

## Pastörize Sütlerde Çevre Koşulları ve Saklama Zamanına Bağlı Değişen Bakteriyel Flora

Yrd. Doç. Dr. Güven URAZ — Arş. Gör. NihalYÜCEL

Gazi Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü — ANKARA

### ÖZET

Bu araştırmada tüketimə sunulan pastörize sütlerin kalitesini olumsuz yönde etkileyen bakterilerin buzdolabı ve çevre koşullarında saklanmasına bağlı olarak süt mikroflorasında gösterdiği değişiklik çalışılmıştır.

Araştırmada sıcaklık ve süreye göre artış gösteren bakteriler, özellikle *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* ve *Enterobacter*'ler olmuştur. Ayrıca *Viridans* ve *Lactic Streptococcus* ile *Staphylococcus aureus*'ta az sayıda artış gözlenmiştir.

Ayrıca sonucuna göre pastörize sütlerin saklama koşullarının mikro-organizmaların bulunma yüzdesini etkilediği belirlenmiştir.

### SUMMARY

#### BACTERIAL FLORA IN PASTEURIZED MILK IN CONNECTION WITH STORAGE TIME AND CONDITIONS

We have studied the activity of bacteria that adversely effect the quality of pasteurized milk marketed for consumption, as a function of the changing environmental conditions during storage. The research findings indicate that dependant on temperature and duration of storage, several bacterial species, in particular *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* and *Enterobacteria* were detectable at increased levels. In addition, *Viridans*, *Lactic Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* were apparent at low levels.

In conclusion, it was found that the conditions in which pasteurized milk is stored do contribute to the level of micro organisms in the milk.

### GİRİŞ

Süt bulundurduğu mikroorganizmalar nedeniyle bir çok hastalığın bulaşmasında ve geniş halk kitlelerine yayılmasında önemli bir

aracıdır. İnsanlar için patojen olan mikroorganizmalara çiğ sütte sıkça rastlanır. Kontamine çiğ süttten bulaşabilen çok önemli ve tehlikeli insan hastalıklarından bazıları şunlardır: Tüberküloz, Bruselloz, Malta Humması, Besin Zehirlenmesi, Listeriosis, çeşitli *Streptococcus* ve *Staphylococcus* enfeksiyonları, Şarbon, Dizanteri, Tifo, Yaz İshalleri (*Yersinia enterocolitica*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Koleera* vb.)

Bütün hastalık etmeni patojen mikroorganizmalar etkili pastörizasyonla ortadan kaldırılabılır. 65 - 72°C'lerde 30 dakika ya da 15 saniye süreli olarak yapılan pastörizasyon işlemi, sütte bulunan pek çok bakterinin hücre duvarını parçalayarak onların ölmesini ve bir kısmının da ısıdan etkilenecek inaktif hale geçmesini sağlar. Pastörizasyon sıcaklığı, patojen mikroorganizmalar içinde ısıya en dayanıklı olan tüberküloz etmeni bakterinin ölme derecesine göre ayarlanmıştır. Buna rağmen sütte pastörizasyon sonrası canlılığını kaybetmeyen bakteriler ya da kısmen inaktif hale gelen sporlu bakteriler bulunabilmektedir. Bu bakımdan pastörizasyonu hiçbir zaman sterilizasyon işlemi gibi görmemek gerekir. Yani pastörizasyonla süt bütün bakterilerinden temizlenmez ancak genel jerm sayılarında önemli bir azalma olur. Bu yüzden pastörize süttün elde edildikten sonra soğukta saklanması gerekmektedir. Böylece içinde inaktif olarak kalan mikroorganizmaların faaliyeti de engellenmiş olur.

### MATERYAL VE METOD

Araştırmada yararlanılan materyal Ankara'da pastörize içme süttü üreten bir işletme-densağlanmıştır. Pastörizasyona rağmen süttün bakteri florasının saklanma koşulları, sıcaklık ve yeniden bekleme süresi faktörlerinden etkilenecek çoğaldığını belirlemek amacıyla örnekler çiğ ve pastörize süt ile amba-

laflanmış ürün olmak üzere üç kaynaktan alınmıştır.

Bunlar buzdolabı ve çevre koşullarında saklanmış 24 ve 48 saat sonra pastörize süt örneklerinde analizler yapılmıştır. Toplam mikroorganizma sayısının belirlenmesinde Plate Count Agar (P.C.A) yönteminden yararlanılmıştır. Diliello (1982)

Çiğ süt örneklerinin  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dilüsyon örneklerinden 3 ayrı P.C.A.'ya 0.1 ml. steril pipetlerle ekim yapılmıştır. Pastörize edilmiş süt ve şişelenmiş pastörize süt örnekleri için de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  dilüsyonlarından yine 0.1 ml. ekim yapılmıştır. Ayrıca buzdolabı ve çevre koşullarında 24-48 saat bekletilen pastörize süt örneklerinin  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  dilüsyonlarından 0.1 ml. alınarak P.C.A. ya ekim yapılmıştır. Diliello (1982).

Ayrıca, Gram negatif bakterilerin teşhisleri için  $10^{-1}$  dilüsyonlarından 0.1 ml. alınarak Eozin Metilen Blue (E.M.B.) ve Kanlı Agar plakalarına ekim yapılmıştır. E.M.B. agarda üreyen bakteri kolonilerinin biyosimik testleri yapılmıştır. (Üre, TSI, İndol, Citrat, Cetrimit, vb.) Buchanan ve Gibbons (1974), Robinson (1983).

Kanlı Agarda ve Plate Count Agar'da üreyen *Staphylococcus*'ların koagülazlarına bakılarak Cog (+) *S. aureus* ve Cog (-) olanlar ise Novobiosin hassasiyetine bağlı olarak *S. epidermidis* ve *S. saprofiticus* olarak isimlendirilmiştir. Buchanan ve Gibbons (1974)

Kanlı Agarda ve Plate Count Agar'da üreyen *Streptococcus*'larda hemolizlerine % 6,5 NaCl, % 0,1 metilen mavisinde üreme özelliklerine bakılarak tanımlanmıştır. Diliello (1982)

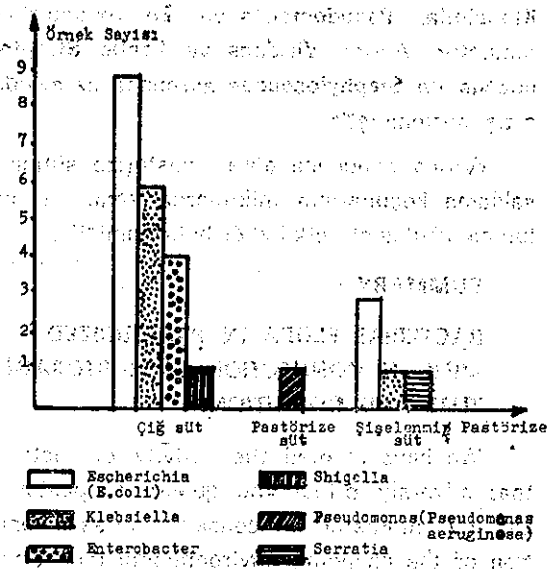
Gaz oluşturan anaerob bakterilerin tespiti içinde steril tüplere alınan 3 ayrı süt örnekleri  $85^{\circ}\text{C}$ 'lik benmaride 10 dakika tutulduktan sonra üzerine eritilmiş parafin ilave edilerek  $37^{\circ}\text{C}$  etüvde 24 - 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Diliello (1982)

## BULGULAR

Araştırmamızın sonuçlarına göre çiğ süt, pastörize süt ve şişelenmiş pastörize sütte

bulunan mikroorganizmalar Gr. (-) ve Gr. (+) basiller, Gr. (+) koklar ve mayalar olarak belirlenmiştir.

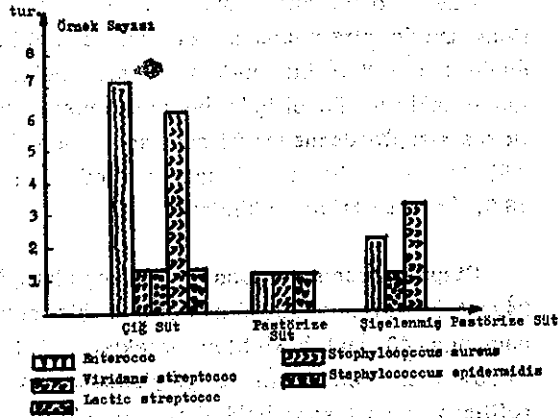
Şekil 1'deki sonuçlara göre tespit ettiğimiz Gr. (-) basillerin dağılımı şöyledir : Çiğ sütte *Escherichia (Escherichia coli)*'ye toplam 12 örneğin 9'da (% 75), *Klebsiella*'ya 6 (% 50), *Enterobacter*'e 4 (% 33) ve *Shigella*'ya da yalnız bir örnekte (% 8,3) rastlanmıştır. Şişelenmiş sütte *Pseudomonas aeruginosa* 1'de (% 8,3) bulunurken, şişelenmiş pastörize süt örneklerinde de *Escherichia (Escherichia coli)* 3 (% 25) *Klebsiella* ve *Serratia* 1'er (% 8,8) örnekte bulunmuştur.



Şekil 1 — Çiğ süt pastörize süt ve şişelenmiş pastörize süt örneklerinden izole edilen Gram (-) basiller.

Şekil 2'de araştırma sonuçlarına göre, çiğ sütte *Enterococ*'lar 7 (% 58,3) *Viridans* ve *Lactic streptococ*'lar 1'er (% 8,3) tespit edilmiştir. Pastörize edilmiş sütte *Enterococ*'lar ve *Viridans streptococ*'lar 1'er (% 8,3) bulunurken, şişelenmiş pastörize süt örneklerinde *Enterococ*'lar 2 (% 16) *Lactic Streptococlar* 1 (% 8,3) bulunmuştur.

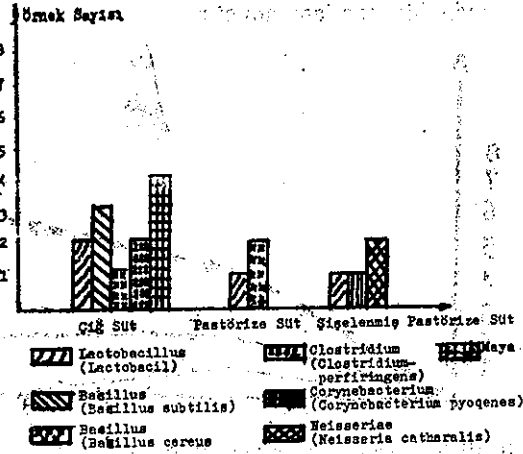
Çiğ sütte *Staphylococcus aureus* 6 (% 50), *Staphylococcus epidermidis* 1 (% 8,3) tespit edilmiştir. Pastörize sütte ise *Staphylococcus epidermidis* 1 (% 8,3) bulunurken, şişelenmiş pastörize süt örneklerinde *Staphylococcus aureus* 3 (% 25) bulunmuştur.



Şekil 2 — Çiğ süt, pastörize süt ve şişelenmiş pastörize süt örneklerinde tespit edilen Gram (+) koklar

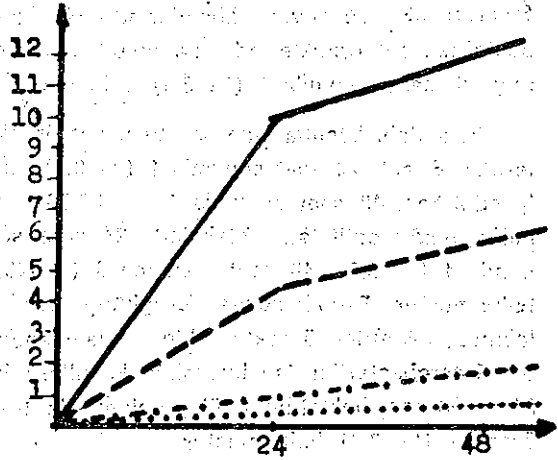
Şekil 3'de araştırma sonuçlarına göre çiğ sütle *Lactobacillus*'ler 2 (% 16), *Bacillus subtilis* 3 (% 25), *Bacillus cereus* 1 (% 8,3), *Clostridium* 2 (% 16) ve *Maya* 4 (% 33) oranında tespit edilmiştir.

Pastörize sütle ise *Lactobacillus* 1 (% 8,3) *Bacillus subtilis* 2 (% 16) bulunurken, şişelenmiş pastörize süt örneklerinde *Lactobacillus* 1 (% 8,3) *Corynebacterium pyogenes* 1 (% 8,3) *Neisseria*'da 2 (% 16) bulunmuştur.

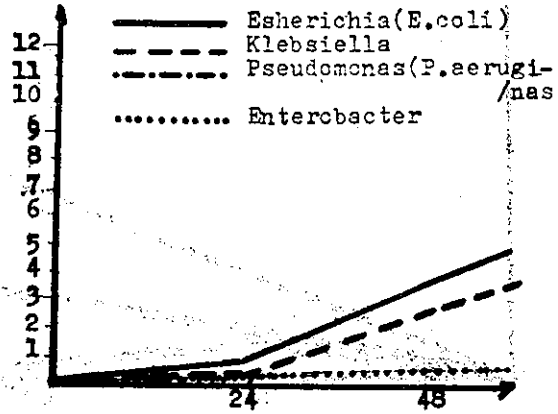


Şekil 3 — Çiğ süt, pastörize süt şişelenmiş pastörize süt örneklerinde tespit edilen Gram (+) Basiller

Araştırmamızın sonuçlarına göre 24 ve 48 saat süreyle buzdolabı ve çevre koşullarında bekletilen şişelenmiş pastörize sütlerin bakteri filorasında meydana gelen değişiklikler Gram (-) ve Gram (+) koklar olarak gruplandırılmıştır.



Şekil 4 — Çevre koşullarında 24-48 saat bekletilmiş, şişelenmiş pastörize süt örnekleri.



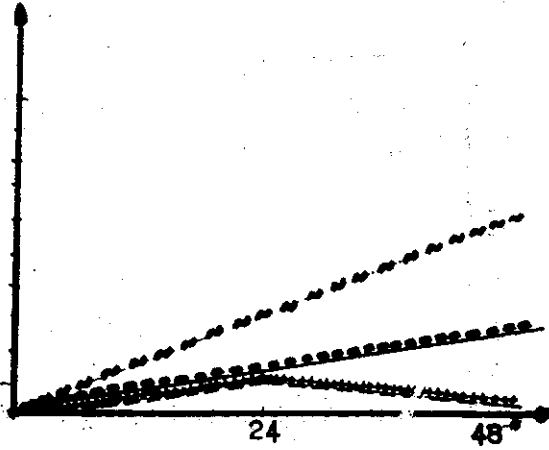
Şekil 5 — Buzdolabında 24-48 saat süreyle saklanan şişelenmiş pastörize süt örnekleri.

Adı geçen grupta yer alan bakterilerden çalışmamızda sırasıyla *Escherichia coli*, *Klebsiella* türleri, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türlerine rastlanmıştır.

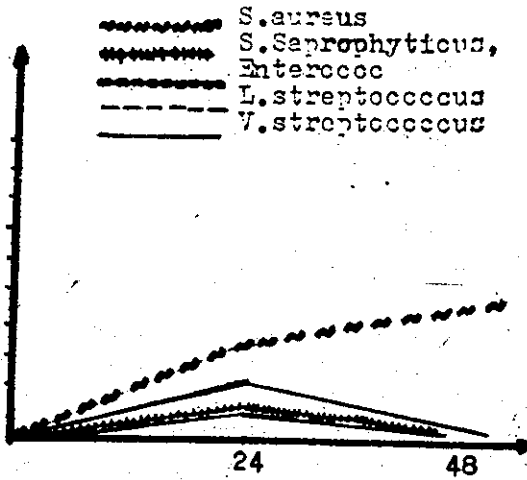
Çevre koşullarında süt örnekleri 24 saat bekletildiğinde *E. coli* 10 (% 83,33) bulunurken, 48 saat sonunda 12 (% 100) örneğin hepsinden izole edilmiştir. *Klebsiella* ise yine çevre koşullarında 24 saat bekletilen süt örneklerinde *Klebsiella* 4 (% 33,33) bulunurken 48 saat sonunda 7 (% 58,33) tespit edilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* çevre koşullarında 24 saat bekletilen süt örneklerinde 1 (% 8,3), 48 saat sonunda ise 2 (% 16,6) bulunmuştur.

*Enterobacter* ise çevre koşullarında 24 saat bekletilen süt örneklerinde hiç tespit edilememiş, 48 saat sonunda 1 (% 3,3) bulunmuştur.

Buzdolabı koşullarında saklanan süt örneklerinde *E. coli* 24 saat sonunda 1 (% 8,3) izole edilirken, 48 saat sonunda 4 (% 33,33) örnekte tespit edilmiştir. *Klebsiella* 24 saat sonunda 1 (% 8,3), 48 saat sonunda 3 (% 25) bulunmuştur. *Pseudomonas aeruginosa* buzdolabında bekletilen örneklerde hiç rastlanmamıştır. *Enterobacter*'ler ise buzdolabı koşullarında 24 ve 48 saat bekletilmiş süt örneklerinde 1'er örnekte (% 8,3) bulunmuştur.



Şekil 6 — Çevre koşullarında 24-48 saat bekletilmiş süt örnekleri

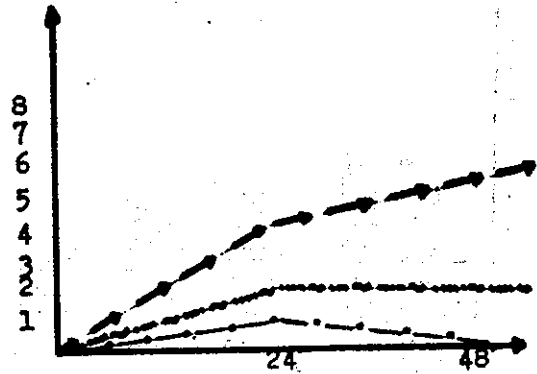


Şekil 7 — Buzdolabında 24-48 saat süreyle saklanan süt örnekleri

Çevre koşullarında saklanan süt örneklerinde *Lactic streptococ*'lar 24 saat bekletildiğinde 1 (% 8,3) bulunurken, 48 saat bekletilen örneklerin hiç birinde bulunamamıştır. *Viridans streptococcus*'lar 24 saat sonunda 1 (% 8,3) tespit edilirken 48 saat sonunda 2 (% 16,6) örnekte tespit edilmiştir.

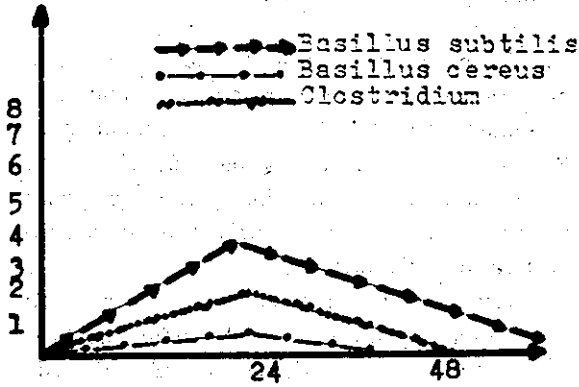
*Staphylococcus aureus* çevre koşullarında 24 saat bekletilmiş süt örneklerinde hiç bulunamamış, 48 saat bekletilen örneklerin 5 (% 41,66) tespit edilmiştir. *Staphylococcus saprofiticus* ise 24 saat bekletilen örneklerin 1 (% 8,3) bulunurken, 48 saat bekletilen örneklerde hiç rastlanmamıştır.

Buzdolabı koşullarında saklanan süt örneklerinde ise *Lactic streptococcus*'lar 24 saat sonunda 1 (% 8,3) bulunurken, 48 saat sonunda bulunamamıştır. *Viridans streptococcus*'lar 24 saat bekletilen süt örneklerinin 2 (% 16,6), 48 saat sonunda ise 1 (% 8,3) örnekte bulunmuştur. Aynı koşullarda *Staphylococcus aureus* 24 saat sonunda 3 (% 25), 48 saat bekletilmiş süt örneklerinde 4 (% 33,33) bulunmuştur. *Staphylococcus saprofiticus* 24 saat bekletilen örneklerin 1 (% 8,3) bulunurken, 48 saat sonunda hiç rastlanmamıştır.



Şekil 8 — Çevre koşullarında 24-48 saat bekletilmiş süt örnekleri

Buzdolabı koşullarında saklanan süt örneklerinde *Bacillus subtilis* 24 saat sonunda 4 (% 33,33) izole edilirken, 48 saat sonunda 2 (% 16,6) ise tespit edilmiştir. *Bacillus cereus* ise 24 saat sonunda 1 (% 8,3) bulunurken, 48 saat bekletilen örneklerde rastlanılmamıştır. Aynı örneklerde, *Clostridium* 24 saat so-



Şekil 9 — Buzdolabı koşullarında 24-48 saat bekletilmiş süt örnekleri

nunda 2 (% 16,6) bulunurken, 48 saat sonunda izole edilmemiştir.

Çevre koşullarında bekletilen süt örneklerinde ise *Bacillus subtilis* 24 saat sonunda 4 (% 33,33), 48 saat sonunda da 5 (% 41,6) tespit edilmiştir. *Bacillus cereus* ise 24 saat bekletilen örneklerde 1 (% 8,3), 48 saat bekletilen örneklerde ise hiç bulunamamıştır. Çevre ısısında bekletilen örneklerde *Clostridium* 24 ve 48 saatlik süreler sonunda 2 (% 16,6) tespit edilmiştir.

BUZDOLABI	48 S	Örnek sayısı												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	24 S	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ÇEVRE	48 S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	24 S	+	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+
Şiş. Pas. Süt		—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+
Pas. Süt		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Çiğ Süt		—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+

Çizelge 1 — Buzdolabı ve çevre koşullarında 24 ve 48 saat muhafaza edilen sütlerde *Escherichia coli*'nin durumu.

Çizelge 1'de görüldüğü gibi çiğ süt örneklerinde görülen *E. coli* pastörizasyonla kaybolmuştur. Pastörize edilmiş süt örneklerinin hiçbirinde görülmemiş, fakat şişelenmiş süt örneklerinin yalnız 2'de görülmüştür. Bunların şişelenmeden ileri geldiği düşünülmüştür.

Diğer süt örnekleri çevrede bekletildiğinde *E. coli* 24 saat sonunda 10 örnekte gözlenirken, 48 saat sonunda 12 örneğin hepsinde gözlenmiştir. Aynı tarihli başka şişelerde bulunan ve buzdolabında bekletilen pastörize süt

örneklerinde ise ilk 24 saat sonunda *E. coli* yalnız 11 no'lu örnekte görülmüşken 48 saat sonunda 4 ayrı örnekte gözlenmiştir. Pastörizasyonun etkisiyle inaktif halde bulunan *E. coli*'ler buzdolabında ancak 48 saat sonra aktif hale geçebilmişlerdir.

Buradan edindiğimiz sonuç pastörize sütlerin saklama ısılarının ve sürelerinin en az pastörizasyon kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır.

BUZDOLABI	48 S	Örnek sayısı												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	24 S	+	—	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
ÇEVRE	48 S	—	—	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—
	24 S	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Şiş. Pas. Süt		+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pas. Süt		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Çiğ Süt		+	—	+	—	+	—	—	—	+	—	+	+	+

Çizelge 2 — Buzdolabı ve çevre koşullarında 24 ve 48 saat bekletilmiş pastörize süt örneklerinde *Staphylococcus aureus*'un durumu.

**Staphylococcus**'lar sıcaklığa oldukça dayanıklı bakterilerdir. Diğer birçok bakteri 60°C'de 30 dakika bekletildiğinde öldükleri halde **Staphylococcus**'lar 1 saat sonra bile canlılıklarını sürdürebilirler. Pastörizasyon işlemi birçok bakteriyi yok ederken diğer bir kısım bakterinin de üremesini inhibe eder. Üremeleri inhibe olan bu bakteriler bir süre sonra uygun ortamda tekrar aktivitelerini kazanarak çoğalmalarına devam ederler. Bizim örneklerimizde de buzdolabı ve çevrede bekletilen pastörize süt örneklerinde **S. aureus** bu şekilde üreme göstermiştir.

Çizelge 2'de görüldüğü gibi çiğ süt örneklerinde **S. aureus**'a rastlandığı halde pastörizasyonla kaybolmuştur. Ancak 1.3 no'lu örneklerde pastörize edilmiş sütte görüldüğü halde sonradan şişelenmiş pastörize süt örneklerinde görülmüştür. Aynı örnekler çevre ve buzdolabı koşullarında saklandığında çizelgeden de anlaşıldığı gibi pastörize sütleri saklama süresi inaktif hale gelmiş olan bakterilerin yeniden aktivite kazanmalarına fırsat tanımaktadır. Geçen süre ve ısı bakterilerin logaritmik üreme fazına ulaşabilmeleri için yeterli olabilmektedir.

#### TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Kayhura ve Kaburia (1987)'de yaptıkları çalışmada çiğ süt ve pastörize sütte **Staphylococcus**'ların enterotoksinlerini araştırmışlar ve 201 örneğin 120'inde cog (+) **S. aureus**, 67 örnekte ise cog (—) olan **Staphylococcus**'ları bulmuşlardır.

Bautista (1986) koyun çiğ sütlerinde bulunan **Micrococ**'lar üzerine yapmış olduğu ça-

lışmada cog (+) **S. aureus**'ları % 62 oranında bulmuştur.

Bizim araştırmalarımızda da çiğ sütte 6 örnekte % 50 oranında **S. aureus** bulunurken **S. epidermidis** % 8,3 oranında bulunmuştur. Pastörize süt örneklerimizde ise 3 örnekte % 25 oranında tespit edilmiştir. Bu sonuçlar yukarıda bahsettiğim araştırmacıların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmada çiğ sütte en fazla gram negatif basiller bulunmuştur. Bunlar da sırasıyla en fazla **Escherichia (E. coli)** % 75, **Klebsiella** (% 50) ve **Enterobacter** (% 33) tir.

Ergülü (1982) çiğ sütte Koliform grubu bakterilerin tanımı üzerine yaptığı çalışmada **Enterobacter aerogenes** % 32,6 oranında izole etmiştir. Bu çalışmada bulunan **Enterobacter aerogenes** de bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Chopra ve Mathur (1984)'de çiğ sütte ve pastörize sütte **Bacillus** türlerini araştırmışlar. Çiğ sütte % 63, pastörize sütte ise % 44 izole etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da çiğ sütte **Bacillus subtilis** % 25, **Bacillus cereus** % 8,3 izole edilmiştir.

Bu çalışmada; pastörizasyon sonrası üreyen patojen mikroorganizmaların bulunma yüzdesinin koşullara bağlı olduğu vurgulanmaktadır. Pastörizasyonun yapıldığı koşullar bakteri florasının gelişmesi açısından önemlidir. Pastörizasyon kullanılan ısı derecesinde; pastörizasyon tankının sık sık temizlenmesi ve pastörizasyon sonrası şişeleme işleminin dikkatli yapılması; şişelerin temizliği bakteri florasını etkileyen en büyük nedenler olarak yer almaktadır.

#### KAYNAKLAR

- 1 — Bautista, L. (1986), Seasonal variation and characterization of micrococcol present in ewes raw milk, Journal of Dairy Research, 53 (1) : 1-5.
- 2 — Buchanan, R. E., Gibbons, N.E., et al., (1974), Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8 th ed, The Williams, Wilkins Company, Baltimore.
- 3 — Chopra, A.K., Mathur, D.K. (1984), Isolation screening and characterization of thermophilic **Bacillus** species isolated from dairy products, Journal Applied Bacteriology, 57 (2) : 263-71.
- 4 — DiMello, Leo, R., (1982) Methods in Food and Dairy Microbiology. The Avi Publishing Company, Inc, Westport, Connecticut.
- 5 — Ergülü E., Çiğ sütte koliform grubu bakteri florası üzerine çalışmalar. Gıda, 6 : 263-266.
- 6 — Kayhura, M., Kaburia, H.F.A., Arm. S. Metal, (1987) Staphylococcal enterotoxin raw and pasteurized milk. East african Medical journal, 64 (3) : 171-181.
- 7 — Robinson R.K., (1983) Dairy Microbiology of Milk, Volume 1-2- Applied Science Publishers, London and Newyork.