeditsinski Nauki **13** (7) 55-60, "As quoted" Dairy Sci. Astr., **39** (5) 2637 (1977).
16. **Kurt, A.** (1968): *Edirne tipi (Salamura) beyaz peyniri işleme tekniği*, Atatürk Üniversitesi Zir. Fak. Zirai Araştırma Enstitüsü Teknik Bült. No: 15, Atatürk Üniversitesi Basımevi, Erzurum.
17. **Mansour, A.** (1972): *Etude biochimique et microbiologique du fromage affiné en saumure*, Thèse, Université de Nancy.
18. **Mattick, A. T. R. -Neave, F. K. -Chapman, H. R.** (1951): *Staphylococcus aureus in Cheddar cheese*, 15e Congr. Int. Lait. **3**, 1914-1921.
19. **Mehran, M. -Behboodi, M. -Rouhbakhsh, Kh, A.** (1975): *Microbial contaminations of Iranian white cheese produced from raw milk*, J. of Dairy Science, **58** (5) 784.
20. **Mickelson, R. -Foltz, V. D. -Martin, W. H. and Hunter, C. A.** (1961): *The incidence of potentially pathogenic staphylococci in dair products at the consumer level. II. cheese*, J. Milk Food Tech., **24**, 342-345.
21. **Ozdzyńska, E. and Kafel, S.** (1968): *Study on correlation between coagulase and lipase production in staphylococci*, 14 th. European Meeting of Meat Research Workers Brno Czech.
22. **Payzın, S. ve Akyay, N.** (1949): *Yiyecek ve içeceklerin bakteriyolojik tahlil ve kontrolleri*, Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enst. Yay. **13**, Güncy Matbaacılık ve Gazetecilik T.A.O., Ankara.
23. **Sharp, M. E. -Fryer, T. F. -Smith, R. G.** (1966): *Identification of the lactic acid bacteria*, In "Identification methods for microbiologists" The Soc. for Appl. Bacteriology Tech. Series No: 1, Part A, Aca-demic Press., London.

24. **Takahashi, I. and Johns, C. K.** (1959) : *Staphylococcus aureus* in Cheddar cheese, J. Dairy Sci., **42**, 1032-1037.
25. **Weber, F.** (1976) : *Etude de l'égouttage des coagulums de lait et composition des lactoserums*, Thèse, Université de Caen, CNRS AO. No: 12690
26. **Yale, M. V. and Marquardt, J. C.** (1943) : *Coliform bacteria in Cheddar cheese*, N.Y. Sta. Agr. Expt. Stnl. Tech. Bull. No: 270.