

***Bacillus cereus* ve İçme Sütünde Oluşturduğu Sorunlar¹**

Selin Kalkan², Kadir Halkman³

Giriş

Çiğ süt, bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen, 40 °C'nin üzerine ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi bir işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır (1).

Süt teknolojisinde ise çiğ süt denildiği zaman, süt hayvanının memesinden muntazam aralıklarla ve tam olarak sağılan, sonra soğutulan, içerisinden herhangi bir bileşeni alınmayan veya içerisine herhangi bir madde ilave edilmeyen, işlenmek üzere süt fabrikalarına kabul edilen ve önceden herhangi bir işlem uygulanmamış anlaşılmaktadır (2).

Çiğ süt ve ısıtılmış işlem görmüş içme sütleri tebliğine göre çiğ sütün bileşimi Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Çiğ sütün bileşimi (1)

Süt Hayvanı	Protein (%)	Asitlik (%)	Yağ (%)	Yağsız kuru madde (%)	Yoğunluk
İnek	2,8	0,13–0,20	3,5	8,5	1,028
Koyun	3,1	0,16–0,35	5,5	10,0	1,030
Keçi	2,8	0,15–0,28	4,15	8,5	1,026
Manda	5,5	0,14–0,22	7,0	8,5	1,028

Süt ve süt ürünleri mikroorganizmaların gelişmesi açısından ideal bir ortam olarak çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında potansiyel bir kaynak oluşturur. Sütün, orijin hayvanın sağlık durumundan sütün ürün haline dönüşüncüye kadar geçirdiği her aşamada, çeşitli faktörler sütün hijyenik kalitesini etkilemektedir.

¹ Yüksek Lisans seminerinden derlenmiştir.

² Gıda Mühendisi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi, Dışkapı Ankara

³ Prof. Dr., Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Dışkapı Ankara. Yazışmalardan sorumlu yazarın E-posta adresi: halkman@eng.ankara.edu.tr

İnsan beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan süt, hijyenik koşullarda üretilmediği, saklanmadığı, işlenmediği, gerekli kontrollerinin yapılmadığı durumlarda insan sağlığı açısından zararlı olabilmektedir. Çiğ süt az sayıda bakteri içerse bile sağımdan sonra çevreden çeşitli yollarla bulaşan mikroorganizmaların etkisiyle oldukça kısa sürede bozulur ve insanlarda hastalıklara yol açan bir çok patojenin potansiyel kaynağını oluşturur. Bu nedenle çiğ süt insan gıdası olarak doğrudan tüketime uygun değildir.

Son yıllarda özellikle *Bacillus cereus* 'un psikrotrof serotipleri ile kontamine olan süt ve ürünlerinin halk sağlığı açısından risk taşıdığı, kontamine süt ve ürünlerinin soğukta muhafazası sırasında psikrotrof serotiplerin üreyerek toksin oluşturdukları bildirilmiştir (3).

Azot kaynağı, karbon kaynağı, oksijen düzeyi, süt bileşenleri gibi etkenler sütte *B.cereus* 'un gelişimini etkiler. *B. cereus* 'un gelişimi süütün işlenmesi sırasındaındaki pH ve sıcaklığa da bağlıdır. Sporları, pastörize sütte canlı olarak kaldıklarından, sütlerin oda sıcaklığında bozulmasına yol açar (4).

Sağım aletleri ve depolama tankları çiğ sütlerin mikroorganizma ile kontaminasyonu açısından önemli bir kaynaktır. Sağım aletlerinin ve depolama tanklarının temizliğine dikkat ederek mikroorganizma kontaminasyonu ve üremesi kontrol altına alınabilir. Çiğ sütte bazı mikroorganizmaların bulunması, çevresel kaynaklı kontaminasyondan dolayı sanitasyon koşullarının uygulanması gerektiğini göstermektedir. Ayrıca bu mikroorganizmaların çiğ sütlerde bulunma oranı ve üreme kapasiteleri mevsimsel olarak da değişiklik göstermektedir (5).

Yaz aylarında merada beslenen süt ineklerinden elde edilen çiğ sütlerin, kış aylarında elde edilen sütlere kıyasla, *B. cereus* ile daha fazla kontamine olduğu bildirilmekte olup, 4 °C'de muhafaza edilen pastörize sütlerde 48. saat sonunda psikrotrof bakterilerin florada baskın bulunduğu ve *B. cereus* 'un pastörize sütlerde bulunma düzeyi ile raf ömrü arasında bir ilişkinin olduğu belirtilmiştir (3).

Pastörize sütlerde *B. cereus* ve sporlarının bulunmasının temel nedeni, çiğ sütlerin sağım ve ahır hijyenindeki, yetersizliklerden kaynaklanmaktadır. Pastörizasyon sonrası kontaminasyonlar ise daha az önemlidir. Bu nedenden dolayı sağım aletleri ve depolama tanklarının temizliğine dikkat edilerek *Bacillus cereus* 'un da dahil olduğu psikrotrofik grup bakterilerin üremesi kontrol altına alınmalıdır (5).

***Bacillus* Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri**

Bacillus cinsi, Bacillaceae familyasına dahil olup, Gram pozitif (bazı türleri değişken), aerobik veya fakültatif anaerobik, spor oluşturan, çubuk şeklinde bakterilerdir. Çoğunlukla mezofilik olmakla birlikte psikrotrof ve termofilik türleri de vardır (6). Endospor oluştururlar. Vejetatif hücreler 0,5×1,2 µm ile 2,5×10 µm çapındadır. *Bacillus* cinsinin koloni morfolojisi çeşitlik gösterir. Geneli beyaz veya krem renkli kolonilere sahiptir. Bazı türlerinde sarı, pembe, portakal rengi ve siyah renklere pigmentli kolonilere de rastlanır (4).

Elliye yakın türü ihtiva eden *Bacillus* 'larda, endosporun hücre içindeki yeri farklı olabilir. Spor hücre merkezinde veya uçta olabilir. Vejetatif hücreden daha dar olabildiği gibi, daha geniş de olabilir. Şekerli fermente ederler ve sonuçta gaz oluşumu görülmeksizin asit üretirler. Proteinleri ise, amonyak oluşumu altında parçalarlar ve böylece kokuşmaya neden olurlar. DNA'larındaki G+C mol oranı %32–62'dir (7).

Bütün türleri Nutrient Agar, Trypticase Soy Agar, Brain Heart Infusion ve Kanlı Agar gibi besiyerlerinde oldukça iyi ürer. Karbon kaynağı olarak organik asit, şeker ve alkol içeren; nitrojen kaynağı olarak da amonyum bulunduran sentetik ortamlarda çok iyi gelişirler (5).

Bacillus 'ların bazı türleri güçlü proteolitik özellik gösterir, buna karşın bazı türleri ya zayıf proteolitik özellik gösterir veya hiç göstermez. Aktif proteolitik türler genellikle ekşitilmeden pıhtılaştırılan süt ürünlerinde kullanılır. *B. cereus* bu özelliği gösteren bir türdür. *Bacillus* türleri arasında lipolitik olan bakteriler de bulunmaktadır (2).

Birkaç *Bacillus* türü polipeptit sınıfı antibiyotik üretir. Antibiyotikler, kültürlerde spor oluşturma aşaması başladığında gözlenmiştir (4).

Bacillus türlerinin tanımlanması ve türler arasındaki farklılıkların belirlenmesi için spor ve sporangium morfolojileri temel alınmıştır. Buna göre *Bacillus* türleri 3 grupta toplanmıştır.

Birinci grup *Bacillus* türleri kendi içlerinde A ve B olmak üzere ikiye ayrılır. Her iki grupta sporangia şişmemiştir. Sporlar elips veya silindirik şekilli, santral veya terminal konumludur. Gram pozitiflerdir. A grubu ve B grubu arasındaki fark ise A alt grubunda hücre genişliği 1 µm'den küçük, B alt grubunda ise 1 µm'den büyüktür. A alt grubuna örnek olarak *B. megaterium* ve *B. cereus*; B alt grubuna örnek olarak *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. firmus* ve *B. coagulans* verilebilir.

İkinci grupta yer alan *Bacillus* türlerinde sporangia şişmiştir. Sporları elips, santral veya terminaldir. Bu grupta yer alan türlere örnek olarak *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. circulans*, *B. stearothermophilus*, *B. alvei*, *B. laterosporus* ve *B. brevis* verilebilir.

Üçüncü grupta yer alan *Bacillus* türlerinde de sporangia şişmiştir. Sporlar küresel, subterminal ve terminal konumludur. *B. sphaericus* bu gruba örnektir (4).

Birçok türü bulunan *Bacillus* 'lar toprak, su ve çeşitli gıdalarda bulunurlar. *Bacillus anthracis* insan ve hayvanlarda şarbon hastalığına neden olur. *B. thuringiensis*, *B. larvae*, *B. lentimaorbis*, *B. popilliae* ve *B. sphaericus* 'un bazı türleri böcek patojenidir ve *B. thuringiensis* biyoinsektisit olarak kullanılmaktadır. *B. cereus* 'un bazı suşları insanlarda gıda zehirlenmesine neden olur. *B. coagulans* ve *B. stearothermophilus* 4,2 gibi oldukça düşük pH değerlerinde gelişebilirler ve özellikle konserve gıdalarda bozulmalara neden olurlar. *B. stearothermophilus* sporları, bakteri sporları arasında ısıya en dirençli sporlardır. *B. coagulans* (*B. thermoacidurans*) sıcaklığa daha az, ancak asitliğe daha fazla dayanıklıdır. *B. subtilis*, suptilin adlı bir bakteriyosin üretmektedir. *B. licheniformis* basitrasin, *B. polymyxa* ise polimiksin antibiyotiklerinin üretiminde kullanılır. *B. subtilis*, *B. amiloliquefaciens* ve *B. stearothermophilus* bakteriyel α-amilaz enzim üretiminde kullanılmakta olup, amilaz ve amilodekstrini dekstrinlere parçalar.

B. subtilis, *B. mesentericus* ve *B. stearothermophilus* ise bakteriyel proteinaz enzimi üretiminde kullanılmaktadır. Bu enzim ise et ve balık etlerinin tenderize edilmesinde (yumuşatılması), şarap ve bira endüstrisinde protein bulunaklığının alınmasında stabilize edici olarak kullanılmakta olup, miso ve soysos üretiminde starter kültür olarak da yararlanılmakta olduğu bildirilmektedir (6).

***Bacillus cereus* 'un Genel Özellikleri**

Bacillaceae familyasının *Bacillus* cinsine ait bir bakteri olan *Bacillus cereus*, toprak ve bitki örtüsü üzerinde yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Santral veya subterminal yapıda, elipsoidal sporlara sahip olan bakteri, peritrik flagelları sayesinde hareketli ve aerobiktir. Optimum üreme sıcaklığı, suşlara göre 28–35 °C arasında değişmekle birlikte genellikle 30 °C 'dir. Maksimum üreme sıcaklığı yine suşlara göre 37 ile 48 °C arasında değişir. Minimum üreme sıcaklığı da suşa bağlı olarak 10 ile 18 °C arasındadır. Bazı kaynaklarda minimum sıcaklık 4–5 °C, maksimum sıcaklık ise 50 °C olarak verilmektedir. Spor germinasyonu için optimum sıcaklık 30 °C, minimum -1 °C ve maksimum 59 °C'dir. Gelişebildiği pH aralığı 4,9-9,3 olup optimum 7,0'dır. *Bacillus cereus*; lesitinaz, jelatinaz, proteaz, amilaz aktivitesine sahip olup, nitratı indirger ve polimiksine dirençlidir. Birçok suşu da %7,5 tuzda üreyebilir. *Cereus* adını tahıl anlamındaki cereal 'dan alır (8).

B. cereus 'un çok sayıda alınması ile bireylerde gıda zehirlenmesi görülebilir. Özellikle *B. cereus* ile kontamine olmuş gıdalar pişirildikten sonra yeterince ve hızlı soğutulmadıklarında veya gıdaların hazırlanması ile tüketimi arasındaki süre uzadığında, canlı ve ısıya dirençli olan sporların çimlenmesi sonucu mikroorganizma çoğalıp, gıda zehirlenmesine neden olabilecek düzeyde toksin oluşturabilir. Gıda zehirlenmeleri, gıdadaki bakteri sayısı 10^6 /g olduğunda ortaya çıkmaktadır (8).

B. cereus zehirlenmesinde aracı gıdalar olarak, pişmiş pirinç, makarna, et, kümes hayvanları, sebze yemekleri, çeşitli çorbalar, pudingler, baharat ve soslar sayılabilir. Ayrıca, toprak kökenli olması nedeniyle tarla ve bahçe ürünlerine rahatlıkla bulaşabilen *B. cereus*, sporlu bir bakteri olduğu için et ve süt ürünlerinde de bulunabilir (9).

B. cereus, ilk defa Hauge (1950–1955) tarafından Norveç'te 600 kişiyi etkileyen 4 ayrı gıda zehirlenmesi vakasında, etiyolojik etmen olarak bildirilmiş ve 4 vakada da zehirlenmeye neden olan gıdanın, hazırlandıktan sonra bir gün bekletilmiş vanilyalı sos olduğu saptanmıştır. Bu olaydan sonra diğer birçok Avrupa ülkesinde de *B. cereus* vakası tespit edilmiştir. 1980 yılında *B. cereus* kaynaklı 9 gıda zehirlenmesi, 1981 yılında 8 gıda zehirlenmesi vakası, Hastalık Kontrol Merkezine rapor edilmiştir. *Staphylococcus aureus* intoksikasyonu (*B. cereus* kusma tipi sendrom) ve *C. perfringens* gıda zehirlenmesinin (*B. cereus* diyare tipi sendrom), benzer semptomları nedeniyle rapor edilmeyen gıda zehirlenmeleri vakaları da bulunmaktadır (10).

Bacillus cereus iki farklı toksin oluşturur. Bunlardan birisi 40 kDa ağırlığında ısıya dayanıklı (Stabil Toxin; ST) bir protein olan enterotoksindir. Gıda zehirlenmesine neden olan bu toksin 126 °C'de 90 dakikada inaktif hale gelir. Diğer toksin ise 5–7 kDa ağırlıkta, ısıya dayanıklı (Labil Toxin; LT) olan bir peptittir. 60 °C'de birkaç dakikada tahrip olur.

Bacillus cereus türündeki bütün suşlarının toksin yapmadığı, belli serotiplerin toksin oluşturduğu bilinmektedir. Bu bakterinin intoksikasyon yoluyla hastalık yaptığına ilişkin kesin bir şey söylemek mümkün değildir. Bağırsakta gelişerek toksin oluşturduğu bilinen bakterinin anaerobik koşullarda in vitro olarak toksin oluşturduğu da gösterilmiştir (11).

B. cereus gıda zehirlenmesine neden olan ekstrasellüler toksin, ortamdaki bakteri sayısı belirli bir düzeye ulaştıktan sonra saptanabilir. *B. cereus*, *C. perfringens* gibi lesitinaz C enzimi de salgılamaktadır, ancak toksik aktivitenin aynı molekülde yer almadığı bildirilmiştir. *B. cereus* 'un toksin oluşturmasının ortamda bazı besin öğelerinin varlığına bağlı olduğu bilinmektedir. Bakteri, toksini logaritmik faz sırasında sentezler ve salgılar. Yapılan çalışmalarda bu bakterinin 18–44 °C arasında toksin sentezlediğini ve 45 °C 'de üremesinin durduğu tespit edilmiştir (8).

B. cereus 'un toksini pronaz enzimlerine duyarlı olup, 37 °C'de 60 dakikada bu enzimlerin %0,01'lik dozu ile inaktif hale gelmektedir. Toksin, 45 °C'de 30 dakikada aktivitesini kaybetmez ancak 56 °C'de inaktif hale geçer (8).

B. cereus, emetik ve diyarejenik enterotoksin olmak üzere iki farklı tip enterotoksin sentezler ve dolayısıyla iki farklı tip zehirlenmeye neden olur. Bunlardan biri "akut başlayan kusma tipi sendrom" olup daha çok pişmiş pirinç ve pirinçli gıdalarda oluşan toksinle ilişkilidir. Kusturucu toksin olarak isimlendirilen bu toksin ısı ile, pH'nın yanı sıra tripsin ve pepsin enzimlerine de dirençlidir. Diğer hastalık tipi ise "uzun sürede gelişen diyare tipi sendrom" olarak bilinmektedir ve daha geniş bir gıda grubu ile ilişkilidir. Bu gıdalar arasında; mısır ve mısır nişastası başta olmak üzere tahıl içeren gıdalar, patates püresi, sebzeler, kıyma, bazı et ürünleri, puding ve çorbalar sayılabilir. Diyare yapıcı toksin olarak bilinen bu toksin, protein yapısında olup, tripsin ve pronaz enzimleri ile ısıya karşı duyarlıdır (9).

Nispeten daha hafif seyreden diyare tipi *B. cereus* gıda zehirlenmesinde inkübasyon süresi 8-16 saat arasında değişmekte olup, genelde 12–13 saattir. Hastalık, 6–12 saat sürer ve belirtileri; bulantı (kusma çok seyrek), kramp şeklinde karın ağrısı ve sulu ishaldir. Genellikle ateş görülmez. Bu tip *B. cereus* zehirlenmesi *C. perfringens* gıda zehirlenmesine benzerlik gösterir. Daha ağır seyreden emetik tip (kusma tipi) *B. cereus* gıda zehirlenmesinde ise inkübasyon süresi 1–6 saat arasında değişmekte olup, genel olarak 2–5 saattir. Bu zehirlenme şekli *S. aureus* gıda zehirlenmesine benzerlik gösterir (10).

***Bacillus cereus* 'un İçme Sütünde Oluşturduğu Sorunlar**

B. cereus çiğ sütte genel bir kontaminanttır (12). Diğer mikroorganizmaların da birlikteliği ile ısı işlem sırasında ve sonrasındaki kontaminasyonlarla gıda zehirlenmelerine yol açmaktadır (13). *B. cereus* 'un psikrotrofik karakteri genellikle pastörize sütün 6 °C'ın altında depolanmasında kalite kriteridir (12). Az sayıda olmakla birlikte, bakterinin emetik suşları çiğ süttten izole edilmiştir. Toksik suşlar genellikle psikrotrofik değildir ve klinik semptomları üretmek için çok sayıda bulunmaları gerekli değildir (13).

Pastörize sütteki yüksek orandaki *B. cereus* kontaminasyonu çok sık bir şekilde ineklerin sağımı sırasında gerçekleşmektedir. Çiğ sütteki spor oranının artışının başlıca nedeni meme ucunun topraktan kontaminasyonudur. *Bacillus cereus* 'un yüksek oranda pastörize edilmiş sütlerde bulunmasının nedeni büyük bir olasılıkla mandıra ortamındaki ek kontaminasyonlardan kaynaklanmaktadır. Mandıralardaki mevcut rekontanimasyon kaynakları hakkında çok az bilgi vardır (12).

B. cereus sporları çok hidrofilitirler ve kolayca çelik, cam ve lastik yüzeylere yapışırlar ve yüzeylerdeki kısa temizleme programları bütün sporları elemine etmeyebilir. Yüzeylere tutunan sporların, eriyik içindeki sporlara kıyasla dezenfektan ile elemine edilmesi daha zordur. Birçok *B. cereus* sporu sütte ısıl aktivasyonda hızlıca çimlenir ve uygun koşullar bulup çoğaldıklarında, oluşturdukları biyofilm formunda elemine edilmeleri son derece zordur (12).

Genel olarak, çiğ sütteki patojenler sütün ısıl işlemi sonrasında önemli bir tehlike yaratmazlar. Buna karşın enzimler, çiğ sütte psikrotrofik flora ile birlikte önemli bir bozulmaya yol açabilirler (13).

Sütteki Psikrotroflar ve Ekstraselüler Enzim Aktivitesi

Süt ürünlerinin kalitesi, ısıl işlem öncesi çiğ sütteki psikrotrofik flora tarafından salgılanan ısıya dirençli enzimlerden ve süt ürünlerinin soğukta depolanması boyunca gelişen psikrotroflar tarafından üretilen diğer metabolitlerden etkilenir (14).

Süt ürünlerinin psikrotrof florası, süt öğelerini ayrıştırabilecek mikrobiyal kökenli proteaz ve lipaz gibi ekstraselüler enzimler üretirler. Genel olarak Gram pozitif mikroorganizmalar az miktarda proteolitik ve sadece kısıtlı miktarda lipolitik aktivite sergilemektedir. *B. cereus* ekstraselüler lipolipaz üretmektedir. Bu enzim, üretim hatalarında başrol oynayan süt yağ globüllerini ayrıştırabilmektedir. Örneğin, *B. cereus* bulaşması kaynaklı fosfolipaz C, pastörize sütlerde "bitty cream" yani "parçalı krema" adlı bozulmaya ve benzer etkilere yol açmaktadır (13).

Mikrobiyal kaynaklı lipaz, peynirde ransit hatalara, proteaz ise UHT sütte jelleşme ve acı tat oluşumuna yol açabilir. Bunlar ekonomik olarak önemli psikrotrofik bakteriyel enzimlerdir ve etkileri hızlıca ortaya çıkar. Bu enzimlerin belirlenmesi için hassas analizler, sütün rutin kontrolü sırasında yapılmaları kolay ve yaygın değildir. Oysa böyle ölçümler üretim kalitesi için bakteriyel sayımdan daha uygundur. Psikrotrofların farklı türleri ve suşları farklı miktarlara ulaştıkları zaman saptanabilir proteaz ve lipaz üretirler. Örneğin, bazı türlerde sayı $1,5 \times 10^6$ kob/g'a ulaştıkları zaman saptanabilir proteaz üretirken, bazılarında bu değer 10^5 kob/g'dır (15).

Psikrotrofik bakteriler tarafından proteaz ve lipaz üretiminde gelişme sıcaklığının etkisi türlere göre spesifik olmaktadır. Ekstraselüler enzim sentezinin maksimum gelişmenin olduğu optimal sıcaklıkta olduğunu belirtilirken, diğer araştırmacılar daha yüksek sıcaklıklarda daha yüksek miktarlardaki enzim sentezinin meydana geldiğini öne sürmektedirler. Proteaz ve lipazın ikisinin birden sentezinin psikrotrofik bakteri gelişme sıcaklığı olan 2 °C'de bastırılmış olduğunu açıkça gösterilmiştir. Bu bulgular, sütün 2 °C'ye kadar soğutulması ile ürün kalitesinde ve raf ömründe iyileşme olacağını göstermektedir (13, 14).

Çiğ sütün depolanma süresini kısıtlayan ana faktör psikrotrofik bakteri gelişmesi ve buna bağlı olan ekstraselüler ayrıştırma enzimlerinin bu mikroorganizmalar tarafından üretilmesidir. Sütte psikrotrofik bakteri gelişmesinin potansiyel inhibitörleri hakkında birçok metot araştırılmıştır. Önerilen inhibitör sistemi, kullanılan doğal süt enzim peroksidazını temel almaktadır. Karbondioksitin enjeksiyonuyla gelişmenin yavaşlatılması ise alternatif bir öneridir. Diğer taraftan, çiğ sütün 2 °C'ye kadar soğutulması, uzun süre depolamadan önce en uygun metottur (13, 14).

Süt sağımı sırasında hijyenik bakım, devamlı olarak 4 °C veya daha düşük sıcaklıklarda soğutma, çiğ sütün depolanma süresinin en aza indirgenmesi, devam eden etkili HACCP sistemleri gibi tüm başlıca ilgili işlemler, süt endüstrisinde kalite güvencesidir. Bu genel teknolojiler mikroflorayı büyük veya küçük oranlarda elemine etmektedir. Termizasyon, pastörizasyon, UHT, mikrofiltrasyon ve baktöfugasyon, uygulanan bu teknolojik işlemlerdendir. Umut verici bir metot ise kombine ısı işleminin bir buhar odası içerisinde (130-145 °C, <1 s) uygulanması ve sonrasında sütün aseptik dolumdur. Böylece ısıya dayanıklı *Bacillus* sporları etkili bir şekilde indirgenir ve rekontaminasyon önlenir (14).

Isıl İşlemin Psikrotroflar ve Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri

Termizasyon

Termizasyon, çiğ sütün 63–65 °C'de 15–20 saniye tutulmasının ardından hızlıca 6 °C'nin altına soğutulmasıdır.

Termizasyonun ticari olarak tercih edilir olmasının nedeni, laboratuvarındaki kapsamlı çalışmalarla ısı uygulamasının mikrobiyolojisi ile proses şartları arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır. Çalışmalarda raf ömrü olarak, psikrotrof sayısının 10⁶ kob/g'a ulaştığı süre tanımlanmıştır. Bu denemelerde kullanılan çiğ süt, deneylerin başlangıcında en az 24 saatliktir. Böylelikle bütün psikrotroflar muhtemelen yaşam döngülerinin logaritmik evrelerinde veya yakınında olmaktadır.

Bütün termizasyon uygulamalarıyla sütün raf ömrü artmaktadır. Çiğ sütün termizasyon öncesi kalitesi, raf ömrü üzerinde sonradan ortaya çıkan önemli bir etkidir. Termizasyon, pastörizasyona benzer, sadece sütteki psikrotrofik bakterilerin bir bölümünü öldürür ve diğerleri yaşamlarını devam ettirir. Düşük başlangıç sayılarında, yaşamını sürdürebilerek termize sütte hızlı bozulmaya neden olacak sayısı çok düşüktür. Gram pozitif organizmalar termizasyonla yok edilemeyebilirler. Örneğin termizasyon, *B. cereus* sporlarını aktivite edebilir. 8 °C 'de depolanarak analiz edilen termize sütün spor sayımında termizasyonun etkisi ve tipik sonuçlar Çizelge 2 'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 8 °C'de depolanmış sütün spor sayımında değişiklikler (13)

Depolama süresi (gün)	Isıl işlem yok	50–62,5 °C 15 sn	65–72 °C 15 sn
0	300	800	500
2	1000	1100	500
6	1100	900	600

Çizelgede işaret edilen, psikrotrofik bakterilerin ayrıştırıcı enzimlerini, sütteki gelişmelerinin etkin bir safhasında salgıladıklarıdır. Psikrotroflar inhibe edilirse enzim seviyesi oldukça düşecektir. Çizelge 3'te de gösterildiği gibi; termizasyon, lipolizis ve proteolizisin her ikisini de geciktirir. Bununla birlikte pratik önemin bir etkisi sadece 62–72 °C ısıtma sıcaklıkları aralığında başarmıştır.

Çizelge 3. Depolanmış sütte proteolizis ve lipolizis üzerine termizasyonun etkisi (13)

Isıl İşlem	8 °C'de 6 gün içinde depolama boyunca değer azalışı	
	Serbest Yağ Asidi (µg/ml)	Tirosin Değeri (µg/ml)
Kontrol	440	35
50–60°C	335	31
62–72°C	60	4

Termizasyonun sütün raf ömrünü güvenli bir şekilde uzatabilmek için güvenilir bir yöntem olduğu, etkileri kanıtlarla destekli bir seri deney ile gösterilmiştir (13).

Pastörizasyon

Çiğ sütün, 100 °C'nin altında bir sıcaklıkta; patojenlerin tamamını öldürecek, toplam bakteri sayısında yaklaşık %95–99,9 inhibisyon sağlayacak sürede ısıl işleme tabii tutulmasıdır. Pastörizasyonda hedef mikroorganizma *Coxiella burnetti* 'dir (2).

Pastörizasyon iki tipte yapılmaktadır; Kesikli pastörizasyon (Düşük sıcaklıkta uzun süreli pastörizasyon LSLT) Normu; 62–65 °C'de 30 dk, sürekli pastörizasyon (Yüksek sıcaklıkta kısa süreli pastörizasyon HTST) Normu; 71–74 °C'de 40–45 sn'dir (2).

Bacillus cereus 'un pastörize sütte bulunması süt endüstrisi için, mikroorganizmanın diğer süt hatalarıyla beraber tat kayıpları, tatlı pıhtılaşma ve parçalı krema bozulmalarına hatta gıda zehirlenmelerine neden olmasından ötürü oldukça önemlidir. Bilindiği gibi psikrotrofik nitelikleri buzdolabı sıcaklığında pastörize sütte gelişmelerini ve toksin üretmelerini olanaklı kılmaktadır (16).

Pastörizasyonun amaçlarından biri de süt kökenli ve mikrobiyal kaynaklı enzimleri kısmen veya tamamen inaktif hale getirmektir (2). Psikrotrofik bakteri çoğunluğunun pastörizasyonla yok edilmesine rağmen sadece bozulmaya yol açan termodurik flora yaşamaya devam eder ve psikrotrofik bakterilerden kaynaklanan ekstraselüler enzimler faaliyet gösterebilirler. Bakteriyel kökenli proteaz, lipaz ve fosfolipaz C enzimlerinin HTST pastörizasyonda termostabilitesi Çizelge 4'te özetlenmiştir.

Çizelge 4. HTST pastörizasyon sonrası sütte psikrotrofik bakteri kaynaklı artık enzim aktivitesi (13)

Enzim tipi	HTST pastörizasyon sonrası aktivite (%)
Proteaz	66
Lipaz	59
Fosfolipaz C	30

HTST pastörizasyon, HTST pastörizasyonda kombine ısı uygulaması ve 55 °C'de 1 saat uygulanan ısı işlem sonrası enzim parçalanması Çizelge 5'te kıyaslanmıştır. Ancak ekstraselüler enzim aktivitesinin ekstra ısı işlemlerle parçalanması ticari olarak ve pratik açısından uygulanması zor ve gereksiz bulunmaktadır.

Çizelge 5. Ekstraselüler enzimlerin düşük sıcaklık inaktivasyonu (13)

Aktivite	Isıl işlem sonrası geriye kalan aktivite (%)	
	77 °C 17 s	77 °C 17 s + 55 °C 1 h
Proteaz	66	50
Lipaz	59	27

Sütteki psikrotrofik bakterinin ekstraselüler enzimlerinin termostabiliteleri kısa raf ömürlü ürünler (örneğin pastörize süt ve krema) için daha az önem taşımaktadır. Bu nedenle ısı uygulama ile tüketim arasındaki periyot, ürünler soğukta muhafaza edilmek kaydı ile genellikle 4 veya 5 gündür. Fakat bakteriyel kökenli ısıya dirençli enzimler açısından uzun raf ömürlü ürünler kısa raf ömürlüler kadar güvenli değildir.

Bacillus cinsi, spor formu bakteriler pastörizasyon sonrası yaşamını sürdürme yeteneğine sahip en önemli mikroorganizma sınıfıdır. Çiğ sütte *Bacillus* cinsinin üstünlüğüne göre Haziran–Ekim periyodunda spor formu bakteri sayısında mevsimsel değişiklikler olmaktadır. Ama psikrotrof basiller en yüksek sayıya Nisan ve Eylül ayları arasında ulaşmaktadır. *Bacillus cereus*, soğutulmuş ürünlerde hızlı çimlenme yeteneğindedir (13).

Sterilizasyon ve UHT (Ultra High Temperature) Uygulaması

Sterilizasyon, süte 100 °C'nin üzerinde uygulanan ısı işlem olarak tanımlanmaktadır. Sterilizasyon işleminde ısıya en dayanıklı mikroorganizma olan *B. stearothermophilus* 'un yok edilmesi amaçlanmaktadır. İşlem sırasında vejetatif hücreler ve hatta sporlar bile inaktive olmakta ve enzimlerin bir kısmı etkisiz hale gelmektedir. Dolayısıyla, sterilize edilen süt, pastörize edilenlere oranla daha uzun süre dayanmakta, buna ek olarak aseptik paketlenme yapıldığında aylarca saklamak mümkün olabilmektedir. Bu süte aynı zamanda “Uzun Ömürlü Taze Süt” denilmektedir (5).

Sterilizasyon yöntemlerinden biri olan UHT işleminde ürünün dayanıklı hale getirilmesi ve soğutma istemeksizin depolanabilmesi için, 138–154 °C arasında 2–8 saniye süre ile ısıtılma işleminden yararlanılmaktadır. Türkiye standartlarında bu değer 135–150 °C'de 2–6 saniye olarak verilmiştir (5).

Çiğ süttten UHT süte en belirgin değişme, mikroorganizma ve enzim içeriğidir. UHT süttün mikrobiyal niteliğinin büyük ölçüde çiğ süte bağlı olması doğaldır. Elde edilen sonuçlara göre özellikle proteolitik ve psikrofilik bakteri miktarları tamamen çiğ süt gruplarına bağlı olmakta ve proteoliz miktarını da etkilemektedir. Isıl işlem sonrası proteaz aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (17).

UHT sütte depolamayı sınırlayıcı faktörlerden en önemlisi spor yapan bakterilerdir. Ayrıca psikrotrofik mikroorganizma enzimleri, yağ seperasyonu, sedimentasyon diğer sorunlardır (17).

Sterilize sütte spor yapan aerob mikroorganizmanın çoğunluğu *Bacillus* cinsine girer. Çiğ sütün spor içeriği ile sterilize edilmiş son ürünün depolanma süresi arasında bir ilişki varsa da, UHT bozukluklarının daha çok ısıl işlem sonrası kontaminasyona bağlı olduğu bildirilmektedir. *Bacillus* türünün 130 °C'de 5 saniye dayanabilen ısıya dirençli proteaz salgıladığı ve aynı enzimin kuvvetli proteolitik aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır. Böylece bu grupta olan mikroorganizmaların önemi bir kat daha artmıştır (17).

Çiğ sütün uzun süre düşük sıcaklıkta bekletilmesi psikrofilik bakterilerin üremesine ve gelişmelerine neden olmaktadır. Taze sütte bulunan psikrotrofilik bakterilerin salgıladığı proteazlar sütün bozulması yanında tat ve koku hatalarına da neden olmaktadır. Ayrıca UHT sütte jelleşmeye ve acı tada neden olurlar. Psikrotrofilik mikroorganizmaların büyük bir kısmı ısıya duyarlıdır ve pastörizasyon sırasında yıkıma uğrarlar fakat oluşan enzimler; yağ globül membranının (fosfolipazlar), süt yağının (lipazlar) ve süt proteininin (proteazlar) parçalanmasına neden olurlar. Bu enzimlerin ısıya dirençli olmaları ve aktivitelerinin UHT işlemine bile dayanabilmeleri UHT sütte sorun olarak ortaya çıkar (17).

Kaynaklar

1. Anonim 2000. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Resmi Gazete. 27.
2. Metin, M. 1998. Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No: 33 , 388; 632-654. İzmir.
3. Özdemir, H. 2003. Pastörize Sütlerde *Bacillus cereus* 'un Varlığı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları : 611-615. Ankara.
4. Kalaylı, E. ve Beyatlı, Y. 2003. *Bacillus* Cinsi Bakterilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri, PHB Üretimleri ve Plazmid DNA' ları. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi. 01(12), 24-35.
5. Altun, B., Besler, T. ve Ünal, S. 2002. Ankara'da Satılan Sütlerin Değerlendirilmesi. www.ttb.org/STED/sted0202/sut.pdf Erişim tarihi: 31.12.2002
6. Ayhan, K. 2000. Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Yayını, 43- 44. Sim Matbaacılık Ltd. Ankara.
7. Çon, A. H. ve Gökalp, H. Y. 1997. Gıda Mikrobiyolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Notları Yayın No: 007, 23. Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi. Denizli.
8. Pichhardt, K. 2004. Gıda Mikrobiyolojisi Gıda Endüstrisi İçin Temel Esaslar ve Uygulamalar. 176-178. Literatür Yayınları. Manisa.
9. Kaleli, D. ve Özkaya , F. 2000. *Bacillus cereus* . Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, 395-401. Sim Matbaacılık Ltd. Ankara.
10. U.S. Food & Drug Administration. 2004. Web sitesi. www.vm.cfsan.fda.gov Erişim tarihi: 17.09.2004.

11. Tunail, N. 2000. Mikrobiyal Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayınları, 102. Sim Matbaacılık Ltd. Ankara.
12. Svensson, B., Eneroth, A., Brendehaug, J., Molix, G. and Christiansson, A. 2000. Involvement of a Pasteurizer in the Contamination of Milk by *Bacillus cereus* in a Commercial Dairy Plant. Journal of Dairy Research. 455.
13. Robinson, R. K. 1990. Dairy Microbiology. 219- 233. Elsevier Applied Science . London.
14. Sorhaug, T. and Stepaniak, L. 1997. Psychrotrophs and Their Enzymes in Milk and Dairy Products : Quality Aspects. Trends in Food Science and Technology. 35-39.
15. Roberts, T. A. and Skinner, F. A. 1983. Food Microbiology Advances and Prospects. 140 s. Academic Press Inc. London.
16. Lin, S., Schraft, H., Odumeru, J. A. and Griffiths, M. W. 1998. Identification of Contamination Source of *Bacillus cereus* in Pasteurized Milk. International Journal of Food Microbiology. 159-171.
17. Kanar, A. ve Şahan, N. 1989. UHT Sütte Değişmeler ve Sorunlar. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları: 611-615. Ankara.