

# Sterilize Sütün Dayanıklılığı

Dr. T. F. BOZOĞLU

O.D.T.Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü — ANKARA

## ÖZET

Ultra High Temperature (UHT) olarak bilinen ve son zamanlarda yaygınlaşan sterilizasyon metodunun süt ve süt mamullerine uygulanmasındaki başarı, sakrofillerin ürettikleri sıcağa dayanıklı lipaz ve/veya proteazlardan dolayı arzu edilen düzeye erişememektedir. Belirtilen bu enzimler, ürünün bekletilme sürecinde, 8-10 hafta gibi kısa bir zamanda, süt yağ ve proteinlerini hidrolize ederek, ürünün tüketici tarafından kabul edilemeyecek bir duruma gelmesine sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalar düşük sıcaklıklarda (50-60°C) bu enzimlerin inaktivasyon katsayılarının UHT işlem sıcaklıklarına oranla daha yüksek olduklarını göstermektedir.

## Stability of Sterilized Milk :

Summary : The process which is known as UHT (Ultra high temperature) did not have its deserved place in processed milk due to lipases and proteases produced by psychrotrophs that are found in raw milk. Those enzymes which survive UHT processing, are able to hydrolyze milk fats and proteins, causing a product change which is unacceptable to the consumer, within 8 to 10 week of storage. Researches has shown that, inactivation parameters of those enzymes were higher at temperatures from 50 to 60°C, than those at UHT temperatures (140 - 150°C).

## Sterilize Sütün Dayanıklılığı :

Çok yüksek sıcaklıkla (140-150°C) işlenen süt ve süt mamullerine gösterilen ilgi Avrupa devletlerinde uzun zamandan beri süre gelmektedir. Aynı ilgi ülkemizde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde son zamanlarda çoğalmıştır. Bütün sterilizasyon işlemleri, diğer gıda muhafaza işlemlerine kıyasla, hastalık yapabilecek ve bozulmaya sebep olabilecek organizmaları yok etmeleri yönünden üstünlük sağlamaktadırlar. Bunun sonucu olarak elde edilen ürünler çok pahalı olan soğutma sistemlerine ihtiyaç göstermeden uzun müddet depo-

lanabilirler. Bu ürünler kötü saklanmadan dolayı meydana gelebilecek erken bozulma veya gıda kaynaklı hastalık risklerinin ortadan kalkmasını sağlarlar.

Normal olarak yapılan sterilizasyon işlemlerinde, yüksek sıcaklıkta uzun süre tutulma, üründe istenilen görünümü, besin değerini, tadı ve tekstürü olumsuz yönde etkiler. UHT tekniği ile yapılan işlem, bakteriyel spor inaktivasyonunun ve ürün kalitesinin değişme reaksiyonu arasındaki değişik sıcaklık katsayılarından faydalanmaktadır. Z-değerleri (reaksiyon hızında 10 kat artış sağlayacak sıcaklık değişimi) sporların inaktivasyonu için 6.7 - 12°C iken, bu değer besi, tad ve renk gibi faktörlerin değişiminde 25 - 44°C'ye kadar çıkmaktadır. Buna göre sıcaklıktaki 25°C'lik bir artış spor inaktivasyonu hızını, ürün kalite bozulma hızından 30 - 1500 kere daha fazla hızlandırır. Sonuç olarak ürüne zarar vermeden mikrobiyal sporların inaktivasyonu sağlanabilir. Bu da Şekil 1'de görülmektedir.

UHT sterilizasyonuna sonucu istenilen mikrobiyolojik kaliteye ulaşılabilmesine rağmen, çiğ sütte bulunan bazı mikroorganizmaların inaktivasyonunun mümkün olmadığı, bu enzimlerinde steril süt ve süt ürünlerinde, süt yağ ve proteinlerini hidrolize ederek ürünü kalite yönünden bozdukları saptanmıştır(4).

Buna göre, ısıya dayanıklı bu enzimlerin UHT tekniği ile işlenmiş süte etki etmeleri için aşağıdaki faktörlerin önemi büyüktür.

- i. Çiğ sütte bu enzimlerin üreten organizmaların varlığı ve UHT işleminde önceki sayıları.
- ii. Kullanılan ısı yöntemine karşı, üründe bulunan enzimlerin dayanıklılığı.
- iii. Saklama koşullarında ısıya dayanıklı bu enzimlerin optimum aktiviteleri.
- iv. Enzimlerin ürün kalitesi üzerindeki etkisi.

v. Enzimin üründe arzu edilmeyen değişikliğe sebep olabilmesi için gerekli zaman.

#### Sıcağa Dayanıklı Enzimler :

Sütte bulunan, sıcağa dayanıklı proteaz ve lipaz gibi enzimlerin varlığı bir çok araştırmacı tarafından gözlenmiştir (5, 10, 13). Bu durum Tablo 1'de görülmektedir. Sıcağa dayanıklı proteaz üreten *Pseudomonas*, türleri İngiltere ve Yeni Zelanda'da *Aeromonas* türleri, de İsviçre'de yapılan araştırmalarda izole edilmişlerdir. Isıya dayanıklı lipazlar üzerine yapılan çalışmalar daha az olmasına rağmen araştırmalar lipazlarında en az proteazlar kadar yaygın olduklarını göstermektedir (5, 8, 10, 15, 16). Bu durum Tablo 2'de görülmektedir.

UHT sterilizasyon tekniği ile hazırlanan bu ürünlerde depolama zamanının azalmasına sebep olabilecek enzim miktarının üretilmesi için çok fazla mikroorganizmayı gerektirmediği gözlenmiştir (7). Örneğin, *Seudomonas* türü MC 60'ın üründeki sayısının 700/ml'den 10.000/ml'ye 4°C de 2 günlük inkubasyon ile artırılması, mililitrede 10 - 20 unitelik bir proteaz aktivitesinin oluşmasını sağlayabilmektedir (4). Bu artış UHT tekniği ile sterilize edilmiş yağsız sütün bozulması için yeterli olmaktadır. Diğer bir deneyde de UHT tekniği ile sterilize edilen (149°C/4.5 san) 12 kısım sütün tamamının 4 aydan daha kısa bir zamanda bozulduğu gözlenmiştir (4).

#### Enzimlerin Isıya Dayanıklılığı :

Tablo 1 ve Tablo 2'de yer alan enzimlerin hepsi UHT'de büyük bir dayanıklılık göstermektedir. Buna göre 149°C'da 1 ila 3.4 saniye arasında yapılan ısıtmanın bu enzimler üzerindeki etkisi çok az olmaktadır. Bakteriyel sporların yok edilmesi için düzenlenen UHT sterilizasyon işlemlerinde bu enzimlerin dayanıklılığı bir çok araştırmacı tarafından daha önce gösterilmiştir (10, 11). Speck ve arkadaşları UHT tekniği için 149°C'den 3.4 saniye önermektedirler (17). Bu da daha önce bilinen ve bakteriyel sporların yok edilmesi için kullanılan 12 D sistemine dayanmaktadır. D - değerleri (spor sayısı veya enzim aktivitesinde % 90 lık azalmayı sağlayacak belirli sıcaklıktaki zaman aralığı) *B. stearothermophilus* sporları için, extra-

polasyon metodu ile 0.02 saniye ve PA 3679 sporları için ölçümle 0.25 saniye olarak bulunmuştur (16). Halbuki MC 60 proteazı için hesaplanan D - değeri 90 saniyedir (1). Görüldüğü gibi, 149°C'da 4.3 saniye olarak belirtilen UHT işlemi, süt ve diğer ürünleri istenilen kalitede sterilize etmesine rağmen, proteazlara olan etkisi minimumda kalacaktır. Aynı durum sıcaklığa dayanıklı lipazlar içinde söz konusudur.

#### Enzim Aktivitesi :

Sterilize edilmiş süt ürününün özellikleri ve depolanma şartları UHT sonrası ortamda kalmış enzimlerin aktivitelerinde önemli rol oynarlar. Süt ürünlerinin çoğunluğu protein ve süt yağı yönünden zengin oldukları için, ana madde ihtiyacı enzim aktivitesi için önemli bir faktör olmayacaktır. Kazein miktarının % 1 - 4 miktarında değişim aralığında MC 60 proteazı maksimum aktiviteyi % 2 kazeinde göstermektedir. Enzim aktivitesinin en düşük olduğu % 3 kazeinde bu maksimum aktivitenin en az % 68 gözlenmektedir. Bunun yanında MC 50 lipazı % 1 - 10'luk süt yağı aralığında % 5 lik süt yağında maksimum enzim aktivitesi göstermektedir (2). Bununla beraber % 2 - 10 süt yağı aralığında maksimum aktivitenin % 80'inden fazlasını gözlemek mümkündür. Sıcağa dayanıklı enzimlerin optimum aktivite dereceleri genellikle oda sıcaklığı üzerindedir (20 ila 45°C arasında). Konu edilen bu enzimler 20 - 25°C arasında optimum sıcaklıkla gözlenen aktivitenin ortalama % 60'a kadar aktivite gösterebilmektedir. Bu da oda sıcaklığında enzim aktivitesinin dikkate alınacak kadar yüksek olduğunu göstermektedir. Bu enzimler üzerinde yapılan çalışmalar proteazlar için pH aralığının 6 ila 10' arasında değiştiğini göstermiştir. Süt pH'sında (pH 6.5) bu proteazlar maksimum aktivitenin % 53 - 100'üne kadar aktivite gösterebilmektedir (1).

Sıcağa dayanıklı lipazlar üzerinde yapılan araştırmalar proteazlara kıyasla daha azdır. *Pseudomonas* türü MC 50'nin ürettiği lipaz 40°C'de optimum aktivite göstermektedir. 25°C'de bu aktivitenin ancak % 42'si gözlenmektedir (2). Diğer bir araştırmada *P. fluorescens* 22 F'nin ürettiği lipazın 37° ve 50°C'lerde

iki ayrı optimumu olduğu gözlenmiştir (9). Ürün pH'sının lipaz aktivitesi üzerindeki etkisi, proteazlara olan etkisinden farklı olmaktadır. **Pseudomonas** türü MC 50'nin ürettiği lipaz, pH 8.5'de optimum aktivite göstermektedir. Bu aktivite pH 7'de optimumun % 42'si ve süt pH'sında (pH 6.5) ancak % 8 olarak gözlenmektedir (2). Buna göre pH'nin enzim aktivitesi üzerine etkisinin lipazlarda daha fazla olduğu gözükmemektedir. Fakat, pH'nin 6.5 den 7.0'a yükseltilmesindeki enzim aktivitesi artışı pH ayarlamasının, sıcaklığa dayanıklı lipazların aktivite kontrolünde güvenilir bir yöntem olmadığı göstermektedir (3).

#### **Sıcağa dayanıklı enzimlerin ürün kalitesi üzerindeki etkileri :**

Sıcağa dayanıklı proteaz ve lipaz'ların UHT tekniği ile sterilize edilmiş süt ve süt ürünlerinin kalitelerini düşürdüğü şüphesizdir. Yapılan araştırmalarda, taddaki değişme ile NPN ve yağ asitlerindeki artma arasındaki korelasyon değerleri 0.99 ve 0.97 olarak bulunmuştur. Proteazların ve lipazların sebep oldukları yağ oksidasyonu ve Maillard reaksiyonunun, ürün kalite değişimi ile karşılaştırılmasından, proteolisis ve lipolisis'in bu değişimde % 87 payı olduğu ortaya çıkmaktadır (14).

#### **Sıcağa dayanıklı enzimlerin kontrolü :**

Sıcaklığa dayanıklı enzim miktarının çiğ sütte çok düşük miktarda bulunması halinde, UHT işlemi, saklama sıcaklığı, ve ürün pH'sının birlikte sağlayacakları ortam ile sıcağa dayanıklı enzimlerin sebep olacakları kalite değişiklikleri önlenabilir ve sonuç olarak ekonomik açıdan kabul edilebilecek bir ürün saklama süreci sağlanır. Çiğ süt kalitesinin düşük olması halinde veya flora değişmesi sonucu sıcağa dayanıklı enzim miktarı artmasında, veya daha uzun saklama süreci arzu edildiğinde sıcaklığa dayanıklı enzimlerin kontrol edilmesi gereklidir.

Sıcağa dayanıklı bu enzimlerin kontrolleri için önerilen metodların çoğunda zorluklar ortaya çıkmaktadır. Sıcaklığa dayanıklı bu enzimleri üreten mikroorganizmalar (genellikle psikrofiller), süt sağım ortamının bir parçasıdır, bu durumda sütün psikrofillerle kirlenmeden sağılması çok zor ve de pahalı bir işlem ola-

caktır. Bu mikroorganizmaların, çiğ sütte çoğalma veya metabolizmalarının durdurulması da zordur. Genelde psikrofiller oksijenli ortamda büyür ve düşük sıcaklıkta çoğalamazlar (0°C), buna göre sütün daha düşük sıcaklıklarda saklanması ve de havalandırmanın (aerasyon) minimuma indirilmesi bu organizmaların büyüme ve metabolizma hızlarını yavaşlatacaktır. Bu işlemlerin hem tatbik edilmeleri zor hem de maliyetleri oldukça yüksektir. Bunun yanında, mikroorganizma sayısının azaltılması amacı ile antibiyotik kullanımı da yasaktır. Bazı süt asiti bakterileri, özellikle laktobasiller, kendilerinin çoğalamadıkları ortamlarda psikrofillerin çoğalmalarını önleyebilmektedirler. Burada da inhibitör olarak görev yapan hidrojen peroksitin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) üründe istenmeyen koku ve/veya tad değişikliklerine sebep olması problem olarak ortaya çıkmaktadır.

UHT işleminde ısının yükseltilmesi şüphesiz ısıya dayanıklı proteaz ve lipaz'ların inaktive edilmesinde önemli bir faktördür. Bunun yanında, yüksek ısının, ürün üzerindeki istenmeyen tesirleri, UHT işleminin sağladığı avantajı yok edici yöndedir. Yapılan çalışmalar 149°C'daki tutulma zamanının 3.4 saniyeden, 20.7 saniyeyi çıkarılması ile süt ürünlerinin saklama sürecinin uzadığını göstermiştir (16). Bu uzatılan ısıtma süreci, beklenildiği gibi üründe hissedilebilen yanmış süt tadının meydana gelmesine sebep olmaktadır. Bazı araştırmacılar, meydana gelen bu yanmış süt tadının, uzun süre bekletilme sonucu kaybolduğunu gözlemişlerdir (12). Bu da UHT tekniği ile sıcağa dayanıklı enzimlerin inaktive edilmelerinden sonra ürünlerin, belli bir süre bekletilmelerini gerektirmektedir.

UHT işleminin yanında, sıcaklığa dayanıklı enzimlerin daha düşük sıcaklıklarda inaktive edilebilmeleri mümkündür. MC 60 proteaz'ının 55 - 100°C arasındaki D - değerleri, UHT için bulunmuş D - değerlerinden daha düşüktür (6). Sütte bulunan sıcaklığa dayanıklı proteazların 55°C'da 1 saat ısıtılmaları sonucu, yaklaşık % 100 - 70'lik inaktivasyon gözlenmiştir. MC 50 lipazı üzerine yapılan çalışmalarda da, bu enzimin 60°C'da düşük sıcaklık inaktivasyonu gösterdiği saptanmıştır (2). Düşük sıcaklıkta gözlenen bu inaktivasyonun, enzimlerin kontrolun-

da kullanılmasındaki en büyük dezavantaj, devamlı proses olan UHT sistemine, 15 - 60 dakika'lık tutulma zamanı gerektiren yeni kısımların ilave edilme zorunluluğunun doğmasıdır.

Sonuç olarak, UHT sistemi ile sterilize edilen süt ve süt ürünleri, her ne kadar aseptik şartları sağlamaktalarsa da, teorik olarak saptanan, yaklaşık 8 - 9 ay olan bekletilme sürelerine erişememektedirler. Bu ürünler azami 3 ay sonunda tüketicinin kabul edemeyeceği

yapı değişikliklerine uğramaktadırlar. UHT prosesine dayanıklı lipaz, proteaz ve son zamanlarda üzerinde çalışılan amilazlar, optimum şartlarda, bu süreç içinde üründe meydana getirdikleri enzimatik değişmelerle ürünlerin piyasa değerini düşürmektedirler. Meydana gelebilecek bu değişiklikleri önlemek için daha önce belirtilen şartların optimizasyonuna gidip, UHT işleminin bize sağladığı avantajları iyi değerlendirmemiz lazımdır.

#### L İ T E R A T Ü R

1. Adams, D.M., Barach J.T. and Speck, M.L. 1975 Heat resistant proteases produced in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origine. *J. Dairy Sci.*, 58: 528.
2. Adams, D.M., and Brawley, T.G. 1981 a. Heat resistant bacterial lipases and UHT sterilization of dairy products. *J. Dairy Sci.* 64: 1951.
3. Adams, D.M. and T.G. Brawley 1981 b. Factors influencing the heat resistance of a heat resistant lipase of *Pseudomonas*. *J. Food Sci.* 46: 673.
4. Anderson R.E., G. Danielsson, C.B. Hendlund and S.G. Svensson. 1981. Effect of a heat resistant microbial lipase on flavor of UHT Sterilized milk. *J. Dairy Sci.* 64: 378.
5. Anderson R.E., Hendlund C.B., and Johnson, U. 1979. Thermal inactivation of heat resistant lipase produced by psychrotrophic bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *J. Dairy Sci.* 59: 531.
6. Barach J.T. Adams, D.M. and Speck, H.L. 1976 Low temperature inactivation in milk of heat - resistant proteases from psychrotrophic bacteria. *J. Dairy Sci.* 59: 531.
7. Cogan, T.M. 1977. A review of heat resistant lipases and proteinases and the quality of dairy products. *J. Food Sci. Technol.* 1: 95.
8. Driessen, F.M., and Stadhouders, J. 1971. Heat stability of *A. Viscolactis* 23 A1. *Neth. Milk Dairy J.* 25: 141.
9. Driessen, F.M. and Stadhouders J. 1974. Thermal resistance of bacterial lipases. *Food Sci. Technol. Abs.* 6 (3): 130.
10. Driessen, F.M. and J. Stadhouders. 1974. Thermal activation and inactivation of exocellular lipases of some gram - negative bacteria. *Neth. Milk Dairy J.* 28: 10.
11. Griffiths, M.W., Phillips, J.D. and Muir, D.D. 1981. Thermostability of protease and lipases from a number of species of psychrotrophic bacteria of dairy origine. *J. Appl. Bacteriol.* 50: 289.
12. Hansen, A.P., L.G. Turner, and V.A. Jones. 1974. Effect of UHT steam injection upon constituents of milk. *J. Dairy Sci.* 60: 1368.
13. Law, B.A., A.T. Andrews, and M.E. Sharp. 1977. Characterization of proteinase from *P. fluorescens*. *J. Dairy Research* 44: 145.
14. Mottar, J.T. 1981. Heat resistant enzymes in UHT milk and their influence on sensoric changes during uncooled storage. *Milchwissenschaft* 36: 87.
15. Pinnleico, A.J.R., Liska B.J., and C.E. Parmelee, 1965. Heat Stability of lipases of selected psychrophilic bacteria in milk and Purdue type swiss cheese. *J. Dairy Sci.* 48: 983.
16. Speck, H.L., and D.M. Adams 1976. Impact of heat stable microbial enzymes in food processing. *J. Dairy Sci.* 59: 786.
17. Speck, H.L., and Busta F.F. 1968. Sterilization and aseptic packaging of milk products. *J. Dairy Sci.* 51: 1146.

Tablo 1. Sıcağa dayanıklı proteazlar

Organizma veya ürün	Kaynak	Sıcağa dayanıklılık veya korunduğu işlem
Pseudomonas türü	Çiğ süt	149°C/10 saniye % 92 - 11 korunan aktivite
İyi kalite yağsız süt		149°C/4.5 saniye % 95 korunan aktivite
Pseudomonas fluorescens AR 11	Çiğ süt	$D_{150C} = 30$ saniye
Pseudomonas türü MC 60	Çiğ süt	149°C/30 saniye
Pseudomonas fluorescens P 26	Soğutulmuş yemeklerde	% 50 korunan aktivite $D_{120C} = 15$ dakika
Pseudomonas türü P 12		130°C/20 saniye
Pseudomonas türü P 32		% 100 korunan aktivite 130°C/20 saniye % 50 korunan aktivite

Tablo 2. Sıcağa dayanıklı lipazlar

Organizma veya ürün	Kaynak	Sıcağa dayanıklılık veya korunduğu işlem
Pseudomonas türü MC 50	Çiğ süt	$D_{150C} = 1.2$ dakika
Pseudomonas fluorescens SIKWI		$D_{160C} = 0.7 - 1.2$ dakika
Pseudomonas fluorescens 22 F		$D_{130C} = 5.2$ dakika

